

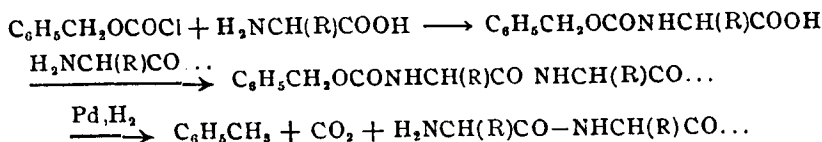
ΦΩΣΦΟΥΡΙΩΣΙΣ ΚΑΙ ΤΡΙΤΥΛΙΩΣΙΣ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΝΕΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΕΩΣ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ *

*Υπό ΛΕΩΝΙΔΑ ΖΕΡΒΑ, Καθηγητού
της 'Οργανικής Χημείας Πανεπιστημίου 'Αθηνών

Εισήχθη τη 20η Ματίου 1956

Μετά την δοκιμασίαν και έπιτυχή εφαρμογήν της καρβοβενζοξυ-μεθόδου των Bergmann—Ζέρβα (1) επί πλείστων θσων άμινοξέων (2,13) και την προσαρμογήν αυτής εις τόν Ιδιαζόντα χημικόν χαρακτήρα της άργινίνης (3,16) και της κυστίνης (17,18), ή ένταξις όποιουδήποτε έκ τών πολυπληθών φυσικών άμινοξέων εις πεπτιδικήν τινα άλυσον, δέν άποτελεί πλέον, ώς πρό-

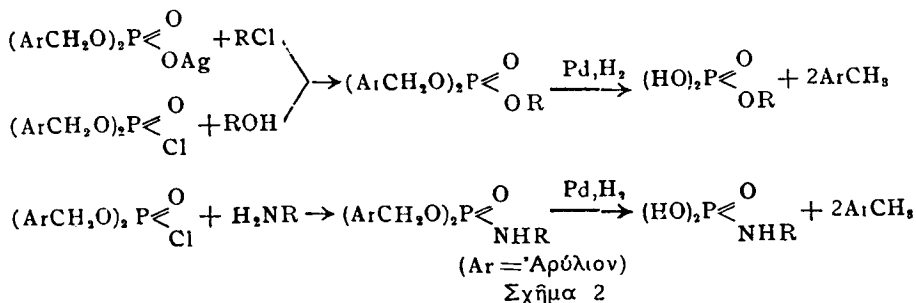
τερον, άκατόρθωτον έγχειρήμα. 'Ως γνωστόν, ή άρχή της καρβοβενζοξυ-μεθόδου πρός σύνθεσιν πεπτιδίων στηρίζεται εις παροδικήν δέσμευσιν της άμινομάδος ένός άμινοξέος διά καρβοβενζοξυλιώσεως, σύζευξιν του προκύπτοντος προϊόντος με άλλο άμινοξύ κατά γνωστάς μεθόδους και έν συνεχεία εις δι' ύδρογονώσεως άπομάκρυνσιν της καρβοβενζοξυ-όμάδος (Σχήμα 1).



Σχήμα 1

'Εν τούτοις ή αύξουσα σημασία τών συνθετικών, πολυπλόκων πολυπεπτιδίων καθωρισμένης συντάξεως και στερεοχημικής διατάξεως δι' ένζυμολογικάς μελέτας ώς και δι' έρευναν φυσικών πολυπεπτιδίων έχόντων ειδικήν φυσιολογικήν δράσιν (άντιβιωτικά τινα, όρμόνοι της ύπόφύσεως κλπ) κατέστησεν άναγκαίαν την ανάπτυξιν και άλλων έφεδρικών μεθόδων, προσηρμοσμένων, κατά τό δυνατόν άκόμη περισσότερο, εις την γνωστήν εύπάθειαν και εις τό εύαλλοιώτον πολλών άμινοξέων. Εις τās διαφόρους νέας μεθόδους, οι ό ποίαι έπροτάθησαν κατά τά τελευταία έτη (19), προσθέτομεν σήμεραν άκόμη δύο, έπεξεργασθείσας εις τό καθ' ήμās 'Εργαστήριον. Κατά την μίαν έξ αύτών, ή άμινομάς τών άμινοξέων δεσμεύεται παροδικώς διά φωσφορυλιώσεως, κατά την άλλην διά τριτυλιώσεως.

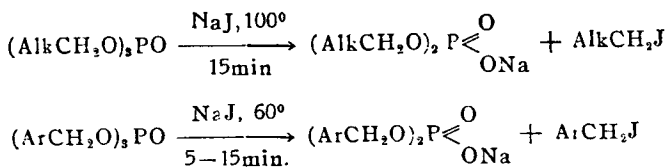
Πρό πολλών ήδη έτών εισηγάγομεν (20) μίαν νέαν μέθοδον φωσφορυλιώσεως, ή όποία συνίσταται εις επίδρασιν διβενζυλοφωσφορικού άργύρου επί άλογονο-παραγώνων και έν συνεχεία εις άπομάκρυνσιν τών βενζυλομάδων έκ του λαμβανομένου προϊόντος διά καταλυτικήν ύδρογονώσεως. 'Αργότερον ό Todd και οι συνεργάται του (21) έχρησιμοποίησαν πρός τόν αυτόν σκοπόν άντι άλλτων του διβενζυλοφωσφορικού όξέος τό χλωρίδιον αύτου, οι δέ Ζέρβας—Δηλάρη (22) τό χλωρίδιον του δι-π νιτροβενζυλοφωσφορικού ώς και τό του δι-π-Ιωδοβενζυλοφωσφορικού όξέος προσδώσαντες ούτω εις την ώς άνω μέθοδον δυνατότητας εύρυτέρας εφαρμογής δι' άπ' εύθείας φωσφορυλιώσιν δξύ- ώς και άμινο-παραγώνων (Σχήμα 2).



Σχήμα 2

Οι ώς άνω διεστέρες παρασκευάζονται εύκόλως κατά την γενικήν μέθοδον τών Ζέρβα—Δηλάρη (22,23) δηλαδή δι' επίδράσεως Ιωδιοϋχου νατρίου (καλίου, άμινονίου, άσβεστίου κλπ.) επί τριεστέρων του φωσφορι-

κού όξέος. Τό Ιωδιοϋχον νάτριον προσβάλλει μόνον πρωτοταγή άλειφατικήν όμάδα ή βενζυλομάδα, ένώ δευτεροταγείς άλκοολομάδες παραμένουσιν υπό τās συνθήκας αυτές άπρόσβλητοι (Σχήμα 3).



(Alk = 'Αλκύλιον, Ar = 'Αρύλιον)

Σχήμα 3

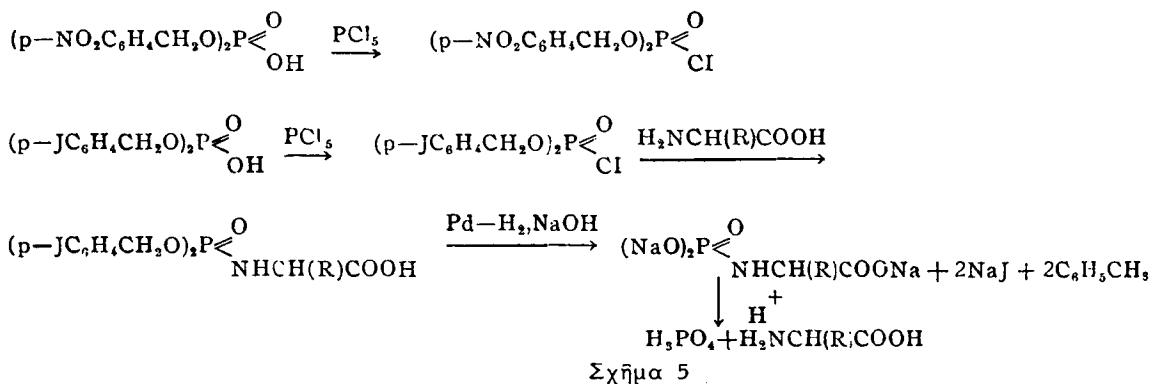
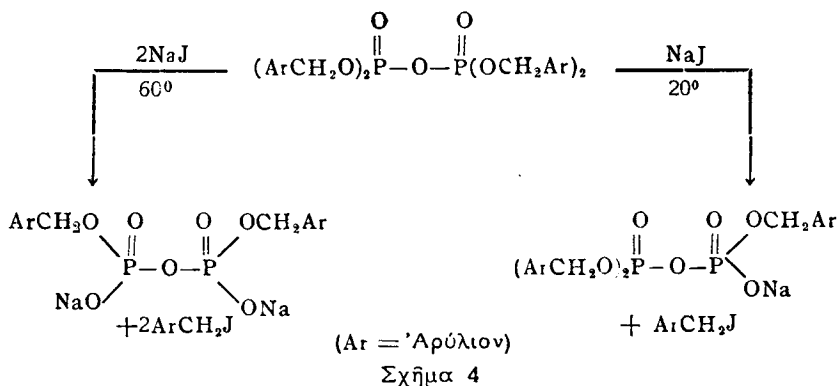
* 'Ανεκοινώθη εις τό 14ον Διεθνές Συνέδριον Καθαράς και 'Εφαρμοσμένης Χημείας έν Ζυρίχη (20—28 'Ιουλίου 1955) υπό του

ιδίου του καθηγητού κ. Ζέρβα. Εις τό άρχικόν κείμενον προσετέθησαν μεταγενέστεραί τινες έργασίαι.

Συμφώνως πρὸς νεωτέρας ἐρεῦνας τῶν Ζέρβα—Δη-
λάρη (²³α) ἀνάλογον συμπεριφορὰν δεικνύουν καὶ οἱ οὐ-
δέτεροι ἐστέρες τοῦ πυροφωσφορικοῦ ὀξέος (Σχῆμα 4).

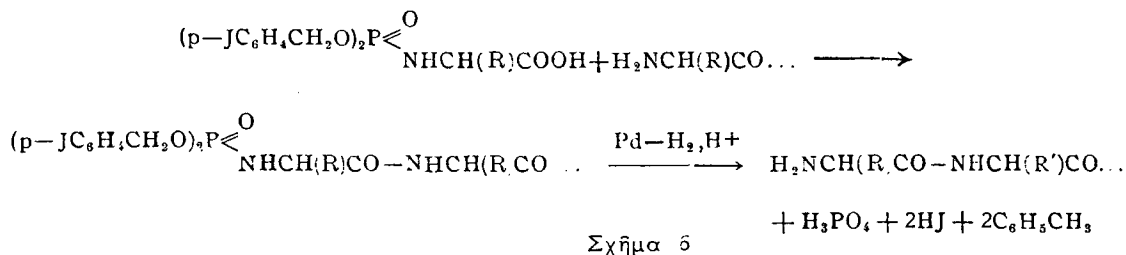
Ἐκ τῶν διεστέρων τοῦ φωσφορικοῦ ὀξέος ἰδιαιτέ-
ραν σημασίαν διὰ τὸν προκείμενον σκοπὸν ἔχουν ὁ
δι-π νιτροβενζυλο- καὶ ὁ δι-π-ἰωδοβενζυλεστέρ, διότι
δίδουν σταθερά, κρυσταλλικὰ χλωρίδια (²³). Ὡς κατε-
δείξαμεν μὲ τὸν κ. Κατσόγιαννην (²⁴), διὰ συζεύξεως
τῶν χλωριδίων τούτων μὲ ἐστέρας τῶν ἀμινοξέων καὶ
σαπωνοποίησης τῶν σχηματιζομένων προϊόντων λαμ-

βάνονται δι-π νιτρο- ἢ δι-π-ἰωδοβενζυλοφωσφορυλα-
μινοξέα, τὰ ὁποῖα διὰ καταλυτικῆς ὑδρογόνωσης εἰς
ἀλκαλικὸν περιβάλλον μετατρέπονται εἰς ἄλατα τῶν
N-φωσφορυλιωμένων ἀμινοξέων. Εἰς τὰς τελευταίας
αὐτάς ἐνώσεις, ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὰ διβενζυλοπαρά-
γωγά των, ὁ δεσμὸς P—N εἶναι πολὺ εὐπαθὴς ἐναντι
ὀξέων. Ἡδὴ εἰς pH = 4 καὶ εἰς συνήθη θερμοκρασίαν
ὁ δεσμὸς P—N ὑδρολύεται ποσοτικῶς ἐντὸς ὀλίγων
λεπτῶν (Σχῆμα 5).



Ἐὰν τὰ ὡς ἄνω διβενζυλοφωσφορυλο ἀμινοξέα συ-
ζευθοῦν βάσει γνωστῶν μεθόδων μὲ ἐστέρας ἄλλων
ἀμινοξέων, σαπωνοποιηθοῦν δὲ τὰ οὕτω λαμβανόμενα
προϊόντα, τότε κατὰ τὴν καταλυτικὴν ὑδρογόνωσιν
εἰς ὄξιον περιβάλλον προκύπτουν ἐλεύθερα πεπτιδία,

διότι ὑπὸ τὰς συνθήκας αὐτάς τὸ ἐνδιαμέσως σχημα-
τιζόμενα N-φωσφορυλιωμένα πεπτιδία ἀποφωσφορυ-
λιθύνονται πάραυτα. Ἐπὶ τῆς ἀρχῆς αὐτῆς βασίζεται ἡ
μία ἐκ τῶν δύο νέων μεθόδων συνθέσεως πεπτιδίων,
τὴν ὁποῖαν ἐπεξεργάσθημεν εἰς τὸ καθ' ἡμᾶς Ἔργα-
στήριον τῆ συνεργασίας τοῦ κ. Βαλκανᾶ (Σχῆμα 6).



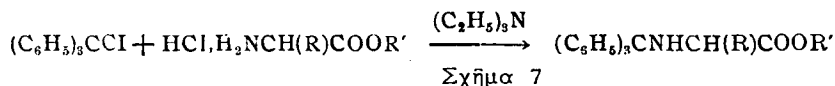
Ὡς ἀνωτέρω ἐλέχθη, κατὰ τὴν δευτέραν νέαν μέ-
θοδον συνθέσεως πεπτιδίων ἡ παροδικὴ δέσμευσις τῆς
ἀμινομάδος ἐπιτυγχάνεται διὰ τριτυλιώσεως. Ἡ μέθο-
δος αὕτη διεμορφώθη εἰς τὸ καθ' ἡμᾶς Ἔργαστήριον
ἀρχικῶς μετὰ τοῦ κ. Θεοδωροπούλου (²⁵) ἀνεπτύχθη
δὲ περαιτέρω τῆ συνεργασίας τοῦ κ. Στελακάτου (²⁶)
Μὲ τὰ τριτυλοπαράγωγα τῶν ἀμινοξέων καὶ τὴν χρη-
σιμοποίησιν αὐτῶν πρὸς σύνθεσιν πεπτιδίων ἡσυχολή-

θησαν συγχρόνως μὲ ἡμᾶς καὶ οἱ Hillmann — Elies'
Hillmann καὶ Jatzkewitz (²⁷), πρό τινος δὲ καὶ οἱ
Amiard, Heymes καὶ Velluz (²⁸).

Ἡ N-τριτυλογλυκίνη καὶ ἡ N-τριτυλο- DL-ἀλανίνη
εἶναι ἀπὸ μακροῦ γνωσταί, παρασκευασθεῖσαι ὑπὸ τοῦ
Helfferich καὶ τῶν συνεργατῶν του (²⁹) δι' ἐπιδράσεως
τριφαινυλοχλωρομεθανίου ἐπὶ ἐστέρων τῶν ἀμινοξέων,
παρουσία πυριδίνης καὶ ἐν συνεχεῖα σαπωνοποίησεως

των ληφθέντων προϊόντων. Εάν αντικατασταθῆ ἡ πυριδίνη διὰ τριαιθυλαμίνης (25, 26, 27, 28), τότε ἐπιτυγχά-

νεται εὐκόλως ἡ τριτυλίωσις ἐστέρος οἰουδήποτε ἀμινοξέος ἢ πεπτιδίου. Ὑπὸ τὰς συνθήκας αὐτὰς τριτυλιούται καὶ ἡ σουλφυδρική ὁμάς τῆς κυστίνης (Σχῆμα 7).



*Ὅπως ὅμως διεπιστώσαμεν ἡμεῖς, ὡς καὶ ὅλοι οἱ ἐρευνῆται οἱ ἀσχοληθέντες μὲ τὸ θέμα τοῦτο, ἡ σαπωνοποίησης τῶν λαμβανομένων ἐστέρων, ἐξαιρουμένων τῶν ἐστέρων τῆς τριτυλογλυκίνης καὶ τῆς τριτυλοαλανίνης, εἶναι ἐξαιρετικῶς δυσχερῆς καὶ κατορθοῦται μόνον εἰς ὑψηλότερας θερμοκρασίας παρουσία περισσεύσεως πυκνῶν ἀλκαλίων. *Ὁξίνος ὑδρόλυσις τῆς ἐστερομάδος δὲν δύναται ν' ἀντιμετωπισθῆ, διότι ὡς εἶναι ἀπὸ πολλοῦ γνωστὸν (29α) ὁ δεσμὸς $(C_6H_5)_3C-N$ εἶναι ἐξαιρετικῶς εὐπαθὴς ἔναντι ὀξέων.

Κατὰ τὴν γνώμην μας ἡ ἀλκαλικὴ αὕτη ὑδρόλυσις δυσχεραίνεται κυρίως λόγω στερεοχημικῆς παρεμπόδισεως ἀσκομένης ὑπὸ τῆς τριτυλομάδος. Μία «ὄγκωδης» ρίζα R ἐπαυξάνει τὴν στερεοχημικὴν παρεμπόδισιν, τὴν ὅποιαν ἡ τριτυλομάς ἐξασκεῖ ἤδη κατὰ τὴν σαπωνοποίησιν ἐστέρων τῆς τριτυλογλυκίνης καὶ τριτυλοαλάνης. Τοιαύτη στερεοχημικὴ παρεμπόδισις δὲν εἶναι πλέον δυνατὴ εἰς ἐστέρας τριτυλοπεπτιδίων, οἱ ὅποιοι ὡς ἐκ τούτου σαπωνοποιοῦνται εὐκόλως εἰς συνήθη θερμοκρασίαν καὶ μὲ τὴν ἐκ τῆς στοιχειομετρικῆς ἐξισώσεως προβλεπομένην ποσότητα ἀλκάλειος (Σχῆμα 8).

Αἱ ὡς ἄνω δυσχερεῖαι παρασκευῆς τριτυλαμινοξέων χωρὶς ἐφαρμογὴν ὑψηλοτέρων θερμοκρασιῶν καὶ χωρὶς χρησιμοποίησιν περισσεύσεως πυκνῶν ἀλκαλίων, δηλαδὴ ὑπὸ συνθήκας ἀποκλειούσας ρακεμίωσιν τοῦ ὀπτικῶς ἐνεργοῦ ἀμινοξέος, δύνανται νὰ ἀποφευχθοῦν ὡς ἑξῆς:

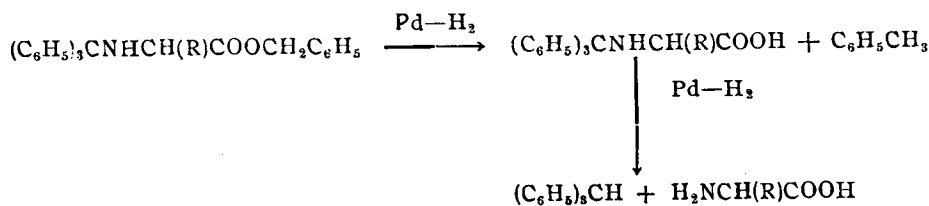
*Ἀντὶ ἀλκυλεστέρων τῶν ἀμινοξέων τριτυλιούνται οἱ βενζυλεστέρες αὐτῶν, οἱ ὅποιοι ἐν συνεχείᾳ ὑδρογονοῦνται καταλυτικῶς. Διεπιστώσαμεν, ὅτι ὁ δεσμὸς $(C_6H_5)_3C-N$ ὑδρογονοῦται μὲν καταλυτικῶς, ἀλλὰ πολὺ βραδύτερον τοῦ δεσμοῦ $C_6H_5CH_2-O$. Διακοπτομένης ὡς ἐκ τούτου τῆς καταλυτικῆς ὑδρογονώσεως

Σαπωνοποίησις ἐστέρων N-τριτυλαμινοξέων καὶ τριτυλοπεπτιδίων (ἀρχικὴ συγκέντρωσις=0,005 Mol εἰς 5 κ. ἐκ. N-μεθυλαλκοολικοῦ KOH καὶ 5 κ. ἐκ. διοξάνης].

	Χρόνος εἰς λεπτὰ	% ὑδρό- λυσις
$(C_6H_5)_3CNHCH_2COOCH_3$	5	63
»	10	80
$(C_6H_5)_3CNHCH_2CO-NHCH_2COOCH_3$	5	93
$(C_6H_5)_3CNHCHCOOCH_3$ CH ₃	10	13
$(C_6H_5)_3CNHCH_2CO-NHCHCOOCH_3$ CH ₃	5	88
$(C_6H_5)_3CNHCHCOOCH_3$ CH ₂ C ₆ H ₅	30	9
$(C_6H_5)_3CNHCH_2CO-NHCHCOOCH_3$ CH ₂ C ₆ H ₅	5	85

Σχῆμα 8

μετὰ τὴν ἀπορρόφωσιν περίπου 1,1 γραμμομορίου ὑδρογόνου, λαμβάνεται τριτυλαμινοξὺ εἰς ἀπόδοσιν περίπου 70%. Εάν ἡ καταλυτικὴ ὑδρογόνωσις συνεχισθῆ μέχρι τέλους, ἀποσπᾶται καὶ ἡ τριτυλομάς ὑπὸ μορφὴν τριφαινυλομεθανίου (Σχῆμα 9).

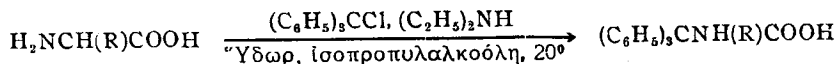


Σχῆμα 9

Εἰς ἄλλος, πλέον ἀπλοῦς τρόπος παρασκευῆς τριτυλαμινοξέων εἶναι ὁ ἑξῆς:

Εἶναι πράγματι ἐκπληκτικόν, ὅτι παρὰ τὴν γνωστὴν εὐπάθειαν τοῦ τριτυλοχλωριδίου ἔναντι ὕδατος καὶ ἰδίως ἔναντι ἀλκαλικῶν διαλυμάτων καὶ παρὰ τοὺς ἀντιθέτους ἰσχυρισμοὺς τῆς βιβλιογραφίας (27), εἶναι δυνατὸν ὑπὸ ὠρισμένας συνθήκας νὰ ἐπιτευχθῆ ἀπ' εὐθείας τριτυλίωσις ἀμινοξέων εἰς ὑδατικά ἀλκαλικά διαλύματα. Πρὸς τοῦτο τὸ ἀμινοξὺ διαλύεται εἰς

μῖγμα ὕδατος-ἰσοπροπυλικῆς ἀλκοόλης ὑπὸ ταυτόχρονον προσθήκην διαιθυλαμίνης, ἀκολούθως δὲ προστίθεται ὑπὸ ἰσχυρὰν ἀνατάραξιν τὸ τριτυλοχλωρίδιον εἰς πολλὰς δόσεις κατὰ τὴν διάρκειαν μιᾶς ὥρας. Κατὰ τὸν τρόπον αὐτὸν παρεσκευάσαμεν τὰ μέχρι τοῦδε ἄγνωστα τριτυλοπαράγωγα τῆς γλυκίνης, L-αλανίνης, L-φαινυλαλανίνης, L-βαλίνης, L-λευκίνης, L-ἀσπαργίνης, L-γλουταμίνης, L-θρυπτοφάνης, L-μεθειονίνης, L-ἰστιδίνης, κ.τ.λ. (Σχῆμα 10).



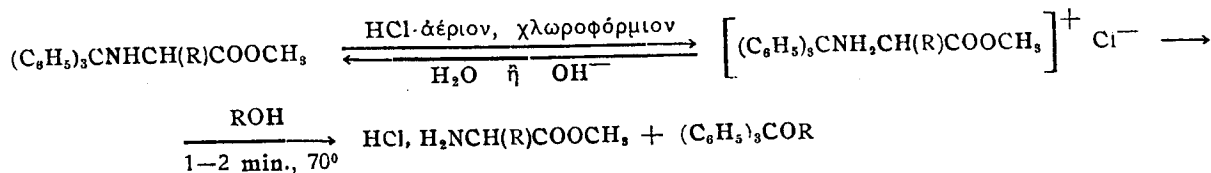
Σχῆμα 10

Διὰ τῆς τριτυλίωσεως ἐξασθενεῖ κατὰ πολὺ ὁ βασικὸς χαρακτήρ τῆς ἀμινομάδος, χωρὶς ὅμως νὰ ἀναί-

ρῆται πλήρως, ἐφ' ὅσον κατ' ἀρχὴν εἰς τριτυλαμινοξέα εἶναι καὶ δευτεροταγεῖς ἀμίνοι. Διατηρουμένων οὕτω

των άμφολυτικών ιδιοτήτων, τὰ τριτυλαμινοξέα είναι άφ' ένός μέν άσθενή όξέα (pH ένός 0,1 μορ. ύδατικού διαλύματος μετά νατρίου άλατος τριτυλαμινοξέος είναι 9,5), άφ' έτέρου, ίδίως οι έστέρες αυτών, είναι πολύ άσθενείς βάσεις, δίδουσαι εις άνυδρα διαλυτικά μέσα άλατα με ίσχυρά όξέα (π.χ. HCl), τὰ όποια όμως ύδρολύονται πλήρως παρουσία ύδατος. Έάν τὰ άλκοο-

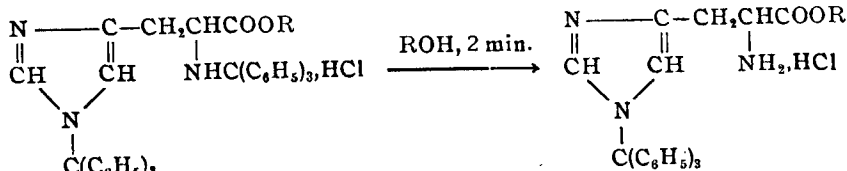
λικά διαλύματα των ύδροχλωρικών τούτων άλάτων θερμανθούν επί 1—2 λεπτά εις 60°—70°, τότε λαμβάνει γώρην άποτριτυλίωσης υπό σχηματισμόν τριτυλαθέρος και ύδροχλωρικών άλάτων των έστέρων των άμινοξέων (Σχήμα 11). Άναλόγως συμπεριφέρονται και οι έστέρες των τριτυλοπεπτιδίων.



Σχήμα 11

Έφαρμογή της αντίδράσεως ταύτης επί του έστέρος της διτριτυλο-L-ιστιδίνης ειχεν ως άποτέλεσμα την άπόσπασιν μόνον μιās τριτυλομάδος και συγκεκριμένως της συνδεδεμένης με την α-άμινομάδα της Ιστιδίνης. Τό μονοτριτυλοπαράγωγον τούτο έχει ιδιαιτέραν

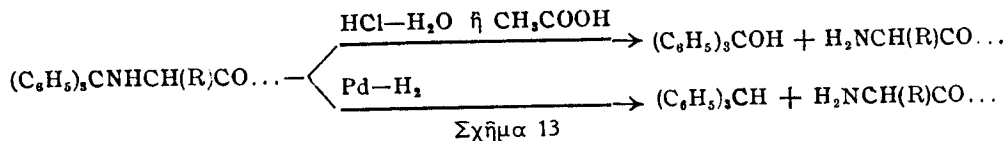
σημασίαν, διότι δύναται νά χρησιμοποιηθῆ διά συνθέσεις πεπτιδίων, χωρίς νά ύφιστάται κίνδυνος έπιπλοκών εκ μέρους του ίμιδαζολικού δακτυλίου της Ιστιδίνης (Σχήμα 12).



Σχήμα 12

πρός άπόσπασιν της τριτυλομάδος δέν είναι άπαραίτητος ή άπομόνωσης των ως άνω ύδροχλωριδίων, αλλά άρκεί προς τούτο επίδρασις Ισοδυνάμου ποσότητος ύδροχλωρικού όξέος ή άραιού όξεικού όξέος επί των τριτυλοπαράγωγων των άμινοξέων και πεπτιδίων

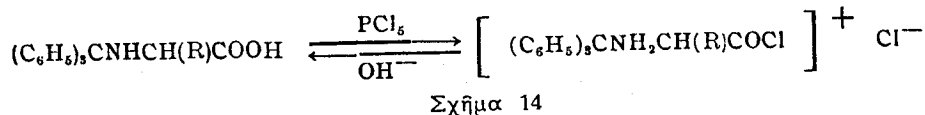
ώς και των έστέρων αυτών. Η άπόσπασις της τριτυλομάδος δύναται νά έπιτευχθῆ και διά καταλυτικής ύδρογονώσεως. Υπό τας συνθήκας αυτές άποτριτυλιόυται έπίσης και ό ίμιδαζολικός δακτύλιος της Ιστιδίνης (Σχήμα 13).



Σχήμα 13

Ό άμφολυτικός χαρακτήρ των τριτυλαμινοξέων καταφαίνεται περαιτέρω και εκ του γεγονότος, ότι ταύτα

υπό την επίδρασιν πενταχλωριούχου φωσφόρου μετατρέπονται εις χλωριδια ύδροχλωριδια (Σχήμα 14).

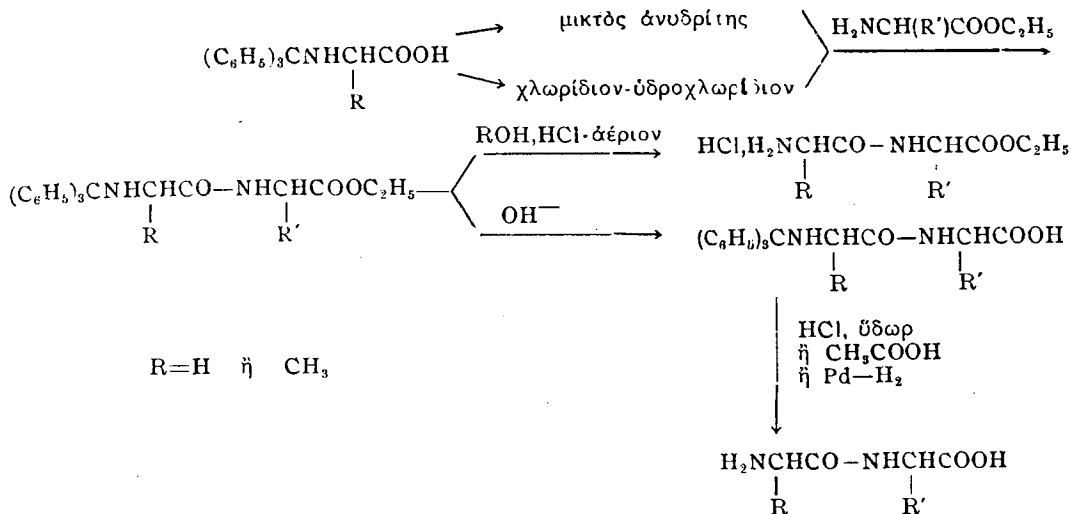


Σχήμα 14

Άφου έξεθέσαμεν τας μεθόδους παρασκευής καθαρών, όπτικώς ένεργών τριτυλαμινοξέων ως και τας μεθόδους άποτριτυλίωσης αυτών, θα άσχοληθώμεν τώρα με τό πρόβλημα της χρησιμοποίησεως των τριτυλαμινοξέων διά συνθέσεις πεπτιδίων.

Η σύζευξις της τριτυλογλυκίνης και τριτυλ-άλανίνης μετ' άλλων άμινοξέων δέν παρουσιάζει δυσχερείας και δύναται νά έπιτευχθῆ (²⁵, ²⁶, ²⁷, ²⁸), κατά την

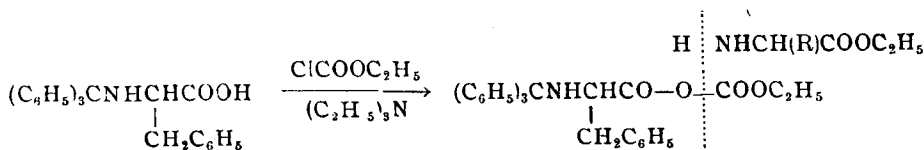
μέθοδον των μικτών άνυδριτών (²⁹) ή με την βοήθειαν των αντίστοιχών χλωριδίων ύδροχλωριδίων (²⁵, ²⁶). Οι σχηματιζόμενοι τριτυλο-διπεπτιδεστέρες δύναται νά μετατραπούν, βάσει των άνωτέρω περιγραφεισών μεθόδων, είτε εις ύδροχλωριδια των διπεπτιδεστέρων είτε μετά την σαπωνοποίησιν και άποτριτυλίωσιν αυτών εις έλεύθερα διπεπτιδια (Σχήμα 15).



Σχήμα 15

“Όλα τὰ ἄλλα τριτυλαμινοξέα δὲν συζεύγνυται μετ’ ἄλλων ἀμινοξέων κατὰ τὴν μέθοδον τῶν μικτῶν ἀνυδριτῶν (25, 26, 27, 28). Οὕτω κατὰ τὴν ὡς ἄνω σύζευξιν τῶν τριτυλοπαραγῶγων τῆς L βαλίνης, L-λευκίνης, L-φαινυλαμίνης, L-θρυπτοφάνης, L-ἀσπαραγίνης κλπ. με’ ἐστέρας ἀμινοξέων, λαμβάνονται σχεδὸν ποσοτικῶς

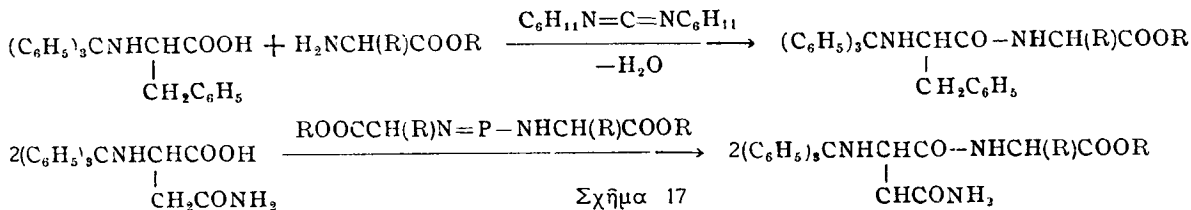
τὰ ἀρχικῶς χρησιμοποιηθέντα τριτυλαμινοξέα. Σχηματίζονται βεβαίως καὶ εἰς τὰς περιπτώσεις αὐτὰς μικτοὶ ἀνυδρίται, ἢ ὑπὸ τῆς τριτυλομάδος ὅμως ἀσκουμένη στερεοχημικῆ παρεμπόδισις ἐξαναγκάζει τοὺς ἀνυδρίτας εἰς ἀντίδρασιν πρὸς ἄλλην, μὴ ἐπιθυμητὴν κατεύθυνσιν (Σχῆμα 16).



Σχήμα 16

Ὡς ἐκ τούτου ἐδοκιμάσθησαν ἐν συνεχείᾳ ἄλλαι μέθοδοι συζεύξεως, τῶν ὁποίων ὁ μηχανισμός, ὡς ἐκ τῆς φύσεως τῶν, δὲν ἐπηρεάζεται εἰς τόσον μεγάλην κλίμακα ἀπὸ τὴν ὡς ἄνω στερεοχημικὴν παρεμπόδισιν. Οὕτως ἐπετεύχθη ἡ σύζευξις τριτυλαμινοξέων με’ «ὄγκῳδες» R (π.χ. τριτυλοπαραγῶγων τῆς L-φαινυ-

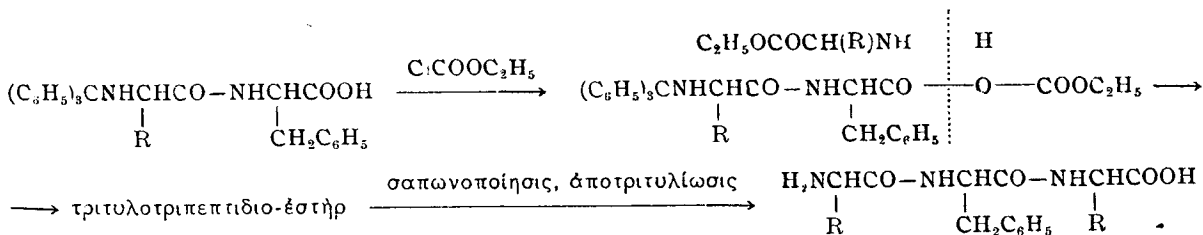
λαλανμίνης, L-λευκίνης, L-ἀσπαραγίνης κλπ.) μετ’ ἄλλων ἀμινοξέων (31) κατὰ τὴν μέθοδον τῶν Goldschmidt-Lauterschlagel (32) ὡς καὶ κατὰ τὴν μέθοδον Sheehan (33), με’ μετρίας ὅμως ἀποδόσεις, εἰς πεπτιδικὰ παράγωγα (Σχῆμα 17).



Σχήμα 17

“Όλαι αἱ τελευταῖαι αὗται δυσχέρειαι ἐξαφανίζονται προκειμένου περὶ συζεύξεως τριτυλοπεπτιδίων μετ’ ἄλλων ἀμινοξέων, προκειμένου δηλαδὴ περὶ συνθέσεως πολυπεπτιδίων (25, 26). Εἰς τὰς περιπτώσεις αὐτὰς, ἡ τριτυλομάς δὲν εὐρίσκεται εἰς ἀμεσον γει-

τονίαν πρὸς τὸ καρβοξύλιον καὶ δὲν δύναται συνεπῶς νὰ ἀσκήσῃ στερεοχημικὴν παρεμπόδισιν. Ὡς ἐκ τούτου ἡ σύζευξις τριτυλοπεπτιδίων μετ’ ἄλλων ἀμινοξέων κατὰ τὴν μέθοδον τῶν μικτῶν ἀνυδριτῶν εἶναι πολὺ εὐκόλος (Σχῆμα 18).



Σχήμα 18

Κατά την γνώμη μας, η κυρία σημασία της ως άνω τριτυλομεθόδου δεν έγκειται εις την χρησιμοποίησιν της προς σύνθεσιν διπεπτιδίων, τὰ ὅποια ἄλλως τε παρασκευάζονται εὐκόλως μετὰ την βοήθειαν τῆς καρβοβενζοξυ-μεθόδου, ἀλλὰ εις την σύνθεσιν τρι-καί γενικῶς πολυπεπτιδίων. Προκειμένου περὶ ἐπιμηκύνσεως τῆς πεπτιδικῆς ἀλύσου εἶναι προτιμότερον νὰ προστατευθῆ παροδικῶς ἢ ἀμινομάς διὰ τριτυλιώσεως ἀντὶ διὰ καρβοβενζοξυλιώσεως. Τὰ καρβοβεν-

ζοξυ-παράγωγα πολλῶν πολυπεπτιδίων εἶναι δυσδιάλυτα εἰς ὀργανικοὺς διαλύτας καὶ συχνὰ ὑδρογονοῦνται καταλυτικῶς πολὺ βραδέως· ἡ ἀναγωγὴ των δι' ἄλλων μέσων (17, 18) δὲν εἶναι πάντοτε ἐλευθέρα ἐπιπλοκῶν. Τοῦναντίον, τὰ τριτυλοπαράγωγα τῶν πεπτιδίων εἶναι εὐδιάλυτα εἰς ὀργανικοὺς διαλύτας καὶ δύνανται ν' ἀπαλλαγῶν εὐκόλως καὶ ὑπὸ ἐξαιρετικῶς ἥπιος συνθήκας ἀπὸ τὴν προστατευτικὴν ὁμάδα, δηλαδὴ τὴν τριτυλομάδα.

S U M M A R Y

PHOSPHORYLATION AND TRITYLATION OF AMINO ACIDS. NEW METHODS FOR PEPTIDE SYNTHESIS By LEONIDAS ZERVAS, University of Athens.

1) Under mild conditions sodium or barium iodide brings about cleavage of a single primary alkyl-oxygen (or benzyl-oxygen) bond in a triester of phosphoric acid and one or two benzyl-oxygen bonds in a tetraester of pyrophosphoric acid.

2) The di-p-nitrobenzyl and di-p-iodobenzylphosphoryl chlorides which were prepared from the corresponding diesters, can be used for phosphorylation, as they react readily with hydroxy and amino compounds; the p-substituted benzyl groups were removed by catalytic hydrogenation.

3) The dibenzylphosphoro-amino acids, prepared as above, were coupled with other amino acids giving the corresponding dipeptide derivatives; catalytic hydrogenation of the coupling products in an acidic medium brought about formation of a dipeptide, because under this conditions not only the benzyl groups were removed but also the P-N bond of the phosphoro-dipeptide was split off.

4) Two new methods for the preparation of N-tritylamino acids are described consisting a) in tritylation of amino acids in aqueous solution in the presence of diethylamine and b) in selective hydrogenolysis of the benzyl-oxygen bond of the benzyl esters of tritylamino acids.

5) The so prepared N-tritylamino acids were coupled with other amino acids giving N-trityl derivatives of dipeptides. The so formed tritylpeptides were detritylated to the corresponding free peptides by the action of one equivalent of hydrochloric acid or aqueous acetic acid or by catalytic hydrogenation.

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

- M. Bergmann und L. Zervas, Ber., **65**, 1192, 1201 (1932).
- M. Bergmann, L. Zervas, H. Schleich und F. Leinert, Zeitschr. physiol. Chem. **212**, 72 (1932).
- M. Bergmann, L. Zervas und J. P. Greenstein, Ber., **65**, 1692 (1932).
- M. Bergmann, L. Zervas und H. Schleich, Ber., **65**, 1747 (1932).
- M. Bergmann, L. Zervas und L. Salzmann, Ber., **66**, 1288 (1933).
- M. Bergmann und L. Zervas, Zeitschr. physiol. Chem. **224**, 11 (1934).
- M. Bergmann, L. Zervas, L. Salzmann und H. Schleich, Zeitschr. physiol. Chem. **224**, 17 (1934).
- M. Bergmann, L. Zervas, H. Rinke und H. Schleich, Zeitschr. physiol. Chem. **224**, 26, 33 (1934).
- M. Bergmann, L. Zervas und H. Rinke, Zeitschr. physiol. Chem. **224**, 40 (1934).
- M. Bergmann, L. Zervas und H. Schleich, Zeitschr. physiol. Chem. **224**, 45 (1934).
- M. Bergmann, L. Zervas, J. S. Fruton, F. Schneider und H. Schleich, J. Biol. Chem., **109**, 325 (1935).
- M. Bergmann, L. Zervas and J. S. Fruton, J. Biol. Chem., **111**, 225 (1935).
- M. Bergmann, L. Zervas and W. F. Ross, J. Biol. Chem., **111**, 245 (1935).
- M. Bergmann, L. Zervas and J. S. Fruton, J. Biol. Chem. **115**, 593 (1935).
- M. Bergmann, L. Zervas, J. Biol. Chem., **113**, 341 (1936).
- D. T. Gi-ih und F. H. Carpenter, Am. Chem. Soc., **75**, 5872 (1953). G. W. Anderson, Am. Chem. Soc., **75**, 6081 (1953).
- R. H. Siffert und V. du Vigneaud, J. Biol. Chem., **108**, 753 (1935).
- C. R. Harington and T. H. Mead, Biochem. J., **29**, 1662 (1935).
- J. G. Sheehan and V. S. Frank, Am. Chem. Soc., **71**, 1856 (1949). C. M. Stevens and R. Watanabe, Am. Chem. Soc., **72**, 725 (1950). D. A. Kidd and F. E. King, Nature, **162**, 776 (1948). G. C. H. Ehrensward, Nature, **159**, 500 (1947). V. du Vigneaud and O. K. Behrens, J. Biol. Chem. **117**, 27 (1937). Th. Wieland und W. Schaffer, Ann. **576**, 104 (1952). F. Weygand und E. Leising, Angewandte Chemie, **64**, 136 (1952), Ber., **87**, 243 (1954).
- L. Zervas, Naturwissenschaften, **27**, 317 (1939). Κ. Παναγόπουλος, διδακτορική διατριβή, 'Αθήναι 1940.
- F. R. Atherton, H. T. Openshaw and A. R. Todd, J. Chem. Soc. **382**, 660 (1945).
- L. Zervas and I. Dilaris, Am. Chem. Soc. **77**, 5351 (1955).
- E. Παπαδημητρίου—Δηλάρη, διδακτορική διατριβή, 'Αθήναι. 1948.
- L. Zervas und I. Dilaris, Ber. **89** 925 1956.
- L. Zervas und P. Katsoyannis, Am. Chem. Soc. **27**, 5356 (1955). Π. Κατσόγιαννης, διδακτορική διατριβή, 'Αθήναι, 1952.
- L. Zervas und D. Theodoropoulos, Am. Chem. Soc. **78**, 1956, Τεύχη 'Απριλίου. Δ. Θεοδωρόπουλος, διδακτορική διατριβή, 'Αθήναι, 1953.
- Γ. Στελακάτος, διδακτορική διατριβή, 'Αθήναι, 1954.
- H. Hillmann-Elies, G. Hillmann und H. Jatzkewitz, Zeitschr. für Naturforschung, **66**, 445 (1953).
- G. Amiard, R. Heymes et L. Velluz, Bull. Soc. Chim. France, 191 (1955).
- L. Helferich, L. Moog und A. Juenger, Ber., **58**, 883 (1925).
- K. Elbs, Ber., **17**, 703, 741 (1884), Ber., **30**, 2044 (1897).
- Th. Wieland und H. Bernhard, Ann., **552**, 190 (1951). R. H. Boissonas, Helv. Chim. Acta, **34**, 874 (1951). J. R. Vaughan and R. L. Osato, Am. Chem. Soc., **73**, 553 (1951).
- L. Zervas, Résumés des Communications XIVE Congrès International de Chimie pure et appliquée, 1955, σελ. 144. G. Amiard, R. Heymes et L. Velluz, Bull. Chim. France, 1464 (1955).
- S. Goldschmidt und H. Lautenschlager, Ann., **580**, 68 (1951). S. Goldschmidt und Ch. Jutz, Ber., **86**, 116 (1953).
- J. C. Sheehan, Am. Chem. Soc., **75**, 1068 (1955).