



УДК 577.466'55

АКТИВАЦИЯ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ПИРОКАРБОНАТАМИ. СИНТЕЗ АЛКИЛАМИДОВ N-ЗАЩИЩЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ

© 1997 г. В. Ф. Позднев*

Институт биомедицинской химии РАМН, 119832, Москва, Погодинская ул., 10

Поступила в редакцию 21.08.96 г.

При активации N-защищенных аминокислот системой ди-*трет*-бутилпирокарбонат–пиридин в присутствии гидрохлорида алкиламинов и гидрокарбоната калия получены алкиламиды аминокислот с высокими выходами.

Ключевые слова: аминокислоты, пептиды, алкиламиды, ди-*трет*-бутилпирокарбонат, синтез, активация карбоксильной группы.

Алкиламиды аминокислот наряду с амидами являются ключевыми строительными блоками в синтезе алкиламидов биологически активных пептидов и пептидных ингибиторов протеолитических ферментов. В синтезе самих алкиламидов N-защищенных аминокислот можно использовать обычные методы образования пептидных связей, среди которых одним из важнейших является метод смешанных ангидридов с моноэфирами угольной кислоты [1, 2]. Смешанные ангидриды этого типа получают из N-защищенных аминокислот и алкилоксикарбонилхлоридов в присутствии третичных аминов или из 1-алкоксикарбонил-2-алкокси-1,2-дигидрохинолинов. Такие смешанные ангидриды образуются также из алкилуглекислых солей щелочных металлов и замещенных бензоилхлоридов [3, 4]. Смешанный ангидрид, полученный из хлорангирида 2,4,6-тринитробензойной кислоты и *трет*-бутилкарбоната натрия [4], подобно алкилоксикарбонилхлоридам способен реагировать с N-защищенными аминокислотами в присутствии триалкиламинов с образованием новых смешанных ангидридов с *трет*-бутиловым эфиром угольной кислоты, которые более устойчивы, чем смешанные ангидриды, полученные в аналогичных условиях из изобутоксикарбонилхлорида [5].

Диалкилпирокарбонаты также способны реагировать с карбоновыми кислотами с образованием смешанных ангидридов. Впервые смешанный ангидрид, полученный из N-защищенной аминокислоты и диэтилпирокарбоната, был использован для ацилирования эфира аминокислоты в работе [6]. Позже было обнаружено, что смешанные ангидриды, образующиеся из защищенных аминокислот и диалкилпирокарбонатов, в присутст-

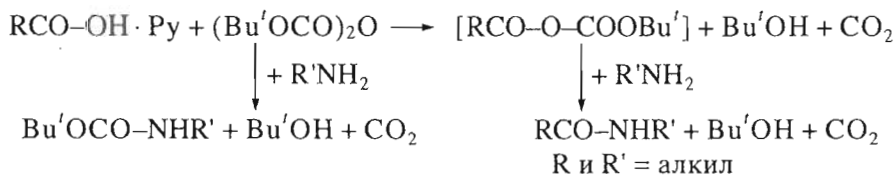
вии третичных аминов легко превращаются в симметричные ангидриды [7]. В препаративном отношении особенно эффективным для активации карбоксила оказался ди-*трет*-бутилпирокарбонат (система Coc_2O –пиридин). С помощью этого реагента можно получать симметричные ангидриды [7, 8], ацилировать гидроксилсодержащие полимеры [9], первичные, вторичные и третичные спирты [10], а также ароматические амины [11]. Однако синтезировать алкиламиды с использованием системы Coc_2O –пиридин до сих пор не удавалось. Поскольку известно, что диалкилпирокарбонаты легко реагируют с аминами [6, 12, 13], казалось, что при действии пирокарбоната на смесь карбоновой кислоты с амином может образоваться только N-алкилоксикарбониламин, но не алкиламид. Однако из карбоновых кислот и диалкилпирокарбонатов в присутствии бикарбоната аммония образуются главным образом карбоксамиды [14, 15]. Последующие исследования показали, что этот методический прием – активация карбоксильной группы в присутствии гидрокарбонатов алкиламинов – может быть использован и в синтезе алкиламидов.

Как ни странно, гидрохлориды низших алифатических аминов в смеси с бикарбонатом калия и пиридином в сухом ацетонитриле реагируют с Coc_2O довольно медленно, хотя при добавлении к этой смеси воды быстро образуется Coc -амин. В смеси карбоновой кислоты и пиридина с бикарбонатом калия и гидрохлоридом амина в том же растворителе также никаких быстрых реакций не происходит. Если же к первой смеси добавить карбоновую кислоту или ко второй Coc_2O , начинается энергичная реакция с выделением CO_2 . Порядок смешивания реагентов существенной роли не играет. Очевидно, что прежде всего происходит взаимодействие Coc_2O с карбоновой кислотой с

Сокращения: βAla – β -аланин, Fac – 3-(2-фурил)акрилоил, cHex – циклогексил.

* Тел.: 246-58-20, e-mail: gelii@ibmh.msk.su (EUnet).

выделением CO_2 и образованием смешанного ангидрида, который затем ацилирует амин, конкурируя при этом с Woc_2O . Можно предположить, что гидрокарбонаты алкиламинов, образующиеся из гидрохлоридов аминов и бикарбоната калия, частично диссоциируют до свободных аминов, которые переходят в раствор и подвергаются ацилированию преимущественно смешанным ангидридом и в меньшей мере пирокarbonатом.



Количество образующегося в результате реакции Woc -амина может зависеть от соотношения реагентов, природы кислоты и амина, свойств растворителя и, вероятно, еще от других условий. Судя по количеству выделяемого из смеси амида и полуколичественной оценке пятен на ТСХ, при эквивалентном соотношении карбоновой кислоты и Woc_2O и с небольшим (10–15 мол. %) избытком этой смеси по отношению к первичному алкиламину в ацетонитриле, как правило, образуется до 30% Woc -амина. Влияние растворителя на соотношение продуктов реакции мы попытались определить синтезом циклогексиламида 3-(2-фурил)акриловой кислоты в бензоле, диоксане, этилацетате, ацетонитриле и диметилформамиде, однако выходы целевого продукта оказались высокими и практически одинаковыми независимо от растворителя. При синтезе алкиламидов аминокислот нами в качестве растворителя был использован главным образом ацетонитрил, как наиболее универсальный и результативный в синтезе амидов [14, 15].

Для выделения целевых продуктов использовали, как правило, экстракционный метод с последующей кристаллизацией из подходящих растворителей. При выделении алкиламидов, выдерживающих обработку кислотами (например, алкиламидов Z -аминокислот), примесь Woc -амина можно удалить обработкой продуктов реакции 1–2 М раствором серной кислоты в этилацетате с последующей промывкой водой.

Результаты, представленные в таблице, свидетельствуют, что, несмотря на образование Woc -амина, выходы алкиламидов аминокислот, как правило, достаточно высоки и методика благодаря простоте может представлять практический интерес. Предложенную методику можно использовать и в синтезе дипептидов. Этиламины дипептидов с S -концевым пролином были получены и выделены с удовлетворительными выходами (таблица). Для более полного понимания возможнос-

Поскольку реакция протекает в гетерогенной среде, скорость этих превращений, вероятно, контролируется кинетикой межфазных переносов при образовании свободных аминов. В результате образуется смесь алкиламида, Woc -амина и, как правило, небольшого количества исходной кислоты. Соотношение этих продуктов определяется рядом факторов, а образование их можно представить следующей упрощенной схемой:

тей и ограничений метода образования пептидной связи с использованием Woc_2O необходимы дополнительные исследования.

Таким образом, с помощью системы Woc_2O -пиридин можно получать не только амиды [14], но и алкиламиды карбоновых кислот простым одностадийным методом с достаточно высокими выходами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления определены в открытых капиллярах и не исправлены. Состав реакционных смесей и индивидуальность полученных соединений контролировали методом ТСХ на стеклянных пластинках с силикагелем (Kieselgel 60 F_{254} , Merck, Германия) в следующих системах растворителей: хлороформ–метанол–уксусная кислота, 95 : 5 : 1, ацетонитрил–аммиак (25%), 9 : 1; хлороформ. Пятна на пластинках обнаруживали в УФ-свете при 254 нм, окрашиванием 5% раствором нингидрина в n -бутиловом спирте (для защищенных аминокислот и аминов применяли предварительное опрыскивание пластинок 30% раствором HBr -кислоты в уксусной кислоте и нагревание при 110°C), а также бензидиновым реактивом после хлорирования. Оптическое вращение определяли на поляриметре Perkin–Elmer 241 в кюветах длиной 10 см при 18–20°C. ИК-спектры записывали на спектрофотометре Pye-Unicum SP 1000 (Англия). В работе использованы защищенные аминокислоты производства фирм Fluka (Швейцария) или Reanal (Венгрия). Все оптически активные аминокислоты – L -ряда, кроме специально отмеченных. Ди-*трет*-бутилпирокarbonат (Fluka, Швейцария) дозировали в виде расплава при 35–40°C. Ацетонитрил высушивали перегонкой над пятиоксидом фосфора, остальные растворители марки х. ч. использовали без дополнительной очистки.

Типовая методика синтеза алкиламидов. К перемешиваемой смеси карбоновой кислоты (12 ммоль),

Выходы и физико-химические характеристики синтезированных соединений N-алкиламинов аминокислот

Соединение	Выход, ^a %	Т. пл., °С	[α] _D (с 1)	Литературные данные		
				т. пл., °С	[α] _D	Ссылка
(<i>Woc</i> - β Ala-NHCH ₂ CH ₂ S-) ₂	55	134–136	–	132–134	–	16
<i>Woc</i> -Leu-NHMe	65	122–123	–14.8 ^b	118–120	–15.3 ^b	17
<i>Woc</i> -Leu-NHcHex	77	177–178	–11.8 ^b	174–176	–12.4 ^b	18
<i>Woc</i> -Phe-NHBzl	67	133–134	+3.5 ^г	132–133	+3.9 ^г	19
<i>Woc</i> -Phe-NHcHex	86	144–145	+4.6 ^г	143–144	+5.0 ^г	20
<i>Woc</i> -Phe-NHBU'	75	133–134	+8.0 ^г	131–133	+6.0 ^г	20
<i>Woc</i> -Phe-NHMe	73	146–147	+15.4 ^д	–	–	–
<i>Woc</i> -DPhe-NHMe	77	143–144	–7.3 ^д	–	–	–
<i>Woc</i> -Tyr(Me)-NHMe	80	143–144	+24.7 ^д	–	–	–
Z-Ala-NHEt	75	132–133	+11.7 ^б	127–128	+11.2 ^б	21
Z-Gly-NHBU'	60	65–66	–	68–71	–	22
Z-Leu-NHMe	71	128–130	–30.8 ^б	130–131	–29.5 ^б	23
Z-Pro-NHCH ₂ CH ₂ Ph	70	87–88	–59.0 ^б	84–86	–59 ^б	24
Z-Val-NHMe	76	182–183	–10.2 ^г	180–181	–14.5 ^г	25
Z-Ala-Pro-NHEt	67	104–105	–98.6 ^б	110–113	–96.0 ^б	21
Z-Gly-Pro-NHEt	65	128–129	–83.4 ^б	126–127	–75.0 ^б	21
Fac-NHcHex	82	162–164	–	–	–	–

^a Выход хроматографически индивидуального продукта, ^б в CH₃OH, ^в в DMF, ^г в CHCl₃, ^д в C₂H₅OH.

гидрохлорида алкиламмония (10 ммоль), бикарбоната калия (12 ммоль) и 0.5 мл пиридина в 10–15 мл ацетонитрила добавляли *Woc*₂O (3 мл, 13 ммоль) и дополнительно перемешивали 4 ч (или 16 ч). Смесь разбавляли водой (25–30 мл), экстрагировали этилацетатом, экстракт промывали 5% карбонатом натрия, водой, 5% серной кислоты, водой, насыщенным раствором хлорида натрия, высушивали над сульфатом магния и упаривали на ротаторном испарителе при 40°C. Остаток кристаллизовали из подходящих растворителей. При выделении алкиламинов, устойчивых к кислотам, к охлажденному (5–10°C) экстракту (в этилацетате) добавляли концентрированную серную кислоту до образования 1–2 М раствора и выдерживали при комнатной температуре до исчезновения *Woc*-амин в смеси (контроль ТСХ) и затем промывали водой. В другом варианте после разбавления реакционной смеси водой (20–30 мл), ее перемешивали до завершения кристаллизации продукта. Осадок отделяли, промывали водой, высушивали и перекристаллизовывали. Результаты представлены в таблице.

Циклогексиламид 3-(2-фурил)акриловой кислоты. Суспензию бикарбоната калия (0.7 г, 7 ммоль), 3-(2-фурил)акриловой кислоты (0.7 г, 5.0 ммоль), *Woc*₂O (1.5 мл, 6.8 ммоль) и 0.25 мл пиридина в 5 мл растворителя (бензола, этилацетата, ацетонитрила, диоксана или диметилформамида) перемешивали 5 мин, добавляли гидрохлорид циклогексил-

амин (0.7 г, 5.1 ммоль) и перемешивали 16 ч при комнатной температуре, причем во всех растворителях, кроме диметилформамида, образовывался кристаллический осадок продукта реакции. Растворы в ацетонитриле, диоксане и диметилформамиде разбавляли водой (20 мл), перемешивали 30 мин и осадок отфильтровывали. Растворы в бензоле и этилацетате разбавляли диоксаном (10 мл), упаривали, кристаллический остаток растирали в воде и осадок отфильтровывали. Во всех случаях продукт на фильтре промывали водой, 0.5 М щелочью, водой и высушивали. Получали 1–1.1 г (примерно 100%) продукта с т. пл. 148–155°C. *R*_f 0.50 (хлороформ, детектирование в УФ-свете и нингидрином после обработки пластинки HBr/AsOH). После перекристаллизации из этанола с добавлением воды т. пл. 162–164°C. УФ-спектр (EtOH–H₂O, 1 : 1): λ_{\max} 305 нм (ϵ 23 700 M⁻¹ cm⁻¹).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 95-03-08996а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аальбертсон Н.Ф. Органические реакции. Т. 12. М.: Изд-во иностр. лит., 1962. С. 157–270.

2. Майенхофер И. Пептиды, основные методы образования пептидных связей. Т. 1. Гл. 6. М.: Мир, 1983.
3. Tarbell D.S. // *Acc. Chem. Res.* 1969. V. 2. P. 296–300.
4. Позднев В.Ф. // *Журн. орган. химии.* 1974. Т. 10. С. 1653–1655.
5. Позднев В.Ф. // *Журн. орган. химии.* 1978. Т. 14. С. 1558.
6. Thoma W., Rinke H. // *Liebigs Ann.* 1959. V. 624. P. 30–36.
7. Позднев В.Ф. // *Журн. орган. химии.* 1983. Т. 19. С. 882.
8. Позднев В.Ф. // *Журн. орган. химии.* 1986. Т. 56. С. 690–695.
9. Позднев В.Ф. // *Биоорган. химия.* 1984. Т. 10. С. 912–920.
10. Pozdnev V.F. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1992. V. 40. P. 407–414.
11. Pozdnev V.F. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1994. V. 44. P. 36–48.
12. Позднев В.Ф. // *Химия природ. соединений.* 1971. С. 384.
13. Позднев В.Ф. // *Химия природ. соединений.* 1974. С. 764–767.
14. Pozdnev V.F. // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 36. P. 7115–7118.
15. Позднев В.Ф. // *Биоорган. химия.* 1996. Т. 22. С. 280–286.
16. Копелевич В.М., Лисенкова А.В., Позднев В.Ф., Буланова Л.Н., Гунар В.И. // *Биоорган. химия.* 1979. Т. 5. С. 254–258.
17. Somlai C., Szokan G., Balaspiri L. // *Synthesis.* 1992. P. 285–287.
18. Filippi B., Biondi L., Filira F., Rocchi R. // *Farm. Ed. Sci.* 1983. V. 38. P. 713–724.
19. Hagiwara D., Miyake H., Morimoto H., Murai M., Fujii T., Matsuo M. // *J. Med. Chem.* 1992. V. 35. P. 3184–3191.
20. Obrecht D., Bohdal U., Broger C., Bur D., Lehmann C., Ruffieux R., Schonholzer P., Spiegler C., Muller K. // *Helv. Chim. Acta.* 1995. V. 78. P. 563–580.
21. Hassal C.H., Johnson W.-H., Roberts N.A. // *Bioorg. Chem.* 1979. V. 8. P. 299–309.
22. Bjorkman S., Castensson S., Sievertsson H. // *J. Med. Chem.* 1979. V. 22. P. 931–935.
23. Pietrzynski G., Rzeszotarska B. // *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Chem.* 1991. V. 39. P. 1–6.
24. Kasafirec E., Sutiakova I., Bartik M., Sturk A. // *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1988. V. 53. P. 2877–2883.
25. Pietrzynski G., Kubica Z., Rzeszotarska B. // *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Chem.* 1989. V. 37. P. 363–370.

Activation of Carboxylic Acids by Pyrocarbonates: Synthesis of Alkylamides of *N*-Protected Amino Acids

V. F. Pozdnev

*Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences,
Pogodinskaya ul. 10, Moscow, 119832 Russia*

Abstract—Alkylamides of amino acids were prepared with high yields via activation of *N*-protected amino acids by di-*tert*-pyrocarbonate–pyridine reagent in the presence of alkylamine hydrochlorides and potassium hydrocarbonate.

Key words: amino acids, peptides, alkylamides, di-*tert*-butyl pyrocarbonate, synthesis, carboxylic group activation.