



УДК 547.466/55.057

АКТИВАЦИЯ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ПИРОКАРБОНАТАМИ.
ПРИМЕНЕНИЕ ДИАЛКИЛПИРОКАРБОНАТОВ В КАЧЕСТВЕ
КОНДЕНСИРУЮЩИХ РЕАГЕНТОВ В СИНТЕЗЕ АРИЛАМИДОВ
ЗАЩИЩЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ

Позднев В. Ф.

*Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Предложен новый метод получения ариламидов N-защищенных аминокислот — промежуточных продуктов в синтезе хромогенных субстратов протеолитических ферментов. Метод основан на применении диалкилпирокарбонатов в качестве конденсирующих реагентов в процессе ацилирования 2-нафтиламина, 7-амино-4-метилкумарина, 4-аминоазобензола и 4-нитроанилина N-защищенными аминокислотами.

Диалкилпирокарбонаты — своеобразные ангидриды полуэфиров угольной кислоты — в присутствии третичных аминов способны реагировать с карбоновыми кислотами с образованием смешанных ангидридов [1, 2], которые по мере образования легко превращаются в симметричные ангидриды [2, 3]. На основе этих превращений с использованием Co_2O в присутствии пиридина был разработан удобный метод получения сложных эфиров первичных спиртов и фенолов [3, 4]. Поэтому казалось целесообразным проверить возможность использования пирокарбонатов в качестве конденсирующих реагентов при ацилировании ароматических аминов защищенными аминокислотами. Такое исследование представляло также определенный практический интерес, поскольку некоторые ариламиды аминокислот широко применяются в энзимологии и медицинской диагностике в качестве хромогенных субстратов протеолитических ферментов или являются ключевыми полупродуктами при синтезе хромогенных субстратов пептидной природы.

Применение субстратов ариламидного типа для определения активности протеиназ основано на способности этих ферментов специфически гидролизовать ариламиды с образованием ароматических аминов, в результате чего изменяются спектральные свойства реакционной среды. В зависимости от свойств образующегося ариламина регистрируют или изменение в спектре поглощения света, например, при образовании 4-нитроанилина [5] и 4-аминоазобензола [6, 7], или появление флуоресценции при образовании 2-нафтиламина [8] и 7-амино-4-метилкумарина [9, 10].

Известные методы синтеза ариламидов аминокислот основаны на конденсации защищенных аминокислот с ароматическими аминами с помощью различных конденсирующих реагентов. Были использованы дициклогексилкарбодимид [9–12], реагенты на основе трех- и пятивалентного фосфора [13–16], алкилоксикарбонилхлориды [8, 12] и смешанные ангидриды с *трет*-бутиловым эфиром угольной кислоты [17]. Для получения 4-нитроанилидов, синтез которых особенно труден из-за низкой нуклеофильности 4-нитроанилина, кроме перечисленных реагентов применяли хлорангидриды гидрохлоридов аминокислот [18], симметричные ангидриды [8], а также конденсацию N-защищенных аминокислот с 4-нитрофенилизотиоцианатом [19].

Принятые сокращения: Co_2O , $\text{V}^*\text{Co}_2\text{O}$, Po_2O и Eo_2O — ди-*трет*-бутил-, ди-*втор*-бутил-, диизопропил- и диэтилпирокарбонаты соответственно, Nph — нафтил-2, Np — 4-нитрофенил, Mc — 4-метилкумарил-7, Azp — фенилазофенилен-4, DMF — диметилформамид, Tfa — трифторацетил.

При рассмотрении возможности применения диалкилпирокарбонатов для получения ариламидов очевидным представляется вариант с использованием симметричных ангидридов N-ациламинокислот, поскольку они сравнительно легко образуются из защищенных аминокислот под действием пирокарбонатов [2, 3]. Однако в препаративном отношении этот подход мало интересен, так как процесс разделяется на две стадии и время его увеличивается. Кроме того, при этом эффективно используется только половина введенной в реакцию N-ациламинокислоты. Более интересной в практическом плане представлялась возможность использовать пирокарбонаты в качестве конденсирующих реагентов при эквивалентном (вернее, близком к эквивалентному) соотношении кислоты и ариламина. При этом, конечно, следовало учитывать, что в присутствии третичных аминов пирокарбонаты способны реагировать не только с карбоновыми кислотами, но и с ароматическими аминами. Поэтому в результате конкурентной реакции на первом этапе могут образоваться как смешанные ангидриды, так и алкилоксикарбонильные производные ариламинов. Преимущественного образования ариламидов на втором этапе можно было ожидать только в том случае, если скорость образования смешанных ангидридов, которые легко ацилируют ариламины, будет превышать скорость взаимодействия ариламинов с пирокарбонатами. После ряда предварительных экспериментов по синтезу нафтиламидов N-ациламинокислот с использованием системы Coc_2O — пиридин было обнаружено, что в результате реакции действительно образуется смесь продуктов, содержащая и нафтиламиды и Coc -нафтиламин, однако нафтиламиды являются основными компонентами смеси, а содержание Coc -нафтиламина невелико. Далее было найдено, что выходы ариламидов и количество Coc -производного в значительной мере определяются условиями процесса и поэтому их соотношение можно улучшить правильным выбором этих условий.

В настоящей работе не преследовалась цель оптимизировать процесс получения всех изученных ариламидов по всем параметрам. Были проверены только некоторые общие подходы, которые могли привести к сокращению времени реакции и повышению выходов ариламидов. Были опробованы два варианта методики, различающиеся порядком добавления ариламинов в реакционную среду (таблица). В более простом варианте А все исходные реагенты в концентрации 0,5–1 М сразу смешивали в апротонном растворителе (бензол, этилацетат, тетрагидрофуран или диоксан). Ариламины (2-нафтиламин, 7-амино-4-метилкумарин, 4-аминоазобензол или 4-нитроанилин) и диалкилпирокарбонат (ди-*трет*-бутил-, ди-*втор*-бутил-, диизопропил- и диэтилпирокарбонат) брали в небольшом (10–30 мол. %) избытке по отношению к кислоте, а третичный амин — в примерно эквивалентном или меньшем количестве. В случае Coc_2O в качестве третичного амина применяли пиридин, с другими пирокарбонатами реакцию проводили в присутствии N-метилморфолина. В варианте Б раствор N-защищенной аминокислоты, соответствующего третичного амина и диалкилпирокарбоната в одном из перечисленных растворителей и при такой же, как и в варианте А, концентрации перемешивали до выделения $\sim 1/4$ ожидаемого количества CO_2 (30–40 мин) и затем добавляли раствор ариламина порциями в течение 1 ч. В обоих вариантах реакционную смесь перемешивали при 18°С до прекращения выделения CO_2 и затем еще 2–4 ч. Общее время реакции 5–6 ч, но обработку реакционной смеси, особенно при получении 4-нитроанилидов, лучше производить на следующий день. Полноту прохождения реакции (отсутствие ангидридов в реакционной смеси) контролировали тонкослойной хроматографией или ИК-спектроскопией.

Методика с предварительным накоплением в реакционной среде промежуточных ангидридов с последующим постепенным добавлением амина (вариант Б) позволяет, как правило, повысить выходы ариламидов. Но иногда, например при получении Ms -амидов, применение этого варианта трудно осуществимо из-за низкой растворимости исходного амина. В этих случаях сразу весь Ms -амин вводили в реакционную смесь в кристаллическом виде и в процессе реакции он постепенно растворялся. Следует отме-

Характеристики ариламидов, синтезированных с помощью Vos_2O

Исходная аминокислота	Метод синтеза	Выход, %	Т. пл., °C	$[\alpha]_D^{20}$, град (с 1, DMF)	R_f	Лит. данные			
						Выход, %	Т. пл., °C	$[\alpha]_D^{20}$, град (с 1, DMF)	Ссылка
Нафтамиды									
Z-Ala	Б	80	185–187	-26,5	0,57	—	189–190	—	[12]
Z-Val	Б	96	205–206	+2,0	0,67	65	213,5	—	[11]
Z-Phe	Б	94	173–175	+45,5	0,69	49	173–174	—	[11]
Z-Arg(Z) ₂	Б	90	202–203	+4,3	0,70	42	192–194	—	[11]
4-Метилкумарил-7-амиды									
Z-Ala	А	70	227–228	-32,6	0,34	57	219–220	-33,5	[16]
Z-Phe	А	73	204–206	+57,7	0,42	35	198–203	+56	[16]
Voc-Lys(Z)	А	43	138–139	-9,1	0,32	36	125–127	-8,0	[20]
Voc-Lys(Tfa)	А	76,9	174–175	-11,8	0,25	—	—	—	—
Z-Gly-Pro	А	84,5	135–140	-120,7	0,19	—	115–120	-102	[40]
Voc-Ala-Pro	А	79	139–140	-131,1	0,25	—	—	—	—
4-Фенилазоанилиды									
Voc-Ala	Б	79	173–174	-19,5	0,61	—	—	—	—
Voc-Ala *	Б	67	172–174	—	—	—	—	—	—
Voc-Ala **	Б	67	172–173	—	—	—	—	—	—
Voc-Pro	А	82	205–206	-72,4	0,66	—	—	—	—
4-Нитроанилиды									
Voc-Gly	А	61	194–195	—	0,35	—	—	—	—
Voc-Phe	А	69	168–169	+74	0,64	—	—	—	—
Voc-Pro	А	89	198–199	-54,5	0,55	—	—	—	—
Voc-Pro **	А	55	194–195	-54,0	—	—	—	—	—
Voc-Pro *	А	68	194–195	-54,0	—	—	—	—	—
Z-Pro	Б	66	150–160	-66,5	0,57	69	158–160	-56	[8]

* С применением Vos_2O , ** Vos_2O , ** Vos_2O .

титель, что некоторые образующиеся Мс-амиды также плохо растворимы в используемых для реакции растворителях и кристаллизуются из реакционной смеси, которая, таким образом, и в начале и в конце реакции представляет собой суспензию.

Время добавления нитроанилина в реакционную среду практически не влияет на выход нитроанилидов, поскольку пирокарбонаты реагируют с нитроанилином очень медленно и эта побочная реакция не мешает основному процессу. Не исключено, что в этом случае смешанные ангидриды, образующиеся из пирокарбонатов и кислоты на первом этапе реакции, затем симметризируются и нитроанилин ацилируют симметричные ангидриды. При этом, конечно, могут иметь место побочные реакции, характерные для симметричных ангидридов N-ациламинокислот [21]. Иногда при синтезе нитроанилидов образуется в небольших количествах трудно-растворимое желтое вещество — по-видимому, 4-нитрофенилмочевина.

Специального исследования влияния растворителя на ход процесса ацилирования ароматических аминов системой карбоновая кислота — пирокарбонат — третичный амин в пастоящей работе не проводилось. Но имеющиеся экспериментальные результаты позволяют отметить, что удовлетворительные выходы ряда ариламидов можно получить в бензоле, этилацетате, тетрагидрофуране или диоксане, причем применение диоксана дает лучшие результаты.

Влияние строения алкильного радикала пирокарбоната на выход ариламидов проявляется достаточно отчетливо. При получении Voc-Ala-NHArp с применением различных пирокарбонатов лучший выход (~80%) был получен с Vos_2O , хотя и с другими пирокарбонатами выходы ариламидов были довольно высокими (см. таблицу). При получении Voc-Pro-NHNp с Eos_2O , Ros_2O и Vos_2O лучший результат также был получен с Vos_2O .

Для выделения ариламидов, как правило, был использован экстракционный метод. Часто ариламиды хорошо кристаллизуются из реакционной смеси, и в этих случаях их выделение существенно упрощается. Однако для окончательной очистки Вос-Ala-Pro-NHMe оказалось необходимо применить хроматографию на колонке с силикагелем. Но и в этом случае выход Me-амида был достаточно высоким (79%). С наибольшими трудностями сопряжено получение 4-нитроанилидов. Только Вос-Pro-NHNr удалось получить с хорошим выходом. Чаще выделение и очистка нитроанилидов затруднены и выходы их умеренные, хотя, как правило, выше, чем при использовании других методов синтеза.

Таким образом, применение диалкилпирокрбонатов в качестве конденсирующих реагентов при ацилировании ароматических аминов защищенными аминокислотами оказалось не только возможным, но и достаточно эффективным, поскольку позволяет упростить процесс получения и повысить выходы ариламидов. Особенно эффективно в этом отношении примененные системы Вос₂O — пиридин.

Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли в открытых капиллярах (не исправлены). Углы оптического вращения измеряли на цифровом поляриметре Perkin — Elmer 241 (США). Хроматографию в тонком слое проводили на пластинках Silufol UV-254 (ЧССР) в системе толуол — хлороформ — метилэтилкетон — изопропиловый спирт, 10:6:5:1.

Все использованные в работе растворители очищали по стандартным методикам. Пиридин и N-метилморфолин высушивали, перегоняли и хранили над КОН. В работе использовали 4-нитроанилин, 2-нафтиламин и 4-аминоазобензол — реактивы отечественного производства, диэтилпирокрбонат (Chemapol, ЧССР), 7-амино-4-метилкумарин синтезирован согласно работе [9], аминокислоты L-ряда.

Диизопропил- и ди-втор-бутилпирокрбонаты синтезировали по следующей общей методике: к 23 г натрия в 100 мл бензола добавляли 1,5 моль соответствующего спирта и перемешивали при 80° С до растворения натрия. Алкоголят разбавляли 1 л толуола, при энергичном перемешивании насыщали сухим СО₂, охлаждали в токе СО₂ до 5–10° С, приливали 100 мл DMF и при умеренном перемешивании добавляли по каплям раствор 0,4 М бензолсульфохлорида в 50 мл толуола за 25–30 мин. Смесь перемешивали 1–2 ч при охлаждении, оставляли на 18 ч, затем перемешивали 1–2 ч при 20–30° С, промывали водой, органический слой высушивали, упаривали и остаток перегоняли в вакууме. Вос₂O: выход 74%, т. кип. 53–55° С при 1 мм рт. ст.; *n*_D 1,4045. Вос₂O: выход 71%, т. кип. 72–75° С при 2 мм рт. ст., *n*_D 1,4135. Вос₂O получали аналогично, готовя трет-бутилат натрия как описано ранее [22], с выходом 72%, т. кип. 74–74° С при 2 мм рт. ст. [22].

При стандартной обработке реакционных смесей в синтезе ариламидов растворы в этилацетате промывали водой, 5% Na₂CO₃, водой, 5% H₂SO₄, водой, насыщенным раствором NaCl, высушивали над Na₂SO₄ и упаривали в вакууме при 40° С. Конечные продукты высушивали в вакуум-эксикаторе над КОН и P₂O₅. Характеристики полученных соединений приведены в таблице.

Нафтил-2-амиды N-бензилоксикарбониламинокислот (общая методика Б). Раствор 5,0 ммоль Z-аминокислоты, 0,4 мл пиридина и 1,2 мл (5,5 ммоль) Вос₂O в 5 мл диоксана перемешивали 30 мин (при этом выделялось ~50 мл СО₂), добавляли по каплям в течение 40–60 мин раствор 0,72 г (5,0 ммоль) нафтиламина в 5 мл диоксана и смесь перемешивали еще 4–5 ч. Выделение нафтиламидов отличалось в деталях, в зависимости от их растворимости.

Z-Ala-NH-Nph. Большая часть нафтиламида кристаллизовалась из реакционной смеси. По окончании реакции суспензию разбавляли 5 мл этилацетата и 20 мл эфира, осадок отфильтровывали, промывали эфиром, вы-

сушивали и получали первую порцию (0,9 г) хроматографически однородного продукта, т. пл. 186—187° С. Фильтрат разбавляли этилацетатом и после стандартной обработки и кратковременного высушивания раствор упаривали. Остаток растирали в эфире, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и получали вторую порцию нафтиламида с т. пл. 185—186° С. Общий выход 1,4 г.

Z-Val-NH-Nph. В результате реакции образовывалась густая суспензия. После разбавления эфиром осадок отфильтровывали, промывали эфиром и получали первую порцию продукта (1,4 г) с т. пл. 205—206° С. Фильтрат упаривали, остаток растирали в эфире, осадок отфильтровывали и получали вторую порцию нафтиламида с т. пл. 204—205° С. Общий выход хроматографически однородного продукта 1,8 г.

Z-Arg(Z)₂-Nph. В результате реакции образовывалась суспензия. Ее разбавляли 5 мл этилацетата и 10 мл эфира, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и получали 2,7 г хроматографически однородного нафтиламида. Найдено, %: С 68,38; Н 5,65; N 9,89. C₄₀H₃₉N₅O₇. Вычислено, %: С 68,45; Н 5,60; N 9,98.

Z-Phe-NH-Nph. После окончания реакции раствор упаривали в вакууме, остаток растирали в эфире, осадок отфильтровывали, промывали эфиром. Выход 2,0 г. При проведении реакции в бензоле нафтиламид кристаллизуется из реакционной смеси. Ее разбавляли петролейным эфиром, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и получали продукт с такими же характеристиками. Выход 61%.

Синтез 4-метилкумарил-7-амидов

Z-Ala-NHMc. К раствору 450 мг (2,0 ммоль) *Z-Ala-OH*, 0,14 мл пиридина и 0,5 мл (2,3 ммоль) Vos_2O в 3 мл тетрагидрофурана добавляли 400 мг (2,2 ммоль) Mc-NH_2 и смесь перемешивали 20 ч, при этом осадок амина растворялся и образовывался осадок *Z-Ala-NH-Mc*. Его отфильтровывали, промывали этилацетатом, эфиром и высушивали. Выход 540 мг.

Z-Phe-NH-Mc. К раствору 600 мг (2,0 ммоль) *Z-Phe-OH*, 0,14 мл пиридина и 0,5 мл Vos_2O в 10 мл диоксана добавляли 400 мг Mc-NH_2 и смесь перемешивали 20 ч. Разбавляли 15 мл диоксана, нагревали до 50—60° С, раствор фильтровали, упаривали в вакууме до 5—7 мл, разбавляли эфиром (20—25 мл) и охлаждали. Осадок *Z-Phe-NH-Mc* отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Выход 670 мг.

Voc-Lys(Z)-NH-Mc. К раствору 1,3 ммоль *Voc-Lys(Z)-OH*, 0,1 мл пиридина и 0,35 мл (1,6 ммоль) Vos_2O в 5 мл тетрагидрофурана добавляли 290 мг (1,6 ммоль) Mc-NH_2 и перемешивали 20 ч. Разбавляли 30 мл этилацетата и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из смеси бензола с эфиром. Выход амида 300 мг.

Voc-Lys(Tfa)-NH-Mc. Раствор 1,0 г (2,9 ммоль) *Voc-Lys(Tfa)-OH*, 0,2 мл пиридина и 0,75 мл (3,4 ммоль) Vos_2O в 8 мл диоксана перемешивали 20 мин и добавляли 570 мг (3,2 ммоль) Mc-NH_2 . Смесь перемешивали 16 ч, добавляли еще 0,4 мл Vos_2O и перемешивали 4 ч. Разбавляли этилацетатом до 50 мл, фильтровали, после стандартных промывок раствор фильтровали через вату и упаривали досуха. Остаток кристаллизовали из этилацетата, осадок промывали на фильтре эфиром и высушивали. Выход *Mc*-амида 1,0 г. Найдено, %: F 11,0; N 8,43. C₂₃H₂₈N₃O₆F₃. Вычислено, %: F 11,4; N 8,41.

Voc-Ala-Pro-NH-Mc. К раствору 286 мг (1,0 ммоль) *Voc-Ala-Pro-OH*, 0,05 мл пиридина и 0,30 мл (1,5 ммоль) Vos_2O в 5 мл тетрагидрофурана добавляли 250 мг (1,4 ммоль) Mc-NH_2 и перемешивали 16 ч. Разбавляли этилацетатом до 30 мл, фильтровали и после стандартной обработки остаток растворяли в смеси бензола с ацетоном, раствор наносили на колонку с силикагелем «Л» 40—100 мкм (25×2,5 см). Колонку промывали бензолом (50 мл), затем смесью бензола с ацетоном, 2 : 1. Фракции, содержащие *Mc*-амид (контроль ТСХ), объединяли, упаривали и остаток кристаллизовали из эфира с добавлением гексана. Выход 350 мг. Найдено, %: С 62,10; Н 6,32; N 9,30. C₂₃H₂₉N₃O₆. Вычислено, %: С 62,28; Н 6,59; N 9,47.

Z-Gly-Pro-NH-Mc. К раствору 260 мг (1,0 ммоль) *Z-Gly-Pro-OH*, 0,05 мл пиридина и 0,30 мл (1,5 ммоль) Poc_2O в 3 мл тетрагидрофурана добавляли 200 мг (1,1 ммоль) *Mc-NH_2* и перемешивали 20 ч. Разбавляли этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из бензола. Осадок на фильтре промывали эфиром. Выход *Mc-амида* 335 мг.

Синтез 4-фенилазоанилидов

Вос-Ala-NH-Azb. а) Раствор 1,0 г (5,3 ммоль) *Вос-Ala-OH*, 0,4 мл пиридина, 1,2 мл (5,5 ммоль) Poc_2O в 5 мл диоксана перемешивали 20 мин, добавляли по каплям за 40 мин раствор 1,0 г (5,1 ммоль) *Azb-NH_2* в 5 мл диоксана и перемешивали 6 ч. Смесь разбавляли водой (50 мл), экстрагировали этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из спирта. Осадок промывали на фильтре гексаном и высушивали. Выход *Вос-Ala-NH-Azb* 1,5 г. Найдено, %: С 65,42; Н 6,80; N 14,95. $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5$. Вычислено, %: С 65,19; Н 6,56; N 15,20.

б) Раствор 1,0 г *Вос-Ala-OH*, 0,5 мл *N*-метилморфолина 1,2 мл Poc_2O в 5 мл диоксана перемешивали 10 мин, добавляли по каплям раствор 1,0 г *Azb-NH_2* в 5 мл диоксана и перемешивали 6 ч. Выделение производили так же, как в методике «а». Выход *Вос-Ala-NH-Azb* 1,3 г.

в) Реакцию с Poc_2O проводили при той же загрузке исходных реагентов и в тех же условиях, как и в методике «б». Выход *Вос-Ala-NH-Azb* составлял 1,3 г. При проведении реакции в бензоле выход и характеристики полученного *Вос-Ala-NH-Azb* не изменились.

Вос-Pro-NH-Azb. Раствор 1,0 г (4,6 ммоль) *Вос-Pro-OH*, 0,1 мл пиридина, 1,0 г (5,1 ммоль) *Azb-NH_2* и 1,2 мл (5,5 ммоль) Poc_2O в 10 мл бензола перемешивали 16 ч, при этом образовывался кристаллический осадок. Смесь разбавляли эфиром, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Выход *Вос-Pro-NH-Azb* 1,5 г.

Синтез 4-нитроанилидов

Вос-Gly-NH-Np. К смеси 1,75 г (10 ммоль) *Вос-Gly-OH*, 0,7 мл пиридина, 1,4 г *Np-NH_2* в 10 мл бензола и 5 мл этилацетата при перемешивании добавляли Poc_2O (3 раза по 1 мл через каждые 1,5 ч) и перемешивали еще 2 ч, причем образовывался осадок *Вос-Gly-NH-Np*. Осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Выход 1,8 г. Найдено, %: С 53,10; Н 6,13; N 14,12. $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5$. Вычислено, %: С 52,87; Н 5,80; N 14,23.

Вос-Phe-NH-Np. Раствор 0,8 г (3,0 ммоль) *Вос-Phe-OH*, 0,2 мл пиридина, 0,5 г (3,6 ммоль) *Np-NH_2* и 1,0 мл (4,6 ммоль) Poc_2O в смеси 5 мл бензола и 3 мл этилацетата перемешивали 20 ч, разбавляли 30 мл этилацетата и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из эфира. Выход 0,8 г. Найдено, %: С 62,56; Н 5,80; N 11,12. $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$. Вычислено, %: С 62,32; Н 6,01; N 10,90.

Вос-Pro-NH-Np. а) Раствор 1,3 г (6,0 ммоль) *Вос-Pro-OH*, 0,4 мл пиридина, 0,9 г (6,5 ммоль) *Np-NH_2* и 1,5 мл (6,8 ммоль) Poc_2O в 10 мл бензола перемешивали 20 ч, добавляли 0,5 мл Poc_2O и перемешивали еще 2 ч, причем образовывался небольшой желтый осадок. Раствор разбавляли этилацетатом до 50 мл, фильтровали и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из эфира. Выход *Вос-Pro-NH-Np* 1,8 г. Найдено, %: С 57,60; Н 6,50; N 12,41. $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5$. Вычислено, %: С 57,30; Н 6,31; N 12,52.

б) Раствор 1,0 г (4,6 ммоль) *Вос-Pro-OH*, 0,32 мл *N*-метилморфолина, 0,7 г (5,1 ммоль) *Np-NH_2* и 0,75 мл (5,2 ммоль) Poc_2O в 5 мл диоксана перемешивали 20 ч, разбавляли этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из эфира. Выход 0,8 г, R_f 0,56.

в) Реакцию с Poc_2O проводили при том же соотношении исходных реагентов и в тех же условиях, как в методике «б». Выход *Вос-Pro-NH-Np* 1,1 г, R_f 0,55.

Z-Pro-NH-Np. Раствор 2,7 г (10,7 ммоль) Z-Pro-OH, 0,5 мл пиридина, 2,5 мл (11,4 ммоль) Voc_2O в 10 мл диоксана перемешивали 30 мин (выделилось 50 мл CO_2), добавляли по каплям (за 1 ч) раствор 1,5 г (10,8 ммоль) Np-NH₂ в 5 мл диоксана и перемешивали 16 ч, причем образовывался небольшой желтый осадок. Смесь разбавляли этилацетатом, фильтровали и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из эфира. Выход Z-Pro-NH-Np 2,6 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Thoma W., Rinke H. J. Liebigs Ann. Chem.*, 1959, В. 624, S. 30—36.
2. *Позднев В. Ф. Журн. орган. химии*, 1983, т. 19, № 4, с. 882.
3. *Позднев В. Ф., Черная М. Ю. Химия природн. соедин.*, 1984, № 3, с. 357—362.
4. *Позднев В. Ф. Биоорган. химии*, 1984, т. 10, № 7, с. 912—920.
5. *Раменский Е. В. Успехи биол. химии*, 1972, т. 13, с. 28—48.
6. *Barth A., Schulz H., Neubert K. Acta biol. et med. Germ.*, 1974, v. 32, № 2—3, p. 157—174.
7. *Kato T., Iwase K., Nagatsu T., Nino M., Takemoto T., Sakakibara S. Molec. and Cellular Biochem.*, 1979, v. 24, № 1, p. 9—13.
8. *Yoshimoto T., Fischl M., Orłowski R. C., Walter R. J. Biol. Chem.*, 1978, v. 253, № 10, p. 3708—3716.
9. *Zimmerman M., Yurewicz E., Patel G. Anal. Biochem.*, 1976, v. 70, № 2, p. 258—262.
10. *Yoshimoto T., Ogita K., Walter R., Koida D., Tsuru D. Biochim. et biophys. acta*, 1979, v. 569, № 2, p. 184—192.
11. *Nesvadba H. Monatsch. Chem.*, 1962, В. 93, S. 386—396.
12. *Glennner G. B., Cohen L. A., Folk J. A. J. Histochem. and Cytochem.*, 1965, v. 13, № 1, p. 57—62.
13. *Kato T., Nagatsu T., Sakakibara S. Experientia*, 1978, v. 34, № 3, p. 319—320.
14. *Erlanger B. F., Kokowsky N., Cohen W. Arch. Biochem. and Biophys.*, 1965, v. 95, № 2, p. 271—278.
15. *Kasajirek E., Fric P., Slaby J., Malis F. Eur. J. Biochem.*, 1976, v. 69, № 1, p. 1—13.
16. *Khammungkhune S., Sigler G. Synthesis*, 1980, № 8, p. 614.
17. *Позднев В. Ф. Журн. орган. химии*, 1978, т. 14, № 7, с. 1558.
18. *Kraut J., Sieker I. C., High D. F., Freer S. T. Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1962, v. 48, p. 1417—1419.
19. Пат. 700060 (СССР). Способ получения пептидов или их солей. Заявл. 09.07.76, № 2379653. — Опубл. в Б. И., 1979, № 43.
20. Пат. 4237047 (США) РЖ «Химия», 1981, 150, 21.
21. *Benoiton N. L., Chen F. M. F. Can. J. Chem.*, 1981, v. 59, p. 384—389.
22. *Позднев В. Ф., Смирнова Е. А., Подгорнова Н. Н., Зенцова Н. Н., Калей У. О. Журн. орган. химии*, 1979, т. 15, № 1, с. 106—109.

Поступила в редакцию
10.XI.1984

ACTIVATION OF CARBONIC ACIDS BY PYROCARBONATES. APPLICATION OF DIALKYLPYROCARBONATES AS CONDENSING REAGENTS IN SYNTHESIS OF ARYLAMIDES OF PROTECTED AMINO ACIDS

POZDNEV V. F.

Institute of Biological and Medical Chemistry, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

A new method is developed for obtaining arylamides of N-protected amino acids, intermediates in synthesis of chromogenic substrates for proteolytic enzymes. The method involves use of dialkylpyrocarbonates as condensing reagents in acylation of 2-naphthylamine, 7-amino-4-methylcoumarine, aminoazobenzene, and 4-nitroaniline by N-acylated amino acids.