

Aminoalkylphosphonic Acid 를 가지는 Dipeptide 의 합성

洪 錫 引 · 盧 萬 均 · 金 容 駿

고려대학교 이공대학 화학공학과

(1974. 12. 10 접수)

Synthesis of Dipeptides Containing Aminoalkylphosphonic Acid

Suk In Hong, Man Khyun Rho and Yong Joon Kim

Department of Chemical Engineering, College of Science and Engineering,
Korea University, Seoul, Korea

(Received Dec. 10, 1974)

요 약. 1-Aminoalkylphosphonic acid 인 *DL*-1-aminoethylphosphonic acid(1-AEP)와 *DL*-1-aminopropylphosphonic acid(1-APP)를 아미노산인 glycine, *DL*-alanine, *DL*-phenylalanine 과 염기성 수용액 상에서 반응시켜 아직까지 발표되지 않은 다음의 dipeptide 들을 합성하였다.

N-Phthalylglycyl-1-AEP, *N*-phthalyl-*dl*-alanyl-1-AEP, *N*-phthalyl-*dl*-phenylalanyl-1-AEP, *N*-phthalylglycyl-1-APP, *N*-tosylglycyl-1-APP 및 *N*-tosyl-*dl*-alanyl-1-AEP

위의 화합물들은 모두 흰색의 고체로 얻어졌으며 ninhydrine test, IR spectra, 전위차적정, 원소 분석에 의해 확인되었다.

Abstract. *DL*-1-aminoethylphosphonic acid(1-AEP) and *DL*-1-aminopropylphosphonic acid(1-APP) were synthesized from the propionic acid and butyric acid respectively using the modified cutius degradation. The following unreported derivatives containing peptide linkage were synthesized:

N-phthalylglycyl-1-AEP, *N*-phthalyl-*dl*-alanyl-1-AEP, *N*-phthalyl-*dl*-phenylalanyl-1-AEP, *N*-phthalylglycyl-1-APP, *N*-tosylglycyl-1-AEP and *N*-tosyl-*dl*-alanyl-1-AEP

These compounds were characterized and identified by means of elemental analysis, potentiometric titration, infrared spectroscopy and ninhydrin test.

서 론

Chavane¹ 이 1947년 aminophosphonic acid가 자연에 존재할 지도 모른다는 가능성을 발표한 후 1957년 Horiguchi 등²에 의해 양(羊)의 반추물에서 2-aminoethylphosphonic acid가 처음으로 발견되었다. Kittridge³와 Quin 등⁴도 protozoa, coelenterate, fresh-water mollusk, bovin brain 들로부터 이를 발견하였다. Kittridge 등⁵은 Zoanthid

를 물과 알콜로 처리하여 2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid(2-amino-3-phosphonopropionic acid)를 추출하였다.

이밖에도 최근까지 여러종류의 aminophosphonic acid 들이 발견되고 그 분포도 원생동물에서 포유동물에 이르기까지 넓은 범위에 걸쳐 있으며 특히 사람의 뇌(0.1mg/g wet tissue), 심장, 간, 근육(0.2~0.6 mg)에도 존재한다고 알려졌다⁶.

또한 aminophosphonic acid 는 구조적으로 아미

노산과 비슷할 뿐 아니라 생화학적 기능을 가지고 있다는 보고도⁷⁻⁹ 있으며 최근 김숙희¹⁰ 등은 1-aminoethylphosphonic acid 를 흰쥐에 투여하여 체내에서 해롭지 않을 뿐 아니라 단백질 및 燐 대사에도 관여함이 보고되어 있다. 따라서 이들 aminophosphonic acid 는 생화학적인 면에서 큰 흥미를 끌고 최근에는 이들의 합성에 대한 연구도 활발히 전개되고 있다. 이미 1946년에 Finkelstein¹¹ 은 2-aminoethylphosphonic acid 를 합성하였고, 1947년 Chavane¹, Kosolapoff¹², Kabanik¹³ 등은 아미노산에 해당하는 구조를 가진 종류의 1-aminophosphonic acid 를 합성한 바 있다.

1964년에는 Chambers 등¹⁴ 에 의하여 Curtius degradation 을 이용한 1-aminophosphonic acid 의 합성법이 발표되었다.

1968년 Berlin 등¹⁵ 은 dialkylarylphosphonate 를 oxime 으로 만들어 aluminium-amalgam(Al-Hg) 로 처리한 후 산축대로 가수분해하여 1-aminomethylphosphonic acid 를 합성하는 새로운 합성법을 발표하였다.

1970년 金容駿 등¹⁶ 은 아직까지 발표되지 않은 1-aminoalkylphosphonic acid 와 그의 유도체들을 Chambers 가 발표한 방법에 의하여 합성하였다.

1-Aminophosphonic acid 는 1-aminomethylphosphonic acid 를 제외하고 비대칭탄소를 가지며 이들의 광학활성물질의 분리 및 합성에 관하여 1965년 金容駿¹⁷ 은 *N*-benzoyl-*dl*-1-aminoethylphosphonic acid 와 *N*-benzoyl-(+)-aminoethylphosphonic acid 의 brucine salt 를 fractional crystallization 에 의해서 분리하였고 이것을 산축대로 가수분해하여 광학활성물질인 순수한 (+)-1-aminoethylphosphonic acid 를 얻었다.

1972년 Gilmore 등¹⁸ 은 (R)-(+)와 (S)-(-)-1-methylbenzylamine 을 benzaldehyde 와 반응시켜 광학활성체인 *L*-1-aminobenzylphosphonic acid 를 합성하였음을 발표하였다.

따라서 이들 1-aminophosphonic acid 의 생화학적 기능을 좀 더 다각적으로 검토하기 위하여 아미노산 대신 1-aminoalkylphosphonic acid 를 peptide chain 으로 갖는 enzyme 혹은 peptide 를

합성하려는 목적으로 본 연구에서는 이의 첫 시도로써 1-aminoethylphosphonic acid 및 1-amino-propylphosphonic acid 를 model compound 로 선택하여 glycine, *DL*-alanine, *DL*-phenylalanine 과 염기성 수용액 상에서 반응시켜 이들의 dipeptide 를 합성하였다.

실 험

1. 시약 및 기기

실험에 사용한 시약 중 propionic acid, butyric acid, thionylchloride, triethylphosphite, hydrazine, propylene oxide 는 Matheson Coleman & Bell Co. 제를 사용하였고 phthalic anhydride 는 Wako 제 시약 1급을, glycine 은 Wako 제 시약 특급을 사용하였으며, *DL*-alanine, *DL*-phenylalanine 은 Ishizu pharmaceutical Co. 제 특급시약을 사용하였다. 그의 시약 및 용매는 Wako 제 및 Merck 제 시약 1급을 사용하였다.

사용한 기기는 Abbe refractometer(Shimadzu 제), Beckman zeromatic pH-meter II, Melting point apparatus(Shimadzu 제), Grating infrared spectrophotometer 1-G2 (Hitachi 제) 등이며 화합물의 원소 P 는 Walter¹⁹법에 의하여 분석하였고 N 은 Semimicro Kjeldahl 법²⁰에 의하여 정량하였다.

2. 합 성

2.1. 1-Aminoethylphosphonic Acid(1-AEP) 의 합성

(1) **Ethyl α -Bromopropionate.** Propionic acid, 299 g(4 mole, 302 ml)을 2 l 플라스크에 넣고 38~40°C 로 가열한 후 thionylchloride 502.5 g(4.2 mol, 306 ml)을 2 시간 동안 교반하면서 적하였다. 반응온도를 65°C 까지 서서히 올린 후 Br₂ 656 g(4.1 mole, 225 ml)을 2 시간 동안 교반하며 적하하고 60~65°C 에서 12 시간 동안 반응을 계속시켰다. 이 용액에 300 ml(5 mole)의 무수에틸알콜을 60°C 를 유지하며 3 시간 적하였다. 탄산나트륨을 넣어 반응중 생성된 염산을 중화한 후 에스테르층을 분리하여 drierite 를 넣고 하루밤 방치하였다. Drierite 를 여과하여 제거한

후 엷은 황색 용액을 몰아스피레이터로 67~70 °C/30.5mm 에서 감압분별 증류하여 액체의 주 생성물을 얻었다. 수득율 494 g(70%), n_D^{20} = 1.4469(문헌치²¹ 1.4469).

(2) **Triethyl α -Phosphonopropionate.** 380 g (2.1 ml)의 ethyl α -bromopropionate 를 2l 플라스크에 넣고 145 °C로 가열하여 triethylphosphite 383 g(2.3 mole)을 3시간 동안 적하했다. 적하 후 브롬화에테르기체 발생이 없을 때까지 160~165 °C로 가열한 후 상온으로 냉각하고 미반응의 triethylphosphite 는 몰아스피레이터로 감압증류하여 제거한 후 남은 용액을 121~123 °C/4 mm 에서 감압 증류하여 주 생성물을 얻었다. 수득율 325 g(69%), n_D^{20} = 1.4208(문헌치²² 1.4280).

(3) **1-Aminoethylphosphonic Acid**의 합성. Hydrazine(anhydrous 97%) 33 ml(1 mole)을 1l 플라스크에 넣고 0.5 mole(119 g)의 triethyl α -phosphonopropionate 를 2시간 동안 교반하며 적하했다. 이때 반응온도는 40 °C 까지 되었다. 반응온도를 40~50 °C로 유지시키면서 20시간 교반했다. 과잉의 hydrazine 과 생성된 에틸알콜을 몰아스피레이터로 감압증류하여 분리제거했다. 액은 끈끈한 점성있는 용액으로 변했다. 0~5 °C로 용액을 냉각하여 50 ml의 증류수를 가해 희석하고 에틸에테르 300 ml 을 가한 후 농염산 50 ml 을 서서히 30분간 적하했다. 곧 0 °C로 유지되는 반응용액에 41 g의 NaNO₂를 80 ml의 물에 녹인 수용액을 1시간 동안 서서히 적하했다. 냉각되어 있는 용액으로부터 에테르층을 분리하고 물층을 50 ml의 에테르로 3차에 걸쳐 추출하여 에테르 추출액에 합했다. 이 용액에 에틸알콜을 200 ml 을 가하여 상온에서 40시간 방치했다. 이때 질소기체의 상승을 볼 수 있었다. 에테르와 에틸알콜을 증류하여 제거한 후 진한염산 400 ml 을 가하고 92~95 °C를 유지시키면서 36시간 환류했다. 과량의 염산을 몰아스피레이터로 증류제거 했다. 그 결과 120 ml 정도의 끈끈한 용액을 얻었으며 400 ml의 에틸알콜을 가해 희석한 후 AgNO₃ 수용액에 Cl⁻ 이온이 음성일때까지 propylene oxide 를 적하하여 흰

색 침전을 얻었다. 여과 후 침전을 물에 용해시키고 에틸알콜을 가해 재결정했다. 이것을 진공데시케이터 속에서 상온으로 3일 이상 건조시켰다. 수득율 28.1 g(40%), 용점 294 °C(문헌치 294 °C¹⁶, 286.5 °C¹⁴, 310 °C²³).

2.2. 1-Aminopropylphosphonic Acid(1-APP)의 합성

Hydrazin(anhydrous 97%) 32.2 g(1 mole)과 실험 2.1(2)와 같은 방법으로 얻어진 triethyl- α -phosphonobutyrate 125 g(0.5 mole)을 실험 2.1(3)와 같은 방법으로 반응시켜 1-APP를 합성하였고 물과 에틸알콜로 재결정하여 흰색 결정을 얻었다. 이것을 상온에서 3일 이상 진공 건조시켰다. 수득율 40 g(52%), 용점 267~268 °C(문헌치¹⁶ 267~268 °C).

2.3. N-Phthalylglycyl-1-AEP의 합성

(1) **N-Phthalylglycine.** Glycine 1.5 g(0.02 mole)과 phthalic anhydride 3.0 g(0.02 mole)을 기름중탕위에서 180~185 °C로 유지시키고 15분 동안 교반시켜 주면서 반응시켜 얻어진 연한 황색의 고체를 에틸알콜과 물로 재결정시켜 침상의 흰색 결정을 얻었다. 이것을 상온으로 3일 이상 진공 건조시켰다. 수득율 3.7 g(93%), 용점 191~192 °C(문헌치²⁴ 191~192 °C).

(2) **N-Phthalylglycylchloride.** N-Phthalylglycine 2.05 gr (0.01 mole)과 phosphorous pentachloride 2.08 g(0.01 mole)을 무수벤젠 20 ml 에 녹이고 기름중탕 위에서 60 °C을 유지하며 3시간 동안 교반시켜 준 후 반응액을 몰아스피레이터로 감압하에서 증발 농축시켜 얻어진 연한 갈색의 고체를 벤젠과 석유에테르로 재결정시켜 흰색의 결정을 얻었다. 이것을 상온으로 3일 이상 진공 건조시켰다. 수득율 2.0 g(90%), 용점 84~85 °C(문헌치²⁵ 85~86 °C).

(3) **N-Phthalylglycyl-1-AEP.** 1-AEP 1.25 g (0.01 mol)과 산화마그네슘 0.6(0.015 mole)을 증류수 37 ml 에 녹여 현탁시킨 후 이 반응 혼합물을 기름중탕 위에서 3~5 °C를 유지시켰다. 이 용액에 N-phthalylglycylchloride 2.2 gr(0.01 mole)을 무수 dioxane 12 ml 에 녹여 40분에 걸쳐 적하시킨 후 상온에서 10분간 계속 교반하였다. 이

반응물에 진한 염산을 가하여 pH를 2~3으로 한 후 생성된 침전을 여과하여 제거하고 남은 여액을 물아스피레이터 감압 하에서 증발 농축시켜 얻어진 흰색 고체를 물에 녹였다. 이것을 양이온 교환수지(Dowex 50w-X4)를 통과시킨 후 세척수의 pH가 증류수와 같아질 때까지 증류수로 세척한 후 다시 물아스피레이터로 감압하에서 증발농축시켜 얻어진 흰색의 고체를 물과 에틸알코올로 재결정시켜 흰색 결정을 얻었다. 이것을 상온에서 3일 이상 진공 건조시켰다. 수득율 1.6g(51.3%); 융점 216~217°C; 중화당량 157(계산치 156); I.R. 3410cm⁻¹(N-H), 1720 and 1780 cm⁻¹ (phthalyl C=O), 1540 cm⁻¹ (N-H), 1210 cm⁻¹ (P=O), 1660 cm⁻¹ (peptide C=O).

원소분석 C₁₂H₁₃O₆N₂P: P, 9.84%(계산치 9.92%); N, 9.03%(계산치 8.98%).

2.4. N-Phthalyl-dl-alanyl-1-AEP의 합성

(1) N-Phthalyl-dl-alanine. DL-Alanine 4.45 g(0.05 mole)과 phthalic anhydride 7.5 g(0.05 mole)을 150~155°C에서 실험 2.3(1)과 같은 방법으로 30분 동안 반응시킨 후 처리하여 얻어진 흰색의 고체를 에틸알코올과 물로 재결정시켜 흰색의 침상·결정을 얻었다. 수득율 10.5g(96%). 융점 161~163°C(문헌치²⁴ 160~163°C).

(2) N-Phthalyl-dl-alanylchloride. N-Phthalyl-dl-alanine 4.4g(0.02mole)과 phosphorous pentachloride 4.16 gr(0.02 mole)을 무수벤젠 40 ml에 녹이고 실험 2.3.(2)와 같은 방법으로 6시간 동안 반응시킨 후 처리하여 얻어진 흰색의 고체를 벤젠과 석유에테르로 재결정하여 흰색의 결정을 얻었다. 수득율 3.9 g(83%), 융점 70~72°C.

(3) N-Phthalyl-dl-alanyl-1-AEP. 1-AEP 1.25 g(0.01 mole)과 산화마그네슘 0.6g(0.015 mole)을 증류수 37 ml에 녹여 현탁시킨 후 여기에 N-phthalyl-dl-alanylchloride 2.4 gr(0.01 mole)을 12 ml의 무수 dioxane에 녹여 적하시키면서 실험 2.3(3)과 같은 방법으로 반응시킨 후 처리하여 얻어진 흰색의 고체를 물과 아세트산에테르에 재결정시켜 흰색의 결정을 얻었다. 수득율 1.1 g(33.7%); 융점 179~181°C; 중화

당량 167(계산치 163); IR 3400 cm⁻¹(N-H), 1720 and 1779 cm⁻¹(phthalyl C-O), 1550 cm⁻¹ (N-H), 1200 cm⁻¹(P=O), 1650 cm⁻¹(peptide C=O).

원소분석 C₁₃H₁₅O₆N₂P: P, 9.37%(계산치 9.49%); N, 8.84%(계산치 8.59%).

2.5. N-Phthalyl-dl-phenylalanyl-1-AEP의 합성

(1) N-Phthalyl-dl-phenylalanine. DL-phenylalanine 3.3 g(0.02 mol)과 phthalic anhydride 2.96 g(0.02 mole)을 실험 2.4(1)와 같은 방법으로 반응시켜 얻어진 옅은 황색 고체를 에틸알코올과 물로 재결정하여 흰색 결정을 얻었다. 수득율 5.5 g(93.5%), 융점 174~175°C(문헌치²⁴ 176~178°C)

(2) N-Phthalyl-dl-phenylalanylchloride.

DL-Phthalyl-dl-phenylalanine 6.0 g(0.02 mole)과 phosphorous pentachloride 4.16 g(0.02 mole)을 40 ml의 무수벤젠에 녹이고 2.3(2) 실험과 같은 방법으로 10시간동안 반응시켜 처리한 후 얻어진 옅은 갈색의 고체를 벤젠과 석유에테르로 재결정시켜 흰색 결정을 얻었다. 수득율 5.1 g(84%), 융점 121~123°C(문헌치²⁶ 124~126°C).

(3) N-Phthalyl-dl-phenylalanyl-1-AEP. 1-AEP 1.25 g(0.01 mole)과 산화마그네슘 0.6g(0.05 mole)을 37 ml의 물에 현탁시키고 여기에 N-phthalyl-dl-phenylalanylchloride 3.14 g(0.01 mole)을 무수 dioxane 12 ml에 녹여 적하시키면서 실험 2.3(3)과 같은 방법으로 반응시킨 후 처리하여 얻어진 흰색 고체물로 재결정하여 흰색 결정을 얻었다. 수득율 0.8 gr(20%); 융점 304~305°C; 중화당량 204(계산치 201); IR 3400 cm⁻¹(N-H), 1710 and 1780 cm⁻¹(phthalyl C=O), 1540 cm⁻¹(N-H), 1170 cm⁻¹(P=O), 1630 cm⁻¹(peptide C=O).

원소분석 C₁₉H₁₉O₆N₂P: P, 7.32(계산치 7.70%); N, 7.29(계산치 6.96%).

2.6. N-Phthalylglycyl-1-APP의 합성

1-APP 1.32 g(0.01 mole)과 산화마그네슘 0.6 g(0.015 mole)을 37 ml의 증류수에 녹여 현탁시킨 후 실험 2.3(2)로 부터 얻어진 N-phthalyl-

glycylchloride 2.1 g(0.01 mole)을 12 ml의 무수 dioxane에 녹여 적하시키면서 실험 2.3(3)와 같은 방법으로 반응시킨 후 처리하여 얻어진 흰색 고체를 물과 아세톤으로 재결정시켜 흰색의 결정을 얻었다. 수득율 1.4 g(43%); 융점 224~225 °C; 중화당량 164(계산치 163); IR 3350 cm⁻¹(N-H), 1710 and 1770 cm⁻¹(phthalyl C=O), 1540 cm⁻¹(N-H), 1190 cm⁻¹(P=O), 1650 cm⁻¹(peptide C=O).

원소분석 C₁₃H₁₅O₆N₂P₁: P, 9.41(계산치 9.49%); N, 8.72(계산치 8.59%).

2.7. N-Tosylglycyl-1-AEP의 합성

(1) *N-Tosylglycine*. Glycine 22.5g(0.3 mole)을 1N 수산화나트륨 용액 300 ml에 완전히 녹이고 여기에 *p*-toluensulfonylchloride 57 g(0.3 mole)을 가한 후 70~80 °C에서 5~10분 동안 교반시키며 반응시켰다. 냉각하여 불용물질을 여과하여 제거한 후 진한 염산으로 여액의 pH를 2~3으로 조절하여 흰색 결정을 얻었다. 이것을 methylethylketone(MEK)과 carbontetrachloride로 재결정시켰다. 수득율 55 g(80%), 융점 155~156 °C(문헌치²⁷ 155.5 °C).

(2) *N-Tosylglycylchloride*. *N*-tosylglycine 6 g(0.03 mole)과 phosphorous pentachloride 8 g(0.04 mole)을 무수에테르 70 ml에 녹이고 10~15 °C에서 90분 동안 반응시켰다. 불용의 물질을 여과하여 제거한 후 여액의 석유에테르 250 ml을 가하고 냉장고에 하루밤 방치하여 흰색 결정을 얻었다. 이것을 에테르와 석유에테르로 재결정시켰다. 수득율 5.2 g(80%), 융점 83 °C(문헌치²⁸ 82~84 °C).

(3) *N-Tosylglycyl-1-AEP*. 1-AEP 1.25 g(0.01 mole)을 7.5 ml의 2N NaOH 용액에 녹인 후 얼음중탕위에서 3~5 °C를 유지시켰다. 반응이 끝난 후 3N 염산을 사용하여 반응액의 pH를 2~3으로 한 후 냉장고에 5~6시간 방치하여 생긴 침전을 여과하여 제거한 후 여액을 물아스피레이터로 감압 하에서 증발 농축하였다. 얻어진 흰색 결정에 무수에틸알콜을 30 ml 가하여 불용인 물질을 여과하여 제거한 후 감압하에서 얻은 흰색 고체를 물로 재결정시켰다. 이

것을 진공데시케이터 속에서 상온으로 3일 이상 건조시켰다. 수득율 1.6 g(50%); 융점 188~190 °C; 중화당량 170(계산치 168); IR 3350 cm⁻¹(N-H), 1170 cm⁻¹(P=O), 1570 cm⁻¹(N-H) 1330 and 1110 cm⁻¹(SO₂), 1640 cm⁻¹(C=O).

원소분석 C₁₁H₁₇O₆N₂P₁S₁: P, 9.11(계산치 9.21), N 8.28(계산치 8.33).

2.8. N-Tosylalanyl-1-AEP의 합성

(1) *N-Tosylalanine*. Alanine 8.9 g(0.1 mole)과 *p*-toluensulfonylchloride 19.1 g(0.1 mole)을 실험 2.7(1)와 같은 방법으로 반응시켜 처리한 후 얻어진 흰색 결정을 에테르와 석유에테르로 재결정시켰다. 수득율 16.2 g(67%), 융점 138 °C(문헌치²⁷ 138 °C).

(2) *N-Tosyl-DL-alanylchloride*. *N*-Tosylalanine 4.8 g(0.02 mole)과 phosphorous pentachloride 5.5 g(0.026 mole)을 실험 2.7(2)와 같은 방법으로 반응시킨 후 처리하여 얻은 흰색 결정을 에테르와 석유에테르로 재결정시켰다. 수득율 4.2 gr(81%), 융점 94 °C(문헌치²⁸ 93~94 °C).

(3) *N-Tosyl-DL-alanyl-1-AEP*. 1-AEP 2.5 g(0.02 mole)을 15 ml의 2N 수산화나트륨 용액에 녹이고 여기에 *N*-tosyl-DL-alanylchloride 5.22 g(0.02 mole)을 에테르 20 ml에 녹여 적하시키면서 실험 2.7(3)과 같은 방법으로 반응시켜 얻은 흰색 고체를 무수에틸알콜에 녹였다. 불용인 물질을 제거한 후 용액을 물아스피레이터로 감압하에서 증발 농축시켜 얻은 흰색 고체를 물에 녹인 후 양이온 교환수지를 통과시키고 다시 물아스피레이터로 감압하에서 증발 농축시켜 얻은 흰색 결정을 빙초산으로 재결정시켰다. 수득율 1.8 g(25%); 융점 218~219 °C; 중화당량 176(계산치 175); IR 3320 cm⁻¹(N-H), 1150 cm⁻¹ 1550 cm⁻¹(N-H), 1300 and 1100 cm⁻¹(SO₂), 1630 cm⁻¹(C=O).

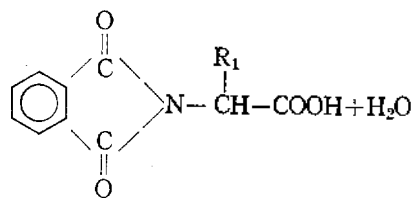
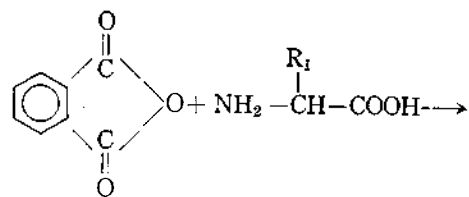
원소분석 C₁₂H₁₉O₆N₂P₁: P, 8.89(계산치 8.83) N, 7.92(계산치 8.01).

결과 및 고찰

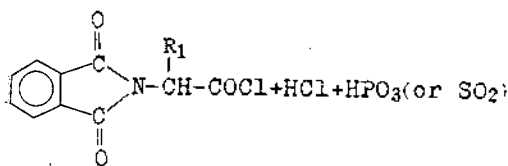
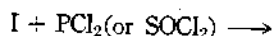
아미노산의 아민기를 보호하기 위하여 사용된

보호기(protecting group)는 여러가지 알려져있으나²⁶ 본 실험에서는 peptide 합성과정에서 racemization 이 일어나지 않는 것으로 보고된 phthalyl²⁵ 기와 tosyl 기²⁹ 를 보호기로 사용하였다.

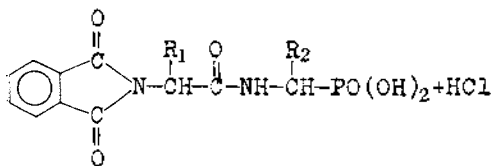
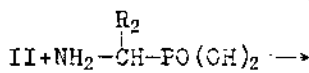
먼저 phthalyl 기를 보호기로 사용하여 dipeptide 합성을 시도한 과정을 화학식으로 표시하면 다음과 같다.



I



II



III

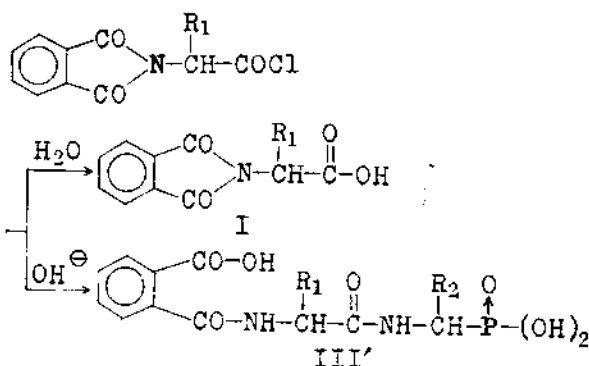
R₁ = -H, -CH₃, -CH₂C₆H₅; R₂ = -CH₃, -CH₂CH₃

I 은 Billman²⁴ 이 사용한 방법에 의하여 180~185°C 에서 반응시켜 95% 정도의 좋은 수득율을 얻었으나 반응 중에 순수한 광학활성화합물을 사용했을 경우 racemization 이 일어난다고 알려져 있어 본 실험에서는 racemization 이 일어나

지 않는 것으로 보고되어있는 Sheehan²⁵ 이 발표한 방법에 따라서 이보다 낮은 온도인 150~155°C 에서 반응시켰으며 93~96% 의 수득율로 거의 정량적으로 반응되었다.

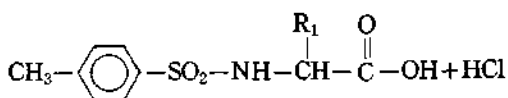
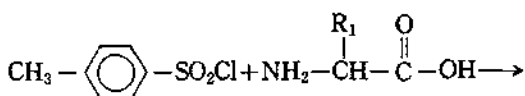
II 는 King³⁰ 이 발표한 방법에 의해 thionylchloride 를 chlorinating agent 로 사용한 결과 생성물의 재결정이 어려워 thionylchloride 대신 phosphorous pentachloride 를 벤젠용매 중에서 I 과 반응시켜 수득율 83~90% 로 좋은 결과를 얻었으며 결정성도 좋았다.

III 은 1-aminoethylphosphonic acid 및 1-aminopropylphosphonic acid 와 산화타그네슘 1:1.5 의 몰비로 물에 녹여 현탁시킨 후 격렬하게 교반시켰다. 이 혼합액을 3~5°C 로 유지시키면서 여기에 당량의 II 를 무수 dioxane 에 녹여 40~60 분간 적하시키면서 반응시켰다. 이때 반응초기의 pH 는 8~9 정도였으나 반응말기는 7~8 로 이 결과는 반응이 진행함에 따라 생성되는 염산에 기인된 것으로 생각된다. 생성 수득율은 20~40% 로 매우 낮았으며 순수한 화합물을 얻기 위해 수회의 재결정을 하여야 했다. 그 이유는 다음 반응식에서의 같이 반응 중 II 가 가수분해되어 I 이 생성되거나 III 의 phthalimide ring 이 알칼리에 의해 개환되어³¹ 반응생성물 III 과 비슷한 성질을 가지는 물질(III') 이 불순물로 혼입되기 때문인 것으로 생각된다.

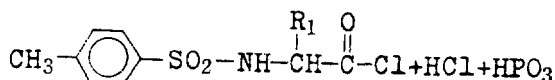
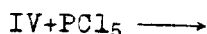


전위차 적정에 의하여 얻어진 III 의 중화적정 곡선은 pH 5 와 pH 9 근처에서 두개의 break point 를 갖는 dibasic acid 였고 중화당량은 계산치와 잘 일치하였다.

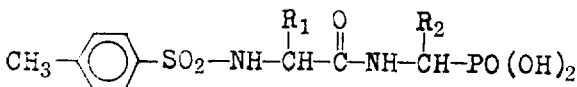
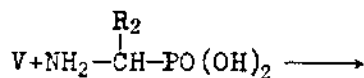
다음은 아미노기의 보호기로서 tosyl기를 사용하여 dipeptide 합성을 시도한 과정을 화학방정식으로 표기하면 다음과 같다.



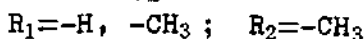
IV



V



VI



IV는 Harington²⁷의 방법에 의해 염기성하에서 *p*-toluenesulfonylchloride를 아미노산과 당량으로 반응시켜 70~80%의 수득율을 얻었다.

V는 phosphorous pentachloride를 에테르에 녹여 10~15°C에서 반응시켜 70~80%의 수득율로 좋은 결과를 얻었다.

VI은 III과 마찬가지로 염기성 수용액상에서 반응시켰고 수득율은 20~50%로 매우 낮았으며 이 이유는 III에서도 언급한 바와 같이 peptide 합성과정에서 V의 가수분해도 동시에 일어나기 때문인 것으로 생각된다.

정제과정에서 *N*-phthalylglycyl-1-AEP 및 *N*-phthalylglycyl-1-APP의 경우 양이온 교환수지(Dowex 50W-X4)를 통과하기 전에는 300°C이상에서도 녹는 점을 찾을 수 없었으나 통과 후에는 217°C 및 225°C에서 녹는 점이 나타났다. 이와같이 양이온 교환수지의 사용은 매우 효과적이며 그 이유는 알칼리로 사용되는 물질

의 양이온 CNa^+ 혹은 Mg^{2+} 과 생성된 peptide의 일부와 염을 이루는 사실을 뒷받침하는 것으로 생각된다. 그리고 VI의 경우와는 달리 III을 합성하는 과정에서 알칼리 수산화나트륨 대신 산화마그네슘을 쓴 것은 앞에 언급한 바와 같이 강한 알칼리에 의해 phthalimide ring이 개환되어 phthalamic acid와 같은 원치않는 물질의 생성을 줄이기 위함이었다.

III 및 VI은 모두 출발물질인 1-aminoethylphosphonic acid 및 1-aminopropylphosphonic acid와는 달리 Ninhydrin test에 음성을 나타냈다. 그리고 이들의 IR spectra는 *N*-phthalylglycylchloride에서 볼 수 없는 피이크를 *N*-phthalylglycyl-1-AEP에서는 1660 cm^{-1} 및 1550 cm^{-1} 근처에서 볼 수 있다. 이것은 본 실험에서 합성된 다른 peptide들에도 공통적으로 나타나며 III 및 VI이 가지는 peptide linkage의 C=O 신축진동 및 N-H의 deformation에 기인된 것으로 생각된다.

한편 III과 VI의 중화당량과 N 및 P의 원소 분석치는 계산치와 일치하였다.

인 용 문 헌

1. V. Chavane, *Compt. Rend.*, **224**, 406(1947).
2. M. Horiguchi and M. Kandatzu, *Nature*, **184**, 901(1959).
3. a) J. S. Kittridge, E. Robert and D. G. Simonsen, *Biochemistry*, **1**, 624(1962); b) D. G. Simonsen, M. Horiguchi and J. S. Kittridge, *Science*, **159**, 886(1968).
4. a) L. D. Quin, *Science*, **144**, 1133(1964).
b) (L. D. Quin, *Biochemistry*, **4**, 324(1965).
5. J. S. Kittridge and R. R. Hughes, *Biochemistry*, **3**, 991(1964).
6. 堀太郎, 生化学(日本), **43**, 1009(1971).
7. J. D. Thayer, H. J. Magnuson and Goravatt, *Antibiotics and Chemotherapy*, **3**, 256.
8. V. L. Ryzhkov, H. I. Kabachnik, L. M. Tarasovich, T. Ya. Medred, H. A. Zeitlenok, N. K. Marchenk, V. A. Vagzhanova, E. F. Ulanova and N. V. Cheburkina, *Doklady Abstr. Nauk. SSSR.*, **98**, 849(1954).

9. Olarte, and Jarge, *Ciencia*(Mex.), **17**, 17(1957).
10. 김숙희, 金容駿, 조경남, 한국영양학회지, **2**, 173 (1969).
11. J. Finkelstein, *J. Amer. Chem. Soc.*, **68**, 2397 (1946).
12. a) G.M. Kosolapoff, *J. Amer. Chem. Soc.*, **69**, 2112(1947). b) M.E. Chalmers and G.M. Kosolapoff, *ibid.*, **75**, 5278(1953).
13. M.I. Kabachnik and S.R. Madved, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR.*, **83**, 689(1952).
14. J.R. Chambers and A.F. Isbell, *J. Org. Chem.*, **29**, 832(1964).
15. K.D. Berlin, R.T. Clauch and E.T. Gaudy, *J. Org. Chem.*, **33**, 3090(1968).
16. a) 趙京衍, 金德燦, 金容駿, 대한화학회지, **15**, 15(1971); b) 上同, **15**, 275(1971); c) 盧萬均, 金容駿, 上同, **17**, 136(1973).
17. 金容駿, 화학과 공업의 진보, **6**, 336(1964).
18. W.F. Gilmore and H.A. McBride, *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 4361(1972).
19. T.S. Walter and L.S. Ralph, "The Examination of New Organic Compounds," P. 59, John Wiley & Sons, Inc., New York,
20. Steyermark, "Quantitative Organic Microanalysis," P. 134, The Blakistom Company, Toronto, Philadelphia, 1951.
21. "Handbook of Chemistry & Physics", 47th Ed., Chemical Ruber Co., 1967.
22. B.A. Arbuzov and V.S. Vinogradoua, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR.* **99**, 85(1954).
23. M.I. Kabachik and T. Ya Medved, *Izu. Akad. Nauk. SSSR. Otd. Khim. Nauk.* 635(1950).
24. J.H. Billman and W.F. Harting, *J. Amer. Chem. Soc.*, **70**, 1473(1948).
25. J.C. Sheehan, D.W. Chapman and R.W. Roth, *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**, 3822(1952).
26. Greenstein and Winitz, "Chemistry of the Amino Acid", Vol. 2, John Wiley & Sons, New York, 1967.
27. C. R. Harington and R. C. G. Maggridge, *J. Chem. Soc.*, 706(1940).
28. A.F. Beecham, *J. Amer. Chem. Soc.*, **79**, 3257 (1957).
29. E. Fisher and W. Lipschitz, *Bar.*, **48**, 360 (1915).
30. F.E. King, J.W. Clark-Lewis and W.A. Swindin, *J. Chem. Soc.*, 873(1957).
31. J.C. Sheehan and V.S. Frank, *J. Amer. Chem. Soc.*, **71**, 1856(1949).