БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
том 15 * № 4 * 1989

УДК 547.466'55.057

АКТИВАЦИЯ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ПИРОКАРБОНАТАМИ. ПРИМЕНЕНИЕ ДИ-*трет*-БУТИЛПИРОКАРБОНАТА В КАЧЕСТВЕ КОНДЕНСИРУЮЩЕГО РЕАГЕНТА В СИНТЕЗЕ ХИНОЛИЛ-6-АМИДОВ ЗАЩИЩЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ

Позднев В.Ф.

Институт биологической и медицинской химии Академии медицинских наук СССР, Москва

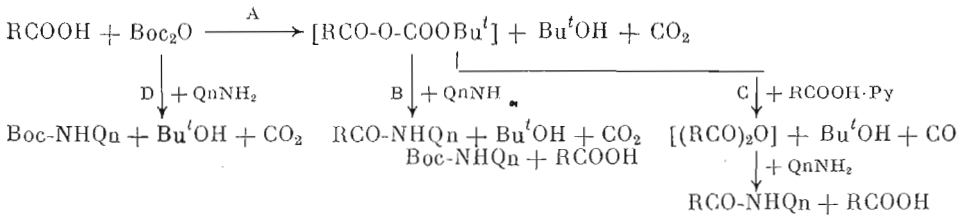
Предложен новый метод получения хинолил-6-амидов защищенных α-аминокислот – промежуточных продуктов в синтезе флуорогенных субстратов пептидгидролаз – с использованием ди-*трет*-бутилпирокарбоната в качестве конденсирующего реагента.

Хинолил-6-амиды (далее хинолиламиды) N-ацилированных и незамещенных α-аминокислот и пептидов применяются в биохимических исследованиях в качестве флуорогенных субстратов протеолитических ферментов [1–5], а хинолиламид биотина использовали в качестве субстрата биотинидазы [4]. Применение хинолиламидов в качестве субстратов основано на способности пептидаз гидролизовать их с образованием свободного аминохинолина, обладающего интенсивной флуоресценцией с максимумом испускания при 550 нм, т. е. в сравнительно длинноволновой области. Другая особенность хинолиламидных субстратов заключается в том, что спектры флуоресценции субстратов и аминохинолина практически не перекрываются. Это позволяет при необходимости повышать концентрацию субстрата в пробе без снижения чувствительности определения [5]. Кроме того, по сравнению с другими ароматическими аминами, применяемыми в качестве индикаторных группировок в субстратах пептидгидролаз [6], аминохинолин отличается более высокой основностью первичной аминогруппы [7], что упрощает выбор метода его ацилирования. В работах [1–3] для активации карбоксильной группы защищенных аминокислот применяли карбонилдиимидазол, причем исходную кислоту и карбонилдиимидазол брали в большом избытке по отношению к аминохинолину, а также смешанные ангидриды с использованием изобутилоксикарбонилхлорида. В синтезе хинолиламида биотина использовали хлорангидрид биотина [4].

Таким образом, хотя в синтезе хинолиламидов, по-видимому, можно применять широкий набор конденсирующих реагентов, практически были использованы только три метода активации карбоксильной группы, и для подтверждения применимости других методов необходима экспериментальная проверка. В таком плане представлялось интересным и целесообразным изучить возможность использовать для получения этих перспективных для энзимологии производных аминокислот систему Boc_2O – пиридин, которая дает хорошие результаты при ацилировании защищенными аминокислотами различных ароматических аминов [6]. В данном случае вопрос о применимости Boc_2O в качестве реагента, активирующего карбоксильную группу, не казался очевидным, поскольку из-за повышенной основности аминохинолина можно было ожидать, что при добавлении его к реагирующей смеси Boc_2O и карбоновой кислоты [8–12] Boc_2O начнет реагировать преимущественно с аминохинолином и активация карбоксиль-

Принятые сокращения: Boc_2O – ди-*трет*-бутилпирокарбонат, Qn – хинолил-6, DMF – диметилформамид, Tfa – трифторацетил, Form – формил.

ной группы замедлится или вообще прекратится. При этом после завершения процесса основным продуктом должен быть Boc-аминохинолин. Однако экспериментальная проверка показала, что даже при одновременном растворении всех компонентов в апротонном растворителе, после завершения реакции хотя и образуется смесь продуктов, основным из них является хинолиламид защищенной аминокислоты, а Boc-аминохинолин образуется в виде примеси. Следовательно, и в присутствии аминохинолина Boc_2O реагирует преимущественно с карбоксильной группой. Возможные пути превращения исходных реагентов в конечные продукты можно представить следующей схемой:



Процесс начинается с взаимодействия пиридинневой соли карбоновой кислоты с Boc_2O (путь A), в результате которого образуется смешанный ангидрид. Параллельно Boc_2O может реагировать также и с аминохинолином (путь D). Смешанный ангидрид затем реагирует с аминохинолином, превращаясь главным образом в хинолиламид (путь B), но в качестве побочного продукта при этом возможно образование Boc-аминохинолина с регенерацией исходной кислоты. Нельзя исключить также и такое направление процесса, при котором смешанный ангидрид реагирует с исходной кислотой с образованием симметричного ангидрида [8, 9] (путь C), а последний ацилирует аминохинолин с образованием хинолиламида. Весьма вероятно, что в предложенной схеме одно из направлений образования хинолиламидов преобладает. Действительный механизм этого каскада конкурентных и последовательных реакций, часть из которых проходит при каталитическом влиянии пиридина, а возможнно, и аминохинолина, достаточно сложен и пока не установлен. Однако это не снижает практической значимости метода. В препаративном отношении синтез хинолиламидов защищенных аминокислот с помощью системы Boc_2O — пиридин достаточно прост и дает хорошие результаты.

Так же как и при получении других ариламидов защищенных аминокислот с помощью Boc_2O [6], синтез хинолиламидов можно проводить при обычной температуре (15—20° С) в среде DMF или других апротонных растворителей (диоксан, тетрагидрофуран, этилацетат), защищая реакционную смесь от контакта с атмосферной влагой. Поскольку в результате реакции выделяется CO_2, лучше отделить реакционную смесь от атмосферы барботером, заполненным DMF, что позволяет также по скорости выделения CO_2 следить за ходом процесса. Исходные концентрации реагентов примерно 0,5—1 моль, причем Boc_2O и аминохинолин брали в небольшом избытке (10—20 моль%) по отношению к карбоксильному компоненту. Смесь перемешивали 3—6 ч, иногда оставляли на ночь. Для выделения хинолиламидов, как правило, использовали экстракционный метод. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Из данных, представленных в табл. 1, следует, что с помощью системы Boc_2O — пиридин можно синтезировать большой ряд хинолиламидов защищенных аминокислот с высокими или удовлетворительными выходами. Большинство соединений, приведенных в таблице, синтезировано впервые. Среди них несомненный практической интерес могут представить хинолиламиды аргинина и лизина, прежде всего как полупродукты в синтезе пептидных субстратов протеиназ трипсинового типа, а также в синтезе субстратов аминопептидаз. Хинолиламиды блокированного по меркаптогруппе цистеина также были использованы нами при определении цистиламинопептидазы в эритроцитах человека [5].

При деблокировании защищенных хинолиламидов Boc-группу удаляли,

Таблица 1

Выходы и физико-химические характеристики хинолин-6-амидов защищенных аминокислот

Шифр амида	Ацильный остаток	Выход, %	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$, град (с 1, DMF)	R_f		Брутто-формула *
					А	Б	
I **	Z-Ala	85	169–171	+32,8	0,53	0,73	–
II	Z-Arg(Z)$_2$-	71	195–196	+4,6	0,60	0,73	$C_{39}H_{38}N_6O_7$
III	Z-Arg(Boc)$_2$-	56	175–177	+8,7	0,60	0,73	$C_{33}H_{42}N_6O_7$
IV	Boc-Arg(Boc)$_2$-	66	103–105	+4,0	0,60	0,73	$C_{30}H_{44}N_6O_7$
V	Boc-Asp(OBu^t)-	68	80–82	–23,7	0,63	0,75	$C_{22}H_{29}N_3O_5$
VI	Boc-Gly-	73	145–147	–	0,39	0,61	$C_{16}H_{19}N_3O_3$
VII	Boc-Glu(OBu^t)-	80	112–113	–16,9	0,63	0,75	$C_{23}H_{31}N_3O_5$
VIII	Boc-Cys(Bzl)-	71	148–149	+24,2	0,63	0,75	$C_{24}H_{27}N_3O_3S$
IX	Boc-Cys (Bu^t)-	82	85–87	+3,1	0,63	0,75	$C_{21}H_{29}N_3O_3S$
X	Boc-Cys(SBu^t)-	80	Масло	–	0,63	0,75	–
XI	Boc-Leu	81	78–80	–20,3	0,63	0,77	$C_{20}H_{27}N_3O_3$
XII	Boc-Lys(Z)-	73	107–108	–13,6	0,55	0,56	$C_{28}H_{34}N_4O_5$
XIII	Z-Lys(Z)-	61	124–126	–4,2	0,55	0,57	$C_{31}H_{32}N_4O_5$
XIV	Boc-Lys(Form)-	86	177–178	–16,2	0,22	0,40	$C_{21}H_{28}N_4O_4$
XV	Boc-Lys(Boc)-	70	Масло		0,55	0,56	–
XVI	Boc-Lys(Tfa)-	80	172–173	–15,0	0,24	0,40	$C_{22}H_{26}N_4O_4F_3$
XVII ***	Z-Phe-	88	167–168	–46,0	0,66	0,70	–
XVIII	Boc-Pro-	70	153–155	–73,7	0,55	0,70	$C_{19}H_{23}N_3O_3$
XIX	Boc-Tyr(Boc)-	83	143–145	+5,0	0,72	0,77	$C_{28}H_{33}N_3O_6$
XX	Z-Arg(·HCl)-	70	188–189	–18,9	0,0	0,30	$C_{15}H_{20}N_6O\cdot HCl$

* Новые кристаллические соединения охарактеризованы элементным анализом на C, H, N (для (VIII) и (IX) — C, H, N, S; для (XVI) — N, F). Данные анализа удовлетворительно совпадают с вычисленными.

** [2]: Т. пл. 171—172° С. *** [1]: т. пл. 163—165° С.

как правило, раствором хлористого водорода, а Z-группу — раствором бромистого водорода в уксусной кислоте и образующиеся галоидгидраты после выделения перекристаллизовывали из смеси метилового и изопропилового спиртов или из чистого изопропилового спирта. При этом легко и количественно отделяется примесь аминохинолина, которую иногда бывает трудно удалить кристаллизацией защищенного хинолиламида. Физико-химические характеристики деблокированных хинолиламидов представлены в табл. 2. По данным элементного анализа, азот хинолинового фрагмента деблокированных хинолиламидов также протонирован и эта соль при перекристаллизации не разрушается.

Исключением из правила оказались хинолиламиды аргинина. Как известно [13], пептиды с Boc$_3$-аргинином при обработке раствором хлористого водорода в уксусной кислоте деблокируются не полностью. Поэтому Boc-Arg(Boc)$_2$-NHQn деблокировали трифторуксусной кислотой и трифторацетат хинолиламида аргинина переводили в тригидрохлорид обработкой раствором хлористого водорода в уксусной кислоте и превращали в моногидрохлорид обработкой триэтиламином в метиловом спирте с последующей кристаллизацией из изопропилового спирта. Аналогично, Z-Arg(Boc)$_2$-NHQn обрабатывали трифторуксусной кислотой, затем раствором HCl в уксусной кислоте и после очистки Z-Arg(HCl)-NHQn выделяли с хорошим выходом.

Таким образом, применение системы Boc$_2$O — пиридин в синтезе хинолиламидов защищенных аминокислот оказалось не только возможным, но и весьма эффективным. Этот метод прост в исполнении и позволяет получать с высокими выходами широкий набор хинолиламидов α-аминокислот.

Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли в открытых капиллярах (не исправлены). Оптическое вращение измеряли на цифровом поляриметре Perkin — Elmer 241. Хроматографию в тонком слое (ТСХ) проводили на

Таблица 2

Физико-химические характеристики хинолил-6-амидов деблокированных аминокислот

Амид	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$, град (с 1, 0,1 н. HCl)	R_f		Брутто-формула *
			В	Г	
2HBr·H-Ala-NHQn	272–273	+19,0	0,31	0,85	$C_{12}H_{13}N_3O \cdot 2HBr$
2HCl·H-Asp-NHQn	150–155	+51,4	0,0	0,44	$C_{13}H_{13}N_3O_3 \cdot 2HCl$
HCl·H-Arg-NHQn	236–237	+69,5	0,0	0,14	$C_{15}H_{20}N_6O \cdot HCl$
2HCl·H-Cys(Bzl)-NHQn	206–207	+130,3	0,64	0,9	$C_{19}H_{19}N_3OS \cdot 2HCl$
2HCl·H-Cys(Bu^t)-NHQn	185–186	+121,4	0,64	0,9	$C_{16}H_{21}N_3OS \cdot 2HCl$
2HCl·H-Cys(SBu^t)-NHQn	190–195	+244,1	0,64	0,9	$C_{16}H_{21}N_3OS_2 \cdot 2HCl$
2HCl·H-Glu-NHQn	208–209	+72,7	0,0	0,44	$C_{14}H_{15}N_3O_3 \cdot 2HCl$
2HCl·H-Gly-NHQn	276–278	–	0,24	0,78	$C_{11}H_{11}N_3O \cdot 2HCl$
2HCl·H-Leu-NHQn	245–246	+77,5	0,52	0,9	$C_{15}H_{19}N_3O \cdot 2HCl$
3HBr·H-Lys-NHQn	280–281	+55,2	0,0	0,36	$C_{15}H_{20}N_4O \cdot 3HBr$
3HCl·H-Lys-NHQn	230–232	+69,6	0,0	0,36	$C_{15}H_{20}N_4O \cdot 3HCl$
2HBr·H-Phe-NHQn	215–216	+130,5	0,56	0,9	$C_{18}H_{17}N_3O \cdot 2HBr$
2HCl·H-Pro-NHQn	223–225	−8,4	0,36	0,81	$C_{14}H_{15}N_3O \cdot 2HCl$
2HCl·H-Tyr-NHQn	210–212	+158,1	0,38	0,9	$C_{18}H_{17}N_3O_2 \cdot 2HCl$

* Все соединения охарактеризованы элементным анализом на азот и галоид. Данные анализа удовлетворительно совпадают с вычисленными.

пластинках с силикагелем 60 F_{254} Merck (ФРГ) в следующих системах растворителей: бензол — ацетон — уксусная кислота, 100 : 100 : 1 (А); хлороформ — метанол — вода, 85 : 14 : 1 (Б); хлороформ — метанол — 25% раствор аммиака, 10 : 6 : 1 (В). Вещества детектировали в УФ-свете, опрыскиванием 5% раствором нингидрина в смеси *н*-бутилового спирта и муравьиной кислоты (9 : 1) с последующим нагреванием при 100—110° С и *о*-толидиновым реактивом после хлорирования. Производные аргинина окрашивали по Сакагучи с использованием 8-гидроксихинолина [13]. В работе использованы защищенные аминокислоты фирмы Reanal (Венгрия): Z-Ala-OH, Z-Phe-OH, Boc-Asp(OBu^t)-OH, Boc-Gly-OH, Boc-Glu(OBu^t)-OH, Boc-Cys(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(Form)-OH, Boc-Lys(Z)-OH, Boc-Pro-OH; Fluka (Швейцария); Boc-Cys(SBu^t)-OH, Z-Arg(Z_2)-OH; остальные синтезировали по известным методикам. Boc-Arg(Boc)$_2$-OH и Z-Arg(Boc)$_2$-OH получали из Boc-Arg-OH и Z-Arg-OH с помощью Boc_2O [13] и использовали в виде аморфных продуктов сразу после получения. 6-Аминохинолин отечественного производства перекристаллизовывали из бензола. Пиридин высушивали, перегоняли и хранили над KOH. DMF (х. ч.) перегоняли в вакууме. Boc_2O синтезировали из *трет*-бутилкарбоната натрия и трихлорацетилхлорида [14] или бензолсульфохлорида [6] и дозировали в виде расплава (т. пл. 21—23° С).

При стандартной обработке реакционную смесь получения хинолиламидов разбавляли водой (два-три исходных объема), экстрагировали этилацетатом (25+2×15 мл), экстракт промывали водой, 5% раствором лимонной кислоты, водой, 5% раствором Na_2CO_3, водой, насыщенным раствором NaCl, высушивали Na_2SO_4, упаривали в вакууме при 40° С. Конечные продукты высушивали в вакуум-эксикаторе над KOH и H_2SO_4. Характеристики полученных хинолиламидов защищенных аминокислот приведены в табл. 1.

Z-Ala-NHQn (*I*). Раствор 1,1 г (5,0 ммоль) Z-Ala-OH, 0,3 мл пиридина и 1,5 мл (6,9 ммоль) Boc_2O в 5 мл DMF перемешивали 10 мин, добавляли 0,8 г (5,5 ммоль) $QnNH_2$, перемешивали 4 ч, разбавляли водой до 20 мл, перемешивали 1,5 ч, осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали. Выход соединения (*I*) 1,5 г.

Z-Arg(Z)$_2$-NHQn (*II*). Раствор 0,6 г (1 ммоль) Z-Arg(Z)$_2$-OH, 0,1 мл пиридина, 0,3 мл (1,3 ммоль) Boc_2O и 0,17 г (1,2 ммоль) $QnNH_2$ в 2 мл DMF перемешивали 4 ч, причем смесь превратилась в густую массу. Раз-

бавляли 5 мл воды, осадок отфильтровывали, промывали водой, ацетоном, эфиром и после высушивания получили 0,5 г хроматографически чистого продукта (II).

Z-Arg(Boc)$_2$-NHQn (*III*). Раствор 4 г (7,8 ммоль) Z-Arg(Boc)$_2$-OH, 0,3 мл пиридина, 1,3 г (9 ммоль) QnNH$_2$, 2 мл (9 ммоль) Boc$_2$O в 10 мл тетрагидрофурана перемешивали 16 ч, разбавляли эфиром до 40 мл и оставляли в холодильнике. Осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали 2,8 г соединения (III).

Boc-Arg(Boc)$_2$-NHQn (*IV*). Раствор 4,3 г (9 ммоль) смолообразного Boc-Arg(Boc)$_2$-OH, 0,5 мл пиридина, 2,3 мл (10 ммоль) Boc$_2$O в 10 мл диоксана перемешивали 30 мин, добавляли 1,1 г (7,6 ммоль) QnNH$_2$ и перемешивали еще 16 ч. Диоксан отгоняли в вакууме, остаток растворяли в этилацетате (50 мл) и после стандартной обработки получали смолообразный остаток, кристаллизацией которого из смеси эфира с гексаном получали 2,3 г (50%) хроматографически чистого соединения (IV). Из фильтрата после концентрирования и охлаждения выделили еще 1,0 г соединения (IV) с небольшой примесью Boc-NHQn.

Boc-Asp(OBu^t)-NHQn (*V*). Раствор 1,2 г (4,2 ммоль) Boc-Asp(OBu^t)-OH, 0,2 мл пиридина, 0,7 г (4,8 ммоль) QnNH$_2$, 1 мл (4,6 ммоль) Boc$_2$O в 5 мл диоксана перемешивали 16 ч, разбавляли 30 мл этилацетата и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из смеси эфира с гексаном. Получали 1,1 г соединения (V).

Boc-Gly-NHQn (*VI*). Раствор 0,9 г (5,1 ммоль) Boc-Gly-OH, 0,3 мл пиридина, 1,5 мл (6,9 ммоль) Boc$_2$O и 0,8 г (5,5 ммоль) QnNH$_2$ в 5 мл DMF перемешивали 5 ч, разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из толуола. Осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Выход соединения (VI) 1,1 г.

Boc-Glu(OBu^t)-NHQn (*VII*). Из 1,2 г (4,0 ммоль) Boc-Glu(OBu^t)-OH, 1 мл (4,5 ммоль) Boc$_2$O и 0,7 г (4,8 ммоль) QnNH аналогично соединению (V) получили 1,4 г соединения (VII).

Boc-Cys(Bzl)-NHQn (*VIII*). Раствор 1,5 г (4,8 ммоль) Boc-Cys(Bzl)-OH, 2 мл пиридина, 0,8 (5,5 ммоль) QnNH$_2$, 1,5 мл (6,8 ммоль) Boc$_2$O в 6 мл этилацетата перемешивали 5 ч и после стандартной обработки продукт кристаллизовали из смеси эфира с петролейным эфиром. Выход соединения (VIII) 1,5 г.

Boc-Cys(Bu^t)-NHQn (*IX*). Раствор 0,6 г (2,1 ммоль) Boc-Cys(Bu^t)-OH, 0,2 мл пиридина, 0,5 мл (2,3 ммоль) Boc$_2$O и 0,4 г (2,7 ммоль) QnNH$_2$ в 5 мл DMF перемешивали 4 ч, разбавляли этилацетатом и после стандартной обработки получали 1,3 г маслообразного остатка. Его растворяли в метаноле (15 мл), к раствору добавляли активированный уголь и фильтровали через слой (~2 см) силикагеля. Фильтрат упаривали и остаток кристаллизовали из эфира. Выход соединения (IX) 0,8 г.

Boc-Cys(SBu^t)-NHQn (*X*). Из 1,0 г (3,2 ммоль) Boc-Cys(SBu^t)-OH, 0,9 мл (4,1 ммоль) Boc$_2$O и 0,6 г (4,1 ммоль) QnNH аналогично соединению (IX) получили 1,2 г амида (X) в виде масла.

Boc-Leu-NHQn (*XI*). Раствор 2,3 г (10 ммоль) Boc-Leu-OH, 1,6 г (11 ммоль) QnNH$_2$, 0,5 мл пиридина и 2,7 мл (12 ммоль) Boc$_2$O в 10 мл DMF перемешивали 6 ч, разбавляли 30 мл воды, экстрагировали этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из толуола. Выход соединения (XI) 2,9 г.

Boc-Lys(Z)-NHQn (*XII*). Раствор 3,8 (10 ммоль) Boc-Lys(Z)-OH, 0,5 мл пиридина, 1,6 г (11 ммоль) QnNH$_2$, 2,7 мл (12 ммоль) Boc$_2$O в 10 мл диоксана перемешивали 16 ч, разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из смеси эфира с толуолом. Выход соединения (XII) 3,7 г.

Z-Lys(Z)-NHQn (*XIII*). Из 4,2 г (10 ммоль) Z-Lys(Z)-OH, 1,6 г (11 ммоль) QnNH$_2$, 2,7 мл (12 ммоль) Boc$_2$O в 20 мл тетрагидрофурана аналогично соединению (XII) получили маслообразный остаток, который кристаллизовали из бензола. Выход хроматографически чистого продукта 3,3 г (61%). Из фильтрата после концентрирования получили еще 0,6 г

соединения (XIII) с небольшой примесью Boc-NHQn (т. пл. 106—120° С.)

Boc-Lys(Form)-NHQn (XIV). Раствор 2,7 г (10 ммоль) Boc-Lys(Form)-OH, 1,5 г (10 ммоль) $QnNH_2$, 0,6 мл пиридина, 3 мл (13 ммоль) Boc_2O в 15 мл этилацетата перемешивали 6 ч. Продукт кристаллизуется из реакционной смеси. Ее разбавляли этилацетатом (10 мл), осадок отфильтровывали, промывали эфиром. Выход соединения (XIV) 3,2 г.

Boc-Lys(Boc)-NHQn (XV). Из 2,6 (7,5 ммоль) маслообразного Boc-Lys(Boc)OH, 1,2 г (8,3 ммоль) $QnNH_2$, 1,7 мл (8 ммоль) Boc_2O в 10 мл DMF аналогично соединению (XI) получили 2,5 г маслообразного соединения (XV) с примесью Boc-NHQn.

Boc-Lys(Tfa)-NHQn (XVI). Раствор 1,1 г (3,2 ммоль) Boc-Lys(Tfa)-OH, 0,3 мл пиридина, 0,5 г (3,4 ммоль) $QnNH_2$ и 0,75 мл (3,4 ммоль) Boc_2O в 7 мл DMF перемешивали 6 ч, разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из смеси эфира с толуолом. Выход продукта (XVI) 1,3 г.

Z-Phe-NHQn (XVII). Раствор 1,5 г (5,0 ммоль) Z-Phe-OH, 0,8 г (5,5 ммоль) $QnNH_2$, 0,3 мл пиридина и 1,3 мл (6,0 ммоль) Boc_2O в 5 мл DMF перемешивали 4 ч, разбавляли водой (20 мл), перемешивали до образования кристаллического осадка, который отфильтровывали, промывали водой, высушивали и затем промывали несколькими порциями эфира. Выход продукта (XVII) 1,9 г.

Boc-Pro-NHQn (XVIII). Раствор 2,1 г (10 ммоль) Boc-Pro-OH, 1,6 г (11 ммоль) $QnNH_2$, 2,7 мл (12 ммоль) Boc_2O и 0,5 мл пиридина в 10 мл DMF перемешивали 6 ч, разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из смеси эфира с петролейным эфиром. Выход продукта (XVIII) 2,4 г.

Boc-Tyr(Boc)-NHQn(XIX). Раствор 3,8 г (10 ммоль) Boc-Tyr(Boc)-OH, 0,5 мл пиридина, 1,6 г (11 ммоль) $QnNH_2$, 2,7 г (12 ммоль) Boc_2O в 10 мл DMF перемешивали 16 ч, разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из эфира. Выход продукта (XIX) 4,2 г.

Общая методика деблокирования хинолиламидов защищенных аминокислот. Для удаления Boc-группы использовали 1 М раствор хлористого водорода в ледяной уксусной кислоте, Z-группу удаляли 2 М раствором бромистого водорода в уксусной кислоте. 1 ммоль защищенного хинолиламида растворяли в 5 мл деблокирующего раствора, выдерживали до прекращения выделения CO_2, упаривали при 40° С, остаток растирали в эфире, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Для дополнительной очистки продукт растворяли в минимальном количестве метанола, разбавляли 5-кратным объемом изопропилового спирта, метанол отгоняли в вакууме и раствор оставляли в холодильнике для кристаллизации. При необходимости (например, при кристаллизации хинолиламида лейцина) добавляли эфир. Выходы дигалоидгидратов хинолиламидов аминокислот составляли 85—95%. Их физико-химические характеристики приведены в табл. 2.

Z-Arg(·HCl)-NHQn (XX). Раствор 0,8 г (1,2 ммоль) соединения (III) в 5 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 2 ч, упаривали, остаток растворяли в 10 мл 1 М HCl в уксусной кислоте и снова упаривали. Остаток промывали эфиром, растворяли в 30 мл смеси хлороформа с *н*-пропиловым спиртом, промывали водой, 5% NH_4OH, насыщенным раствором NaCl, высушивали $MgSO_4$ и упаривали. Остаток растирали в ацетоне, осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и высушивали. Выход продукта (XX) 0,4 г.

H-Arg(·HCl)-NHQn. Раствор 1,5 г (2,4 ммоль) соединения (IV) в 10 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 2 ч, упаривали, остаток растворяли в 10 мл 1 М HCl в AcOH, упаривали, остаток растворяли в метаноле, разбавляли изопропиловым спиртом и метанол отгоняли в вакууме. После завершения кристаллизации осадок тригидрохлорида хинолиламида аргинина отфильтровывали, промывали ацетоном и высушивали. Выход 0,7 г (75%). Полученный продукт растворяли в метаноле, добавляли 0,5 мл триэтиламина и упаривали. Остаток растворяли в изопропиловом спирте

и оставляли в холодильнике. После завершения кристаллизации (продукт кристаллизуется медленно) осадок отфильтровывали, промывали изопропиловым спиртом, эфиром и высушивали. Выход 0,5 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Brynes P. J., Bevilacqua P., Green A.* // Anal. Biochem. 1981. V. 116. № 2. P. 408–413.
2. *Brynes P. J., Andrade P., Gordon D.* // Anal. Biochem. 1982. V. 126. № 2. P. 447–455.
3. *Andrade-Gordon P., Gordon D., Brynes P. J., Wu G.-W.* // J. Med. Chem. 1984. V. 27. № 9. P. 1166–1170.
4. *Wastell H., Dale G., Bartlett K.* // Anal. Biochem. 1984. V. 140. P. 69–73.
5. *Алексеенко Л. П., Позднев В. Ф., Ореховичч В. Н.* // Докл. АН СССР. 1987. Т. 293. № 3. С. 728–731.
6. *Позднев В. Ф.* // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 5. С. 583–589.
7. *Brown E. V., Plasz A. C.* // J. Heterocycl. Chem. 1970. V. 7. P. 335.
8. *Позднев В. Ф.* // Журн. орган. химии. 1983. Т. 19. Вып. 4. С. 882.
9. *Позднев В. Ф., Черная М. Ю.* // Химия природ. соедин. 1984. № 3. С. 357–362.
10. *Позднев В. Ф.* // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. № 7. С. 912–920.
11. *Позднев В. Ф.* // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 6. С. 725–732.
12. *Позднев В. Ф.* // Журн. общ. химии. 1988. Т. 58. Вып. 3. С. 670–675.
13. *Позднев В. Ф.* // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 8. С. 1013–1022.
14. *Позднев В. Ф., Смирнова Е. А., Подгорнова Н. Н., Зенцова Н. К., Калей У. О.* // Журн. орган. химии. 1979. Т. 15. Вып. 1. С. 106–109.

Поступила в редакцию
17.X.1988

ACTIVATION OF CARBOXYLIC ACIDS BY PYROCARBONATES. APPLICATION OF DI-*TERT*-BUTYLPYROCARBONATE AS CONDENSING REAGENT IN THE SYNTHESIS OF QUINILYL-6-AMIDE 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 quinolyl-6-amides of protected amino acids, intermediates in the synthesis of fluorogenic substrates of peptidases, using di-*tert*-butyl pyrocarbonate as condensing reagent.