

# 多肽合成

黄惟德 陈常庆 著

科学出版社

## 内 容 简 介

多肽合成是蛋白质和多肽化学中的一个活跃的领域,国外已经出版了不少的专著。在我国,自从胰岛素的合成取得成功以后,多肽合成作为一个传统的研究又有了很大的发展,但迄今为止,还没有出版过一本有关多肽合成的专门书籍。本书即是想作这方面的第一次尝试。全书共分为八章。第一章为概论,第二到第七章分别对肽合成中的保护基选择、缩合剂和缩合方法、经典的液相合成和改进后的固相合成以及近年来发展起来的酶促合成方法进行了介绍和讨论,并同时附有一些典型的实验和操作步骤以供读者对肽合成方法的细节有更深入的了解并可作为读者做实验时参考。第八章则是对如何设计肽合成的路线、方案以及采用的战略等问题进行讨论,也是对肽合成方法的一个总结概括,希望这会给予读者有较大的裨益。本书可供大专院校生物系、化学系和生物工程系的教师、研究生及有关的研究人员和工厂技术人员阅读和参考。

## 多 肽 合 成

黄惟德 陈常庆 著  
责任编辑 吴铁双

科学出版社出版  
北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

\*

1985年9月第一版 开本:787×1092 1/16  
1985年9月第一次印刷 印张:17  
印数:0001—2,000 字数:394,000

统一书号:13031·2977  
本社书号:4300·13—10

定价: 4.00 元

# 目 录

<b>第一章 概论</b> .....	1
<b>第一节 多肽的结构与分类</b> .....	1
一、蛋白质和多肽的基本结构特征 .....	1
二、多肽的分类 .....	2
<b>第二节 多肽合成的基本原理</b> .....	3
<b>第三节 多肽合成中的命名和缩写符号</b> .....	3
一、氨基酸和保护基的缩写 .....	4
二、肽的缩写 .....	5
三、常用试剂的缩写 .....	5
<b>第四节 多肽合成的简短历史</b> .....	7
<b>第五节 多肽合成中的原料氨基酸和一些常用的试剂</b> .....	8
一、原料氨基酸 .....	8
二、多肽合成的溶剂 .....	8
三、多肽合成的试剂 .....	9
<b>第二章 氨基的保护</b> .....	13
<b>第一节 烷氧羰基</b> .....	14
一、苄氧羰基(Z).....	14
二、取代的苄氧羰基 .....	20
三、叔丁氧羰基(Boc).....	22
四、 $(R_1R_2R_3)COCO-$ .....	26
五、其它的烷氧羰基型保护基 .....	30
<b>第二节 酰基</b> .....	33
一、羧酰基 .....	33
二、邻硝基苯磺基(Nps).....	35
三、对甲苯磺酰基(Tos).....	37
四、吡啶-2-甲酰基和二硫二甲酰基 .....	38
<b>第三节 烷基保护基</b> .....	38
一、三苯甲基 .....	38
二、以醛、酮类为试剂的保护基 .....	39
三、五羰基铬烷基和五羰基钨烷基保护基 .....	39
<b>第三章 羧基的保护</b> .....	45
<b>第一节 酯的制备</b> .....	45
一、氨基酸的酯化 .....	45
二、N-保护氨基酸或肽的酯化 .....	48
<b>第二节 取代酰肼衍生物的合成</b> .....	52
<b>第三节 羧基保护基的性质和脱去方法</b> .....	52

一、甲酯和乙酯 .....	52
二、苄酯和取代苄酯 .....	53
三、叔丁酯 .....	54
四、邻苯二甲酰亚胺甲酯 .....	55
五、苯胺甲酯 .....	55
六、吡啶-4-甲酯 .....	55
七、甲硫乙酯、甲硫苯酯和对硝基苯硫乙酯 .....	55
八、三甲硅乙酯 .....	55
九、三氯乙酯 .....	56
十、苯酯 .....	56
十一、用金属离子的复盐保护羧基 .....	56
<b>第四章 侧链功能团的保护</b> .....	<b>59</b>
<b>第一节 侧链氨基的保护</b> .....	<b>59</b>
<b>第二节 精氨酸侧链胍基的保护</b> .....	<b>61</b>
一、 $N^G$ -硝基 .....	62
二、 $N^G$ -苄氧羰基和 $N^G$ -金刚烷氧羰基 .....	62
<b>第三节 组氨酸的保护</b> .....	<b>64</b>
一、组氨酸咪唑基的保护和组氨酸的消旋 .....	64
二、 $N^{im}$ -苄基 .....	65
三、 $N^{im}$ -烷氧羰基 .....	66
四、 $N^{im}$ -Tos 基 .....	66
五、 $N^{im}$ -Dnp 基 .....	66
六、 $N^{im}$ -Pnc基和其它类型的保护基 .....	67
<b>第四节 谷氨酸和天冬氨酸的保护</b> .....	<b>67</b>
一、保护基的选择和副反应 .....	68
二、谷氨酸- $\gamma$ -酯和天冬氨酸- $\beta$ -酯的制备 .....	70
<b>第五节 谷酰胺和天冬酰胺的保护</b> .....	<b>74</b>
<b>第六节 半胱氨酸侧链巯基的保护</b> .....	<b>77</b>
一、 $S$ -苄基和 $S$ -取代苄基 .....	77
二、 $S$ -三苯甲基 .....	79
三、 $S$ -二苯甲基 .....	79
四、 $S$ -四氢吡喃基 .....	80
五、 $S$ -苄硫甲基 .....	80
六、 $S$ -乙酰胺甲基 .....	80
七、 $S$ -叔丁基 .....	82
八、 $S$ -烷硫基 .....	83
九、 $S$ -酰基保护 .....	83
十、由 $\beta$ -氯代丙氨酸或 $O$ -Tos-丝氨酸衍生物转变为 $S$ -保护的半胱氨酸衍生物 .....	85
十一、二硫键的形成 .....	85
<b>第七节 丝氨酸和苏氨酸的保护</b> .....	<b>86</b>
<b>第八节 酪氨酸的保护</b> .....	<b>88</b>
<b>第九节 色氨酸的保护</b> .....	<b>91</b>

第十节 甲硫氨酸的保护	92
<b>第五章 肽键的生成</b>	102
第一节 肽键生成的几种方法	102
第二节 碳二亚胺法	102
一、DCC 活化羧基的反应	103
二、影响反应的条件	104
三、DCC 为缩合剂时的副反应	104
四、复合缩合剂	105
第三节 混合酸酐法	109
一、与碳酸单酯的混合酸酐	109
二、与其它酸的混合酸酐	114
第四节 活化酯法	116
一、活化酯的种类	117
二、活化酯的制备	124
三、对活化酯反应的催化	127
四、活化酯逐个接长法	128
五、活化酯接肽中的副反应	129
第五节 迭氮物法	132
一、酰肼的制备	132
二、迭氮物的生成	134
三、接肽反应	135
第六节 N-羧基内酸酐 (NCA)法	138
一、氨基酸 NCA 的合成	138
二、肽的合成	138
第七节 氨基的活化	140
第八节 消旋化	141
一、消旋的机制	142
二、消旋的控制	145
三、消旋的检测	145
第九节 四组份缩合	149
<b>第六章 肽键的酶促合成</b>	163
第一节 酶促合成肽键的反应原理和反应条件	163
一、由可溶的反应物生成不溶的产物	164
二、增加反应物的浓度	164
三、加入有机溶剂	164
四、选用反应的最适 pH 和缓冲液	166
五、盐浓度的影响	167
六、酶的性质	167
七、酶浓度	168
八、供体和受体的结构	168
第二节 酶促合成肽键的应用	170
一、脑啡肽和 Val <sup>1</sup> -增血压素-II 的合成	171

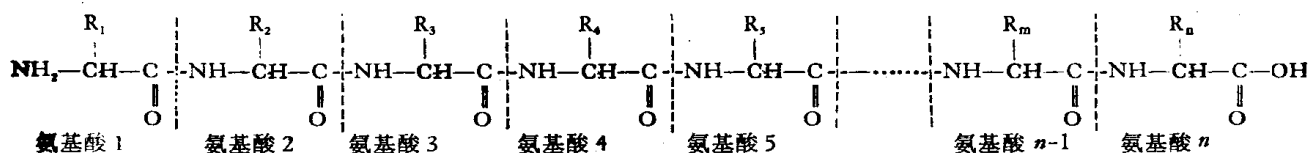
二、大豆胰蛋白酶抑制剂及其类似物的酶促合成和酶促半合成 .....	174
三、胰舒血管素抑制剂及其类似物的酶促合成和酶促半合成 .....	174
四、胰岛素及其类似物的重合成和半合成 .....	174
第三节 酶促合成的主要优点和存在的问题 .....	177
<b>第七章 固相合成</b> .....	<b>179</b>
第一节 固相肽合成的基本原理 .....	179
第二节 聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂 .....	182
一、树脂的选择和性质 .....	182
二、反应基团的导入 .....	182
三、氨基酸的固定 .....	193
四、导入氨基酸的定量 .....	196
五、 $\alpha$ -氨基保护基的选择与脱除 .....	197
六、脱除 $N^{\alpha}$ -保护基后的中和反应 .....	200
七、固相上的接肽反应 .....	202
八、固相合成反应的检测和未反应 $\alpha$ -氨基的封闭 .....	205
九、肽链从树脂上的切落 .....	208
十、固相片段缩合和侧链挂树脂的方法 .....	209
第三节 聚丙烯酰胺凝胶 .....	211
第四节 聚乙二醇和聚苯乙烯 .....	212
<b>第八章 多肽合成的设计</b> .....	<b>224</b>
第一节 合成设计中的几点考虑 .....	224
第二节 保护基的选择 .....	225
第三节 几种常用的脱保护基试剂和方法 .....	225
一、催化氢化 .....	225
二、三氟醋酸 .....	234
三、HBr/HOAc .....	234
四、甲基磺酸、三氟甲基磺酸和氟磺酸 .....	234
五、无水氟化氢 .....	234
六、钠/液氨还原 .....	236
第四节 最大保护和最小保护方式 .....	237
第五节 逐个增长肽链和片段缩合 .....	241
第六节 蛋白质和多肽的半合成 .....	245
一、从天然肽和蛋白质制备降解肽段 .....	245
二、蛋白质和多肽的半合成 .....	246
第七节 几个蛋白质和活性肽的合成实例 .....	249
一、胰岛素的合成 .....	250
二、牛胰核糖核酸酶 A 的合成 .....	252
三、 $\beta$ -脂酸释放激素的合成 .....	255
四、人胰岛素原 C 肽的固相合成 .....	256
五、短杆菌肽 S 的合成 .....	258
第八节 结束语 .....	261

# 第一章 概 论

## 第一节 多肽的结构与分类

### 一、蛋白质和多肽的基本结构特征

我们在自然界中可以看到各种各样的蛋白质和活性多肽，它们具有自己特有的生物功能。这些种类繁多的蛋白质和多肽，从化学结构上来看，又都是由称之为氨基酸的单体组成的。就今天所知道的结果来说，组成蛋白质和动物组织内的活性多肽的氨基酸种类主要有二十多种，并且都是L-(或S-)型的 $\alpha$ -氨基酸。在微生物来源的活性多肽组成中，包括抗菌素多肽和细菌细胞壁多肽等，则还存在有D-(或L-)型的氨基酸和一些其它的特别氨基酸。各个氨基酸之间通过一个氨基酸的羧基同另一个氨基酸的氨基以酰胺键(也叫做肽键)结合连接成肽链，由二个氨基酸连成的叫二肽，三个氨基酸连成的叫三肽，并依次类推下去。如下式:



肽链中的每一个氨基酸部分称为氨基酸残基，肽链的自由氨基一端称为肽链的氨基末端或N端，另一端则称为羧基末端或C端。在这里顺便提一句，并不是所有的天然蛋白质和多肽的肽链都具有自由的N端或C端，因为C端可以成酰胺，N端可以为焦谷氨酸或者被酰化(例如乙酰化)，肽链还可成各种形式的环肽存在而没有自由的N端或C端。

对于蛋白质来说，除去上述特定的氨基酸排列顺序即一级结构以外，还由于分子内的氢键、盐键、疏水键等次级键的作用导致肽链产生 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠和转折等而使蛋白质具有稳定的二级和三级结构。此外，两条以上的肽链或亚基之间还可因这类次级键的作用产生蛋白质的四级结构。在含有胱氨酸的蛋白质中，胱氨酸的二硫键的存在对于稳定蛋白质的高级结构也起了重要的作用。蛋白质的高级结构又叫做蛋白质的构象，它是蛋白质分子借以表现其生物功能的结构基础。图1.1是用X-光衍射分析得出的胰岛素的立体结构。蛋白质高级结构的基础是蛋白质的一级结构。人工合成胰岛素的成功，最强有力地证明了蛋白质的高级结构决定于其一级结构。因此，在人工合成蛋白质中，只要人们精确地按照天然蛋



图 1.1 猪胰岛素的空间结构示意图

白质的高级结构决定于其一级结构。因此，在人工合成蛋白质中，只要人们精确地按照天然蛋

白质的氨基酸排列顺序人工合成出肽链，就可能在适当条件下得到具有完全活力的蛋白质。

目前已经知道，一些活性多肽也在不同程度上存在着像蛋白质中的那种螺旋和折叠，但由于活性多肽的肽链较短，次级键的作用力也较弱，因而高级结构的表现一般是不完全的，而且构象的稳定性也较差，在溶液中很容易松散而变成随意的结构。只有当肽链的氨基酸数目( $n$ )增大到一定的程度以后，才有可能具备高级结构所需要的足够的次级键作用力而产生蛋白质特有的稳定高级结构。因此，从结构上来看，由活性多肽到蛋白质的过渡也表现出一个由量变到质变的过程。有的书上将蛋白质和多肽按照分子量来划分，即 100 个氨基酸( $n = 100$ )以上或分子量在一万以上( $n \sim 90$ )的划为蛋白质，以下的划为多肽。但事实上，氨基酸的数目  $n$  在 50 以上即可能出现蛋白质，因为胰岛素( $n = 51$ )、眼镜蛇毒( $n = 62$ )、胰蛋白酶抑制剂( $n = 58$ )等都是众所周知的蛋白质。

## 二、多肽的分类

一般可以从肽的大小、结构、来源或功能等几个方面来进行分类。

(1) 按照肽的大小分类 这里并没有一个十分严格的划分规定，根据目前的合成水平，一般可以把十五肽左右以下的划为小肽，十五肽左右到五十肽左右划为中等肽，五十肽左右以上为大肽。因此，蛋白质的合成多牵涉到大肽的合成问题。

(2) 按照肽的结构分类 正如表 1.1 所示，根据肽链的结构分为同聚肽(Homomeric)和杂聚肽(Heteromeric)两大类。然后根据连接键的不同还可再进一步划分。

表 1.1 按照肽的结构分类

分 类	举 例
1. 同聚肽	
a. 直链肽	
i) 全 $\alpha$ -肽和 $\gamma$ -肽	$\begin{array}{c} \text{H-Gly-Ser-OH} \\   \\ \text{H-Ala} \\   \\ \text{H-Gly-Ser-OH} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{Cys-Gly-OH} \\   \\ \text{H-Glu-OH} \\   \\ \text{H-Ala} \\   \\ \text{H-Gly-Cys-OH} \end{array}$
ii) O-肽和 S-肽	
b. 环状肽	
i) 全 $\alpha$ -环肽	$\text{Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro}$
ii) 内酯环肽	$\text{H-Ser-Gly-Ala}$
iii) 含二硫键的环肽	$\text{H-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asp-Cys-Pro-Leu-Gly-NH}_2$
2. 杂聚肽	
a. 色素肽	放线菌素
b. 糖肽	
c. 脂肽	
d. 缩酯肽	

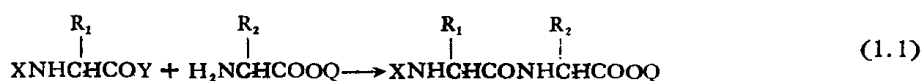
(3) 按照肽的来源或功能分类 根据蛋白质和多肽的来源或功能来进行分类，这是生物化学中最常用的方法。例如，肌肉蛋白、血液蛋白、病毒蛋白、脑肽、垂体多肽、消化道多肽等就是按照来源不同划分的，而酶蛋白、运动蛋白、激素蛋白和多肽激素、多肽抗菌



素、毒蛋白和毒肽等则是按照它们的功能作用来进行划分的。

## 第二节 多肽合成的基本原理

在初步了解了蛋白质和天然多肽的结构特征以后,我们就可以知道,化学合成蛋白质和多肽的任务就是如何把各种氨基酸单位按照天然物的氨基酸排列顺序和连接方式连接起来。由于氨基酸在中性条件下是以分子内的两性离子形式( $\text{H}_3^+\text{NCH}(\text{R})\text{COO}^-$ )存在,因此,氨基酸之间直接缩合形成酰胺键的反应在一般条件下是难于进行的。氨基酸酯的反应活性较高。在 $100^\circ\text{C}$ 下加热或者室温下长时间放置都能聚合生成肽酯,但反应并没有定向性,两种氨基酸 $a_1$ 和 $a_2$ 的酯在聚合时将生成 $a_1a_2\cdots$ 、 $a_1a_1\cdots$ 、 $a_2a_1\cdots$ 等各种任意顺序的混合物。因此,为了得到具有特定顺序的合成多肽,采用任意聚合的方法是行不通的,而只能采用逐步缩合的定向合成方法。一般是如式1.1所示,即先将不需要反应的氨基或羧基用适当的基团暂时保护起来,然后再进行连接反应,以保证合成的定向进行。



式1.1中的X和Q分别为氨基和羧基的保护基,它不仅以防止乱接副反应的发生,还具有能消除氨基酸的两性离子形式并使之易溶于有机溶剂的作用。Q在有的情况下也可以不是共价连接的基团,而是由有机强碱(如三乙胺)同氨基酸的羧基氢离子组成的有机阳离子。Y为一强的吸电子基团,它能使羧基活化而有利于另一氨基酸的自由氨基对其活化羧基的羧基碳原子进行亲核进攻生成酰胺键。由此所得的连接产物是N端和C端都带有保护基的保护肽,要脱去保护基后才能得到自由的肽。如果肽链不是到此为止,而是还需要从N端或C端延长肽链的话,则可以先选择性地脱去X或Q,然后再同新的N保护氨基酸(或肽)或C保护的氨基酸(或肽)进行第二次连接,并依次不断重复下去,直到所需要的肽链长度为止。对于长肽的合成来说,一般有逐步增长和片段缩合两种伸长肽链的方式,前者是由起始的氨基酸(或肽)开始,每连接一次,接长一个氨基酸,后者则是用N保护肽同C保护肽缩合来得到两者长度相加的新的长肽链。

对于合成含有谷氨酸、天冬氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、半胱氨酸等等带侧链功能团的氨基酸的肽来说,为了避免由于侧链功能团所带来的副反应,一般也需要用适当的保护基将侧链基团暂时保护起来。

除去上面讲的定向反应以外,合成产物的产率高以及分离纯化容易与否也是多肽合成能否取得成功的几个关键问题。

有关多肽合成中的细节问题,将在本书的以后各章中讨论。除去本书以外,还有不少国外出版的有关多肽合成的专著可供读者参考<sup>[1-13]</sup>。

## 第三节 多肽合成中的命名和缩写符号

本书所用的关于氨基酸、肽、保护基和缩合剂等的命名和缩写基本上按照国际纯粹和

应用化学协会(IUPAC)和国际生化协会(IUB)所属术语委员会(CBN)制订和公布的命名和缩写规则 [见 *Biochemistry*, **5**, 1445, 2485 (1966); **6**, 362 (1967); **7**, 483, 2703 (1968); **9**, 3471 (1970); **11**, 942, 1726 (1972)]。

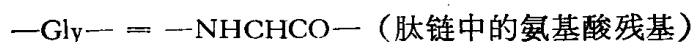
### 一、氨基酸和保护基的缩写

(1) 氨基酸和氨基酸残基的缩写 蛋白质中常见氨基酸的缩写有三字母符号和单字母符号两种(见表 1.2)。L-氨基酸的L一般均省去,而D或DL则必须表示出来。此外,还有一些不常用的氨基酸,有的可用三字母符号表示,有的则采用四或五字母符号表示。如, Abu ( $\alpha$ -氨基丁酸), A<sub>2</sub>bu ( $\alpha, \gamma$ -二氨基丁酸),  $\beta$ -Ala ( $\beta$ -丙氨酸), Hsc (高丝氨酸), alle (别异白氨酸), MeGly 或 Sar (N-甲基甘氨酸), MeVal (N-甲基缬氨酸), NVal (正缬氨酸)。

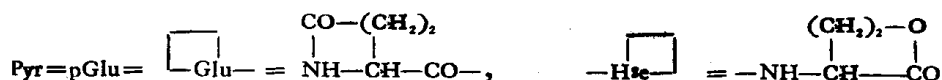
表 1.2 氨基酸的缩写和分子量

氨基酸	缩写	三字母	单字母	分子式	残基式	分子量	残基量
甘氨酸	甘	Gly	G	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> N	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> ON	75.07	57.05
丙氨酸	丙	Ala	A	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> N	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> ON	89.09	71.07
缬氨酸	缬	Val	V	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> ON	117.15	99.13
白氨酸	白	Leu	L	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> N	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ON	131.17	113.15
异白氨酸	异白	Ile	I	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> N	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ON	131.17	113.15
丝氨酸	丝	Ser	S	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> N	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> N	105.09	87.07
苏氨酸	苏	Thr	T	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> N	119.12	101.10
半胱氨酸	半胱	Cys	C	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> NS	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> ONS	121.16	103.14
甲硫氨酸	甲硫	Met	M	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> NS	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> ONS	149.21	131.19
脯氨酸	脯	Pro	P	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> N	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> ON	115.13	97.11
天冬氨酸	天	Asp	D	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub> N	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub> N	133.10	115.08
天冬酰胺	天胺	Asn	N	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	132.12	114.10
谷氨酸	谷	Glu	E	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> N	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> N	147.13	129.11
谷氨酰胺	谷胺	Gln	Q	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	146.15	128.13
组氨酸	组	His	H	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> ON <sub>3</sub>	155.16	137.14
赖氨酸	赖	Lys	K	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> ON <sub>2</sub>	146.19	128.17
精氨酸	精	Arg	R	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> N <sub>4</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> ON <sub>4</sub>	174.20	156.18
苯丙氨酸	苯丙	Phe	F	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> ON	165.19	147.17
酪氨酸	酪	Tyr	Y	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> N	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> N	181.19	163.17
色氨酸	色	Trp	W	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>2</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> ON <sub>2</sub>	204.22	186.20

单独的缩写或缩写前后加H和OH表示游离的氨基酸,缩写前有“-”表示为C末端氨基酸,缩写后有“-”表示为N末端氨基酸,缩写前后都有“-”时,表示为肽链中的氨基酸残基。如:



内酰胺和内酯则用下面的缩写表示。



(2) 氨基酸侧链取代基的缩写 当氨基酸的侧链带有保护基时，一般是将保护基

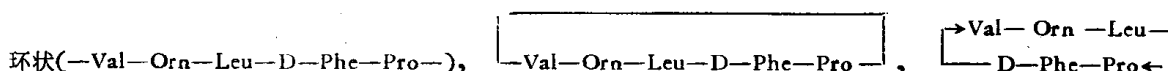
放在氨基酸缩写的顶上或用括号括起来放在氨基酸缩写的右侧。如： $\begin{array}{c} \text{Bu}^t \\ | \\ \text{Ser} \end{array}$  或  $\text{Ser}(\text{Bu}^t)(\text{O}-$   
叔丁基丝氨酸)， $\begin{array}{c} \text{Bzl} \\ | \\ \text{Cys} \end{array}$  或  $\text{Cys}(\text{S}-\text{苄基半胱氨酸})$ ， $\begin{array}{c} \text{OBu}^t \\ | \\ \text{Asp} \end{array}$  或  $\text{Asp}(\beta\text{-叔丁基天冬$   
 $\begin{array}{c} \text{Bzl} \\ | \\ \text{His} \end{array}$  氨酸)， $\begin{array}{c} \text{Bzl} \\ | \\ \text{His} \end{array}$  或  $\text{His}(\text{N}^{\text{im}}\text{-苄基组氨酸})$  等。

(3) 保护基的缩写 各种保护基的缩写将在以后关于保护基的各章中见到。这里仅举几个例子，如： $\text{CH}_3\text{CO}-$ (乙酰基) =  $\text{Ac}-$ ， $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2\text{OCO}-$ (苄氧羰基) =  $\text{Z}-$ ， $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}-$ (叔丁氧羰基) =  $\text{Boc}-$ ， $\text{GlyOCH}_3$ (甘氨酸甲酯) =  $\text{GlyOMe}$ ， $\text{GlyOC}(\text{CH}_3)_3$ (甘氨酸叔丁酯) =  $\text{GlyOBu}^t$ ， $\text{AlaOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (丙氨酸苄酯) =  $\text{AlaOBzl}$  等。

## 二、肽的缩写

(1) 自由肽的缩写 全  $\alpha$ -肽键的直链肽的表示比较简单，只要将各氨基酸缩写按照顺序排列起来就行了。另外，也可用“—”或“·”表示肽键。如：丙氨酰白氨酰甘氨酰丝氨酸(或丙·白·甘·丝)四肽可用  $\text{AlaLeuGlySer}$  或  $\text{Ala}-\text{Leu}-\text{Gly}-\text{Ser}$  或  $\text{Ala}\cdot\text{Leu}\cdot\text{Gly}\cdot\text{Ser}$  表示。如果有其它的键型则需要用直线、箭头或其它符号来标明。如：谷胱甘

肽的  $\gamma$ -谷氨酰键可用  $\begin{array}{c} \square \\ \text{Glu} \end{array}-\text{Cys}-\text{Gly}$  或  $\gamma\text{-GluCysGly}$  表示，焦谷氨酰丙氨酰甘氨酸用  $\begin{array}{c} \square \\ \text{Glu} \end{array}\text{AlaGly}$  表示。下面是一个环状五肽的三种表示方式。



(2) 带保护基的肽的缩写 例如， $\begin{array}{c} \text{Bzl} \quad \text{Trt} \\ | \quad | \\ \text{Nps}-\text{Cys} \quad \text{Cys}-\text{Ala}-\text{Gly}-\text{Val}-\text{Cys}-\text{Ser}- \\ \text{OCH}_3 \end{array}$  (或  $\text{Nps}-\text{Cys}(\text{Bzl})-\text{Cys}(\text{Trt})-\text{Ala}-\text{Gly}-\text{Val}-\text{Cys}(\text{Bzl})-\text{Ser}-\text{OMe}$ ) 表示  $\text{CysCysAlaGlyValCysSer}$  七肽的 N 端氨基为  $\text{Nps}$ (邻硝基苯磺基)保护，C 端羧基被甲酯化，第 1 位和第 6 位半胱氨酸的巯基被  $\text{Bzl}$ (苄基)保护，第二位的半胱氨酸的巯基被  $\text{Trt}$ (三苯甲基)保护。

(3) 合成的多肽类似物的缩写 表 1.3 举白氨酸脑啡肽( $\text{TyrGlyGlyPheLeu}$ )为例对合成类似物的表示方法进行说明。

## 三、常用试剂的缩写

本书所用的一些重要试剂的缩写列于表 1.4。试剂和溶剂等的缩写大多数是由英文名称的字母缩写而来，如： $\text{DCC}$  为  $\text{N}$ ， $\text{N}'$ -二环己基碳二亚胺( $\text{N}$ ， $\text{N}'$ -Dicyclohexylcarbodi-

表 1.3 合成脑啡肽类似物的命名举例

改变方式	类似物的命名	结构式的缩写
天然肽	脑啡肽	<sup>1</sup> Tyr <sup>2</sup> Gly <sup>3</sup> Gly <sup>4</sup> Phe <sup>5</sup> Leu
第 4 位置被置换	[D-Phe <sup>4</sup> ]-脑啡肽	TyrGlyGly-D-PheLeu
向 N 端延长	Tyr-脑啡肽	TyrTyrGlyGlyPheLeu
向 C 端延长	脑啡肽-Ser	TyrGlyGlyPheLeuSer
插入	内插-Gly <sup>2a</sup> -脑啡肽	TyrGlyGlyGlyPheLeu
除去	去-Tyr <sup>1</sup> -脑啡肽	GlyGlyPheLeu
	去-Gly <sup>2</sup> -脑啡肽	TyrGlyPheLeu
C 端变酰胺	脑啡肽酰胺	TyrGlyGlyPheLeuNH <sub>2</sub>
部分肽	脑啡肽 <sub>2-4</sub>	GlyGlyPhe

表 1.4

醋酸	AcOH, HOAc	acetic acid
醋酐	Ac <sub>2</sub> O	acetic anhydride
二甲基甲酰胺	DMF	dimethylformamide
二甲基乙酰胺	DMAc	dimethylacetamide
二甲基亚砜	DMSO	dimethylsulfoxide
四氢呋喃	THF	tetrahydrofuran
N-乙氧羰基-2-乙氧基-1, 2-二氢喹啉	EEDQ	N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1, 2-dihydroquinoline
三乙胺	Et <sub>3</sub> N	triethylamine
乙酸乙酯	EtOAc	ethyl acetate
乙醇	EtOH	ethanol
六甲基磷酰三胺	HMP	hexamethylphosphoramide
1-羟基苯并三氮唑	HOBT	1-hydroxybenzotriazole
N-羟基琥珀酰亚胺	HOSu	N-hydroxysuccinimide
高效液相层析	HPLC	high performance liquid chromatography
碳二亚胺	DCC	dicyclohexylcarbodiimide
羰基二咪唑	CDI	carbonyl diimidazole
氯甲酸异丁酯	iBuOCOCI	isobutyl chlorocarbonate
乙腈	MeCN	acetonitrile
甲醇	MeOH	methanol
N-羧基酐	NCA	N-carboxy anhydride
三氟醋酸	TFA	trifluoroacetic acid
对-甲苯甲酸	TOS	p-toluenesulfonic acid

midate), CDI 为 N, N'-羰基二咪唑 (N, N'-Carbonyl diimidazole), EEDQ 为 1-乙氧羰基-2-乙氧基-1, 2-二氢喹啉 (1-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1, 2-dihydro-quinoline), DCHA 为二环己胺 (Dicyclohexylamine), DMF 为二甲基甲酰胺 (Dimethylformamide), THF 为四氢呋喃 (Tetrahydrofuran), DMSO 为二甲基亚砜 (Dimethylsulfoxide), HMPA 为六甲基磷酰三胺 (Hexamethylphosphoramide), TFA 为三氟醋酸 (Trifluoroacetic acid)。或者是由基团缩写加上功能团来表示,如: 甲醇为 MeOH,乙醇为 EtOH,醋酸为 AcOH。还有一些既可以看作是由英文名称的缩写,也可以看作是由基团缩写加上功能团。如: HOSu 为 N-羟基琥珀酰亚胺 (N-Hydroxysuccinimide), HOBT 为 1-羟基苯并三氮唑 (1-Hydroxyben-

zotriazole)。此外, HBr/AcOH, HCl/AcOH, HCl/二氧陆环为分别以醋酸或二氧陆环为溶剂含有无水 HBr 或无水 HCl 的溶液, NH<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH 为氨的无水甲醇溶液 Na/液氨为无水液体氨中加入金属钠的反应溶液, HF 为无水氟化氢溶液。这些在以后的有关章节中还将讲到。

#### 第四节 多肽合成的简短历史

虽然 1871 年夏尔(Schaal)曾经用天冬氨酸聚合得到多聚产物<sup>[14]</sup>,但具有特定顺序的多肽的合成则只是到本世纪初才由爱米尔·费歇尔(Emil Fischer)开始的。整个多肽合成的发展历史大致可分为三个阶段。第一个阶段是从 1901 年费歇尔和佛尔诺(Forneau)用酸水解二酮哌嗪的方法第一个获得自由二肽开始<sup>[15]</sup>,到 1954 年杜维留(du Vigneaud)合成催产素<sup>[16]</sup>以前为止,可以说是多肽合成的准备阶段。在这段时间里,积累了一些合成的方法并找到了几种可用的保护基,合成了不少有特定顺序的多肽片段。其中特别重要的有费歇尔和他的助手们将二酮哌嗪法、酯缩合法、 $\alpha$ -卤代酰氯和肽酰氯等方法结合起来,于 1907 年成功地合成了 Leu-(Gly)<sub>3</sub>-Leu-(Gly)<sub>3</sub>-Leu-(Gly)<sub>3</sub>,十八肽<sup>[17]</sup>,以及贝尔格曼(Bergmann)和车尔伐斯(Zervas)在 1932 年开创用苄氧羰基来作为氨基保护基<sup>[18]</sup>,并在此基础上通过合成的多肽对蛋白水解酶同底物的作用关系进行了研究,从而为了解和阐明蛋白水解酶的作用专一性方面作出了重要的贡献。第二个阶段是从 1954 年催产素的全合成开始到 1965 年胰岛素的全合成为止,可以说是活性多肽的合成时期。催产素是动物垂体后叶产生的

一种激素,它是由九个氨基酸残基组成的九肽,结构式为  $\overline{\text{Cys Tyr Ile Gln Asn Cys Pro Leu Gly NH}_2}$ 。催产素的合成打开了化学合成活性多肽领域的大门,从此以后,化学合成在多肽领域中大显身手,有力地推动了多肽的研究和应用的发展。不仅化学合成了许多天然的活性多肽,使不少的活性多肽投入了化学生产,并且开展了用合成方法来研究活性多肽的结构与功能之间的关系,从而发现了一些比天然多肽活性更高的合成类似物。

1965 年,我国科学工作者第一个全合成了牛的胰岛素并且获得结晶,人工合成产物具有和天然物完全相同的化学指标和生物活力<sup>[19]</sup>。胰岛素是由动物胰脏产生的蛋白质,它具有激素的功能。胰岛素的全合成成功标志着人工合成蛋白质历史的开始,使多肽合成进入到第三个历史时期。从 1965 年到现在的这段时期里,除去像胰岛素、牛胰蛋白酶抑制剂等较小的蛋白质已经合成以外,还合成了像牛胰核糖核酸酶这类较大的蛋白质,其它如胰岛素原、溶菌酶、细胞色素 c、烟草花叶病毒外壳蛋白、生长激素等等多种蛋白质也都进行了合成的尝试。另一方面,由于越来越多的具有重要生物功能的活性多肽的发现,特别是脑内的一些含量很少、分离比较困难的活性多肽的发现,使得活性多肽已经成为一个非常活跃的研究领域,而合成手段则愈益成为研究多肽的结构与功能关系的十分有用的方法。同时,在多肽合成的方法上也有了新的发展,无论在缩合剂、保护基、反应条件以及产物的分离和纯化等方面都有新的改进和新的发现。除去经典的液相合成法以外,60 年代初由麦瑞费尔德(Merrifield)开创的固相合成法也已发展成为具有一定成效的常用多肽合成方法,酶促合成方法作为化学合成方法的辅助和补充也已取得了一些好的结果,在多肽的分离纯化方面,除去进一步发展了各种类型的层析和电泳技术以外,高效

液相层析(HPLC)的应用为合成多肽的分离和纯化提供了一个新的极其有效的手段。但就目前的水平来说,要合成一个100个左右氨基酸组成的蛋白质,仍然不是一件轻而易举的事情,还需要人们付出很大的努力克服不少的困难才能实现。

## 第五节 多肽合成中的原料氨基酸和一些常用的试剂

### 一、原料氨基酸

在多肽合成中用得最多的原料氨基酸是蛋白质中存在的二十来种 L-氨基酸,作为原料氨基酸的纯度一般应该是层析纯和光学纯的。在 50 年代初期近代多肽合成开始的时候,要获得大量的纯的氨基酸还是比较困难的,我国在 1958 年开始胰岛素合成上马的第一项准备工作就是组织生产原料氨基酸。60 年代以后,氨基酸的得到就容易多了。今天,随着氨基酸在医药工业、食品工业和畜牧业等各方面用途的扩大以及氨基酸的分离、合成、拆分和发酵法生产等生产工艺上的改进和革新,大量光学纯的氨基酸的生产已经是一件不成问题的事情了。上海生物化学研究所东风生化试剂厂已经能够生产供应蛋白质中的全部 L-氨基酸和大部分 D-氨基酸,国内还有一些其它的工厂如上海生物化学制药厂、上海味精厂和上海试剂三厂等也能生产供应部分的原料氨基酸。

### 二、多肽合成的溶剂

在多肽合成中溶剂的选择是很重要的,特别是在液相合成中,如果需要连接的两个原料肽不能溶解的话,要进行缩合反应以得到产物是很困难的。液相接肽的常用溶剂是四氢呋喃和二甲基甲酰胺,前者沸点较低,易于蒸去,但溶解能力也较低,对含 Gln 和 Asn 的肽或其它较大的肽的溶解度不大,当用四氢呋喃不能溶解时,可用二甲基甲酰胺为溶剂,它对含 Gln 和 Asn 的肽或其它较大的肽比四氢呋喃有更好的溶解度,但沸点较高,需要减压才能蒸去。当二甲基甲酰胺也不能溶解时,可尝试采用二甲基亚砷或六甲基磷酰三胺为溶剂,有时也可试用三氟乙醇或三氟丙酮为溶剂。但总的来说,肽的溶解度大小和溶剂的选择并无确定规律可循,人们常常会遇到肽不能溶解而给合成带来的麻烦,特别是大肽的溶解度问题仍然是当前多肽合成中尚未很好解决的难题之一。在固相合成中,绝大多数都是采用二氯甲烷为溶剂,只有在连接少数不溶于二氯甲烷的 Boc-氨基酸时才采用 DMF-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 混合溶剂。此外,还有导入和脱除保护基时所用的溶剂。现将几种常用的无水溶剂的处理方法介绍如下:

(1) 二甲基甲酰胺 取 4 升市售的二甲基甲酰胺放于 5 升的三角烧瓶中,加入 400—500 克 BaO,充分振摇后放置过夜,倾入圆底烧瓶中,立即减压蒸馏,除去前馏分 300—500 毫升,收集 50—51℃(16 毫米汞柱)的馏分,大约 2.8—3 升。贮放于棕色瓶中加入分子筛(钾 A 型)保存备用。

由于市售 DMF 中往往含有较多的胺类物质,在蒸馏时不易除去,而会对接肽带来副反应。如遇这种情况,可将上述量的 DMF 先用强酸阳树脂(H<sup>+</sup>型,约 300 毫升)搅拌过夜后过滤,滤液再加 BaO 干燥。

(2) 无水四氢呋喃 取 4 升市售四氢呋喃放于 5 升的三角烧瓶中,加入 400 克无水氯化钙泡一天后过滤,滤液再用金属钠丝浸泡到无气泡放出后,倾出蒸馏,收集 64—

66℃的馏出部分。

(3) 石油醚 当市售石油醚(有沸点为 30—60℃ 和 60—90℃ 两种)质量较好时,用  $\text{CaCl}_2$  干燥后即可使用。有时市售石油醚质量较差,甚至有臭味,则需用浓硫酸振摇, $\text{CaCl}_2$  干燥,再蒸馏后使用。或者用正戊烷或正己烷代替使用。

(4) 二氯甲烷 将粗的二氯甲烷(4升)用  $\text{NaHCO}_3$  水溶液振摇洗数次后再放于三角烧瓶中,加入  $\text{CaCl}_2$ (400—500克)和  $\text{NaHCO}_3$ (100—150克)于暗处放置一天,倾出蒸馏,收集沸点为 39.5—41℃ 的馏分,约 2.8升,贮放于棕色瓶中。如果市售二氯甲烷的质量较好,可用无水碳酸钾浸泡二天后,倾出备用。

(5) 冰醋酸 将 1升冰醋酸用 100克  $\text{P}_2\text{O}_5$  浸泡过夜后倾出蒸馏,收集沸点为 118℃ 的馏分。一般即可使用。

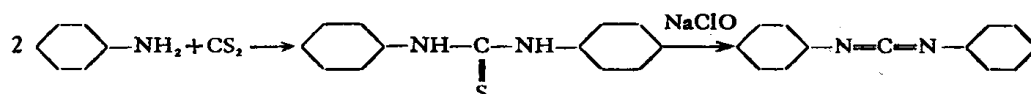
泉屋信夫等人曾建议采用  $\text{B}(\text{OAc})_3$  处理的方法。在 4升市售醋酸中,根据估计的含水量加入 2—3 倍量的  $\text{B}(\text{OAc})_3$  (1 克分子的三醋酸硼可以除去三分子的水),再进行蒸馏,收集沸点 117—118℃ 的馏分,约 3—3.5升。三醋酸硼的制备是将 60克硼酸和 300毫升  $\text{Ac}_2\text{O}$  放于 1升三角烧瓶中,瓶口用铝铂轻轻覆盖,振摇下用 60—65℃ 水浴加热,待剧烈反应开始后立即用冰水冷却,反应结束后,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  完全溶解,冷却放置,大量结晶析出,过滤,用乙醚或石油醚洗,即得三醋酸硼。

其它的溶剂如无水乙醚、无水甲醇、无水乙醇、无水二氧陆环、乙酸乙酯等的处理在一般的有机化学实验书上都可查到,这里就不再讲了(例如:可参阅科学出版社 1978 年出版的《有机化学实验技术》一书)。

### 三、多肽合成的试剂

多肽合成中的试剂包括缩合试剂、保护基试剂及其原料、保护基的脱除试剂、分析鉴定用的试剂等,种类是很多的。这里只着重介绍几种羧基活化时的常用试剂的制备方法,其它的一些试剂将在以后的有关章节中作部分介绍。

(1) 二环己基碳二亚胺(DCC) 国内有上海佘山化工厂的产品,但质量有时较差,需要重蒸馏后使用。也可按下面方法在实验室中制备<sup>[20]</sup>。



(a) N, N'-二环己基硫脲。在一带有密封搅拌器、温度计、滴液漏斗和迴流冷凝管的 5升四口烧瓶中加入 396.8克(4克分子)环己胺和 1.3升乙醇混合。在激烈搅拌下,缓慢滴加入 300毫升(4克分子)二硫化碳。控制滴加速度和冷却温度使反应瓶内温度不超过 30℃,滴加需要 1.5小时。加毕后室温搅拌 30分钟,再冷却到 5℃。过滤,将所得沉淀再放入带有密封搅拌器和迴流冷凝管的 5升三颈烧瓶中,加入 1.5升乙醇成悬浮液。再搅拌迴流 20小时以赶出硫化氢。沉淀一度溶解,但又再析出来。将溶液冷却到 5℃,过滤收集沉淀,干燥后重 416克(86.5%)。熔点 179—181℃。用 4—5升沸甲醇重结晶,得无色针状结晶 294克(61.2%),熔点不变。

(b) DCC。在带有搅拌器、温度计、迴流冷凝管的 5升四口烧瓶中,加入 240克(6克分子)氢氧化钠的 2.5升水溶液,加入市售的次氯酸钠溶液(稍许过量)1065克(有效氯 3.3

克分子)。在搅拌下加入 750 毫升二氯乙烷并调节溶液温度到 30—38℃。缓慢加入 157 克 N,N'-二环己基硫脲。加毕后再搅拌 5 小时,分出二氯乙烷层。将二氯乙烷层在-15 到 -20℃ 下放置 24 小时,用快速吸滤分去析出的冰片和硫、滤液经减压蒸馏先蒸去溶剂,再升温减压蒸馏,分去沸点 120℃/2 毫米汞柱的前馏分后,收集沸点为 120—124℃/2 毫米汞柱的馏出物,得 124 克(91.8%)。重蒸馏得 121 克(89.7%),沸点 122—124℃/2 毫米汞柱。

DCC 具有很强的刺激性,能引起皮疹,痊愈至少要三星期,无特效疗法。这种过敏性有很强的个体差异。

## (2) N-环己基-N'-二甲胺丙基碳二亚胺 (CDC)<sup>[21]</sup>

(a) 环己基异硫氰酸酯。于 3 升三颈瓶中加入 188 毫升环己胺和 1200 毫升无水乙醚,置冰盐浴冷至-2℃—0℃,搅拌下逐渐滴加 CS<sub>2</sub> 48 毫升。加毕后搅拌 1.5 小时。沉淀过滤,室温干燥。再置于 3 升烧杯中加水 1 升,搅拌,加热,并分多次加入 HgCl<sub>2</sub> 210 克。当加热至 90℃ 时,反应物变为墨绿色,在此温度下保持 5—7 分钟,然后进行水蒸气蒸馏,蒸出物用乙醚抽提三次,加 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥后,蒸去乙醚,即得环己基异硫氰酸酯 70—80 克。

(b) N-环己基-N'-二甲胺丙基硫脲。于 2 升三颈瓶中,加入环己胺基硫代甲酸 225 克及无水乙醚 1000 毫升,置冰盐浴冷至-5℃—0℃。在剧烈搅拌下逐渐滴加 160 克二甲胺丙胺的 600 毫升无水乙醚溶液,并控制温度在 0℃ 以下。加毕后不久即有沉淀产生,继续在冷却下搅拌 3—4 小时。沉淀过滤,用无水乙醚洗二次,真空干燥后,得产物重 340 克,熔点 68—70℃。

(c) N-环己基-N'-二甲胺丙基碳二亚胺。于 3 升三颈瓶中加入上述硫脲 135 克和二氯甲烷 1000 毫升,搅拌使溶解。在冰水冷却下,从冷凝管顶端滴加入 15—16% 次氯酸钠 1150 毫升(次氯酸钠中预先加入 50% NaOH 100 毫升),约 40 分钟加完,温度最高不超过 30℃。加毕后继续在 30℃ 水浴中搅拌回流 12 小时。分出有机相,水相用二氯甲烷抽提三次,合并有机相,用 10% 碳酸钠 1000 毫升分三次洗涤后,加固体 NaOH 干燥。溶液减压蒸干,加入 500 毫升石油醚(30—60℃ 沸点)以除去未反应的硫脲。放冰箱过夜,倾出上清液,减压蒸去石油醚后,再用短途的分子蒸馏蒸出产品,即得 N-环己基-N'-二甲胺丙基碳二亚胺,重 100 克左右。

(d) N-环己基-N'-二甲胺丙基碳二亚胺碘甲烷盐。在三升三颈瓶中加入 100 克上述碳二亚胺及 2 升无水乙醚。在冰浴冷却搅拌下,滴加入碘甲烷 155 克。加毕后,继续在避光冷却下搅拌 24 小时,过滤得粗产品。用丙酮-乙醚重结晶,得 130 克产物,熔点 156—158℃。

(3) 羧甲酸异丁酯 在 1000 毫升三颈瓶中放入 750 毫升异丁醇,用冰盐浴冷却。搅拌下通入光气,并保持温度在 15—20℃,约 1.5 小时后反应温度开始下降,撤去冰浴,逐步加热,使温度保持在 20℃ 左右,继续通光气 1.5 小时。然后通空气赶走未反应的多余光气,约 2 小时。再用食盐水洗 5—6 次,尽可能洗去未反应的异丁醇,加 CaCl<sub>2</sub> 干燥后用高效分馏柱分馏。收集沸点 128—130℃ 馏分,可得产品 850 毫升。

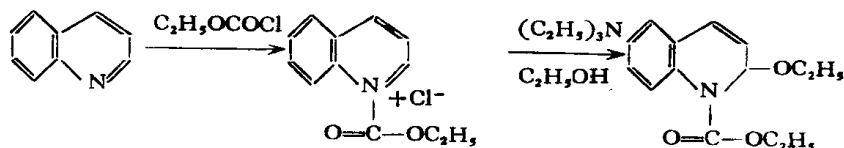
(4) 亚硝酸叔丁酯<sup>[22]</sup> 在 500 毫升三颈瓶中放入 38 克亚硝酸钠(0.5 克分子)的 150 毫升水溶液和 37.7 克叔丁醇(0.5 克分子),用冰盐浴冷却到-5—0℃。搅拌下缓慢滴加入 66.7 毫升 33% 的硫酸(0.3 克分子),2 小时内滴完,继续搅拌 1 小时,静置半小时。



分出油层,用水、5%NaHCO<sub>3</sub>、水依次洗后,加 NaSO<sub>4</sub> 干燥,溶液即为产品。

(5) N-羟基琥珀酰亚胺<sup>[23,24]</sup> 取 556 克 (8.0 克分子) 盐酸羟胺放入 5,000 毫升三颈瓶中,加入 800 毫升水溶解,再加入 400 毫升二氧陆环和 1,600 毫升 5 N NaOH, 在冷却搅拌下,分批加入 800 克琥珀酸酐 (8.0 克分子), 保持温度在 20℃。加毕后,60℃ 加热两小时,减压蒸去溶剂,再逐步将油浴温度由 60℃ 升至 160℃ 直到无水蒸出为止,并在 160℃ 维持 40 分钟。冷至 60℃,加入沸乙酸乙酯抽提,趁热过滤,滤液冷却后即析出产品结晶,粗产物经乙酸乙酯重结晶后得纯品,收率 75%,熔点 97—98℃。

(6) N-乙氧甲酰-2-乙氧基二氢喹啉 (EEDQ)<sup>[25]</sup>



在装有温度计、搅拌器和滴液漏斗的 1 升三颈瓶中加入 300 毫升苯和 130 克喹啉 (1 克分子), 在冷却搅拌下滴加入 97 毫升氯甲酸乙酯 (1 克分子)。冷至 -5℃, 在不断搅拌下滴加入 92 毫升乙醇和 154 毫升三乙胺 (1.1 克分子), 约 1 小时加完。加毕后,再升温到 18℃ 搅拌 1 小时。用水、5% NaCl 各洗三次,加无水硫酸钠干燥。减压蒸干,得黄色糖浆物。冰箱放置过夜,得结晶。加入乙醚,过滤,乙醚洗,干燥后得产物 150 克。母液抽干,再加乙醚,又可得 25 克。共 175 克 (71%)。

EEDQ 在长期放置后会发生部分分解,这时可用二氯甲烷溶解,水洗后,再结晶纯化。

N-异丁氧甲酰-2-异丁氧基二氢喹啉 (BBDQ), 沸点 165—170℃/3 毫米汞柱,也可用类似的方法制备。

(7) 1-羟基苯骈三氮唑 (HOBt)<sup>[26]</sup> 在 100 毫升圆底烧瓶中放入 15.76 克邻硝基氯苯 (0.1 克分子)、N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O (14.55 毫升, 0.3 克分子) 和 50 毫升乙醇,用油浴加热回流 5 小时。冷却后过滤,滤液减压浓缩,残留物加少量水溶解,用乙醚抽洗。水层用冰冷却,加入浓盐酸到酸性。生成的沉淀用少量水洗,再用热水 (40 毫升) 重结晶,得 HOBt 7.41 克 (55%),熔点 157℃。

(8) 羧基二咪唑 (CDI)<sup>[27]</sup> 在 1,000 毫升三颈瓶中加入 22.4 克咪唑 (0.33 克分子) 和 400 毫升无水苯,加热至 60℃ 使之溶解。在搅拌下滴加入 7.7 克 COCl<sub>2</sub> (0.08 克分子) 的 10 毫升苯溶液,再 60℃ 反应 1 小时,30℃ 搅拌过夜。再加热至 50℃, 结晶滤去,苯溶液于 50℃ 减压浓缩去溶剂,得结晶,加入少量苯,冰箱放置过夜。滤取结晶,真空干燥后,得 5.67 克 (56%),熔点 112—115℃。

## 参 考 文 献

- [1] J. S. Fruton and M. Goodman, *Adv. Protein Chem.*, **5**, 1 (1949).
- [2] M. Goodman and G. W. Kenner, *Adv. Protein Chem.*, **12**, 465 (1957).
- [3] J. P. Greenstein and M. Winitz, "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 2, 763 (1961), John Wiley and Sons, Inc., N. Y.
- [4] K. Hofmann and P. G. Katsoyannis, "The Proteins" Ed. by H. Neurath. Vol. 1, 54—189, (1961), Academic Press, N. Y.
- [5] M. Bodanzky and M. A. Ondetti, "Peptide Synthesis", Interscience Pub. (1966).