

УДК 577.112

СИНТЕЗ ЛИНЕЙНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ,
СОДЕРЖАЩИХ ЛИЗИН

П.С. Громовых, Ю.В. Митин, А.С. Казаченко*

В работе были синтезированы в растворе тетрадекапептиды (KLGKLGK)₂ (KFGKFGK)₂ с использованием Вос-аминокислот. Для активации карбоксильной группы синтезировали пентафторфениловые эфиры. Синтезированные пептиды очищали с помощью обратнотазовой препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Получаемые продукты анализировали методами аналитической ВЭЖХ и масс-спектрометрии. Образцы веществ подготовлены к испытаниям на биологическую активность.

В настоящее время известно более сотни различных антибактериальных пептидов, выделенных из различных органов животных. Изучение их структуры показало, что все они являются амфипатическими веществами, т.е. в их структуре имеются как гидрофобные (аланин, лейцин, изолейцин, фенилаланин), так и положительно заряженные аминокислоты (лизин, аргинин) [1].

Внешние мембраны бактерий заряжены отрицательно, в то время как мембраны клеток млекопитающих и растений в основном нейтральны [2]. Антимикробные пептиды заряжены положительно, поэтому они предпочтительно взаимодействуют с отрицательно заряженными мембранами бактерий, при этом не оказывая губительного действия на эукариотические клетки. Антимикробные пептиды, взаимодействуя с бактериальной мембраной, разрушают ее структуру и увеличивают проницаемость [3]. Вследствие универсального механизма они воздействуют даже на бактерии, которые выработали устойчивость к различным антибиотикам. Большинство антимикробных пептидов образуют α -спиральную амфипатическую структуру, в которой на одной стороне находятся положительно заряженные аминокислоты (лизин, аргинин), а на другой - гидрофобные аминокислоты (лейцин, изолейцин, фенилаланин и др.). Некоторые антимикробные пептиды также образуют форму β -структуры [4].

В последнее время были опубликованы работы по синтезу антимикробных пептидов, содержащих D-аминокислоты [5,6]. В них было показано, что они имеют одинаковую активность, как и пептиды, состоящие из L-аминокислот. Однако они оказались устойчивы к действию различных протеаз. Зная структурно-функциональную зависимость, можно конструировать различные антимикробные пептиды, состоящие из минимального количества гидрофобных и положительно заряженных аминокислот.

Настоящая работа посвящена синтезу и изучению антимикробных антипатических тетрадекапептидов, содержащих в качестве положительно заряженной аминокислоты лизин, а в качестве гидрофобных аминокислот - лейцин и фенилаланин. В состав пептидов входит также глицин.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе были использованы Вос-производные аминокислот фирмы "Reanal" (Венгрия), дициклогексилкарбодимид и 28%-й аммиак фирмы "Fluka" (Чехия), пентафторфенол, этилацетат, ацетонитрил, бутанол, диметилформамид, гексан, метанол, хлороформ и диэтиловый эфир марки "ОСЧ" и "ХЧ" фирмы "Реахим" (Россия).

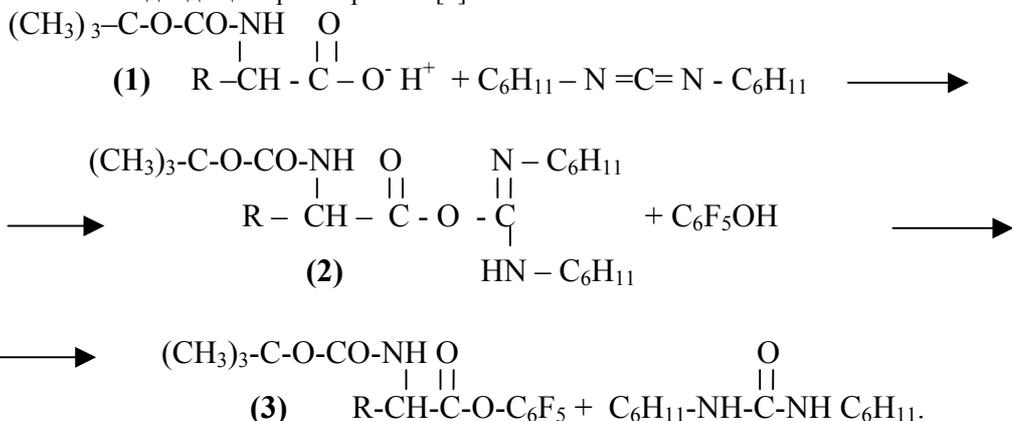
Для ВЭЖХ использовались колонки Separon C18 (Чехия) для аналитической хроматографии и Octadecyl Si100 3 мк, 22,0*250,0 мм - для препаративной. Масс-спектрометрия выполнена на приборе Vision 2000 (Великобритания).

Аминокислотная последовательность тетрадекапептидов была выбрана таким образом, чтобы соответствующие α -спирали имели амфипатическую структуру. Пептиды были синтезированы жидкофазным методом, в качестве временной защиты α -аминогруппы была использована Вос-группировка, ϵ -амногруппа лизина была защищена Z-группой с использованием метода активированных эфиров. Синтез тетрадекапептида проводили с Вос-защищенными аминокислотами. Для активации карбоксильной группы синтезировали пентафторфениловые эфиры.

* © П.С. Громовых, А.С. Казаченко, Красноярский государственный университет; Ю.В. Митин, Институт Белка РАН, 2004.

Синтез пентафторфениловых эфиров (Pfp)

10 ммоль третбутилоксикарбониламино кислоты и 10,5 ммоль пентафторфенола растворяли в 15 мл безводного этилацетата, охлаждали до 0° С и при перемешивании вносили 10,5 ммоль дициклогексилкарбодимида в 10 мл безводного этилацетата. Реакционную смесь перемешивали в течение 5 часов при 0° С, контроль за реакцией проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Образовавшуюся дициклогексилмочевину отфильтровывали, растворитель удаляли в вакууме, а остаток растирали с гексаном и кристаллизовали из подходящего растворителя [7]:



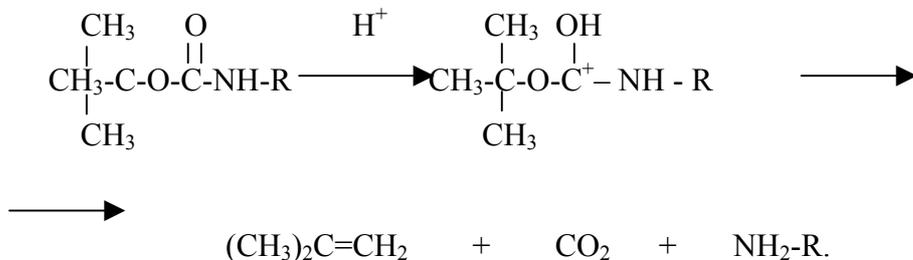
Указанную методику синтеза использовали для получения всех применяемых при синтезе нонапептида пентафторфениловых эфиров.

Синтез амида BocLys(Z)NH₂

В 20 мл диоксана растворяли 9 ммоль BocLys(Z)OPfp. Затем добавляли избыток концентрированного раствора аммиака (5 мл). Контроль за реакцией проводили методом ТСХ. После 2-часовой реакции раствор промывали, растворитель удаляли в вакууме. Полученный продукт перекристаллизовывали из этилацетата и высушивали [7].

Удаление третбутилоксикарбонильной группы (Boc)

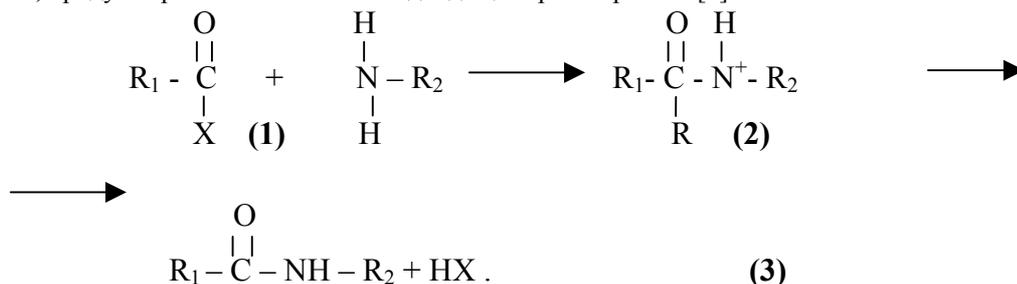
Boc-защищённый аминокислотный компонент заливали избытком абсолютной трифторуксусной кислоты, реакцию проводили в течение 15 минут, затем трифторуксусную кислоту удаляли в вакууме, продукт растирали с диэтиловым эфиром [7].



Синтез пептидов

Синтез пептидов проводили в растворе диметилформамида с использованием стандартной методики.

У аминокислотного компонента удаляли Boc-группу. Далее полученный продукт растворяли в диметилформамиде. После этого в реакционную смесь добавляли 5%-й избыток пентафторфенилового эфира Boc-защищённой аминокислоты и триэтиламин для поддержания pH 8-9. Реакцию проводили не менее 5 часов. Контроль за реакцией проводили методом ТСХ. Далее реакционную смесь выливали в 10 %-й раствор KHSO₄ и экстрагировали этилацетатом, затем раствор промывали 10%-м раствором KHCO₃ и водой. Далее этилацетат удаляли в вакууме, продукт кристаллизовали из подходящего растворителя [7].



Синтезированные пептиды очищали с помощью обратной фазовой ЖХВД в градиенте концентрации ацетонитрила в воде от 5 до 100 % при расходе элюента 0,8 мл/мин. Поглощение элюата регистрировали при 226 нм.

Получаемые продукты анализировали данными аналитической ЖХВД и масс-спектрометрии.

Удаление карбобензоксигруппы (Z)

Полученный защищённый нонапептид растворяли в ледяной уксусной кислоте, добавляли палладиевую чернь и в течение 1 часа при пропускании газообразного водорода и перемешивании проводили реакцию каталитического гидрогенолиза. Контроль за реакцией осуществляли методом ТСХ. Затем раствор фильтровали, уксусную кислоту удаляли в вакууме, продукт кристаллизовали и растирали с диэтиловым эфиром.

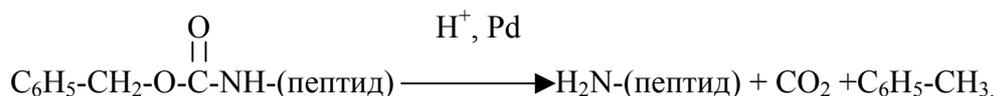


Схема стадий синтеза тетрадекапептида Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-Lys-Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-LysNH₂ представлена ниже.

1. BocLeuOPfp + H-GlyOCH₃ + Et₃N → BocLeu-GlyOCH₃ + PfpOH;
2. BocLeu-GlyOCH₃ + TFA → H-Leu-GlyOCH₃;
3. H-Leu-GlyOCH₃ + BocLys(Z)OPfp + Et₃N → BocLys(Z)-Leu-GlyOCH₃;
4. BocLys(Z)-Leu-GlyOCH₃ + NaOH → BocLys(Z)-Leu-GlyOH;
5. BocLys(Z)-Leu-GlyOH + PfpOH + C₁₂H₂₄N₂O → BocLys(Z)-Leu-GlyOPfp;
6. BocLys(Z)-Leu-GlyOPfp + BocLys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
7. BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
8. BocLys(Z)-Leu-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
9. BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
10. BocLys(Z)-Leu-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
11. BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
12. BocLys(Z)OPfp + H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
13. BocLys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
14. BocLys(Z)-Leu-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
15. BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
16. BocLys(Z)-Leu-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
17. BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂;
18. BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + H₂ $\xrightarrow{\text{Pd}}$ BocLys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-Lys-Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-LysNH₂;
19. BocLys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-Lys-Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-LysNH₂ + TFA → Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-Lys-Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-LysNH₂;

Схема стадий синтеза тетрадекапептида Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH₂ такова:

1. BocPheOPfp + H-GlyOCH₃ + Et₃N → BocPhe-GlyOCH₃ + PfpOH;
2. BocPhe-GlyOCH₃ + TFA → H-Phe-GlyOCH₃;
3. H-Phe-GlyOCH₃ + BocLys(Z)OPfp + Et₃N → BocLys(Z)-Phe-GlyOCH₃;
4. BocLys(Z)-Phe-GlyOCH₃ + NaOH → BocLys(Z)-Phe-GlyOH;
5. BocLys(Z)-Phe-GlyOH + PfpOH + C₁₂H₂₄N₂O → BocLys(Z)-Phe-GlyOPfp;
6. BocLys(Z)-Phe-GlyOPfp + BocLys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
7. BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
8. BocLys(Z)-Phe-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
9. BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
10. BocLys(Z)-Phe-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;

11. BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
12. BocLys(Z)OPfp + H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
13. BocLys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
14. BocLys(Z)-Phe-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
15. BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + TFA → H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
16. BocLys(Z)-Phe-GlyOPfp + H-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ + Et₃N → BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
17. BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂;
18. BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ + $\xrightarrow{\text{H}_2}$ Pd BocLys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH₂;
19. BocLys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH₂ + TFA → Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-LysNH₂;

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Аминокислотная последовательность пептидов была выбрана таким образом, чтобы соответствующие α-спирали пептидов имели амфипатическую структуру. Пептиды были синтезированы в растворе, в качестве временной защиты α-аминогруппы была использована Boc-группировка, ε-аминогруппа лизина была защищена Z-группой, удаляемой каталитическим гидрогенолизом в ледяной уксусной кислоте. С-концевая аминокислота пептидов была защищена амидной группировкой.

Оба полученных пептида представляют собой белые кристаллические вещества. Температуры плавления промежуточных и конечных продуктов представлены в таблице. Самые высокие температуры плавления - у промежуточных продуктов BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂, BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂ и BocLys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH₂, самые низкие – у соединений BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂, BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂ и BocLys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH₂.

Следует отметить, что выход продуктов синтеза на каждой стадии был неодинаков: чем выше молекулярная масса, тем ниже выход получаемого продукта (таблица).

Таблица

**Выход и свойства продуктов, получаемых при синтезе тетрадекапептидов
Lys-Ley-Gly-Lys-Ley-Gly-Lys-Lys-Ley-Gly-Lys-LeyGly-LysNH₂
и Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH₂**

| Пептид | Выход, % | Температура плавления, °С | Пептид | Выход, % | Температура плавления, °С |
|---|----------|---------------------------|---|----------|---------------------------|
| BocLys(Z)NH ₂ | 97 | 141 | BocLys(Z)NH ₂ | 98 | 141 |
| BocLeu-GlyOCH ₃ | 95 | 132 | BocPhe-GlyOCH ₃ | 93 | 80 |
| BocLys(Z)-Leu-GlyOCH ₃ | 92 | 143 | BocLys(Z)-Phe-GlyOCH ₃ | 90 | 85 |
| BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 88 | 195 | BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 91 | 204 |
| BocLys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 85 | 185 | BocLys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 87 | 228 |
| BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 76 | 115 | BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 80 | 231 |
| BocLys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)-Leu-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 68 | 157 | BocLys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)-Phe-Gly-Lys(Z)NH ₂ | 74 | 255 |
| BocLys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-Lys-Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-LysNH ₂ | 95 | 187 | BocLys-Leu-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH ₂ | 94 | 108 |
| Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-Lys-Lys-Leu-Gly-Lys-Leu-Gly-LysNH ₂ | 98 | 115 | Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH ₂ | 99 | 96 |

Масс-спектры полученных конечных пептидов представлены на рис. 1, 2.

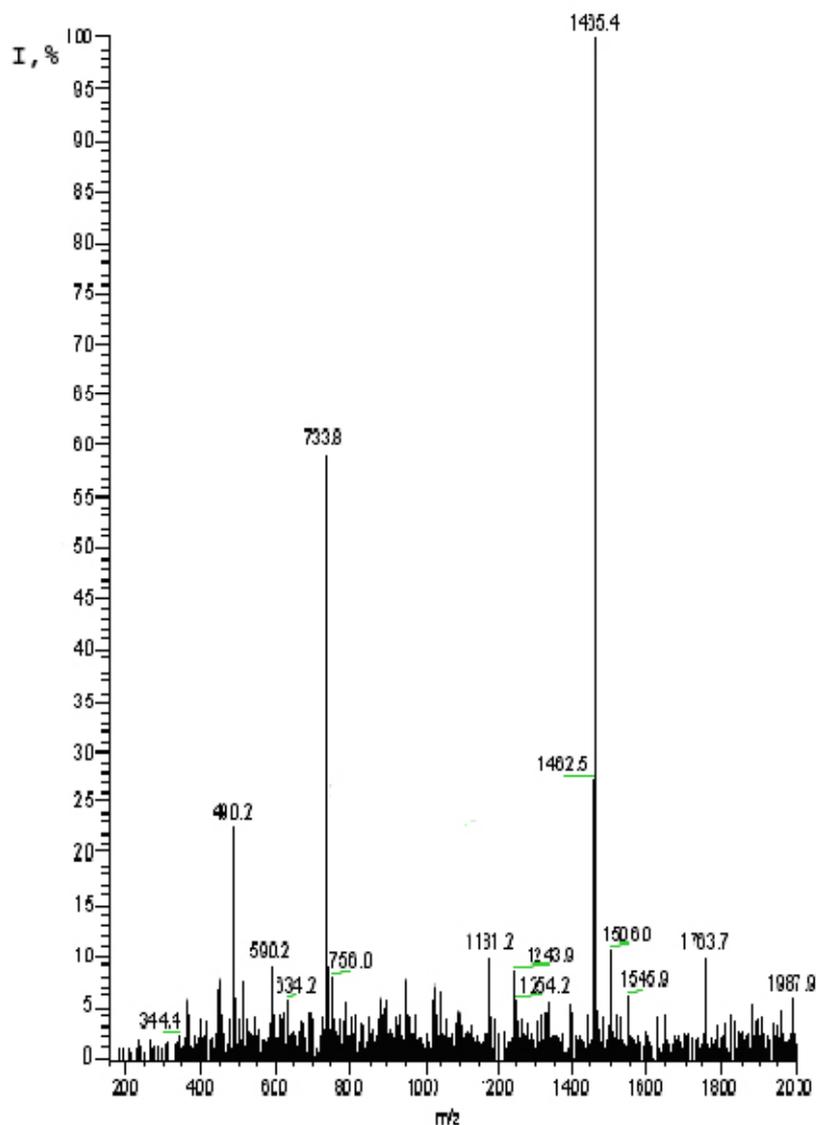


Рис.1. Масс-спектр пептида *Lys-Ley-Gly-Lys-Ley-Gly-Lys-Lys-Ley-Gly-Lys-LeyGly-LysNH₂*

Рассчитана молекулярная масса пептида, которая составила $M_w=1465$. Главный пик масс-спектра соответствует молекулярной массе пептида 1465, имеется также пик двухзарядного иона (734), соответствующий пептиду *Lys-Ley-Gly-Lys-Ley-Gly-Lys-Lys-Ley-Gly-Lys-LeyGly-LysNH₂* (рис.1).

Молекулярная масса пептида $M_w=1602$. Главный пик масс-спектра соответствует солевому натриевому пику (1625) и основному пику (1602) (рис. 2).

На основании полученных данных масс-спектрометрического анализа можно утверждать, что конечные продукты химического синтеза представляют собой тетрадекапептиды *Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH₂* и *Lys-Ley-Gly-Lys-Ley-Gly-Lys-Lys-Ley-Gly-Lys-LeyGly-LysNH₂* с чистотой не менее 95%.

Дальнейшие исследования будут посвящены оценке антимикробной активности полученных тетрадекапептидов.

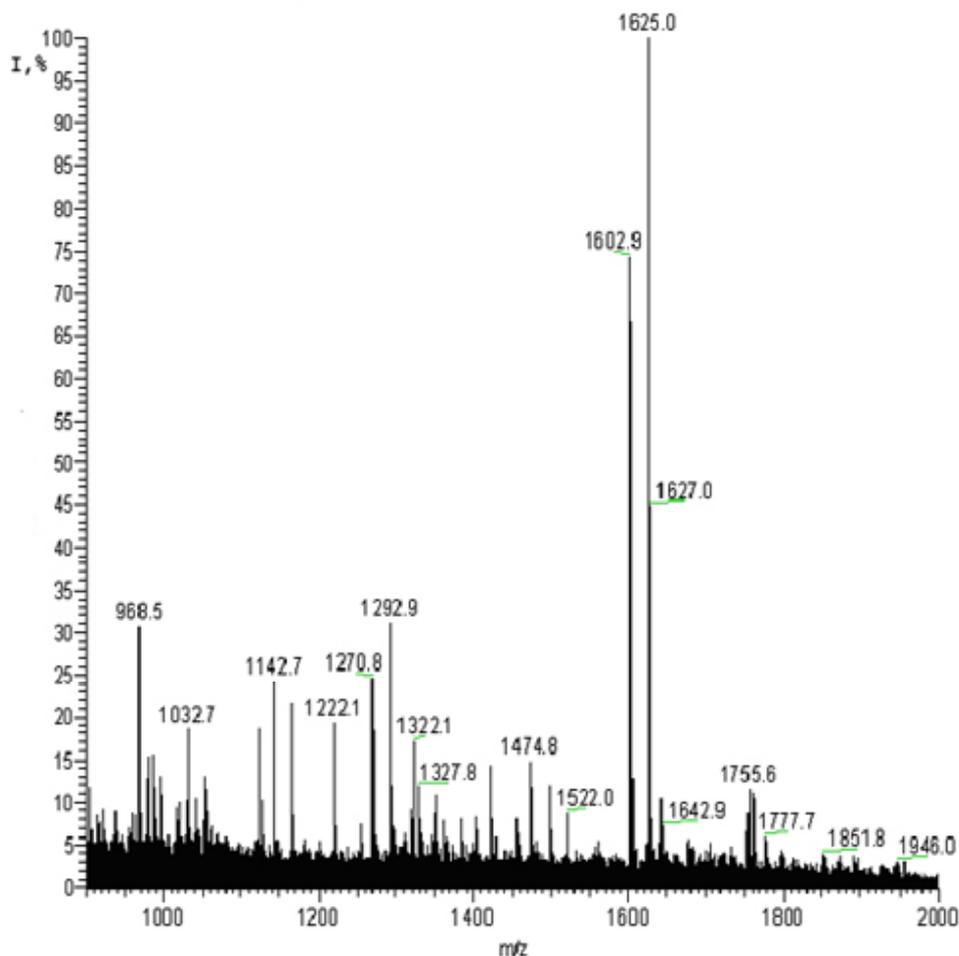


Рис.2. Масс-спектр пептида *Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Phe-Gly-LysNH₂*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tossi A., Sandri L., Giangaspero A. Amphipathic, alpha-helical antimicrobial peptides//Biopolymers. – 2000. – V. 55. – P. 4 - 30.
2. Epanand R., Shai Y., Segrest J.P., Anantharamaiah G.M. Mechanisms for the modulation of membrane bilayer properties by amphipathic helicalpeptides//Biopolymers. – 1993. – V. 37. – P. 319 - 338.
3. Matsuzaki K., Sugishita K., Fuji N., Miyajima K. Molecular basis for membranes selectivity of antibacterial peptides//Biochemistry. – 1995. – V. 34. – P. 3423 - 3429.
4. Blazyk J., Wiegand R., Hammer J., Epanand, R.F A novel linear amphipathic beta-sheet peptide with enhanced selectivity for bacterial lipids//J. Biol. Chem. – 2001 – V. 276. - P. 27899-27906.
5. Wide D., Boman A., Wihlin B., Drain C.M., Andreu D., Boman H.G., Marrifield R.B. All D-amino acid containing channel forming antibiotic peptides//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – V. 87. – P. 4761-4765.
6. Bescalle R., Kapitkovsky A., Gorea A., Sholit I., Fridkin M. All-D-magainin: chirality, antimicrobial activity and proteolytic resistance//FEBS Lett. – 1990. – V. 274. – P. 151-155.
7. Гершкович А.А. Синтез пептидов. Реагенты и методы/ А.А. Гершкович, В.К. Кибирев. - Киев: Наукова думка, 1992. – 360 с.

ANTIMICROBIAL PEPTIDES CONTAINING LYSINE

P.S. Gromovkh, Yu.V. Mitin, A.S. Kazachenko

Tetradecapeptides (KLGKLGK)₂, (KFGKFGK)₂, were synthesized by a liquid phase method using Boc-amino acids. Peptides were synthesized manually by standard Boc liquid phase chemistry in a dimethylformamide solution. Purification of the peptides was carried out by RP-HPLC and the identity of the peptides was confirmed by MALDI-TOF mass-spectrometry.