ペプチド合成試薬—主として反応機構について—

堀 木 樟 夫*

Mechanisms of Peptide Coupling Reactions

Kusuo HORIKI*

A number of peptide coupling reagents have been developed so far. Although some reviews on the reagents have already been appeared, this review article describes on the mechanisms of peptide coupling reactions which involve the recemization, the intermediate model of the condensation reaction utilizing DCC, intramolecular neighboring group participation in aminolysis and the related hydrolysis reactions, properties of the recently developed acylated HOBt, and multi-functional catalysts, based on the viewpoint of the rapidly growing bioorganic chemistry.

1. はじめに

生理活性を有するペプチドホルモン、抗生物質の合成あるいはそのアナログの合成を目指し、多くの人々によりたゆみない努力が払われており、特に近年その進歩には目覚ましいものがある¹⁾。ここでは、それらの合成の基本となるペプチド合成試薬について紹介したい。ペプチド合成あるいは形成試薬とは一言にしていえば、アミド結合形成試薬である。ただアミド結合形成反応だけを問題にするのであれば、従来の有機合成化学で用いられている手法で十分なわけであるが、ペプチド合成の場合には後述するように、ラセミ化の問題と関連してくるので、緩和でかつ効率の良い反応条件が望まれるゆえんである。

ほぼ10年ほど前から、いわゆる酵素反応機構解明のために物理有機化学者がこぞって生物有機化学²⁾という新分野を開拓し、多大の成果を収めつつあるが、この方面の研究が、色々な意味で時代の要請に適合したためもあってか、近年にわかにクローズアップされてきた。当然のことながら、機構解明だけに止まらず効率のよい合成法の開発を目指して、酵素類似様機能を有する触媒³⁾の研究も国の内外を問わず活発に続けられている。比較的最近にも、本誌上、矢島⁴⁾、向山⁵⁾、山田ら⁶⁾によりペプチ

ド合成試薬についてすぐれた紹介がなされており、また最近、泉屋らにより成書⁷⁾も著わされているが、ここでは上述の生物有機化学の研究と関連させながら主として反応機構的な面からこのペプチド試薬を概観し、併せて最近の筆者の研究をも含めて反応機構を知る上に手がかりとなる関連諸反応を展望したい。

なお保護基もいうまでもなく、ペプチド合成上重要な問題で、ペプチド合成試薬とは車でいえば、両輪の関係にあり現在でも新しい保護基が続々開発されているが、これは本稿の目的でないしまた紙面の都合もあり割愛する⁸⁾。

2. ペプチド合成の一般的方法およびラセミ化機構

あらためて述べるまでもなく、ペプチド合成手段としては原理的に、図1に示す方法が現在もっぱら採用されている。ペプチド合成上、大きな障害になるものの一つにいわゆるラセミ化の問題がある。従ってこのラセミ化抑制のためにペプチド合成化学者は常に腐心しているともいえよう。ラセミ化の問題に関しては、優れた総説が中溝⁹⁾により著わされているので、詳細はそれにゆずるが、ペプチド合成試薬を概観するにあたりこの問題を避けて通ることはできないのでごく簡単に触れる。

図1に示した如くペプチド結合形成の際、カルボン酸コンポーネントのカルボキシル基を何等かの方法で活性化して-COXの形にする(通常Xとして電子吸引基、あるいは置換フェノール類がよく用いられる)。この-COX

* 塩野義製薬(株)研究所 ()

* Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd. ()

Fig. 1 General scheme of peptide synthesis (Meienhofer)

のXの種類如何により、以下に述べる理由により過剰の塩基の存在で容易にラセミ化が起り、これがいわゆるラセミ化を起す元凶となっている。つまりラセミ化が起るのは $-\text{COX}$ のつくC成分である。このラセミ化と活性化の関係の定量的研究¹⁰⁾もあり、活性化の程度が大きくなるにつれてラセミ化の度合もほぼ比例的に増大する傾向が認められている。現在、ラセミ化が生起する経路として、二つあることが知られている。

2.1. プロトンの直接引き抜き機構 一般にはこの α 位プロトンの直接引き抜きはかなり苛酷な条件を要するようで、通常の条件下ではあまり問題にならないと思われる。ただ特に問題になるのは、 β 位に脱離基を有するシステイン(Cys)、セリン(Ser)、スレオニン(Thr)誘導体の場合である。すなわち β 脱離が図2で示される経路で起り、ここに生成した二重結合にあらかじめマイケル付加が起これば、このアミノ酸誘導体はラセミ化することになる。

Fig. 2 β -Elimination mechanism.

2.2. オキサゾロン経由機構 アミノ酸のアミノ基が RCONH- の形になっている場合には(ウレタン保護基の場合は除く)、プロトン直接引き抜き機構の場合に比

Fig. 3 Oxazolon formation mechanism.

べてはるかに緩和な条件でラセミ化が起る様である。すなわち、図3に示すように塩基でオキサゾロンが形成され、このオキサゾロンが極めて容易にラセミ化するの、4位のプロトンが脱離したアニオンがA, B, Cの共鳴構造をとり得るため安定化されるからである。そしてこのアニオンにあらかじめプロトン付加が起る際にラセミ化が起る。

Kempら¹¹⁾はオキサゾロン生成速度の塩基依存性を詳細に検討し、式[1]の関係を得ている。この研究によりペプチド合成時のラセミ化の一つのルートとして、オキサゾロン経由があることが決定的になったものと思われる。なお、合成試薬ではないが、アジド法は従来ラセミ化の恐れのない唯一の方法とまでいわれてきたペプチド合成法でフラグメント縮合に汎用されてきた。この方法は歴史的には古く、1902年にCurtiusにより開発されたものであり、その後この欠点を補うRudingerの改良法もある。このアジド法によるペプチド合成法の総説が、KlausnerおよびBodanszky¹²⁾により書かれているので、詳細はそれを参考にされたい。なお、この方法で、ラセミ化の懸念がない理由として、Youngら¹³⁾により次のような構造をとるためという考えが提出されているので紹介しよう。すなわち、図4において、アミドプロトンが引き抜かれて生成するベンゾイルカルボニルの酸素アニオンはアジドカルボニルを攻撃するよりも、アジドの真中の窒素原子と静電的な相互作用により安定化しているためと、オキサゾロン生成のためには、この酸素アニオンはカルボニルを攻撃しなければならず、従って $-\text{CH}-\text{CO}-$ 結合は 90° 回転する必要がある、これは非常に不

Fig. 4 Electrostatic interaction between oxygen anion and azide carbonyl.

利であるというように考えている。またこの酸アジドが余り活性化が大きくないにもかかわらず、容易にペプチド結合を形成することについては、後述する。なお、ラセミ化の原因となる諸要因については、前述の中溝⁹⁾あるいは Goodman らの総説¹⁴⁾を参照されたい。

3. ペプチド結合形成試薬

3.1. ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)法によるペプチド合成中間体ならびにそのモデル ビオチン(2)は炭酸固定あるいは転移酵素の補酵素として働いていることはよく知られているが、作用機構については未だ明らかになっていないといってもよいであろう¹⁵⁾。

Bruice ら¹⁶⁾は、ビオチン(2)の関与するカルボキシラーゼによる炭酸転移反応機構を明らかにする目的で、次のようなモデル化合物(4)を用いて水溶液中での求核試薬、たとえばアミンに対する挙動を検討している。ペプチド合成試薬として最もよく用いられているものの中に DCC (5:R=シクロヘキシル)¹⁷⁾があることは周知の通りで、この反応は式[2]に示すように、一つのルートとして、不安定中間体である O-アシルイソウレア(6)を経由するといわれているが、これは厳密に言えば推定の

域を出ていなかった。先ほどの Bruice らのビオチンのモデル化合物(4)は、この O-アシルイソウレア(6)と構造的に似通っているともいえる。従って、この化合物の反応性の検討は、DCCを用いる反応についてもまた有用な知見を与えてくれると考えられる。

Bruice らによれば、pHに応じて(4)、(4a)、(4b)、および(4c)の各構造種が存在するといわれ、アミンと反応するのは(4)、(4a)であることも速度論的解析結果より明らかになったという。pH 4~7の近傍では、加水分解反応はわずかであることも判明しており、これにより水溶液中でもカルボジイミドが効果的にアミド結合形成の縮合剤として用いられている理由も明瞭になったものと思われる。次に、ペプチド合成のみならず他の分野でも斬新な考え方を提出して話題をさらっている Rebek ら¹⁸⁾により、一種の二重ラベル法で DCC を用いるペプチド合成時の中間体を間接的に調べる方法が提案されているので紹介する。すなわち、DCC 法による縮合反応で、全部 O-アシルイソウレアからアミドが生成するのがあるいは、対称酸無水物を經由するルートもあるのか、あればどの位の割合で進むのかという事を決定する一つの方法である。¹⁴Cでラベルした Z-グリシンの無水物および³Hでラベルした Z-グリシンおよび DCC を用い、グリシンエステル、アニリン、およびベンジルアミンと競争反応をさせ、それぞれの生成物を分離した結果が、表 1 である。この表の結果から、たとえば、反応温度 5°C においては、最高 55% 対称酸無水物(7)を経由するルートがあると算出される。同様な手法を固相合成法にも適用したところ、この場合には 100% 酸無水物(7)を経ていることが明らかになった。また通常の固相合成法では、

Table 1 Product Distributions for Three Amines (ref. 18)

Temp. (°C)	Product	¹⁴ C/ ³ H	Yield (%)	
			Via anhydride	Via DCC
5	9	1.18	66	59
	10	1.19	20.5	18
	11	0.84	13	21
			Total 99.5	98
30	9	1.14	57	51
	10	1.34	23	17
	11	0.90	15	19
			Total 95	87

ウレタン保護基をもつアミノ酸を使用するので DCC を用いても、ラセミ化には、それほど、神経過敏になる必要はないと思われるが、それでも Rebek らにより、同位体希釈法でラセミ化検出が行われた結果、0.03% 程度ラセミ化が認められ、これはオキサゾロン経由ではないと思われる。詳細は原報を見られたい。ごく最近、Hegarty ら¹⁹⁾ は、式 [3] においてカルボジイミド法による合成中間体と見なされていた O-アシルイソウレア誘導体 (14) を、化合物 (12) から出発して結晶として単離することに成功すると共に、その反応性について検討を加えている (式 [3])。

Fig. 5 Relationship between pK_a of RNH_2 and $[\alpha]_D$ of Bz-Leu-Gly-OEt by using $\text{RN}=\text{C}=\text{N}-\text{Et}$ (15) (ref. 20).

また最近、Ito ら²⁰⁾ は、非対称カルボジイミド (15) を用い、ベンゾイルロイシルグリシンエステルを合成し、その旋光度とカルボジイミドの一方のアミンの pK_a との間に図 5 に示するような良好な直線関係を得た。すなわちアミンの塩基性が大きいほど、ラセミ化の程度が大きくなっていることが示されており興味ある結果である。

3.2. エステルのアミノリシス反応 すでに触れた如く、ペプチド結合生成反応は活性エステルのアミノリシスを中心になっている。水溶液中でのエステルのアミノリシスの研究例はばう大なものがあるが、重要と思われる Jencks ら²¹⁾ の研究をここでとりあげてみたい。水溶液中での 1 級および 2 級アミンによるエステルのアミノリシスでは、通常一般塩基触媒の項が含まれ、一般に見かけの反応速度定数 (k_{obsd}) は、式 [4] で示される。

$$k_{\text{obsd}} = k_{\text{OH}}[\text{OH}^-] + k_n[\text{N}] + k_{gb}[\text{N}]^2 + k_{ga}[\text{N}][\text{NH}^+] + k_{\text{OH}'}[\text{N}][\text{OH}^-] \cdots [4]$$

ここで k_{OH} は OH^- による加水分解、 k_n はエステルとアミンの二分子反応、 k_{gb} はもう 1 分子のアミン分子が関与した反応、 k_{ga} はプロトン化したアミン分子による反応、 $k_{\text{OH}'}$ は OH^- によるアミノリシスの触媒反応速度定数をそれぞれあらわしている。特に、ここで k_{gb} の項であるが、別に一般塩基触媒が存在すれば、これは $k_{gb}[\text{N}][\text{Base}]$ で示されることになる。ここで k_{gb} の項を詳しく考えてみると、図 6 で示される各中間体を想定することが可能である。そして、水溶液中では、B 状態は C 状態よりも安定であるはずである。すなわち C 状態では非常に不安定なアミンアニオンが存在するからである ($2\text{NH}_3 \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{NH}_2^-$)。従って、 $\text{A} \rightarrow \text{B} \rightarrow \text{D}$ の stepwise 機構、すなわちアミンのエステルへの求核攻撃がまず起り、続い

Fig. 6 Possible intermediates for general base-catalyzed aminolysis.

もう1分子のアミンあるいは触媒へのプロトン移動の機構が合理的に思える。ただ、このアミノリシスの速度式からだけでは、stepwiseかあるいはconcerted(すなわちB状態が存在せず一挙にA→D)か区別がつかず、長い間議論の対象となつたのであるが、Jencksらの研究でエステルと触媒の存在下、求核剤(アミン)の反応で得られたBrönsted式の ρ が0から1の間で変動することが見出し、このことは触媒の種類に応じて遷移状態が異なることを示唆している。これは触媒の種類によって律速段階が異なっていることをも意味しており、従ってまず中間体B(T⁺)が生成し、続いて生成物へ移行するstepwise機構が確定的になった。この辺の事情については、Jencks²²⁾ および Bruice²³⁾ の総説あるいはJencksによる成書²⁴⁾ に詳しくまとめられているので参照されたい。

さて、通常ペプチド合成は非水溶媒中、しかも非プロトン性(aprotic)溶媒中で行われる。非プロトン性溶媒中での反応は、プロトン性溶媒中でのそれよりも、かなり単純化される場合が多い。しかし反面、水溶液中の反応で従来の物理有機化学で蓄積された知識とか概念、たとえばBrönstedの関係式とか、pHと反応速度との関係などは、当然のことながら、非プロトン性溶媒中では利用できず、そういった意味での情報量は少なくなってくる。

Mengerら²⁵⁾の研究により、非プロトン性溶媒中での置換フェニルベンゾエート類のアミノリシス速度定数は式[5]で表現されることが、明らかにされた。

$$k_{\text{obsd}} = k_1[\text{amine}] + k_2[\text{amine}]^2 \quad \dots\dots\dots [5]$$

また、表2より置換基効果はアシル残基よりもアルコール残基に対して大きくあらわれている。従ってペプチド合成の際、電子吸引基置換フェニルエステルが、しばし

Table 2 Hammett ρ Values for Reactions of Esters with Pyrrolidine in Acetonitrile at 25.0° (ref. 25)

Ester	ρ	
	$k_1^{\text{a)}}$	$k_2^{\text{a)}}$
	$1.02 \pm 0.12^{\text{b)}}$	c
	1.01 ± 0.06	2.06 ± 0.02
	1.4 ± 0.2	c
	6.07 ± 0.33	4.78 ± 0.15
	$6.24 \pm 0.17^{\text{d)}}$	$5.29 \pm 0.23^{\text{d)}}$
	2.7 ± 0.2	c

a) Equation 5. b) Standard deviation. c) Third-order kinetics were not observed with nitrophenyl esters. d) ρ values for aminolyses in chlorobenzene are 4.02 ± 0.21 and 6.02 ± 0.01 for k_1 and k_2 , respectively.

ば用いられるのは、誠に当を得たものであることがうかがえる。ここで求核剤であるアミンに対して1次の項以外に2次の項が現われることに注目されたい。このもう1分子のアミンは、どのように作用しているか興味もたれるところであろう。上記のように ρ 値は、 k_1 および k_2 のいずれにも、アルコール残基の置換基に対して大きくあらわれていることから、図7に示すような3種類の環状遷移状態、(16)、(17)、(18)のいずれも、置換基効果の結果からは考え難い。従って、この実験結果を説明できる機構としては、(19)のような中間体の存在しない

Fig. 7 Transition states for cyclic concerted mechanisms for k_1 and k_2 .

S_N2 のような置換反応が k_1 に対して考えられるであろう。すなわち、アルコール残基に電子吸引基があれば、生成する負電荷を安定化するために、 ρ 値が大きくあらわれることになり、実験事実を説明するのに都合がよい。あるいは、(20)のような四面体中間体が早い前平衡で生成後、この中間体の開裂分解が律速になると考えてもよい。

このことは、式[6]のように表現できる。

これより

$$\text{rate} = k''K[\text{ester}][\text{amine}] + k'K[\text{ester}][\text{amine}]^2 \dots [7]$$

式[7]が誘導され(ここで K は平衡定数)、これは、式[5]と全く同じものであり、反応機構的に矛盾はない。従って、第2のアミン分子は中間体(20)からの脱プロトン化剤として働いていると考えればよい訳である。

Andersonら²⁶⁾も *p*-ニトロフェニルアセテート(*p*-NPA)のアミノリシスおよびアミノノリシスをクロロベンゼン中で研究しており、ジアミン(N, N-dimethyl-1, 3-diaminopropane および 1, 3-diaminopropane)に対して、式[8]が成立することがわかった。

$$k_{2, \text{obsd}} = k_2 + k_3[\text{diamine}] \dots [8]$$

表3からわかるように、1, 3-diaminopropaneの k_2 項は、N, N-dimethyl-1, 3-diaminopropaneより大きい。図7の(17), (18)の2分子のアミンの代りにこれらジアミンが置き代った遷移状態を通るとするならば、これら両者の速度差はもっと大きくなってしかるべきだということ。なぜならば、N, N-ジメチルジアミン体には移動する水素を有していないからであり、しかも統計因子としての数字で補正、すなわち2倍するとN, N-ジメチル体の方がむしろ速くなる。また、1, 4, 5, 6-テトラヒドロピリミジンがベンズアミジンより46倍も速やかであるため、この場合、ベンズアミジンで提案されている式[9]の(21)

Table 3 Rate Constants for the Aminolysis and Amidinolysis of *p*-NPA^{a)} (ref. 26)

	$k_2, M^{-1} (\text{sec}^{-1})$	$k_3, M^{-2} (\text{sec}^{-1})$
<i>n</i> -Butylamine	$< 2 \times 10^{-4}$	0.062
1, 3-Diaminopropane	0.0634	0.903
N, N-Dimethyl-1, 3-diaminopropane	0.0474	0.349
Benzamidine	3.54	
1, 4, 5, 6-Tetrahydropyrimidine	162.0	

a) 25.0°, in chlorobenzene.

の環状遷移状態はとり得ないから、この機構には疑問視しており、むしろ式[10]の(22)で示される機構がよいとし、アミジン類の高い反応性はイミン窒素が高い電子密度を有しており、遷移状態で3個の原子上に正電荷が分散されるためと考えている。一方、Satchellら²⁷⁾は1級アミンに対しては環状遷移状態がむしろ良いと考えており、また特に3級アミン(DABCO)の場合の触媒機構としては、式[11]の求核置換反応を考えているようであ

り、特に証拠はないが、いわゆる榊原試薬²⁸⁾もこのような機構ではないだろうかと考えられる。最近、Pockerら²⁹⁾はエーテル中でのアミノリシスに及ぼす電解質の影響の研究から遷移状態を知る手懸りを得ようとしている。

Burshteinら³⁰⁾は、分子軌道法の計算(CNDO)に基づき、第2番目のアミン分子の関与する各中間体を想定して、そのエネルギー計算を行っており、第2のアミン分子がプロトン受容体として働くこと如何に活性化エンタルピーが低下するかを検討している。

次にSuおよびWatson³¹⁾によるクロロベンゼン中での*p*-ニトロフェニルアセテート(*p*-NPA)のアミノリシスについて、興味ある研究があるので紹介しよう。

ここで、彼らの得た速度定数($k_{1, \text{obsd}}$)は、式[12]で表わされ、これはMengerらの得た式[5]に類似したものである。

$$k_{1, \text{obsd}} = k_2[\text{amine}] + k_3[\text{amine}]^2 + k_3'[\text{amine}][\text{cat}] \dots [12]$$

ここに得られた k_3' は、添加された触媒(cat)の pK_a とは関係がなく、むしろ触媒の有する水素結合能と良好な関係が見られるという(図8)。ここでHという値は、Taftら³²⁾により測定されたもので、クロロベンゼン中、*p*-フルオロフェノールとこれら触媒の水素結合形成能を示す尺度である。すなわち

Fig. 8 Plot of $\log k_3'$ for catalyzed *n*-butylaminolysis of *p*-NPA vs *H* value (ref. 31)

1: None, 2: *N,N*-Dimethyl-4-aminopyridine, 3: DABCO, 4: 1-Methylimidazole, 5: 2,6-Dimethylpyridine, 6: 4-Methylpyridine, 7: Pyridine, 8: Triphenylarsine oxide, 9: Pyridine *N*-oxide, 10: —, 11: 1-Methyl-2-pyridone, 12: *N,N*-Dimethylacetamide, 13: Trimethylphosphine oxide, 14: Tetrahydrofuran, 15: Triphenylphosphine oxide, 16: Dimethyl sulfoxide, 17: Benzonitrile, 18: Sulfolane.

$p\text{-FPhOH} + B \xrightleftharpoons{K_f} p\text{-FPhOH} \cdots B \cdots [13]$
式[13]から求められた値で, $\log K_f = H$ で定義されるものである。図8のような良好な直線自由エネルギー関係が得られたことより, Su および Watson らは, 前述の Menger らが考えた式[6]の中間体(20)から, この添加された触媒により, 脱プロトンが起る機構を考えている。しかも興味あることに, *N,N*-ジメチルアセタミドが触媒として良好であることから, これは疎水領域に活性点を有する酵素反応で, このようなアミド結合は重要な役割を演じているかも知れないと述べている。

では, 実際に, ペプチド合成でのアミノリシス反応ではどうであろうか。Kemp ら³³⁾による溶媒効果の研究があるので見ることにする。表4に示したようにベンジロキシカルボニルグリシンの *p*-ニトロフェニルエステルのグリシンエステルによるアミノリシスを種々の溶媒中で, 検討しており, ジメチルスルホキシドあるいはジメチルフルオラムアミドのような水素結合をし得る極性の高い溶媒中ではグリシンエステルの2次の項(k_2)は観測されず, 極性の小さい溶媒中では k_2 項があらわれ, クロロホルム中に到っては k_1 の項はむしろ消失し k_2 項のみになっている。これは, 先ほどの Su および Watson らの研究と軌を一にしている。

Table 4 Kinetics of Coupling of Benzyloxy-carbonylglycine *p*-Nitrophenyl Ester with Glycine Ethyl Ester (ref. 33)

$k = k_1[\text{Gly-OEt}] + k_2[\text{Gly-OEt}]^2$; $T = 30^\circ$

Solvent	k_1 ($\text{M}^{-1}\text{min}^{-1}$)	k_2 ($\text{M}^{-2}\text{min}^{-1}$)	Relative rate	
			0.1 M	0.01 M
Me ₂ SO	81		180	1800
DMF	26		58	580
MeCN	0.60	4.8	2.4	14.4
Dioxane	0.39	2.8	1.5	9.5
Toluene	0.39	4.5	1.0	1.0
Chloroform		0.55	0.13	0.13

3.3. 分子内触媒反応(隣接基および隣接原子関与)³⁴⁾

前項で述べた活性エステル法によるペプチド合成では, 活性エステルの合成段階あるいは, アミノリシスの段階でラセミ化の危険性を内蔵している。

酵素の活性部位では, アミノ酸残基の協同作用により触媒作用が発揮されていると考えられ, 特に α -キモトリプシンで, いわゆる電荷リレー機構が提案されていることは, 余りにも有名な話である³⁵⁾。これらの機構解明のための多数のモデル実験³⁶⁾から得られた結果を踏まえ, 考案されたと考えられるペプチド合成試薬について, 二, 三述べる。すなわち, エステルの活性をそれほど高めることなく, アミノリシスの段階での効率を高めることにより, 少なくともこの段階でのラセミ化を避けようというのが狙いである。その効率を高める方法として, 分子内触媒の利用がある。前項で, エステルのアミノリシス反応の速度式の中に, アミン分子に関する2次の項が観察されることは述べたが, この求核アミン分子以外のもう1分子のアミンの役割(すなわち一般塩基触媒作用)を有する基(group)あるいは原子が, 脱離するアルコール残基, すなわち分子内に存在すれば, 効率のよい反応が期待できる。換言すれば, 反応次数の低下である。酵素反応が高効率である原因の一つとして, 酵素-基質複合体形成以後は, 一種の分子内触媒反応と見做し得るからであり, 分子間と分子内反応によりもたらされる速度差は, エントロピー差が主要因であるといわれている。これについては, 最近, 筆者³⁷⁾および谷田³⁸⁾により, Koshland の提唱による Orbital Steering 説をめぐっての激しい論争の経緯について紹介しているので, 詳しくはそれらを参照されたい。

さて, アジド法によるペプチド合成についてはすでに述べたが, アジドはそれほど強力な電子吸引基ではないにもかかわらず効率よくペプチドが生成することに対し

て証明はないと思われるが、中間に(25)に示すような求核アミンとアジド窒素が水素結合をして、この分子内触媒によりアミンの求核性が増強されるためと考えられている¹²⁾。Jakubkeら³⁹⁾は、ペプチド合成反応で、8-ヒドロキシキノリンのエステル(26)が速やかにアミノリシスを受ける機構として、半定量的実験から、式[14]を推定

した。Bruceら⁴⁰⁾は詳細にこの反応を水溶液中で検討している。水溶液中におけるアミノリシスの速度定数は、すでに述べた式[4]であらわされる。Bruceらは、8-アセトキシキノリン(26)および6-アセトキシキノリン(27)(式[15])のそれぞれのアミノリシスを検討し、後者(27)に対するBrönsted関係式として、式[16]を得た。

$$\log k_n = 1.01 \, pK_a' - 8.80 \quad \cdots \cdots [16]$$

フェニルアセテートに対する同様の関係式として式[17]

$$\log k_n = 1.05 \, pK_a' - 10.4 \quad \cdots \cdots [17]$$

が、すでに知られており、両者は非常に酷似した関係式であるから同様な機構であることがうかがわれる。

一方、8-アセトキシキノリン(26)については、式[18]のように全く異なる関係式が得られた。

$$\log k_n = 0.70 \, pK_a' - 5.30 \quad \cdots \cdots [18]$$

ここで重要なことは、水とか、1級および2級アミンについて、化合物(26)と(27)の間の関係式として式[19]が得られ、

$$\log k_{n8} = 0.7 \log k_{n6} + 0.9 \quad \cdots \cdots [19]$$

一方、OH⁻および3級アミンについては、式[20]が得ら

れている。

$$\log k_{n8} = 1.0 \log k_{n6} - 0.6 \quad \cdots \cdots [20]$$

すなわち($\Delta F_8^\ddagger - \Delta F_6^\ddagger$)はOH⁻とか3級アミンについては一定であるが、1級および2級アミンについては一定値でない。このことは、両者(26および27)の反応機構が引き抜かれるべき水素を有するアミンについては、異なることを示唆しており、Jakubkeらが指摘したように、(26)では分子内一般塩基触媒機構でアミノリシスが起っていることを裏書きしている。

さて、ここでこのような隣接基関与の反応では、なぜラセミ化が抑制されるかについて、若干触れてみる。すでに図3で見た如くラセミ化の経路で、まず塩基でアシルアミドのプロトンが引き抜かれ(L-1a')オキシアニオンがアシル基を攻撃してオキサゾロンが生成する。8-ヒドロキシキノリンの窒素原子は、式[14]のように求核アミンのプロトンとは相互作用はするが、オキサゾロンが生成する律速段階でのオキシアニオンのアシル炭素への攻撃に対しては、この隣接基は何等有利に働くことはない。従って、このような隣接基関与反応は、求核攻撃するアミンの求核性を増大する方向に働き、一方オキサゾロン生成には関与しないという意味で、少なくともアミノリシスの段階では理想的といえる⁴¹⁾。

カテコールモノエステル(28)がやはり、ペプチド合成反応で有効であることが、JonesおよびYoungら⁴²⁾により指摘されており、そのアミノリシスの機構としては、式[21]において、H₂Oの代りにアミンが攻撃する分子内一般塩基触媒を考えている。Caponら⁴³⁾はこのカテコールモノエステル(28)の加水分解反応を検討し、表5のような結果を得た。すなわち、カテコールモノベンゾエートとo-メトキシフェニルベンゾエートは、イミダゾールとの反応では大差がないにもかかわらず、水との反応では、pH 8.40および7.94で大きな差が認められることより、式[21]のような機構を考えている。最近、Senatoreら⁴⁴⁾は、非プロトン性溶媒中でやはりカテコールモノエステルのアミノリシスを定量的に検討しており、大きな

Table 5 Comparison of the Catalytic Constants for the Hydrolysis of Catechol Derivatives at 59.2° (ref. 43)

	$10^3 k_0$ (sec ⁻¹)		$10^3 k_{1m}$ (1·mole ⁻¹ sec ⁻¹)
pH	8.40	7.94	8.20
Catechol monobenzoate	18.1	8.04	0.85
o-Methoxyphenyl benzoate	0.090	0.013	0.55

分子内一般塩基触媒作用を認めている。

イソオキサゾリウム塩の Kemp 試薬⁴⁵⁾ というのが有名であるが、これは Woodward 試薬 K (WRK) (31)⁴⁶⁾ に工夫を加えて、前述のカテコールモノエステルの形に変形したもので、着眼点が素晴らしい。この WRK (31) によるペプチド形成反応はすでに紹介されている⁴⁷⁾ が、比較的最近にも Dunn および Anfinsen ら⁴⁷⁾ により、この WRK の加水分解反応が調べられ (式 [22]), また同時に

Staphylococcal Nuclease という蛋白質の化学修飾もなされている。Kemp 試薬 (32) も類似したものであるが、途中カテコールモノエステル (35) が形成されるため、前述の如く効率良くペプチドが形成されるものと思われる。なお Kemp⁴⁵⁾ は、この試薬によるラセミ化の検討も併せて行っている。化合物 (35: R = Z-Gly-L-Phe) とグリシンエステルを縮合させた結果を調べている (通常これは、Anderson test と呼ばれる)。しかも強塩基であるテトラメチルグアニジンを加えても、加えない場合とラセミ化の度合は、それほど大差がない結果を得ている。この結果について次のような考察を加えている。ラセミ化は塩基触媒で進行するから、ラセミ化する構造種は、アミド陰イオン (37: H'A⁻) およびもう一種の (38: A⁼)

である。ここで (37) の方が (38) よりもラセミ化し易い構造であることは、(38) はフェノレートの形でもある故、このエステルは余り活性化を受けていない事より容易に推測されよう。図 9 に pH と各種イオンの濃度との関係を示してあるが、B 領域では、エステル (35) は定量的に

Fig. 9 Concentration dependence of anions derived from esters (35) (ref. 45).

$\text{H}_2\text{A} = (35)$; $\text{HA}^- = (36)$; $\text{H}'\text{A}^- = (37)$; $\text{A}^- = (38)$

アニオン(36)に変換される。そして、広範囲にわたりこのアニオン濃度は一定である。当然、もう一種のアニオン(37)は、異性体であるため、この濃度も一定である。その結果、カップリング速度とラセミ化の比も余り変わらない結果が得られ、高い塩基性の反応系でもラセミ化が抑制される。そして、このような効果を「分子内緩衝作用効果」と称している。このような意味からも、このカテコールモノエステル誘導体は、かなり理想に近づいた試薬といえるであろう。

次に、 α 求核試薬を用いる例を示そう。 α 求核試薬とは、求核攻撃を行う原子の隣にローンペアを1個もしくはそれ以上持つ原子が存在しているものである。これらの反応性は求核反応におけるBrønsted式から予想される速度よりも、異常に高く、 10^4 倍にも及ぶ場合すらある。原因は色々と議論されているが、結論は出ていない様である⁴⁸⁾。N-ヒドロキシスクシイミド⁴⁹⁾、N-ヒドロキシフタルイミド⁵⁰⁾とか、N-ヒドロキシピペリジン⁵¹⁾のエステルがペプチド合成によく用いられているが、これらの反応の遷移状態は、Goodmanら¹⁴⁾によれば、(39)、(40)の

様な分子内塩基触媒機構であろうといわれ、一応合理的であるように思われるが、確固たる証拠があるとは思えない。しかし、これらエステルが(39)、(40)の様な環状遷移状態を通るとすれば、アミンの求核性は一般塩基触媒により一段と増強されるし、また脱離基はプロトン移動に伴い正電荷を有してくるため、脱離能もよくなり高い反応性を説明するには都合がよい。またこれらがラセミ化を抑制するのは、8-ヒドロキシキノリンのところで述べた理由と同じであろう。と同時に、ここで前述の α 求核剤の特徴をあげねばなるまい。DCCを縮合剤としてこれら α 求核剤とアミノ酸からエステルを合成する際、図3に示されているL-オキサゾロンが仮に生成しても、DL-オキサゾロンになる以前に、このL-オキサゾロンにこれら高い反応性を有する α 求核剤が作用すれば、ラセミ化していないエステルが合成され得ることになる。事実、Goodmanら¹⁴⁾により光学活性オキサゾロンと α 求核剤の反応で、得られた物の光学活性の保持率の-highことが示された。Goodmanらは、 α 求核剤がエステルカルボニルに作用する遷移状態として、(41)、(42)を考えている。Hudsonら⁵²⁾も、ヒドロキサム酸類の反応性の分子軌

道法的検討も含め、系統的に研究しており、ヒドロキサム酸(43)の高い反応性に対し、式[23]における(44)のような状態を考えている。すなわち、四面体中間体

(44)が、図に示されたような分子内触媒(electrostaticあるいはanti-bonding軌道と相互作用による安定化)によるとしている。その他、2-ピリジルあるいは2-ピリジルチオールエステルのアミノリシスについても分子内触媒作用によって説明されている⁵³⁾。

3.4. N-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)

KönigおよびGeigerら⁵⁴⁾により、ペプチド合成上非常に有効な試薬であるHOBtが見出され、今や極論すれば、ペプチド化学の分野で時代の寵児になった感すらある。このHOBtについては、宗像、榊原ら⁵⁵⁾によって本誌上にも紹介されているが、筆者も特にこの試薬に興味を持っているので、最近得られた知見を含め、前記の紹介とできるだけ重複を避けて述べる。KönigおよびGeigerによれば、このHOBtとアミノ酸のエステルが、非常に速やかにアミノリシスを受けるので、その反応機構として特に証拠はないと思われるが、図10のような6員環の遷移状態を通と考えている⁵⁶⁾。もしこの機構が正しいならば、これは前項の分子内触媒反応の分類に入れるべきであろうが、上に述べたような訳で、別の項にした。またKönigとGeigerによれば、HOBtとN保護アミノ酸とのエステルは、結晶状態とジオキサン溶液中では構造が異なるという。筆者⁵⁷⁾は、KönigおよびGeigerの結果をさらに詳細に検討し、以下に述べるような大たん

Fig. 10 Six-membered intramolecular general base catalysis.

Table 6 Equilibrium Using Each Acetate (45a and 46a) in Aqueous Acetone

Acetone, % (v/v)	Ratio 45a/46a	
	Using 45a (min)	Using 46a (min)
20	0.41 (10)	0.39 (15)
50	1.17 (40)	1.09 (60)
80	2.37 (210)	2.40 (180)

HOBt エステルの構造の差を論じた。今回、筆者により始めてアセチル-HOBt (45a) および (46a) がそれぞれ純粋に単離された。この両異性体の含水アセトン中の挙動を調べた結果が、表 6 にまとめている。すなわちアセ

- a: R = CH₃CO-
 b: R = ϕ CH₂CO-
 c: R = N-protected amino acid
 d: R = N-protected dipeptide

トンの含量が少なくなるにつれて(溶媒の極性が增大)、(45a)と(46a)の平衡系で、極性構造であるN-オキシド(46a)が優勢になり、割合が多くなることが見出され、このことは Boyle⁵⁸⁾ が研究した水溶液中ならびに有機溶媒(エタノール)中での HOBt の互変異性の挙動とよく符合する。このアセチル HOBt の含水アセトン中での挙動結果をもとにして、アシルアミノ酸と HOBt のエステルの結晶状態ならびに溶液状態での構造差異を次のように説明した。すなわち、N-保護基(ウレタン構造)およびアミド結合は、図 11 に示したように分極しているといわれており⁵⁹⁾、この側鎖の双極子が固体状態で、丁度前記の極性の高い含水アセトン中におけるアセチル HOBt に対する溶媒効果(外的因子)に相当する役目(内的因子)を果していると考えれば、一般に N-保護アミノ酸と HOBt のエステルは、結晶として N-オキシド体 (46c) が単離されることは一応首肯できる。この考えを、さらにジペプチドの HOBt エステルに適用した処、たとえば、Z-Gly-Gly の HOBt エステルの場合、図 11 における点線で示した部分の側鎖の双極子は、お互に打ち消す方向に配列しているので、非極性構造 (45d) が得られるはずで、事実は予想と全く一致した。またこの (46c) はジオキサン中では、O-アシルと N-アシル体の平衡混合物になることも確かめられ、これは双極子が溶媒和により攝動を受けることにより乱され、一部 O-アシル体に変換さ

Fig. 11 Conformations of protected amino acids and dipeptides.

れるのであろう。次の興味は当然、HOBt エステルのアミノリシスは、O,N-アシル体のいずれで進むかということに移った。アセチル HOBt の加水分解反応をアミノリシスのモデルに選んで検討した。筆者のこの研究が大体終わった頃、McCarthy ら⁶⁰⁾により、同様の研究が発表されたが、意外なことに彼らは、水溶液中でアシル基の O,N 転移は認められないと述べている。

筆者⁶¹⁾は、(45a)を40%アセトニトリル中、25°Cで加水分解反応を試みた処、図 12 における各速度定数とし

Path a. Intramolecular general base catalysis. **Path b. Intermolecular general base catalysis.** **Fig. 12** Two possible pathways for neutral hydrolysis reaction.

て、次の値を得た。

$$k_1: 2.2 \times 10^{-2}, \quad k_2: 1.9 \times 10^{-2}, \quad k_3: 3.6 \times 10^{-3}, \\ k_4: 9.5 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}.$$

この結果からだけでは、この加水分解反応の経路として、**path a** かあるいは **path b** か未だ判然としないが、いずれにしても (45a), (46a) の O, N-アセチル体のいずれも活性種であろうと結論された。

ところで、この HOBt は必ずしもすぐれた面ばかりを持ち合せているとは限らないようで、最近に到り、HOBt 使用に由来する副反応についての報告もあらわれてきている⁶²⁾。

4. 多官能性触媒

酵素反応機構の研究と関連して、歴史的に特に有名なものとして、式 [24], [25] に示したテトラメチルグルコース (TMG) の α -ピリドン触媒による変旋光に関する Swain および Brown⁶³⁾ の研究があるが、すでにこれに関しては多くの紹介がなされており、また紙数も残り少なくなってきたので文献をあげるにとどめたい⁶⁴⁾。なおペプチド合成化学の分野では、中溝⁶⁵⁾ による系統的な研究があり、これは秀逸である。また、最近、Litvinenko ら⁶⁶⁾ は、 α -ピリドンのアミノリシスに及ぼす触媒作用機

構として、(47) あるいは (48) を考えている。またその他の触媒についての分子軌道法的研究⁶⁷⁾ もある。すでに宗像、榊原⁵⁵⁾ によっても触れられているが、ここで再び HOBt の触媒作用について少し考えてみたい。

König および Geiger^{56, 68)} は種々の活性エステルによるペプチド合成の際、HOBt を添加することにより反応が驚くほど促進されることを見出している。しかも、これは DMF のような極性溶媒中では促進されるが、非極性溶媒 (THF) では逆に反応を遅くするという。そこで彼らは、図 13 のようなコンプレックスが、それぞれの溶媒中で形成されるためと考えているようであるが、この場合特に溶媒の種類によって、このようにコンプレックスの構造が異なる必然性はないように思われる。Rony⁶⁹⁾ は、 α -ピリドン類が触媒作用を発揮するのは、たとえば (47), (48) に見られる如く、触媒にはプロトン移動後も電荷が発生せず中性分子であり、これが非極性溶媒中では重要な因子であると考えており、さらに彼はこのような触媒に対して「互変異性触媒」と名付けている。ところが、この HOBt の触媒作用は特に極性溶媒中で大きく発現されるので、この α -ピリドンの場合とやや事情が異なるようで、今後の機構解明が望まれる。

次に極く最近、加水分解酵素を用いるペプチド合成⁷⁰⁾ の成功が発表されたが、これはもち論この多官能性触媒の中でも恐らく最高と考えられる自然触媒であり、今後の発展が大いに期待されるところである。しかし、藤野ら⁷¹⁾ により、ペプシンによるペプチド合成で、若干ラセミ化する現象が認められている。この酵素によるペプチド合成では、いわゆる微視的可逆性の原理から、加水分解の経路と同じ経路を通る処があるはずで、どの段階でラセミ化するのか、酵素反応機構の解明と相まって、今後に残された大きな課題の一つといえよう。

Fig. 13 Two possible complexes proposed by König and Geiger.

5. おわりに

現在までに開発されているペプチド合成試薬の数は、枚挙にいとまがないほどあり、全部ここで網羅することはおよそ不可能である。個々のものについては、適当な総説あるいは、成書^{7), 59), 72)}を参照されたい。ここでは、特に筆者が興味をもったものを取りあげ、また反応機構が比較的良好に研究されているものに限定したので、非常にかたよった紹介になったことをお詫びしたい。動力学的研究が、必ずしも反応機構に解答を与えてくれるとは思われないが、データが定量的であるため、多数の情報を提供してくれることは否めない。現在ペプチド合成は方法論的には、略確立されたともいわれているが、この小文で終始ラセミ化の問題を浮き彫りにしてきたようにこれは依然として重大な問題と思われる。安全だと思われていたアジド法でも場合によっては、ラセミ化が起る¹²⁾といわれている昨今でもあるので、より精緻な反応機構の研究から得られた知識をもとにさらに優れた合成試薬の現われることを期して止まない次第である。終りに筆者は、Wisconsin大学のO'Leary教授ならびにMITのKemp教授のもとで、この方面の研究をする機会に恵まれ、ここに両教授のご指導に感謝する。谷田博士には、常日頃、色々とご教示を仰ぐと共に、討論して頂き、またレフエリーの方には、有益なコメントを頂きましたことにつき深謝の意を表したい。

(昭和52年6月28日受理)

文 献

- 1a) 泉屋信夫, 松浦修治, 黒水健治, 有合化, **29**, 1032 (1971)
- b) 泉屋信夫, 有合化, **32**, 833 (1974)
- c) 青柳東彦, 泉屋信夫, 化学総説, No.6, p.71, 日本化学会編 (1974)
- d) 矢島治明, 化学, **31**, 760 (1976)
- 2a) T. C. Bruice, S. J. Benkovic, "Bioorganic Mechanisms", I, II, W. A. Benjamin Inc. (1966)
- b) 岩井浩一, 井上康男, "生物有機化学", 朝倉書店 (1969)
- c) 最近のものとしては, 福井三郎, 田伏岩夫, 国武豊喜, "生物有機化学", 講談社 (1976)
- 3a) 吉田善一, 太田和一郎編, "酵素類似機能をもつ有機反応", I, II, 南江堂 (1976)
- b) 田伏岩夫, 化学総説, No.3, p.1, 日本化学会編 (1973)
- 4) 矢島治明, 有合化, **29**, 27 (1971)
- 5) 向山光昭, 有合化, **29**, 848 (1971)
- 6) 塩入孝之, 山田俊一, 有合化, **31**, 666 (1973)
- 7) 泉屋信夫, 加藤哲夫, 大野素徳, 青柳東彦, "ペプチド合成(合成化学シリーズ)", 丸善 (1975)
- 8) For example, see J. F. W. McOmie ed., "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press (1973)
- 9) 中溝喜博, 蛋白質, 核酸, 酵素, **13**, 586 (1968)
- 10) J. Morawiec, D. Konopinska, I. Z. Siemion, *Rocz. Chem.*, **45**, 771 (1971)
- 11) D. S. Kemp, S. W. Chien, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 2745 (1967)
- 12) Y. S. Klausner, M. Bodanszky, *Synthesis*, **1974**, 549
- 13) I. Antonovics, A. L. Heard, J. Hugo, M. Williams, G. T. Young, in "Peptides", ed. by L. Zervas, Pergamon Press, London (1963) p. 121
- 14) M. Goodman, C. Glaser, "Peptides: Chemistry and Biochemistry", ed. by B. Weinstein, S. Lande, Marcel Dekker, Inc., (1970), p. 267
- 15) 平野弘, 有合化, **35**, 354 (1977)
- 16a) A. F. Hegarty, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 6561, 6568, 6575 (1970)
- b) A. F. Hegarty, R. F. Pratt, T. Giudici, T. C. Bruice, *ibid.*, **93**, 1428 (1971)
- 17) J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 1067 (1955)
- 18a) J. Rebek, D. Feitler, *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 4052 (1973)
- b) *idem.*, *ibid.*, **96**, 1606 (1974)
- c) *idem.*, *Int. J. Peptide Protein Res.*, **7**, 167 (1975)
- 19) A. F. Hegarty, M. T. McCormack, G. Ferguson, P. J. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 2015 (1977)
- 20) H. Ito, N. Takamatsu, I. Ichikizaki, *Chemistry Lett.*, **1977**, 539
- 21) J. P. Fox, M. I. Page, A. Satterthwait, W. P. Jencks, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 4729, 4731 (1972)
- 22) W. P. Jencks, *Chem. Rev.*, **72**, 705 (1972)
- 23) T. C. Bruice, *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 331 (1976)
- 24) W. P. Jencks, "Catalysis in Chemistry and Enzymology", McGraw-Hill (1969)
- 25a) F. M. Menger, J. H. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 3824 (1972)
- b) 村上幸人, 砂本順三, 化学の領域, **27**, 716 (1973)
- 26) H. Anderson, C. W. Su, J. W. Watson, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 482 (1969)
- 27) D. P. N. Satchell, I. I. Secemski, *J. Chem. Soc. B*, **1970**, 1013
- 28) S. Sakakibara, N. Inukai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **37**, 1231 (1964)
- 29) Y. Pocker, D. L. Ellsworth, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 2284 (1977)
- 30) K. Ya. Burshtein, Yu. I. Khurgin, *Bull. Acad. Sci. USSR*, **23**, 1613 (1974)
- 31) C. W. Su, J. W. Watson, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 1854 (1974)
- 32a) R. W. Taft, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 4794 4801 (1969)
- b) L. Joris, J. Mitsky, R. W. Taft, *ibid.*, **94**, 3438

- (1972)
- 33) D.S. Kemp, "Peptides 1971", ed. by H. Nesvadba, North-Holland Pub. Co., (1973), p. 1.
- 34a) A. J. Kirby, A. R. Fersht, "Progress in Bioorganic Chemistry", ed. by E. T. Kaiser, F. J. Kezdy, vol. 1, p. 1, Wiley-Interscience (1971)
- b) B. Capon, S. P. McManus, "Neighboring Group Participation", vol. 1, Plenum Press (1976)
- 35) D. M. Blow, *Accounts Chem. Res.*, **9**, 145 (1976)
- 36) 文献 2), 24), および 34) を参照
- 37) 堀木樟夫, 化学, **32**, 426 (1977) および引用文献
- 38) 谷田博, 有合化, **35**, 439 (1977) および引用文献
- 39) H. D. Jakubke, A. Voigt, *Chem. Ber.*, **99**, 2419 (1966)
- 40) S. M. Felton, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 6721 (1969)
- 41) J. H. Jones, *Chem. Ind.*, **1974**, 723
- 42) J. H. Jones, G. T. Young, *J. Chem. Soc. C*, **1968**, 436
- 43) B. Capon, B. Ch. Ghosh, *J. Chem. Soc. B*, **1966**, 472
- 44) L. Senatore, E. Ciuffarin, M. Isola, M. Vichi, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5306 (1976)
- 45a) D. S. Kemp, S. W. Chien, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 2743 (1967)
- b) D. S. Kemp et al., *Tetrahedron*, **30**, 3677, 3955, 3969 (1974)
- 46a) R. B. Woodward, R. A. Olofson, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 1007 (1961)
- b) R. B. Woodward, R. A. Olofson, H. Mayer, *ibid.*, **83**, 1010 (1961)
- c) R. B. Woodward, R. A. Olofson, *Tetrahedron, Suppl.* No. 7, 415 (1966)
- 47) B. M. Dunn, C. B. Anfinsen, *J. Biol. Chem.*, **249**, 3717 (1974)
- 48a) 大饗茂, 門磨義仁, 化学, **27**, 1045 (1972)
- b) "Chemical Reactivity and Reaction Paths", ed. by G. Klopman, John Wiley and Sons (1974)
- c) N. J. Fina, J. O. Edwards, *Int. J. Chem. Kinetics*, **5**, 1 (1973)
- 49) G. W. Anderson, J. E. Zimmerman, F. M. Callahan, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3039 (1963)
- 50) G. H. L. Nefkens, G. I. Tesser, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 1263 (1961)
- 51) B. O. Handford, J. H. Jones, G. T. Young, T. F. N. Johnson, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 6814
- 52) J. D. Aubort, R. F. Hudson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1970**, 938 および一連の文献
- 53a) F. R. Smith, J. W. Watson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1969**, 786
- b) G. J. Kasparek, T. C. Bruice, *J. Org. Chem.*, **37**, 1456 (1972)
- 54) W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.*, **103**, 788 (1970)
- 55) 宗像英輔, 榊原俊平, 有合化, **31**, 853 (1973)
- 56) W. König, R. Geiger, "Chemistry and Biology of Peptides, Proceedings of 3rd American Peptide Symposium", ed. by J. Meienhofer, Ann Arbor Science Pub. Inc., (1972), p. 343
- 57) K. Horiki, *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 1897
- 58) F. T. Boyle, R. A. Y. Jones, *J. Chem. Soc. Perkin Trans II*, **1973**, 160
- 59) 例えば M. Bodanszky, M. A. Ondetti, "Peptide Synthesis", Interscience Pub. (1966)
- 60) D. G. McCarthy, A. F. Hegarty, B. J. Hathaway, *J. Chem. Soc., Perkin Trans II*, **1977**, 224
- 61) K. Horiki, *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 1901
- 62a) H. Rink, B. Riniker, *Helv. Chim. Acta*, **57**, 831 (1974)
- b) H. D. Jakubke, Ch. Klessen, *J. prakt. Chem.*, **319**, 159 (1977)
- 63) C. G. Swain, J. F. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2538 (1952)
- 64a) たとえば文献 3a), p. 13, 国武豊喜, "多官能性触媒"
- b) J. P. Li, *Aldrichimica Acta*, **5**, 5 (1972) および引用文献
- 65) N. Nakamizo, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **42**, 1071, 1078 (1969)
- 66) L. M. Litvinenko, Yu. A. Sharanin, L. P. Drizhd, V. A. Savelova, *J. Gen. Chem. (USSR)*, **43**, 1808 (1973)
- 67a) H. J. Gold, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 6387 (1971)
- b) H. M. Niemeyer, O. Goscinski, P. Ahlberg, *Tetrahedron*, **31**, 1699 (1975)
- 68) W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.*, **106**, 3626 (1973)
- 69a) P. R. Rony, *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 2824 (1968)
- b) idem., *ibid.*, **91**, 4244, 6090 (1969)
- 70a) 森原和之, 岡達, 昭和51年度日本農芸化学会講演要旨集, p. 406
- b) 磯和義員ら, 日本化学会第35年秋季年会講演予講集 II, p. 482, 483, 484
- 71) M. Fujino, C. Kitada, I. Yoshida, in "Peptide Chemistry", ed. by T. Nakajima, Protein Research Foundation (1976), p. 28
- 72) F. M. Finn, K. Hofmann, "The Proteins", vol. II (3rd ed.), ed. by H. Neurath, R. L. Hill, Academic Press (1976). p. 105