

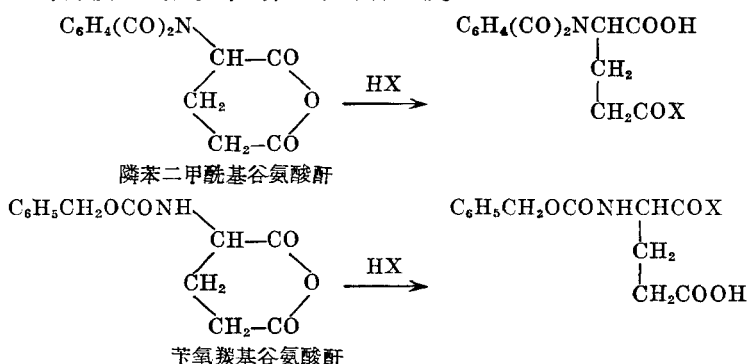
N-酰化內酰胺在肽類合成中的應用*

J. Rudinger

肽類合成中的主要問題是酰胺鍵的形成。除此以外，還要把組成的氨基酸中不參加反應的氨基或羧基，適當地保護起來。對多官能的氨基酸，更需要封住某些其他官能團。這個問題，對一氨基二羧酸(谷氨酸，天門冬氨酸)，或二氨基一羧酸(賴氨酸，鳥氨酸等)，更為複雜。因為這裏要封住的基團和要參加組成肽鍵的基團屬於同一類型，活潑度相差很少。

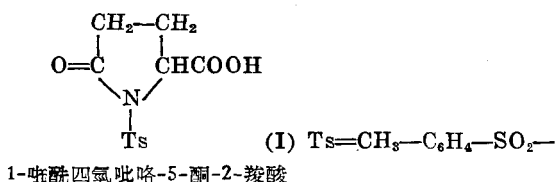
我們在捷克斯洛伐克科學院化學研究所的工作是和谷氨酸及 α, γ -二氨基丁酸的衍生物特別有關係的。谷氨酸之所以重要，是因為它是許多天然蛋白質及肽類的組成成份——例如：谷胱甘肽，葉酸屬，某些細菌鞘膜所含的肽等等；而且又是甜菜製糖工業中的副產品。我們對 α, γ -二氨基丁酸發生興趣，是因為它是多黏菌素屬(Polymyxin)抗生素的主要成份，而二氨基丁酸又是很容易從谷氨酸通過 Schmidt 降解得到的。

要使谷氨酸上兩個羧基中的一個有選擇地進行反應，早先的方法，主要是根據在谷氨酸的 γ -羧基上有可能選擇酯化，或是根據有可能製備酰化谷氨酸的酸酐，如苄氧羰基谷氨酸酐，磷苯二甲酰基谷氨酸酐等，這些酸酐中兩個羧基中有一個比較容易和醇或胺作用。磷苯二甲酰基谷氨酸酐生成谷氨酸的相當純粹的 γ -衍生物^[1]，而苄氧羰基谷氨酸酐主要是生成 α -衍生物，和一些 γ -衍生物，後者的量是隨着反應條件而變動的^[2,3]。



兩種類型的衍生物可以用碳酸鈉分部抽提來分離^[2]，也可以很方便地用逆流分溶法來分離^[4]。

為了要尋找新的方法來選擇性地製備谷氨酸的 α -或 γ -衍生物，我們研究了對甲苯磺酰谷氨酸(吡酰谷氨酸)的反應。我們發現在某些脫水條件下這個酸不生成正常的酸酐，而生成 1-吡酰四氫吡咯-5-酮-2-羧酸(吡酰四氫吡咯酮酸)(I)的衍生物。



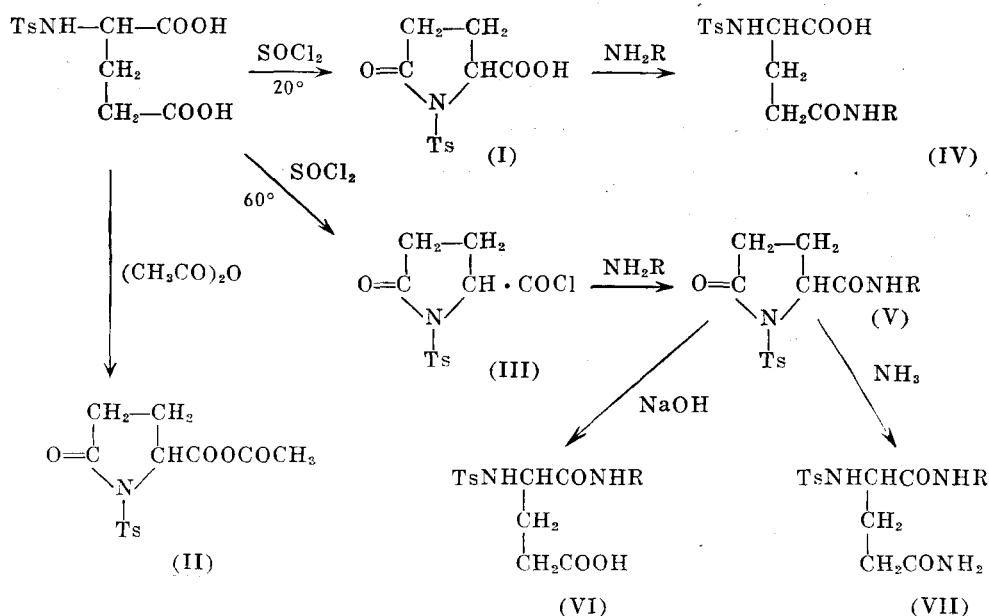
Harington 及 Moggridge^[5] 已知道在吡酰谷氨酸與乙酸酐作用時形成酸(I)與乙酸之混合

* 本文係捷克斯洛伐克科學院 J. Rudinger 博士於 1956 年 11 月在中國科學院化學研究所的講稿。

酐(II)。我們發現^[6]吡啶谷氨酸，與亞硫酰氯在室溫作用，生成吡啶四氫吡咯酮酸(I)，產率很好；與亞硫酰氯共沸則生成吡啶四氫吡咯酮酰氯(III)；與光氣在有叔鹼存在時作用，生成酸(I)之叔鹼鹽；與三氯化磷作用後加水，生成酸(I)之水合物；而即使吡啶谷氨酸與乙酸酐在鹼的水溶液中作用，亦生成同樣的水合物^[7]。

在吡啶四氫吡咯酮酸(I)中，谷氨酸的 γ -羧基形成吡啶內酰胺的一部份，這個亞酰胺基可以預期是比較活潑的。實際上我們發現^[6]這個內酰胺環不但可以水解，而且也可以醇解，或胺解以生成吡啶谷氨酸的 γ -酰胺(IV)。這樣，吡啶谷酰胺及其取代物就容易得到了。

另一方面，吡啶四氫吡咯酮酰氯(III)的酰氯基較亞酰胺基要活潑得多。因此，酰氯與醇作用生成吡啶四氫吡咯酮酸的酯，與胺類在緩和的條件下作用生成吡啶四氫吡咯酮酰胺(V)。這些衍生物仍舊含有活潑的亞酰胺基，可以在水解後生成谷氨酸的 α -酰胺^[5,6](VI)，在胺解後生成谷氨酸的 α , γ -酰胺^[6](VII)。



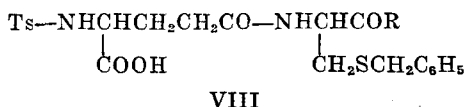
如果把這些反應中的胺換成氨基酸酯，我們就得到了肽類衍生物。例如將酸(I)用甘氨酸乙酯胺解後生成吡啶谷甘乙酯(IV, $\text{R}=\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$)，水解後即可成吡啶二肽(IV, $\text{R}=\text{CH}_2\text{COOH}$)。同樣，酰氯(III)與甘氨酸苄酯作用，生成吡啶四氫吡咯酮酰甘氨酸苄酯(V, $\text{R}=\text{CH}_2\text{COOC}_6\text{H}_7$)，氫化後成自由的酸(V, $\text{R}=\text{CH}_2\text{COOH}$)。這酸水解成吡啶 α -谷甘肽(VI, $\text{R}=\text{CH}_2\text{COOH}$)，胺解後生成吡啶谷酰胺甘肽(VII, $\text{R}=\text{CH}_2\text{COOH}$)。這樣，通過中間物酸(I)可以生成三種類型的谷氨酸肽， α -肽， γ -肽，及谷酰胺肽^[6]。

要確定這個反應能夠應用於肽類的合成，當然先要證實保護用的吡啶是可以去掉的。通常從取代的氨基酸及肽類去掉芳族磺基有兩個方法：氫碘酸和碘化磷法^[8]，及鈉和液體氨法^[9]。第一個方法比較劇烈；第二個方法原來是由 du Vigneaud 及其同工作者^[9]所提出的，在肽化學上的應用出乎意料地稀少。我們不久就發現這個方法不像它所被認為那樣簡捷，即使在去掉鈉離子以後，反應物也總還含有一些灰分。我們發現這是由於硫酸鹽的存在^[10]。顯然，吡啶的還原，一部分只有達到亞磺酰胺階段，亞磺酰胺水解生成亞硫酸鹽，再被空氣氧化成了硫酸鹽。我們在分離過程中，插入用醋酸鉍沉澱的手續，結果可以得到純粹的肽，產率良

好^[10]。後來，我們發現用溴化氫和醋酸分裂下磺酰胺基的方法^[11]，也可以應用於某些吡酰化的氨基酰胺及肽類^[12]。

現在可以舉一些上述方法實際應用的例子。

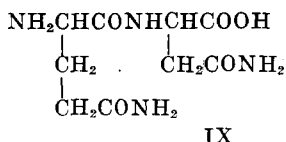
將吡酰四氫吡咯酮酰胺解^[6]，並用溴化氫的醋酸溶液去掉吡酰基，可以從谷氨酸得到 *L*-谷酰胺，產率在 50% 以上^[13]。這是現有的製備這個重要氨基酸的最好的方法。我們現曾用以合成在酰胺基上有標記原子 N^{15} 的谷酰胺^[14]。一些酰胺基上的氮取代了的谷酰胺，以及谷氨酸的一些 α -肽及 γ -肽，都可以這樣製備^[5,10]。因此我們就製定了谷胱甘肽的一個新合成法，按照下列路線進行：吡酰四氫吡咯酮酰胺與 *S*-苄基半胱氨酸乙酯縮合，生成二肽酯——吡酰- γ -谷氨酰-*S*-苄基半胱氨酸乙酯 (VIII, $R=OC_2H_5$)



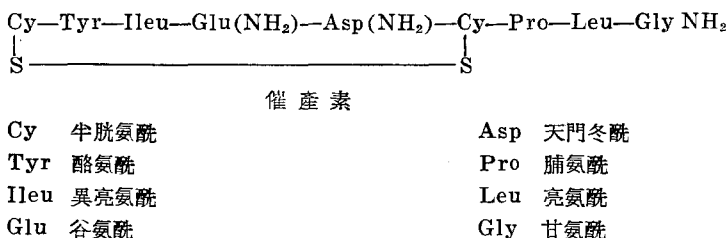
將酯轉化為酰肼 (VIII, $R=\text{NHNH}_2$)，再變為酰化疊氮，然後與甘氨酸乙酯縮合成三肽衍生物 (VIII, $R=\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$)，最後經過水解並用鈉和液體氫還原成谷胱甘肽。

應該着重地說明一下所有上述的反應都是用 *L*-谷氨酸作為起始材料的，從來沒有觀察到消旋現象。因為我們發現吡酰-*L*-吡咯酮酸(I)和有機鹼可以生成高度結晶的鹽^[6]，就想用具有旋光性的有機鹼來解離 *DL* 酸。應用馬錢子鹼，這樣的解離是成功了，所得到的 *D* 酸，曾經用以製成一些 *D* 系統的衍生物，包括 *D*-谷酰胺和 γ -*D*-谷甘肽^[16]。

吡酰四氫吡咯酮酰氧(III)與天門冬酰胺反應，以後胺解，脫去吡酰，可以合成谷酰胺——天門冬酰胺(IX)



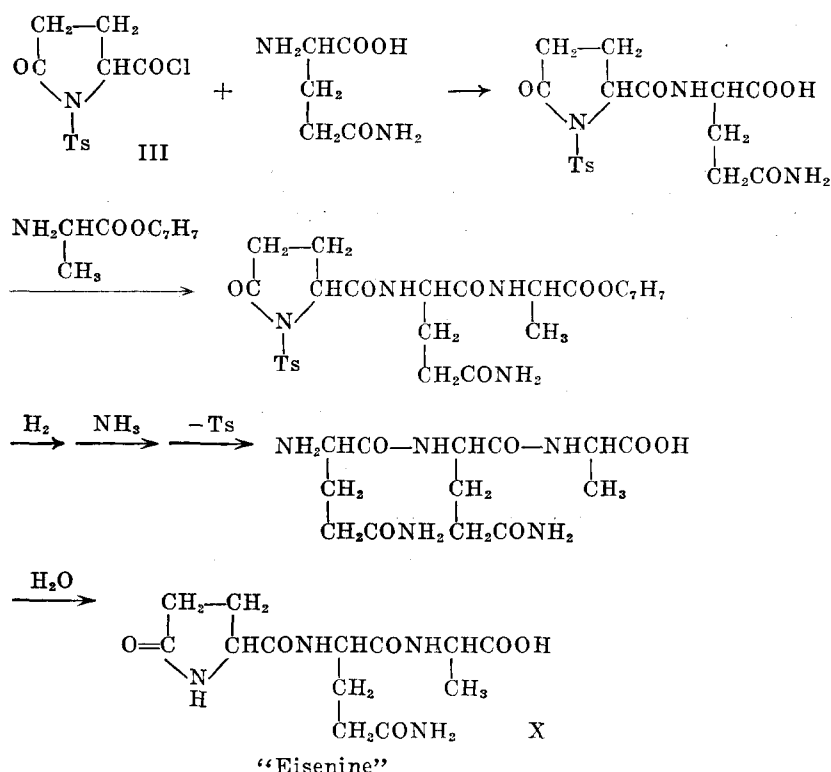
這是肽激素催產素 (oxytocin) 結構中的關鍵性的單位。



這裏應該說明一下，這個二肽的合成法，包括谷酰胺肽的一般合成方法，曾經由 du Vigneaud 及其同工作者單獨地創立^[17,18]，作為他們對這一個肽激素的經典的第一個合成方法的一部分。在我們自己的較晚的另一個對催產素^[19-22]及其同型物^[22]的合成方法上，很自然地、單獨地也採用了同一條路線。

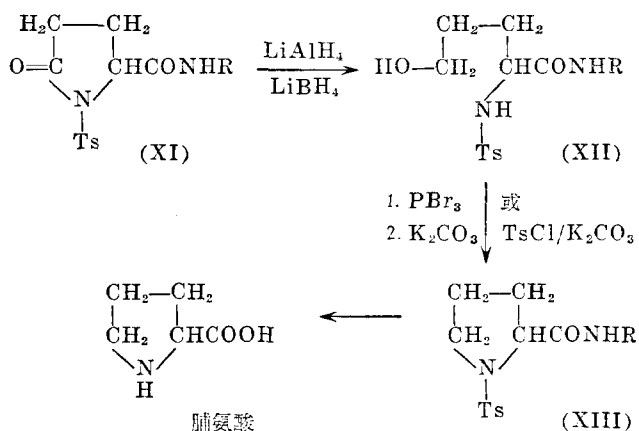
為了試驗我們的方法的應用，我們又進行了谷酰胺的一些天然肽的合成^[23]。吡酰四氫吡咯酮酰氧(III)與谷酰胺縮合，生成吡酰四氫吡咯酮酰谷酰胺，經過胺解及還原，轉變為谷酰胺二肽，用在另一催產素類似物的合成中。吡酰四氫吡咯酮酰谷酰胺也能與丙氨酸苄酯縮合，生成三肽衍生物；經過氫化，胺解，脫去吡酰基，成為谷酰胺-谷酰胺-丙氨酸。這個三肽很容易環

化成四氫吡咯酮酰-谷酰胺-丙氨酸(X), 與 Ohira^[24] 由海藻中所分離的“eisenine”相同。

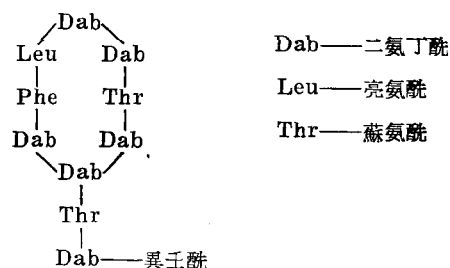


應用同樣原則, 通過谷酰胺二肽, 可以製成四氫吡咯酮酰-谷酰胺-谷酰胺, 與 Fruton^[25] 從海藻中所分離的一種天然物相同。

在我們實驗室中所製定的 *L*-脯氨酸的合成方法^[26], 是對於谷氨酸上的兩個羧基在成為吡酰四氫吡咯酮酸衍生物以後所顯示的活潑度差異的另一應用。如果吡酰四氫吡咯酮酸的酰胺或酰苯胺 (XI) 用鋰鋁氫或者, 更好一些, 用鋰硼氫還原, 吡酰內酰胺先被還原, 內酰胺環打開, 生成 δ -羥基 α -吡酰氨基戊酰胺 (或酰苯胺) (XII)。這可以通過溴化物環化, 或通過對甲苯磺酰氯及鹼環化, 生成吡酰脯氨酸的酰胺或酰苯胺 (XIII), 由此可以得到脯氨酸。



我們所討論的這一類反應——*N*-酰化內酰胺的開環反應, 自然是有限於吡酰四氫吡咯酮

多黏菌素 B₁ (結構之一)

參 考 文 獻

- [1] King F. E., Kidd D.A.A.: J. Chem. Soc. **1949**, 3315. King F. E., Jackson B. S., Kidd D.A.A.: J. Chem. Soc. **1951**, 243.
- [2] Le Quesne W. J., Young G. T.: J. Chem. Soc. **1950**, 1954, 1959.
- [3] Šorm F., Rudinger J.: Chem. Listy **45**, 200 (1951); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **15**, 491 (1950).
- [4] Rudinger J.: Chem. Listy **46**, 112 (1952); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **16**, 615 (1951).
- [5] Harington C. R., Moggridge G.C.R.: J. Chem. Soc. **1940**, 706.
- [6] Rudinger J.: Chem. Listy **48**, 235 (1954); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **19**, 365 (1954).
- [7] Zaoral M., Rudinger J.: unpublished work.
- [8] Fischer E.: Ber. **48**, 93 (1915). Schönheimer R.: Z. physiol. Chem. **154**, 203 (1926).
- [9] Du Vigneaud V., Behrens O. K.: J. Biol. Chem. **117**, 27 (1937).
- [10] Rudinger J.: Chem. Listy **48**, 244 (1954); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **19**, 375 (1954).
- [11] Weisblat D. I., Magerlein B. J., Myers D. R.: J. Am. Chem. Soc. **75**, 3630 (1953).
- [12] Poduška K., Rudinger J., Šorm F.: Chem. Listy **49**, 737 (1955); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **20**, 1174 (1955).
- [13] Poduška K., Farkašová H., Rudinger J.: unpublished work.
- [14] Pravda Z., Šorm F.: Chem. Listy and Coll. Czechoslov. Chem. Commun., in the press.
- [15] Rudinger J.: unpublished work.
- [16] Rudinger J., Czurbová H.: Chem. Listy **48**, 254 (1954); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **19**, 386 (1954).
- [17] Du Vigneaud V., Ressler C., Swan J. M., Roberts C. W., Katsoyannis P. G.: J. Am. Chem. Soc. **75**, 4879 (1953).
- [18] Swan J. M., du Vigneaud V.: J. Am. Chem. Soc. **76**, 3110 (1954).
- [19] Rudinger J., Honzl J., Zaoral M.: Chem. Listy **50**, 288 (1956); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **21**, 202 (1956).
- [20] Zaoral M., Rudinger J.: Chem. Listy **49**, 745 (1955); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **20**, 1183 (1955).
- [21] Honzl J., Rudinger J.: Chem. Listy **49**, 751 (1955); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **20**, 1190 (1955).
- [22] Rudinger J., Honzl J., Zaoral M.: Chem. Listy **50**, 825 (1956); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **21**, 770 (1956).
- [23] Pravda Z., Rudinger J.: Chem. Listy and Coll. Czechoslov. Chem. Commun., in the press.
- [24] Ōhira et al.: J. Agric. Chem. Soc. Japan **28**, 765 (1954) **29**, 237, 520 (1954).
- [25] Dekker C. A., Stone D., Fruton J. S.: J. Biol. Chem. **181**, 719 (1949).
- [26] Pravda Z., Rudinger J.: Chem. Listy **48**, 1663 (1954); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **20**, 1 (1955).
- [27] Poduška K.: Candidate's Thesis. Institute of Chemistry, Czechoslovak Academy of Science.
- [28] Wilkinson S.: J. Chem. Soc. **1951**, 104.
- [29] Zaoral M., Rudinger J., Šorm F.: Chem. Listy **47**, 427 (1953). Coll. Czechoslov. Chem. Commun. **18**, 530 (1953).
- [30] Poduška K., Rudinger J.: unpublished work.

[楊承淑譯]