



УДК 547.962:541.07

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ 2-НИТРО-4-СУЛЬФОФЕНИЛОВЫЕ ЭФИРЫ
В СИНТЕЗЕ ПЕПТИДОВ*Гершкович А. А., Серебряный С. Б.**Институт молекулярной биологии и генетики Академии наук УССР, Киев*

Описано получение активированных 2-нитро-4-сульфофениловых (Nsp) эфиров защищенных аминокислот. Полученные соединения реагируют в водно-щелочном растворе с аминокислотами или пептидами, образуя N-защищенные пептиды. Nsp-эфиры легко взаимодействуют с эфирами аминокислот и пептидов в ДМФА с образованием полностью защищенных пептидов. На примере ацилирования аминокислот 2-нитро-4-сульфофениловыми эфирами уксусной, бензойной, пеларгоновой и дифенилуксусной кислот показана возможность создания водорастворимых агентов для модификации пептидов и белков. Изучение кинетики аминолиза и гидролиза этих эфиров показало, что в условиях пептидного синтеза скорость аминолиза значительно выше.

Синтез пептидов, как правило, проводится в среде органических растворителей, однако иногда целесообразно использовать водно-органические смеси, например при применении в качестве аминокомпонента не защищенных по концевой карбоксильной группе аминокислот и пептидов [1]. В этом случае отпадает необходимость последующего омыления сложной эфирной группировки.

Для синтеза пептидов со свободной С-концевой карбоксильной группой N-защищенный карбоксильный компонент обычно растворяется в органическом растворителе с последующим прибавлением к нему раствора свободной аминокислоты или пептида в щелочи [1]. В качестве карбоксильного компонента обычно применяются смешанные ангидриды [2], *n*-нитрофениловые эфиры [3], N-оксисукцинимидные эфиры [4] и реже «сахариновые эфиры» [5] защищенных аминокислот. Основным недостатком метода является частичный гидролиз активированных соединений в щелочной среде, что затрудняет очистку конечного продукта реакции.

По-видимому, подобные реакции целесообразно проводить в чисто водных растворах, свидетельством чему являются несколько исследований, посвященных изучению этого вопроса. N-защищенные карбоксильные компоненты, которые использовались при этом, можно разделить на две группы — нерастворимые в воде и водорастворимые.

К первой группе относятся прежде всего N-карбоксиангидриды аминокислот, широкому применению которых в пептидной химии положили начало блестящие работы Хиршмана с соавт. [6]. Эти соединения легко взаимодействуют с аминокислотами или пептидами в воде при pH 10,2. То обстоятельство, что при этом не требуется защита аминогруппы, большая скорость реакции и высокий выход сделали карбоксиангидридный метод одним из важнейших для синтеза больших пептидов и полиаминокислот.

В качестве другого примера можно привести использование перастворимых в воде активированных полимерных производных *трет*-бутилкарбонил-аминокислот для синтеза *N*-защищенных дипептидов, предло-женных Н. А. Самойловой с соавт. [7]. Для этого полимерные производные суспендировали в водном растворе натриевых солей аминокислот.

Водорастворимые активированные соединения были впервые описаны Кеннером [8]. Им был предложен интересный способ получения смешанных ангидридов сериной кислоты — взаимодействием натриевых или литиевых солей *N*-защищенных аминокислот с комплексом ДМФА — серный ангидрид. Реагируя со свободными аминокислотами в водно-щелочном растворе, эти ангидриды дают дипептиды с хорошим выходом без заметной рацемизации [9].

Перспективными для использования в синтезах со свободными аминокислотами и пептидами в водно-щелочном растворе могут оказаться реагенты, предложенные Гофманом и Диллером [10], — аминоацилгуанидины. Эти реакционные, стабильные, хорошо растворимые в воде соединения получали из метиловых эфиров *N*-защищенных аминокислот и гуанидина. Они использовались для синтеза защищенных дипептидов при их взаимодействии с хлоргидратами эфиров аминокислот в водно-щелочной среде. Реакция аминоацилгуанидинов со свободными аминокислотами не описана.

Следует упомянуть, что синтез защищенных пептидов в воде изучался также Д. Г. Кюрре и Т. Н. Шубиной [11]. При этом в качестве конденсирующего средства использовался водорастворимый карбодимид. Таким способом было получено несколько три- и тетрапептидов с хорошим выходом, однако применение в ходе синтеза *N*-формильной защитной группы и способ наращивания полипептидной цепи с *C*-конца не привели к получению оптически чистых пептидов.

Дальнейшее развитие метод Д. Г. Кюрре получил в работе Хорста [12], который использовал новую гидрофильную *N*-защитную группу — *N*-(2-фосфонил)этоксикарбонильную. *N*-Защищенная аминокислота реагирует в воде с *трет*-бутиловым эфиром аминокислоты в присутствии водорастворимого карбодимида и 1-оксисбензтриазола. Новая защитная группа легко отщепляется в щелочной среде, и ее использование приводит к оптически чистым пептидам.

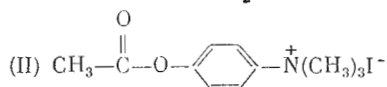
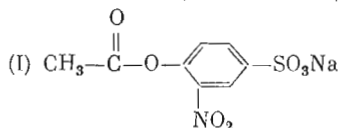
— Однако до настоящего времени использование водорастворимых активированных эфиров для синтеза пептидов в водно-щелочной среде не получило распространения, хотя проведение реакций со свободными аминокислотами и пептидами в воде удобнее, чем в водно-органических смесях. По-видимому, это связано прежде всего с отсутствием легко доступных и устойчивых при хранении водорастворимых реагентов. Так, ангидриды, описанные Кеннером, хранят только в растворе ДМФА при низких температурах, а синтез аминоацилгуанидинов более трудоемок, чем синтез обычно применяемых в химии пептидов активированных эфиров (например, *n*-нитрофениловых, *N*-оксисукцинимидных и др.).

Следует отметить, что доступные и удобные в работе водорастворимые активированные эфиры *N*-защищенных аминокислот могли бы найти применение в интенсивно развивающихся в последние годы методах синтеза пептидов на полимерных носителях. Еще в 1968 г. Ю. А. Овчинников и др. [13], предложившие способ синтеза пептидов на растворимом носителе, отметили перспективность использования для этой цели водорастворимых полимеров, так как это даст возможность производить очистку на каждой стадии синтеза диализом.

С появлением фильтров для диализа под давлением эта идея была реализована: Байер и Муттер [14] успешно применили в «жидкофазном» синтезе в качестве носителя водорастворимый полиэтиленгликоль. По их способу наращивание полипептидной цепи производится в органическом растворителе, а для очистки полимер с закрепленной на нем цепочкой

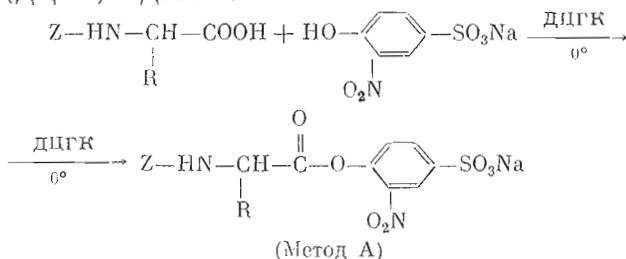
промывается на диализной мембране в водном растворе. По-видимому, применение водорастворимых реагентов позволило бы проводить все операции в одном растворителе — воде, что значительно упростило бы схему синтеза и сократило затраты времени.

Мы изучали возможность получения устойчивых водорастворимых активированных эфиров, пригодных для синтеза пептидов в воде [15]. Было показано, что ацетильные производные 2-нитро-4-сульфофенола (I) и 4-(N-триметил)аминофенола (II) при взаимодействии с *L*-лейцином в водно-щелочной среде приводили к *N*-ацетил-*L*-лейцину с хорошим выходом.



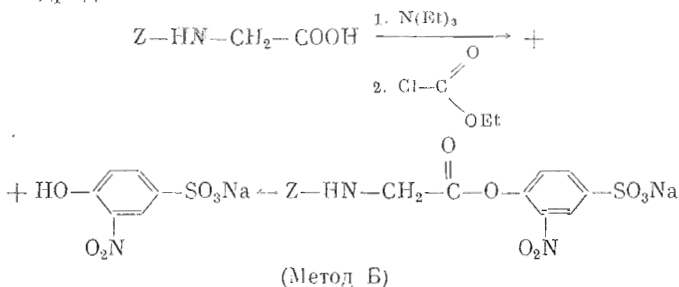
Активированные эфиры аминокислот типа (II) описаны Ю. В. Митиным [16] и применялись для синтеза полностью защищенных дипептидов в ДМФА, однако эти иодиды практически нерастворимы в воде. Возможно, эфиры типа (II) в форме хлоридов или бромидов окажутся растворимыми в воде и смогут найти применение в синтезе пептидов в водном растворе.

Мы показали, что 2-нитро-4-сульфофениловые эфиры (Nsp) защищенных аминокислот пригодны в качестве карбоксильных компонентов для использования их в синтезе пептидов в водно-щелочной среде [15]. Они легко получают взаимодействием *N*-защищенных аминокислот и натриевой соли 2-нитро-4-сульфофенола [17] в присутствии дициклогексилкарбодимида (ДЦГК) в ДМФА:



В синтез вводилось натриевое производное 2-нитро-4-сульфофенола, так как было показано [18], что ароматические сульфокислоты легко реагируют с ДЦГК, давая ангидриды. Кроме того, наличие свободной сульфогруппы нежелательно при использовании кислотолабильных защитных групп.

Nsp-Эфир бензилоксикарбонилглицина был получен также методом смешанных ангидридов по схеме



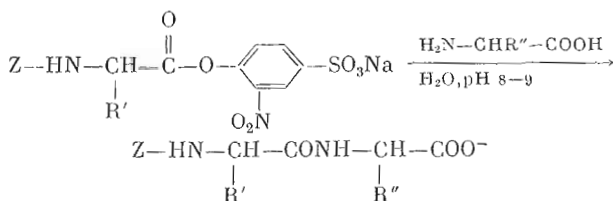
Все полученные Nsp-эфиры защищенных аминокислот (таблица) независимо от характера боковых радикалов и типа защитных групп хоро-

Водорастворимые 2-нитро-4-сульфофениловые эфиры

Формула	Метод	Выход, %	$R_f(\Delta)$	Формула	Метод	Выход, %	$R_f(\Delta)$
$\text{CH}_3\text{COO-Nsp}$	A	70	0,43	Z-Phe-ONsp		68	0,52
$\text{C}_6\text{H}_5\text{COO-Nsp}$		94	0,56	Z-Trp-ONsp		74	0,62
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{COO-Nsp}$		75	0,58	Tos-Ala-ONsp		58	0,56
$(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CHCOO-Nsp}$		66	0,57	Boc-Glu(OBzl)-ONsp		85	0,66
Z-Gly-ONsp		73	0,43	Boc-Trp-ONsp		72	0,63
Z-Gly-ONsp	B	63	0,43	Boc-Lys(Z)-ONsp		65	0,69
Z-Glu-ONsp	A	80	0,49	Z-Gly-Gly-ONsp		90	0,55

шо растворяются в воде и устойчивы при длительном хранении в обычных условиях. Ввиду сложности очистки полученные соединения не выделялись в аналитически чистом виде и вводились в пептидный синтез без очистки. Мы пытались очистить их кристаллизацией из полунасыщенного раствора хлористого натрия, однако оказалось, что они медленно гидролизуются водой, причем скорость гидролиза значительно возрастает с повышением температуры.

Для синтеза пептидов эквимольные количества активированного эфира защищенной аминокислоты, свободной аминокислоты или пептида и соответствующее количество едкого натра (или избыток бикарбоната натрия) растворяли в воде при комнатной температуре. Раствор выдерживали 18 ч при этой температуре и затем подкисляли:



После подкисления продукт реакции выделялся в виде масла или твердого осадка. Его экстрагировали, промывали водой и после удаления растворителя кристаллизовали из подходящей смеси растворителей. В некоторых случаях продукт реакции не нуждался в очистке. Выход пептидов составлял 50–70%. Характеристики синтезированных модельных соединений соответствовали литературным данным.

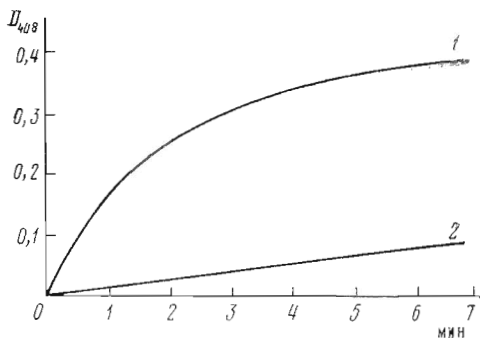
При попытке синтезировать трипептид — *трет*-бутилоксикарбонил-(ϵ -бензилоксикарбонил)-*L*-лизил-*L*-пролил-*L*-аргинин взаимодействием 2-нитро-4-сульфофенилового эфира *трет*-бутилоксикарбонил-(ϵ -бензилоксикарбонил)-*L*-лизина с *L*-пролил-*L*-аргинином в воде был выделен только продукт гидролиза активированного соединения. Очевидно, реакция Nsp-эфиров с пролином и пептидами, содержащими на N-конце пролин, идет настолько медленно, что преобладает конкурирующая реакция гидролиза активированного эфира. Действительно, при реакции 2-нитро-4-сульфофенилового эфира карбобензоксиглицина с пролином (взятым в избытке 150%) получен бензилоксикарбонилглицил-*L*-пролин с выходом 30%.

Хорошая растворимость Nsp-эфиров аминокислот и 2-нитро-4-сульфофенола в воде дает возможность легко удалить их при проведении синтеза полностью защищенных пептидов в ДМФА. Таким способом были получены полностью защищенные ди- и трипептид с хорошим выходом.

Возможность использования в пептидном синтезе Nsp-эфиров дипептидов с C-концевым глицином показана на примере синтеза бензилоксикарбонилглицил-глицил-глицил-глицина.

Синтез ацетиллейцина, бензоиласпарагина, бензоилглицилглицина, пелларгониларгинина и дифенилацетиларгинина методом Nsp-эфиров соот-

Кинетические кривые аминолита глицином (1) и гидролиза 1,25 мМ бикарбонатным буфером, рН 7,4 (2) 2-нитро-4-сульфофенилового эфира бензилоксикарбонилглицина при 16° С. Концентрация Z-Gly-ONsp 1,25, Gly 2,5 мМ



ветствующих кислот, очевидно, открывает возможность создания новых водорастворимых ацилирующих агентов на основе ароматических и жирных карбоновых кислот. Подобные реагенты могут применяться для модификации аминокислот, пептидов и белков в водном растворе. По-видимому, на их основе могут быть получены низкомолекулярные водорастворимые гаптены для конъюгации с белками-носителями без применения органических растворителей.

Мы изучили кинетику аминолита 2-нитро-4-сульфофенилового эфира бензилоксикарбонилглицина глицином в бикарбонатном буфере и кинетику гидролиза этого соединения в том же буфере (рисунком). Хотя скорость аминолита значительно выше скорости гидролиза Nsp-эфиров, целесообразно для уменьшения гидролиза проводить реакцию при пониженной температуре и с небольшим избытком (10%) аминокомпонента.

Экспериментальная часть

Все использованные аминокислоты — L-конфигурации. Температуры плавления определяли в открытых капиллярах и приведены несплавленными. Гомогенность полученных соединений проверяли ТСХ на силуфоле в двух системах растворителей: бутанол-1 — уксусная кислота — вода, 4 : 1 : 1 (А) и бутанол-1 — уксусная кислота — пиридин — вода, 30 : 20 : 6 : 10 (Б). Вещество обнаруживали иодом и реактивом Эрлиха. Хроматографическую подвижность Nsp-эфиров определяли ТСХ на силуфоле в системе А, пластинки проявляли иодом и парами аммиака. Для изучения кинетики аминолита и гидролиза использовали спектрофотометр Spectord UV VIS (ГДР). Удельное вращение определяли на спектрополяриметре Spectropol-1 (Sofica, Франция).

2-Нитро-4-сульфофениловые эфиры. Метод А. Защищенную аминокислоту (или карбоновую кислоту) (10 ммоль) и натриевую соль 2-нитро-4-сульфофенола (10 ммоль) [19] растворяли в 20 мл ДМФА, охлаждали до 0° С и вносили 10 ммоль ДЦГК. Перемешивали 1 ч при этой температуре и выдерживали 18 ч при 20° С. Удаляли дидиклогексилмочевину, отгоняли в вакууме ДМФА и растворяли остаток в 5 мл спирта. Добавляли 50 мл эфира и оставляли на 2 ч в холодильнике. Отфильтровывали желтый осадок, промывали эфиром и сушили на воздухе.

Метод Б. К раствору 2,1 г (10 ммоль) бензилоксикарбонилглицина и 1,39 мл (10 ммоль) триэтиламина в тетрагидрофуране при —10° С прибавляли 0,96 мл (10 ммоль) этилхлорформиата и перемешивали раствор 30 мин при этой температуре. Затем вносили в реакционную смесь раствор 2,9 г (10 ммоль) натриевой соли 2-нитро-4-сульфофенола в 10 мл ДМФА и перемешивали 1 ч при 0° С, оставляли на 18 ч при 20° С. Выделяли аналогично методу А. Выход 2,4 г (56%).

3-Нитро-4-ацетоксибензолсульфокислота (Г) [20]. К раствору 2,9 г натриевой соли 2-нитро-4-сульфофенола в ДМФА прибавляли 5 мл уксусного ангидрида, нагревали до 70° С и оставляли на 20 ч при 20° С. После

удаления ДМФА в вакууме остаток обрабатывали эфиром и отфильтровывали. Выход светло-желтого порошка 2 г (87%).

4-Ацетоксифенилтриметиламмонийодид (II) [21]. Получен аналогично ацетилированием иодида 4-(N-триметил)аминофенола уксусным ангидридом. Выход 85%, т. пл. 193° С.

N-Ацетиллейцин. К раствору 5 ммоль активированного эфира (I) или (II) в 5 мл воды прибавляли 0,75 г (5,1 ммоль) лейцина и 0,2 г (5,1 ммоль) едкого натра, перемешивали 2 ч при 20° С и подкисляли 1 н. HCl до pH 3. Осадок отфильтровывали и сушили в эксикаторе над P₂O₅. Выход 1,3 г (75%), т. пл. 187° С, $[\alpha]_D^{25}$ -22° (с 1; этанол), R_f 0,51 (А), R_f 0,59 (Б) (т. пл. 186° С, $[\alpha]_D^{25}$ -21,5° (с 1; этанол) [22]).

N-Бензоиласпарагин. К раствору 1,73 г (5 ммоль) Nsp-эфира бензойной кислоты в 10 мл воды прибавляли 0,85 г (5,1 ммоль) аспарагина и избыток бикарбоната натрия. Перемешивали 4 ч и подкисляли до pH 3. Выдерживали 3 ч в холодильнике, отфильтровывали осадок, промывали водой, сушили на воздухе. Выход 0,6 г (60%), т. пл. 195–196° С, $[\alpha]_D^{25}$ +12° (с 1; 2 н. NaOH). R_f 0,41 (А), R_f 0,45 (Б) (т. пл. 190–196° С, $[\alpha]_D^{25}$ +14–+16° (с 1; 2 н. NaOH) [23]).

N-Бензоилглицилглицилин. К раствору 1,73 г (5 ммоль) Nsp-эфира бензойной кислоты в 10 мл воды прибавляли 0,73 г (5,1 ммоль) глицилглицина (Reanal, ВНР) и избыток бикарбоната натрия. Перемешивали 5 ч при 20° С, подкисляли до pH 3, выдерживали 2 ч в холодильнике, отфильтровывали выпавший осадок и промывали водой. Выход 0,77 г (65%), т. пл. 210° С, R_f 0,36 (А), R_f 0,4 (Б) (т. пл. 206,5° С [24]).

N-Пеларгониларгинин. Растворяли 2,1 г (0,55 ммоль) Nsp-эфира пеларгоновой кислоты в 15 мл воды, прибавляли 1,7 г (1,1 ммоль) аргинина в 3 мл воды и выдерживали 4 ч при 20° С и 18 ч в холодильнике. Выпавший осадок кристаллизовали из воды. Выход 1,1 г (65%), т. пл. 163–165° С, $[\alpha]_D^{25}$ -8° (с 1; 1 н. HCl). R_f 0,13 (А), R_f 0,16 (Б). Найдено, %: С 56,89; Н 9,82; N 17,83. C₁₅H₃₁O₅N₄. Вычислено, %: С 57,11; Н 9,91; N 17,76.

N-Дифенилацетиларгинин. 3,2 г (7,5 ммоль) Nsp-эфира дифенилуксусной кислоты и 2,5 г (15 ммоль) аргинина растворяли в 20 мл воды и перемешивали 2 ч при 20° С, а затем выдерживали 18 ч при этой температуре. Осадок начинал выпадать через несколько минут после смешения реагентов. Отфильтровывали осадок, промывали водой и кристаллизовали из воды. Выход 1,95 г (72%), т. пл. 225–228° С, $[\alpha]_D^{25}$ -31° (с 1; 1 н. HCl). R_f 0,17 (А), R_f 0,2 (Б). Найдено, %: С 64,80; Н 6,90; N 15,15. C₂₀H₂₄O₂N₄. Вычислено, %: С 65,20; Н 6,57; N 15,21.

Бензилоксикарбонилглицил-фенилаланин. К раствору 1 г (2,3 ммоль) Nsp-эфира Cbz-глицина в 8 мл воды прибавляли 0,5 г (3 ммоль) фенилаланина и 0,12 г (3 ммоль) едкого натра и перемешивали 1,5 ч при 20° С. После подкисления 1 н. HCl до pH 3 экстрагировали выделившееся масло этилацетатом, промывали этилацетатный раствор водой до pH 7, сушили над сульфатом натрия и удаляли растворитель на ротационном испарителе. Остаток обрабатывали эфиром и отфильтровывали. Выход 0,5 г (63%), т. пл. 125° С, $[\alpha]_D^{25}$ +38,5° (с 1; этанол). R_f 0,7 (А), R_f 0,58 (Б) (т. пл. 126° С, $[\alpha]_D^{25}$ +38,5° (с 1; этанол) [22]).

Бензилоксикарбонилглутаминил-аргинин. К 2 г (4 ммоль) Nsp-эфира бензилоксикарбонилглутамина, растворенного в 5 мл воды, прибавляли 0,87 г (5 ммоль) аргинина и перемешивали 2 ч при 20° С, а затем выдерживали 18 ч при этой температуре. Выпавший осадок кристаллизовали из воды. Выход 1 г (60%), т. пл. 128–129° С. $[\alpha]_D^{25}$ -19,5° (с 1; 1 н. HCl). R_f 0,28 (А), R_f 0,33 (Б). Найдено, %: С 51,90; Н 6,98; N 18,48. C₁₉H₂₈O₆N₆ · 1/2 H₂O. Вычислено, %: С 51,42; Н 6,56; N 18,85.

n-Толуолсульфонилаланил-лейцин. К раствору 1,5 г (3 ммоль) Nsp-эфира n-толуолсульфонилаланина в 5 мл воды прибавляли 0,53 г (4 ммоль) лейцина и 10 ммоль бикарбоната натрия. Перемешивали 4 ч при 20° С,

подкисляли до pH 3 и отфильтровывали выпавший осадок. Промывали его водой и сушили. Выход 0,6 г (60%), т. пл. 187–188°С, $[\alpha]_D^{25} -29,5^\circ$ (с 1; этанол). R_f 0,68 (А), R_f 0,59 (Б) (т. пл. 186°С, $[\alpha]_D^{25} -30,5^\circ$ (с 1; этанол) [26]).

Бензилоксикарбонилглицил-пролин. Получали аналогично из 4,3 г (10 ммоль) Nsp-эфира бензилоксикарбонилглицина и 1,5 г (15 ммоль) пролина. Выход 1,6 г (32%), т. пл. 155–156°С (водный этанол), $[\alpha]_D^{25} -62^\circ$ (с 1; этанол). R_f 0,6 (А), R_f 0,45 (Б) (т. пл. 156°С [27]).

трет-Бутилоксикарбонилтриптофанил-глицин. Получен аналогично из 2 г (4 ммоль) Nsp-эфира трет-бутилоксикарбонилтриптофана и 0,7 г (5 ммоль) глицина. Выход 0,7 г (50%), т. пл. 120–125°С, $[\alpha]_D^{25} -6,8^\circ$ (с 1; спирт). R_f 0,78 (А), R_f 0,57 (Б). Найдено, %: С 58,42; Н 6,68; N 11,15. $C_{18}H_{23}O_5N_3 \cdot \frac{1}{2}H_2O$. Вычислено, %: С 58,37; Н 6,53; N 11,34.

трет-Бутилоксикарбонил-γ-бензил-глутамил-глицин. Получен аналогично из 5,6 г (10 ммоль) Nsp-эфира трет-бутилоксикарбонил-γ-бензилглутаминовой кислоты и 1,5 г (20 ммоль) глицина. После выдержки раствор экстрагировали эфиром, подкисляли лимонной кислотой, экстрагировали этилацетатом, промывали раствор водой до pH 7, удаляли растворитель и кристаллизовали остаток из смеси этилацетат – гексан. Выход 2,7 г (70%), т. пл. 114°С, $[\alpha]_D^{25} -2,2^\circ$ (с 1; ДМФА). R_f 0,79 (А), R_f 0,62 (Б) (т. пл. 114–115°С, $[\alpha]_D^{25} -4,5^\circ$ (с 1; ДМФА) [4]).

Бензилоксикарбонилглицил-глицил-глицил-глицин. К раствору 3 г (6,1 ммоль) Nsp-эфира бензилоксикарбонилглицил-глицина в 30 мл воды прибавляли 1 г (7,6 ммоль) глицилглицина и избыток бикарбоната натрия и перемешивали 2 ч при 0°С, а затем выдерживали 18 ч при 2°С. Подкисляли до pH 3, охлаждали и отфильтровывали выпавший осадок. Кристаллизовали из воды. Выход 1,2 г (50%), т. пл. 230–231°С. R_f 0,46 (А), R_f 0,47 (Б) (т. пл. 230°С [28]).

Метиловый эфир бензилоксикарбонилфенилаланил-серина. К раствору 2,7 г (5,2 ммоль) Nsp-эфира бензилоксикарбонилфенилаланина в 3 мл ДМФА прибавляли 0,8 г (5,2 ммоль) хлоргидрата метилового эфира серина и 0,7 мл (5,2 ммоль) триэтиламина и выдерживали 24 ч при 20°С. Отгоняли в вакууме ДМФА, остаток переводили в этилацетат, промывали 1 н. HCl, водой и сушили над MgSO₄. После отгонки этилацетата остаток кристаллизовали из смеси этилацетат – петролейный эфир. Выход 1,6 г (80%), т. пл. 122°С, $[\alpha]_D^{25} -5,5^\circ$ (с 1; ДМФА), R_f 0,68 (А), R_f 0,69 (Б) (т. пл. 122–123°С, $[\alpha]_D^{25} -5,7^\circ$ (с 2; ДМФА) [29]).

Этиловый эфир бензилоксикарбонилтриптофанил-глицил-аланина. Получали аналогично предыдущему из 4 г (7,1 ммоль) Nsp-эфира бензилоксикарбонилтриптофана и аминоконпонента, полученного гидрированием 2,5 г (8 ммоль) этилового эфира бензилоксикарбонилглицилаланина. Кристаллизовали из смеси хлороформ – петролейный эфир после пропускания через колонку с оксидом алюминия в растворе хлороформа. Выход 2,9 г (80%), т. пл. 136°С, $[\alpha]_D^{25} -6^\circ$ (с 1; этилацетат). R_f 0,76 (А), R_f 0,72 (Б) (т. пл. 135–136°С, $[\alpha]_D^{25} -6^\circ$ (с 1; этилацетат) [30]).

Авторы выражают благодарность ст. научн. сотр. В. К. Кибиреву за интерес, проявленный к работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шредер Э., Любке К. (1976) Пептиды, т. 1, с. 109–111, «Мир», М.
2. Bodansky M., du Vigneaud V. (1959) J. Amer. Chem. Soc., **81**, 2504–2507.
3. Guttman S., Pless I., Boissonas R. A. (1962) Helv. chim. acta, **45**, 170–177.
4. Suzuki K., Sasaki Y. (1973) Chem. and Pharm. Bull., **21**, 2634–2638.
5. Micheel F., Manfred L. (1966) Lieb. Ann., **698**, 242–252.
6. Hirshmann R., Dankelwater R. (1970) Naturwiss., **57**, 145–151.
7. Самойлова Н. А., Андреев С. М., Цырякин В. А., Давидович Ю. А., Рогожин С. В. (1978) Биоорган. химия, **4**, 725–728.
8. Kenner G. W. (1951) Chem. Ind., 15–17.

9. Kenner G. W., Stedman R. I. (1952) J. Chem. Soc., 2069-2076.
10. Hoffmann E., Diller D. (1965) Can. J. Chem., 43, 3103-3104.
11. Кюорре Д. Г., Шубина Т. Н. (1966) Ж. общ. химии, 36, 656-660.
12. Horst K. (1978) Angew. Chem., 90, 63-64.
13. Овчипяников Ю. А., Кирилюшкин А. А., Кожевникова И. В. (1968) Ж. общ. химии, 38, 2636-2647.
14. Mutter M., Uhmann R., Bayer E. (1975) Lieb. Ann., 901-915.
15. Гершкович А. А., Серебряный С. Б. (1978) Биооргани. химия, 4, 1129-1131.
16. Митин Ю. В., Надеждина Л. Б. (1968) Ж. общ. химии, 38, 2627-2630.
17. Gnehm R., Knecht O. (1906) J. pract. Chem., 73, 519-537.
18. Khorana H. G. (1953) Can. J. Chem., 31, 585-588.
19. Ананьин Л., Слостенина Е. (1938) Реактивы и препараты лабораторного назначения, вып. 1, с. 283-293, ГОНТИ, Л.-М.
20. Letsinger R. L., Saveridge T. J. (1962) J. Amer. Chem. Soc., 84, 3122-3127.
21. Auwers K., Wehr O. (1904) Lieb. Ann., 334, 310-315.
22. Cahill W. M., Burton I. F. (1940) J. Biol. Chem., 132, 160-168.
23. Pauly H., Weir I. (1910) Chem. Ber., 43, 661-670.
24. Granacher Ch. (1925) Helv. chim. acta, 8, 784-791.
25. Hoffmann K., Bergman H. (1940) J. Biol. Chem., 134, 225-228.
26. Гришштейн Дж., Виниц М. (1965) Химия аминокислот и пептидов, с. 652, «Мир», М.
27. Rydon H. N., Smith P. W. G. (1956) J. Chem. Soc., 3642-3650.
28. Goldschmidt S., Lautenschlager H. (1953) Lieb. Ann., 580, 68-82.
29. Boissonas R. A., Guttmann S., Jaquenoud P.-A. (1960) Helv. chim. acta, 43, 1349-1358.
30. Гершкович А. А., Кибирев В. К., Серебряный С. Б., Терлецкая Я. Т., Козулина Е. П., Белик Я. В. (1976) Химия природн. соед., 4, 507-517.

Поступила в редакцию
15.XII.1978

После доработки
6.III.1979

WATER-SOLUBLE 2-NITRO-4-SULPHOPHENYL ESTERS IN PEPTIDE SYNTHESIS

GERSHKOVICH A. A., SEREBRYANY S. B.

*Institute of Molecular Biology and Genetics, Academy of Sciences
of the Ukrainian SSR, Kiev*

The synthesis has been reported of 2-nitro-4-sulphophenyl (Nsp) esters of protected amino acids. In alkaline aqueous solutions the compounds obtained react readily with free amino acids and peptides giving rise to N-protected peptides. The reaction of Nsp-esters with amino acid or peptide esters in dimethylformamide leads to fully protected peptides. A possibility for obtaining water-soluble reagents for peptide and protein modification is demonstrated by acylation of amino acids using acetic, benzoic, pellargonic and diphenylacetic acid Nsp-esters. The kinetic studies showed that under conditions of peptide synthesis the aminolysis rate for these esters is considerably higher than their hydrolysis.