



УДК 547.466'26.057

АКТИВАЦИЯ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ПИРОКАРБОНАТАМИ.
СИНТЕЗ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ ИЗ N-АЦИЛАМИНОКИСЛОТ
И ВТОРИЧНЫХ СПИРТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ
ДИ-ТРЕТ-БУТИЛПИРОКАРБОНАТ — ПИРИДИН В КАЧЕСТВЕ
КОНДЕНСИРУЮЩЕГО РЕАГЕНТА

Позднев В.Ф.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР, Москва

Показана возможность применения ди-трет-бутилпирокарбоната в присутствии пиридина и 4-диметиламинопиридина в качестве конденсирующего реагента в синтезе депсипептидов и сложных эфиров N-ациламинокислот и вторичных спиртов — ментола, бензгидрола и холестерина. Оптическая чистота синтезированных ментоловых эфиров трет-бутилоксикарбонильных производных L- и D-изомеров аланина, валина и фенилаланина проверена методом ВЭЖХ, а ментоловых эфиров трифторацетильных производных этих аминокислот — методом ГЖХ. При конденсации Вос₂О аминокислот с ментолом с помощью Вос₂О как в присутствии пиридина, так и с 4-диметиламинопиридином рацемизации не обнаружено, при синтезе ментолового эфира из N-трифторацетил-L-аланина и ментола образуется ~1,5% D-изомера.

Система Вос₂О — пиридин является эффективным конденсирующим реагентом в синтезе сложных эфиров N-защищенных аминокислот и первичных спиртов [1] или фенолов [2]. В настоящем сообщении исследована возможность использования Вос₂О для конденсации N-защищенных аминокислот с вторичными спиртами.

Сложные эфиры некоторых вторичных спиртов представляют специальный интерес, и их синтез изучается весьма интенсивно. Так, ментоловые эфиры аминокислот применяются для определения оптической чистоты аминокислот методом ГЖХ после трифторацетилирования [3–7], а бензгидроловые эфиры — для защиты карбоксильной группы [8]. Большой научный и практический интерес представляет исследование O-ациламиноподобных производных холестерина [9, 10] и депсипептидов [11].

Для ацилирования некоторых вторичных спиртов, например ментола, применяют общий метод этерификации с использованием кислотных катализаторов и с отгонкой образующейся воды [3–7], но для этого необходим большой избыток спирта и жесткие условия реакции, причем выходы эфиров некоторых аминокислот неудовлетворительны. Поэтому вторичные спирты более сложного строения ацилируют с использованием различных конденсирующих реагентов. В некоторых случаях даже ментоловые эфиры считается целесообразным синтезировать в мягких условиях с использованием O-ментил-N,N'-диизопропилизомочевины [12]. Более общим методом получения сложных эфиров вторичных спиртов является конденсация кислоты и спирта N,N'-диалкилкарбодимидами в пиридине или в присутствии DMAP [13, 14]. Для получения сложных эфиров холестерина его ацилировали активированными эфирами N-защищенных аминокислот в присутствии имидазола [9] или симметричными ангидридами в присутствии DMAP [10]. Старым и хорошо проверенным методом синтеза депсипептидов является метод с использованием бензолсульфохлорида [11, 15]; в последние годы депсипептиды предложено синтезировать также с помощью системы DCC — DMAP [16, 17].

Принятые сокращения: Вос₂О — ди-трет-бутилпирокарбонат, DCC — N,N'-дихлорогексилкарбодимид, Bzh — бензгидрил, Fmoc — 9-флуоренилметилоксикарбонил, Chs — холестерил, Mп — ментил, DMAP — 4-диметиламинопиридин, TFA — трифторацетил, ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография.

Соединение · HCl	Т. пл., °С	[α] _D ²⁰ , град (с 1, С ₂ Н ₅ ОН)	Лит. данные [3]	
			т. пл., °С	[α] _D ²⁰ , град (с 1, С ₂ Н ₅ ОН)
<i>L</i> -Ala-OMn (XIX)	214–215	–66,4	218	–67,3
<i>D</i> -Ala-OMn (XX)	186–187	–75,0	188–189	–70,9
<i>L</i> -Val-OMn (XXI)	222–223	–49,9	224–225	–48,3
<i>D</i> -Val-OMn (XXII)	192–193	–77,3	209–210	–78,5
<i>L</i> -Phe-OMn (XXIII)	160–163	–19,8	165–166	–20,8
<i>D</i> -Phe-OMn (XXIV)	185–186	–79,7	185–186	–75,1

Проведенная в настоящей работе проверка возможности ацилирования вторичных спиртов *N*-защищенными аминокислотами с помощью Vos_2O в присутствии пиридина показала хорошие результаты. Этим методом ментилловые эфиры Vos - и *Z-L*-фенилаланина получены с выходами 64 и 80% соответственно. Добавление в реакционную среду каталитических количеств (~10 мол.%) DMAP позволило сократить время реакции с 16–20 до 3–5 ч и повысить выходы сложных эфиров на 10–15%. Однако при этом, по данным ТСХ, образуется минорное количество *трет*-бутилового эфира исходной ациламинокислоты, обладающего меньшей хроматографической подвижностью, чем основной продукт реакции. Кроме того, конечные продукты часто содержат примесь ментола, от которой не всегда легко освободиться. Ментилловые эфиры Vos -производных *L*- и *D*-аланина, *L*-валина и *L*-фенилаланина получены в кристаллическом состоянии, а эфиры Vos-D -валина и Vos-D -фенилаланина — в виде вязких масел. Ментилловый эфир *Z-L*-фенилаланина легко кристаллизуется при выдерживании в вакууме или при растирании в воде, в то время как ментилловый эфир *Z-DL*-фенилаланина представляет собой вязкое масло, которое частично кристаллизуется при хранении. Оказалось, что диастереомеры ментилловых эфиров Vos -аминокислот и *Z*-фенилаланина удовлетворительно разделяются ВЭЖХ на обращенной фазе в 75–80% водном ацетонитриле, причем в образцах производных *L*-аминокислот примеси производных *D*-изомеров не обнаружено.

Обработкой раствором хлористого водорода в уксусной кислоте ментилловые эфиры Vos-L - и *D*-аминокислот были превращены в хлоргидраты ментилловых эфиров этих аминокислот, физико-химические характеристики которых соответствовали характеристикам этих соединений, полученных ранее другими методами [3, 6] (таблица). Из хлоргидратов ментилловых эфиров аминокислот обработкой трифторуксусным ангидридом были получены их трифторацетильные производные, причем все они, кроме ментилового эфира трифторацетил-*D*-валина, оказались кристаллическими соединениями. Известно, что ментилловые эфиры трифторацетильных производных *L*- и *D*-аминокислот хорошо разделяются методом ГЖХ [4–7]. Все синтезированные в наших условиях ментилловые эфиры оптических антиподов не содержали. Однако ментилловый эфир трифторацетилаланина, полученный из трифторацетил-*L*-аланина [18] и ментола с помощью Vos_2O в присутствии пиридина и каталитического количества DMAP, по данным ГЖХ, содержал 1,3–1,5% примеси ментилового эфира трифторацетил-*D*-аланина, что свидетельствует о частичной рацемизации в процессе синтеза.

В литературе приводятся противоречивые данные относительно влияния добавки DMAP на рацемизацию защищенных аминокислот при конденсации их со спиртами с помощью *N,N'*-диалкилкарбодимидов [19–21]. Поэтому нами был осуществлен синтез ментилового эфира Vos-L -фенилаланина также и с помощью DCC в присутствии DMAP. Сравнение характеристик данного образца с характеристиками образца, полученного с помощью Vos_2O , показало, что температуры плавления и углы удельного оптического вращения обоих образцов этого соединения практически совпадают. Определение оптической чистоты методами ВЭЖХ и ГЖХ свидетельствует, что трифторацетильное производное ментилового эфира Vos-L -фенилаланина, полученного с помощью DCC, также не содержит примеси *D*-изомера.

По общей методике с использованием Vos_2O , пиридина и каталитического количества DMAP с хорошими выходами синтезированы сложные эфиры *Vos-L*-аланина, *Z-L*-фенилаланина и *Vos-γ*-аминомасляной кислоты с холестерином, а также бензгидриловый эфир *Fmoc-L*-валина. Синтез депсипептидов этим методом также протекает с высокими выходами. Так, *трет*-бутиловый эфир *Fmoc-L*-валил-*L*-молочной кислоты получен в кристаллическом виде с выходом 80%, а *трет*-бутиловый эфир *Z-L*-4-нитрофенилаланил-*L*-молочной кислоты — в виде хроматографически гомогенного маслообразного продукта с выходом ~90%. Последнее соединение после деблокирования его карбоксильной группы трифторуксусной кислотой было превращено в кристаллический *N*-оксисукцинимидный эфир, описанный ранее в работе [22]. Конъюгат *Z-L*-валина с бензиловым эфиром *Vos-L*-треонина с помощью системы Vos_2O — пиридин — DMAP получен с выходом 80% (ранее это соединение было синтезировано с использованием DCC в присутствии пиридина [13]). После удаления бензильных защитных группировок гидрированием нами получен кристаллический депсипептид в хроматографически гомогенном состоянии, но характеристики его несколько отличались от характеристик продукта, полученного в работе [13] (см. «Экспериментальную часть»).

Таким образом, с помощью системы Vos_2O — пиридин можно получать сложные эфиры не только первичных [1], но и вторичных спиртов. При этом избирательное ацилирование первичных гидроксильных групп в присутствии вторичных, по-видимому, невозможно. Добавление в реакционную среду каталитического количества DMAP увеличивает выход сложных эфиров вторичных спиртов, но одновременно увеличивается вероятность образования примеси *трет*-бутиловых сложных эфиров.

Экспериментальная часть

Состав реакционных смесей и индивидуальность полученных соединений контролировали методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 в следующих системах растворителей: гептан — диэтиловый эфир, 3 : 2 (А); толуол — изооктан — метилэтилкетон, 5 : 3 : 2 (Б); гептан — хлороформ — изопропиловый спирт, 15 : 5 : 1 (В). Холестерин, ментол и их сложные эфиры обнаруживали на пластинках реактивом Дениже [23] с последующим нагреванием (черные пятна).

Для ВЭЖХ использовали прибор фирмы LKB (Швеция), колонка Lichrosorb RP-8, 5 мкм (250×4 мм), подвижная фаза ацетонитрил — вода, 4 : 1, скорость элюции 1 мл/мин, температура 20—22° С, вещества детектировали при 226 нм. ГЖХ проводили на приборе ЛХМ-8 МД, колонка из нержавеющей стали (200×0,3 см) с 3% политриэтиленгликольсукцинатом на хроматоне Н. Температура колонки 165 или 185° С, испарителя 200° С, детектора по теплопроводности 200° С. Газ-носитель — гелий, скорость потока 40 мл/мин.

Удельное оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin — Elmer 241 (Швеция). УФ-спектры снимали на спектрофотометре Specord UV VIS (ГДР), ИК-спектры — на спектрометре Pye-Unicum SP 1000 (Англия). Температуры плавления определяли в открытых капиллярах и не исправляли.

При стандартной обработке реакционных смесей растворы в этилацетате промывали водой, 5% раствором Na_2CO_3 , водой, 5% H_2SO_4 , водой, насыщенным раствором NaCl , высушивали Na_2SO_4 и упаривали в вакууме на роторном испарителе при 40° С. Конечные продукты высушивали в вакуум-эксикаторе над H_2SO_4 и KOH .

L-Ментиловые эфиры защищенных аминокислот. Общая методика. Раствор 1,0 ммоль *N*-защищенной аминокислоты, 175 мг (1,1 ммоль) *L*-ментола, 0,25 мл (1,1 ммоль) Vos_2O , 0,05 мл пиридина и 10 мг DMAP в 2,5—3 мл этилацетата перемешивали 3—4 ч (выделение CO_2 прекращается через 2 ч), разбавляли этилацетатом до 25 мл и после стандартной обработки маслообразный остаток выдерживали в вакууме (2 мм рт. ст.), причем он, как правило, кристаллизовался. Полученные продукты без допол-

нительной очистки анализировали методом ВЭЖХ на обращенной фазе и затем перекристаллизовывали.

Вос-L-Ala-OMn (I). Кристаллический остаток перекристаллизовывали из гексана. Выход 80,7%, т. пл. 103–104° С, $[\alpha]_D^{20}$ –108,7° (*c* 1, C₂H₅OH), *R_f* 0,53 (А), 0,71 (Б). ИК-спектр (в КСl, ν, см⁻¹): 3400 (NH), 1720 (OC=O), 1520 (NH), 1180 (C–O). ВЭЖХ: время выхода основного вещества 7,85 мин. Примеси Вос-D-Ala-OMn не обнаружено.

Вос-D-Ala-OMn (II). Кристаллический остаток растворяли в гексане, фильтровали через слой Al₂O₃ (~5 г), промывали гексаном, фильтрат упаривали, остаток выдерживали в вакууме и получали кристаллический продукт с выходом 83%. Перекристаллизовывали из пентана. Т. пл. 76–77° С, $[\alpha]_D^{20}$ –22,5° (*c* 1, C₂H₅OH). *R_f* 53 (А), 0,70 (Б). ВЭЖХ: время выхода пика основного вещества 7,70 мин. Примеси Вос-L-Ala-OMn не обнаружено.

Вос-L-Val-OMn (III). Выход кристаллического остатка после выдерживания в вакууме 90%, т. пл. 60–62° С, $[\alpha]_D^{20}$ –74,3° (*c* 1, C₂H₅OH), *R_f* 0,65 (А), 0,79 (Б). ИК-спектр (в КСl, ν, см⁻¹): 3450 (NH), 1725 (OC=O), 1510 (NH), 1180 (C–O). ВЭЖХ: время выхода пика основного вещества 11,10 мин.

Вос-D-Val-OMn (IV). Вещество получить в кристаллическом состоянии не удалось. Выход смолообразного продукта 87%, $[\alpha]_D^{20}$ –13,3° (*c* 0,85, C₂H₅OH), *R_f* 0,65 (А), 0,80 (Б). ВЭЖХ: время выхода основного вещества 10,60 мин.

Вос-L-Phe-OMn (V). а) После выдерживания в вакууме кристаллический остаток перекристаллизовывали из водного метанола. Выход 93,4%, т. пл. 60–64° С, $[\alpha]_D^{20}$ –47,3° (*c* 1, C₂H₅OH), *R_f* 0,65 (А), 0,76 (Б). ИК-спектр (в КСl, ν, см⁻¹): 3440 (NH), 1725 (OC=O), 1690 (NC=O), 1540 (NH), 1180 (C–O). ВЭЖХ: время выхода пика основного вещества 10,90 мин.

б) В эксперименте без добавления DMAP выход перекристаллизованного из водного метанола продукта 64,5%, т. пл. 64–66° С, *R_f* 0,66 (А).

в) При синтезе соединения (V) с помощью DCC к охлажденному до –10° С раствору 530 мг (0,2 ммоль) Вос-L-PheOH, 400 мг (2,5 ммоль) ментола и 25 мг (0,2 ммоль) DMAP в 3 мл этилацетата добавляли раствор 0,45 г DCC в 2 мл этилацетата, смесь постепенно нагревали до 20° С и выдерживали 16 ч. Затем разбавляли этилацетатом, осадок дициклогексилмочевины отфильтровывали и из фильтрата после стандартной обработки получали смолообразный остаток, который кристаллизовался после выдерживания в вакууме. Выход 0,7 г (87%), *R_f* 0,65 (А). Содержит примесь ментола *R_f* 0,37 (А). ВЭЖХ: время выхода основного пика 10,93 мин, примеси Вос-D-Phe-OMn не обнаружено. Вещество растворяли в гексане, раствор фильтровали через окись алюминия, фильтрат упаривали и получали кристаллический остаток, который перекристаллизовывали из водного метанола. Получали продукт с т. пл. 63–64° С, $[\alpha]_D^{20}$ –47,8° (*c* 1, C₂H₅OH).

Вос-D-Phe-OMn (VI). Смолообразный продукт. Выход 91%, $[\alpha]_D^{20}$ –19,0° (*c* 1, C₂H₅OH). *R_f* 0,66 (А). ВЭЖХ: время выхода пика основного вещества 10,65 мин.

Z-L-Phe-OMn (VII). а) Продукт кристаллизовали растиранием в воде. Выход 89%, т. пл. 64–68° С, $[\alpha]_D^{20}$ –38,6° (*c* 1, C₂H₅OH). *R_f* 0,48 (А), 0,75 (Б). ИК-спектр (в КСl, ν, см⁻¹): 3450 (NH), 1725 (OC=O), 1690 (NC=O), 1540 (NH), 1180 (C–O). ВЭЖХ: время выхода пика основного вещества 9,80 мин.

б) В эксперименте без добавления DMAP время реакции 20 ч. Продукт кристаллизовали растиранием в воде. Выход 80%, т. пл. 67–70° С, $[\alpha]_D^{20}$ –41,2° (*c* 1, C₂H₅OH). *R_f* 0,50 (А).

Z-D-L-Phe-OMn (VIII). Смолообразный продукт, при длительном хранении частично кристаллизуется. Выход ~100%. *R_f* 0,48 (А). ВЭЖХ: два основных пика с временем выхода 9,80 и 9,50 мин.

Хлоргидраты ментиловых эфиров аминокислот. Общая методика.

Ментиловые эфиры *трет*-бутилоксикарбониламинокислот (3 ммоль) растворяли в 15 мл 1 М раствора хлористого водорода в уксусной кислоте, выдерживали 1 ч, упаривали при 40° С, кристаллический остаток растирали в диэтиловом эфире, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Выходы 90–95%.

Ментиловые эфиры трифторацетиламинокислот. Общая методика.

К суспензии 1 ммоль хлоргидрата ментилового эфира аминокислоты в 2 мл хлористого метилена добавляли 0,5 мл ангидрида трифторуксусной кислоты и 0,25 мл *N*-метилпиперидина. Смесь выдерживали 1 ч при 20° С, упаривали, остаток растворяли в 20 мл этилацетата и после стандартной обработки остаток растворяли в пентане и пробу раствора анализировали методом ГЖХ.

TFA-L-Ala-OMn (XV). а) После упаривания раствора в пентане получали кристаллический остаток. Выход 83%, т. пл. 65–67° С. После перекристаллизации из пентана т. пл. 70–71° С, $[\alpha]_D^{20} -112,5^\circ$ (с 1, C₂H₅OH). R_f 0,51 (А), 0,64 (Б). ИК-спектр (в KCl, ν , см⁻¹): 3360 (NH), 1740 (C=O), 1710 (NC=O), 1560 (NH), 1180 (C–O). Данные ГЖХ: температура колонки 165° С, время выхода пика основного вещества 3,0 мин. Примеси *TFA-D-Ala-OMn* не обнаружено.

б) Конденсацией *TFA-L-Ala-OH* (вязкое масло [18]) с ментолом по общей методике получали маслообразный продукт, кристаллизующийся при охлаждении. Основное вещество с R_f 0,51 (А), примесь ментола с R_f 0,46 (А). Часть ментола удаляли сублимацией в вакууме (80–90° С при 2 мм рт. ст.). Остаток после удаления ментола растворяли в пентане и анализировали методом ГЖХ. Время выхода основного пика 3,0 мин, примесь *TFA-D-Ala-OMn* 1,3–1,5%, время выхода пика 3,5 мин.

TFA-D-Ala-OMn (XVI). Раствор в пентане фильтровали и упаривали. Получали кристаллический остаток, выход 78%, т. пл. 61–62° С, $[\alpha]_D^{20} 0,8^\circ$ (с 1, C₂H₅OH), $[\alpha]_{36}^{20} 36,0^\circ$ (с 1, C₂H₅OH). R_f 0,51 (А). ГЖХ: температура колонки 165° С, время выхода основного вещества 3,5 мин.

TFA-L-Val-OMn (XVII). Раствор в пентане оставляли в холодильнике в открытой колбе. После улетучивания растворителя получали кристаллический остаток (71%) с т. пл. 46–47° С, $[\alpha]_D^{20} -95,2^\circ$ (с 1, C₂H₅OH). R_f 0,64 (А), 0,73 (Б). ИК-спектр (в KCl, ν , см⁻¹): 3450 (NH), 1725 (C=O), 1560 (NH), 1180 (C–O). Данные ГЖХ: температура колонки 165° С, время выхода пика основного вещества 3,0 мин. Примеси *TFA-D-Val-OMn* не обнаружено.

TFA-D-Val-OMn (XVIII). Раствор в пентане оставляли в холодильнике в открытой колбе и после испарения пентана получали маслообразный остаток. После выдерживания в вакууме продукт остался маслообразным. $[\alpha]_D^{20} -59,8^\circ$ (с 0,7, C₂H₅OH). R_f 0,64 (А). Данные ГЖХ: температура колонки 165° С, время выхода пика основного вещества 3,5 мин. Примеси *TFA-L-Val-OMn* не обнаружено.

TFA-L-Phe-OMn (XIX). После стандартной обработки реакционной смеси получали кристаллический остаток, выход 83%. Продукт растворяли в пентане при нагревании и при охлаждении получали кристаллический осадок. Т. пл. 106–107° С, $[\alpha]_D^{20} -57,2$ (с 1, C₂H₅OH). R_f 0,57 (А), 0,69 (Б). ИК-спектр (в KCl, ν , см⁻¹): 3360 (NH), 1735 (C=H), 1705 (NC=O), 1565 (NH), 1190 (C–O). Данные ГЖХ: температура колонки 185° С. Основное вещество выходит широким пиком с временем 12,2 мин.

TFA-D-Phe-OMn (XX). Раствор в пентане упаривали и кристаллический остаток выдерживали в вакууме масляного насоса. Выход 87%, т. пл. 70–71° С, $[\alpha]_D^{20} -18,8^\circ$ (с 1, C₂H₅OH). R_f 0,57 (А). Данные ГЖХ: температура колонки 185° С, время выхода пика 13,5 мин.

Woc-L-Ala-OChs (XXI). Раствор 0,75 г (3,9 ммоль) *Woc-L-Ala*, 0,4 мл пиридина, 1,4 г (3,6 ммоль) холестерина, 50 мг DMAP и 1,2 мл (5,5 ммоль) *Woc*₂O в 7 мл тетрагидрофурана перемешивали 4 ч, разбавляли 50 мл этилацетата и после стандартной обработки остаток кристалли-

зовали и перекристаллизовывали из метанола. Выход 1,8 г (83%), т. пл. 107–109° С, $[\alpha]_D^{20} -36,0^\circ$ (с 1, CHCl_3). R_f 0,47 (А). Лит. данные [9]: т. пл. 109–110° С, $[\alpha]_D^{20} -36,7^\circ$ (с 1, CHCl_3).

Вос-γ-Абу-ОСhs (XXII) синтезировали аналогично соединению (XXI). После кристаллизации из спирта получали продукт (90%) с т. пл. 113–115° С. Дополнительно перекристаллизовывали из водного ацетона. Т. пл. 120–122° С, $[\alpha]_D^{20} -26,3^\circ$ (с 1, CHCl_3). Лит. данные [10]: т. пл. 122,5° С.

Z-L-Phe-ОСhs (XXIII). Раствор 3,0 г (10 ммоль) *Z-L-Phe*, 3,8 г (9,8 ммоль) холестерина, 0,8 мл пиридина, 60 мг DMAP и 2,3 мл $\text{Вос}_2\text{О}$ в 20 мл этилацетата перемешивали 4 ч, разбавляли этилацетатом до 50 мл и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из этилового спирта и перекристаллизовывали из метанола. Выход 5,6 г (84%), т. пл. 115–116° С, $[\alpha]_D^{20} -12,0^\circ$ (с 1, CHCl_3). R_f 0,40 (А). ИК-спектр (в KCl, ν , см^{-1}): 3400 (NH), 1725 (OC=O), 1705 (NC=O), 1545 (NH). Найдено, %: С 79,32; Н 9,41; N 1,86. $\text{C}_{44}\text{H}_{61}\text{NO}_4$. Вычислено, %: С 79,11; Н 9,20; N 2,09.

Fmoc-L-Val-OBzh (XXIV). Раствор 1,7 г (5,0 ммоль) *Fmoc-L-Val*, 0,9 г (4,9 ммоль) бензгидрола, 0,3 мл пиридина, 30 мг DMAP и 1,5 мл $\text{Вос}_2\text{О}$ в 6 мл тетрагидрофурана перемешивали 5 ч, разбавляли 50 мл этилацетата и после стандартной обработки кристаллический продукт (2,3 г) перекристаллизовывали из смеси эфира с гексаном. Выход 2,0 г (79%), т. пл. 137–138° С. После перекристаллизации из толуола т. пл. 142–143° С, $[\alpha]_D^{20} -21,6^\circ$ (с 1, CHCl_3). R_f 0,37 (А), 0,68 (Б). Найдено, %: С 78,63; Н 5,30; N 2,72. $\text{C}_{33}\text{H}_{23}\text{NO}_4$. Вычислено, %: С 78,70; Н 5,80; N 2,78.

Fmoc-L-Val-L-Lac-OBu^t (XXV). Раствор 1,1 г (3,2 ммоль) *Fmoc-L-Val*, 0,5 г (3,4 ммоль) *трет*-бутилового эфира *L*-молочной кислоты, 0,3 мл пиридина, 15 мг DMAP и 0,75 мл (3,4 ммоль) $\text{Вос}_2\text{О}$ в 5 мл диоксана перемешивали 3 ч, разбавляли водой (15–20 мл), перемешивали 15 мин, экстрагировали этилацетатом (50 мл) и после стандартной обработки продукт кристаллизовали из гентана. Выход 1,2 г (80%), т. пл. 86–87° С, $[\alpha]_D^{20} -55,6^\circ$ (с 1, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). R_f 0,38 (А), 0,63 (Б). ИК-спектр (в KCl, ν , см^{-1}): 3350 (NH), 1750–1730 (OC=O), 1695 (NC=O), 1560 (NH), 1175 (C–O). Найдено, %: С 70,87; Н 7,28; N 3,06. $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{NO}_6$. Вычислено, %: С 69,35; Н 7,11; N 2,99.

Z-L-Phe(4-NO₂)-L-Lac-OBu^t (XXVI). Раствор 1,7 г (4,9 ммоль) *Z-L-Phe(4-NO₂)*, 0,8 г (5,4 ммоль) *трет*-бутилового эфира *L*-молочной кислоты, 0,3 мл пиридина, 30 мг DMAP и 1,3 мл $\text{Вос}_2\text{О}$ в смеси 5 мл этилацетата и 2 мл диметилформамида перемешивали 5 ч, разбавляли этилацетатом до 50 мл и после стандартной обработки смолообразный остаток (2,5 г) растирали в горячем гептане. Охлаждали, раствор сливали и остаток выдерживали в вакууме масляного насоса. Выход соединения (XXVI) 2,1 г (90%), $[\alpha]_D^{20} -29,4^\circ$ (с 1, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). R_f 0,35 (В). ИК-спектр (пленка вещества, ν , см^{-1}): 3350 (NH), 1740, 1720 (OC=O), 1605 (NCO), 1525 (NH), 1180 (C–O).

Z-L-Phe(4-NO₂)-L-Lac-OH (XXVII). Раствор соединения (XXVI) в смеси равных объемов хлористого метилена и трифторуксусной кислоты выдерживали 1 ч и уларивали. Остаток промывали гексаном и выдерживали в вакууме масляного насоса. Получали соединение (XXVII) в виде смолы. $[\alpha]_D^{20} -30,5^\circ$ (с 1,2, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). УФ-спектр в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (ϵ): 278 (9600). R_f 0,16 (В).

Z-L-Phe(4-NO₂)-L-Lac-ONSu (XXVIII). К охлажденному до 0° С раствору 1,0 г соединения (XXVII) и 0,3 г *N*-оксисукцинимиды в 5 мл тетрагидрофурана добавляли охлажденный раствор 0,4 г DCC в 3 мл тетрагидрофурана. Смесь выдерживали 3 ч при охлаждении и 20 ч при 20° С, фильтровали, фильтрат разбавляли 30 мл этилацетата и подвергали стандартной обработке. Остаток кристаллизовали из изопропилового спирта. Выход соединения (XXVIII) 0,9 г (74%), т. пл. 101–103° С, $[\alpha]_D^{20} -21,5^\circ$ (с 1, диоксан). УФ-спектр в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (ϵ): 278 (11 100). Лит. данные [22]: т. пл. 103–104° С, $[\alpha]^{20} -21,7^\circ$ (с 1, диоксан).

Вос-L-Thr-OBzl (XXIX). К суспензии 1,5 г (5,0 ммоль) оксалата бензилового эфира *L*-треонина в 10 мл этилацетата добавляли 1,3 мл $\text{Вос}_2\text{O}$ и 5 мл 1 М Na_2CO_3 . Смесь перемешивали 2 ч, разбавляли этилацетатом до 30 мл, органический раствор отделяли, промывали водой, 5% раствором лимонной кислоты, водой, высушивали Na_2SO_4 и упаривали. Остаток (1,5 г) R_f 0,32 (Б) использовали в следующем эксперименте без дополнительной очистки.

Вос-L-Thr(Z-L-Val)-OBzl (XXX). Раствор *Вос-L-Thr-OBzl* (5 ммоль), полученного в предыдущем эксперименте, 1,7 г (6,7 ммоль) *Z-L-Val*, 0,5 мл шпридина, 40 мг DMAP и 1,5 мл (6,8 ммоль) $\text{Вос}_2\text{O}$ в 10 мл диоксиана перемешивали до прекращения выделения CO_2 (~3 ч) и затем еще 1 ч, причем *Вос-L-Thr-OBzl*, по данным ТСХ, прореагировали полностью. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом до 50 мл и после стандартной обработки получали 2,8 г (80%) защищенного депсипептида в виде вязкой смолы, R_f 0,56 (Б).

Вос-L-Thr(Z-L-Val)-OH (XXXI). К раствору депсипептида, полученного в предыдущем эксперименте, в 20 мл метанола добавляли 0,1 г свеженриготовленной палладиевой черни, 0,5 г формиата аммония и перемешивали до полного превращения исходного эфира депсипептида в продукт (XXXI) (~2 ч, контроль ТСХ). Раствор фильтровали, фильтрат упаривали и остаток кристаллизовали в диэтиловом эфире. Осадок отфильтровывали (1,7 г) и перекристаллизовывали из воды. После высушивания над P_2O_5 в вакууме получали 1,1 г (66%) хроматографически однородного соединения (XXXI) с т.пл. 175–176°С (с разложением). $[\alpha]_D^{20}$ 44,7° (с 1, CH_3OH). Лит. данные [13]: т.пл. 180,5–181,5°С, $[\alpha]$ 42,4° (с 1, CH_3OH).

ЛИТЕРАТУРА

1. Позднев В. Ф. Биоорган. химия, 1984, т. 10, № 7, с. 912–920.
2. Позднев В. Ф., Черная М. Ю. Химия природы. соедин., 1984, № 3, с. 357–362.
3. Harada K., Hayakawa T. Bull. Chem. Soc. Jap., 1964, v. 37, № 1, p. 191–193.
4. Vitt S. V., Saporoovskaja M. B., Gudkova J. P., Belikov V. M. Tetrahedron Lett., 1965, № 30, p. 2575–2576.
5. Halpern B., Westley J. W. J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1965, № 18, p. 422–423.
6. Беликов В. М., Сивельева Т. Ф., Сафонова Э. Н. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1974, № 7, с. 1461–1463.
7. Hagesawa M., Matsubara J. Anal. Biochem., 1975, v. 63, № 2, p. 308–320.
8. Буцукс П. Ф. Успехи химии, 1983, т. 52, № 12, с. 2072–2090.
9. Lapatsanis L., Profilis C., Catsoulacos P. J. Chem. and Eng. Data, 1980, v. 25, № 3, p. 287–289.
10. Shashona V. E., Jacob J. N., Ridge R., Campbell A., Baldessarini R. J. Med. Chem., 1984, v. 25, № 5, p. 659–664.
11. Шрёдер Е., Любке К. Пептиды. Т. 1, гл. VI. М.: Мир, 1967.
12. Bellard K. D., Eller T. D., Knapp D. R. J. Chromatogr., 1983, v. 275, № 1, p. 161–167.
13. Mosher C. W., Goodman L. J. Org. Chem., 1972, v. 37, № 19, p. 2928–2933.
14. Ziegler F., Berger G. Synth. Commun., 1979, v. 9, № 6, p. 539–543.
15. Авотинь Г. Я., Фомина Л. А., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 5, с. 581–589.
16. Gilon C., Klausner Y. Tetrahedron Lett., 1979, № 40, p. 3811–3814.
17. Neises B., Steglich W. Ang. Chem., 1978, B. 90, № 7, S. 556–557.
18. Curphey T. J. J. Org. Chem., 1979, v. 44, № 15, p. 2805–2807.
19. Atherton E., Benoiton N. L., Brown E., Sheppard R. C., Williams B. J. J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1981, № 7, p. 336–337.
20. Neises B., Andries T., Steglich W. J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1982, № 19, p. 1132–1133.
21. Dhaon M. K., Olsen R. K., Ramasamy K. J. Org. Chem., 1982, v. 47, № 10, p. 1962–1965.
22. Елисева Ю. Е., Павлухина Л. В., Позднев В. Ф., Орехович В. Н. Докл. АН СССР. 1980, т. 254, № 6, с. 1476–1478.
23. Вайбель С. Идентификация органических соединений. М.: ИЛ, 1957, с. 59.

Поступила в редакцию
7.1.1985

ACTIVATION OF CARBOXYLIC ACIDS WITH PYROCARBONATES.
ESTERIFICATION OF N-ACYLAMINO ACIDS WITH SECONDARY ALCOHOLS
USING DI-*TRET*-BUTYLPYROCARBONATE — PYRIDINE AS THE
CONDENSING REAGENT

POZDNEV V. F.

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

Di-*tret*-butylpyrocarbonate in the presence of pyridine and 4-dimethylaminopyridine has been used as condensing reagent in the synthesis of depsipeptides and esters of N-acylamino acids and secondary alcohols, such as menthol, benzhydrol and cholesterol. Optical purity of synthesized menthyl esters of BOC-derivatives of *L*- and *D*-alanine, valine, and phenylalanine was checked by reversed-phase HPLC and that of menthyl esters of trifluoroacetyl derivatives of these amino acids, by gas-liquid chromatography. Upon condensation of BOC-amino acids with menthol using di-*tret*-butylpyrocarbonate in the presence of pyridine or 4-dimethylaminopyridine no racemization was observed, whereas synthesis of menthyl ester from N-trifluoroacetyl-*L*-alanine and menthol led to about 1,5% of menthyl ester of N-trifluoroacetyl-*D*-alanine.