



УДК 547.466.4:547.962.057

N<sup>α</sup>, N<sup>ε</sup>, N<sup>ε</sup>-ТРИ-ТРЕТ-БУТИЛОКСИКАРБОНИЛАРГИНИН —  
НОВОЕ ПРОИЗВОДНОЕ АРГИНИНА ДЛЯ ПЕПТИДНОГО СИНТЕЗА

Позднев В. Ф.

Институт биологической и медицинской химии  
Академии медицинских наук СССР, Москва

Ацилированием аргинина ди-трет-бутилпирокарбонатом синтезирован N<sup>α</sup>, N<sup>ε</sup>, N<sup>ε</sup>-три-трет-бутилоксикарбониларгинин в виде аморфной смеси изомеров, различающихся положением Вос-группы у атомов азота гуанидинового остатка. Один изомер выделен в кристаллическом состоянии с выходом ~50%. Из кристаллического Вос<sub>3</sub>-аргинина получены активированные эфиры, а также эфир с холестерином. Из кристаллического и аморфного Вос<sub>3</sub>-аргинина с использованием различных конденсирующих реагентов синтезирован ряд защищенных дипептидов. Удаление Вос-группы с дипептидов проводили трифторуксусной кислотой; при обработке их раствором хлористого водорода в ледяной уксусной кислоте деблокирование проходит не полностью. Показано, что Вос<sub>3</sub>-аргинин можно использовать и для присоединения к хлорметилированному сополимеру стирола с дивинилбензолом.

Ди-трет-бутилпирокарбонат первоначально был использован для введения трет-бутилоксикарбонильной аминокзащитной группировки в некоторые простые аминокислоты [1], затем были разработаны методики получения N<sup>α</sup>-Вос-производных различных трифункциональных аминокислот [2—4]. С помощью Вос<sub>2</sub>O оказалось возможным блокировать не только α-аминогруппу, но и некоторые боковые функции аминокислот. Так, с использованием Вос<sub>2</sub>O были синтезированы N-Вос, S-Вос-цистеин [3], N<sup>α</sup>-Вос, N<sup>im</sup>-Вос-гистидин [2, 5], N-Вос, O-Вос-тирозин [6], N<sup>α</sup>-Вос, N<sup>δ</sup>-Вос-орнитин [4]. В продолжение этих исследований в настоящей работе с использованием Вос<sub>2</sub>O синтезировано новое производное аргинина-N<sup>α</sup>-Вос, N<sup>ε</sup>-(Вос)<sub>2</sub>-L-аргинин (Вос<sub>3</sub>-аргинин) и изучена возможность применения его в пептидном синтезе.

Трет-бутилоксикарбонилирование аргинина изучалось довольно интенсивно, но в основном с использованием Вос-азида, и эти работы не привели к удовлетворительным результатам. При получении N<sup>α</sup>-Вос-аргинина процесс сопряжен с трудностями [7, 8], а обработка аргинина несколькими эквивалентами Вос-азида при pH 12—13 приводит только к N<sup>α</sup>-Вос, N<sup>ε</sup>-Вос-аргинину [9, 10], который мало пригоден для использования в пептидном синтезе [10, 11]. Опыт многолетнего успешного применения Z-Arg(Z)<sub>2</sub>-OH [12, 13] показывает, что для пептидного синтеза могут представлять интерес N<sup>α</sup>, N<sup>ε</sup>, N<sup>ε</sup>-триалкилоксикарбонильные производные аргинина, деблокирование которых можно проводить мягким протоллизом. Из производных такого типа в настоящее время известен только три-адамантилоксикарбониларгинин [14], который, однако, сравнительно мало доступен. Поэтому синтез Вос<sub>3</sub>-аргинина на основе использования доступного Вос<sub>2</sub>O представляется актуальной и практически важной задачей.

Ранее нами было показано [3], что аргинин легко реагирует с Вос<sub>2</sub>O. В водно-органической среде при соотношении реагентов, близком к эквивалентному, и без добавления акцепторов протона аргинин быстро и

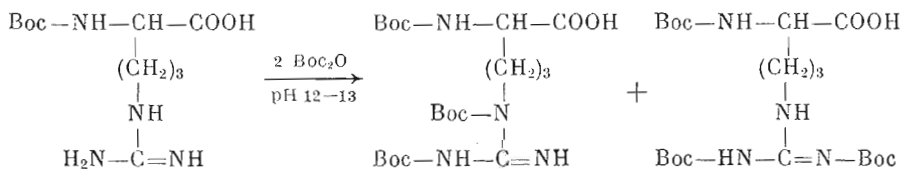
Сокращения: Вос<sub>2</sub>O — ди-трет-бутилпирокарбонат, DCC — N,N'-дихлорогексилкабодимид, НОВТ — 1-гидроксисбензотриазол, OSu — сукцинимидокси, ONb — 4-нитробензилокси, OCh — холестерилокси, ONd — 5-норборнен 2,3-дикарбоксимидокси, Phc(NO<sub>2</sub>) — 4-нитрофенилаланин, DMF — диметилформамид.

количественно превращается в N<sup>α</sup>-Вос-аргинин. Очевидно, что для получения Вос<sub>3</sub>-аргинина необходимы более жесткие условия реакции, прежде всего поддержание в реакционной среде pH 12—13 и применение достаточного избытка Вос<sub>2</sub>O. Поэтому аргинин сначала превращали в N<sup>α</sup>-Вос-аргинин в условиях, рекомендованных в работе [3], но при более высокой концентрации реагентов. К полученному раствору N<sup>α</sup>-Вос-аргинина добавляли 2,5—3 экв. Вос<sub>2</sub>O, далее реакцию проводили при температуре 10—15° С и энергичном перемешивании, поддерживая pH 12—13 добавлением концентрированной щелочи. Однако через 15—20 мин в результате расслоения реакционной смеси N<sup>α</sup>-Вос-аргинин и Вос<sub>2</sub>O оказывались в разных фазах, контакт между ними затруднялся и скорость образования ди-Вос-аргинина снижалась. Добавление в смесь соли четвертичного аммония в количестве 0,1 моль/моль аргинина (например, бензилтриметиламмония) позволяло ускорить эту стадию, и уже через 2—3 ч N<sup>α</sup>-Вос-аргинин полностью превращался в ди-Вос-производное. Превращение Вос<sub>2</sub>-аргинина в Вос<sub>3</sub>-аргинин протекало значительно медленнее и даже при продолжительности реакции 16—20 ч небольшая примесь Вос<sub>2</sub>-аргинина все еще оставалась, несмотря на наличие Вос<sub>2</sub>O в смеси.

Вос<sub>3</sub>-аргинин выделяли экстракционным методом, причем были использованы два варианта. После разбавления смеси водой и удаления избытка Вос<sub>2</sub>O экстракцией петролейным эфиром водный раствор подкисляли и экстрагировали диэтиловым эфиром. При этом вместе с Вос<sub>3</sub>-аргином частично извлекался и Вос<sub>2</sub>-аргинин. Промывка разбавленной серной кислотой позволяет уменьшить количество примеси ди-Вос-производного в экстракте, но освободиться от него полностью не удается. В другом варианте калиевую соль Вос<sub>3</sub>-аргинина экстрагировали из водного щелочного раствора хлороформом, при этом небольшое количество соли ди-Вос-аргинина также переходило в экстракт. Промывки экстракта водой и разбавленной кислотой позволяют довести количество примеси ди-Вос-производного до минимума. В обоих вариантах после высушивания экстрактов и отгонки растворителей в вакууме Вос<sub>3</sub>-аргинин получали в виде смолы, вес которой был, как правило, близок к теоретическому.

По данным ТСХ и ВЭЖХ, полученный продукт представлял собой смесь двух изомеров Вос<sub>3</sub>-аргинина с небольшой примесью ди-Вос-производного. Кроме структурной неоднородности недостатком смолообразного Вос<sub>3</sub>-аргинина является низкая устойчивость при хранении. Это, по-видимому, связано с недостаточной чистотой продукта, и казалось вполне вероятным, что устойчивость его можно повысить переводом в кристаллическое состояние. Было найдено, что Вос<sub>3</sub>-аргинин способен кристаллизоваться из гексана или петролейного эфира, содержащего ~5% изопропилового спирта. Кристаллический продукт образуется медленно, и выход его обычно невысок (30—50%). Но он хроматографически однороден, состоит из одного изомера и не содержит примеси ди-Вос-производного. Как и ожидалось, в отличие от аморфной смеси изомеров кристаллический Вос<sub>3</sub>-аргинин вполне устойчив при хранении. Например, физико-химические характеристики кристаллического образца не изменились после хранения в течение двух лет при комнатной температуре. Аналогичным путем в кристаллическом виде получены Вос<sub>3</sub>-D-аргинин (Ia) и Вос<sub>3</sub>-DL-аргинин (Iб).

Кристаллическая форма Вос<sub>3</sub>-аргинина охарактеризована элементным анализом, ИК- и <sup>1</sup>H-ЯМР-спектрами, однако однозначно установить положение Вос-групп в гуанидиновом остатке пока не удалось.



По данным ВЭЖХ, соотношение изомеров в аморфном  $\text{Woc}_3$ -аргинине до кристаллизации составляет  $\sim 4:1$ . После удаления кристаллического продукта это соотношение изменяется до  $3:2$ . Таким образом, лучше кристаллизуется тот изомер, которого в результате реакции образуется больше.

Для изучения возможности применения  $\text{Woc}_3$ -аргинаина нами был осуществлен синтез ряда его эфиров и аргининсодержащих пептидов с использованием различных конденсирующих реагентов.

С использованием дициклогексилкарбодимиды в кристаллическом виде с выходом 82—84% были получены  $\text{Woc-Arg(Woc}_2\text{)-ONd}$  (II) и  $\text{Woc-Arg(Woc}_2\text{)-OSu}$  (III). Этерификацией  $\text{Woc}_3$ -аргинаина холестеролом в системе  $\text{Woc}_2\text{O}$  — пиридин [15] был синтезирован кристаллический  $\text{Woc-Arg(Woc}_2\text{)-OCh}$  (IV) с выходом 67%.

Метилловый эфир  $\text{Woc}_3$ -аргинил-аланина ( $\text{Woc-Arg(Woc}_2\text{)-Ala-OMe}$  (V)) синтезирован двумя методами: карбодимидным (выход 82%) и из активированного эфира (III) (выход 84%). Строение дипептида (V) подтверждено данными  $^1\text{H-ЯМР}$ -спектроскопии.

Метилловый эфир  $\text{Woc-Arg(Woc}_2\text{)-Trp-OMe}$  (VII) получен исходя из активированного эфира (II) с выходом 74%. С помощью азида дифенилфосфорной кислоты синтезирован метилловый эфир  $\text{Woc-D-Arg(Woc}_2\text{)-Trp-OMe}$  (VIII) с выходом 83%. В спектрах  $^1\text{H-ЯМР}$  дипептидов (VII) и (VIII) сигналы метоксильных групп имеют различные химические сдвиги, а в спектре смеси этих дипептидов сигнал метоксильной группы представляет собой дублет, как, впрочем, и сигналы некоторых других протонов. Например, расщепляются также сигналы протонов одной из *трет*-бутильных групп и сигнал метинового протона индольного кольца триптофана.

Карбодимидным методом с хорошими выходами были также синтезированы 4-нитробензиловый эфир  $\text{Woc-Arg(Woc}_2\text{)-Phe-ONb}$  (IX) и метилловый эфир  $\text{Woc-Arg(Woc}_2\text{)-Phe(NO}_2\text{)-OMe}$  (VI). Для возможности использования в синтезе не только кристаллического  $\text{Woc}_3$ -аргинаина, но и аморфной смеси изомеров дипептид (VI) синтезирован также из смолообразного остатка, полученного после отделения части кристаллического изомера  $\text{Woc}_3$ -аргинаина. Как и следовало ожидать, в этом случае дипептид (VIa) состоит из двух изомеров, которые удовлетворительно разделяются хроматографически (см. «Экспериментальную часть»), причем одно из пятен на ТСХ совпадает по подвижности с пятном дипептида, полученного из кристаллического  $\text{Woc}_3$ -аргинаина. После деблокирования и из гомогенного дипептида (VI), и из смеси изомеров (VIa) получены гомогенные продукты с одинаковыми физико-химическими характеристиками.

Таким образом, приведенные примеры показали, что стадия активации карбоксильной группы  $\text{Woc}_3$ -аргинаина и включение его в пептидную конденсацию проходит с высокими выходами и в общем не имеет каких-либо характерных особенностей. Правда, иногда наблюдается образование небольшой примеси продукта с высокой подвижностью при ТСХ — по-видимому, лактама. Но эта примесь, как правило, легко удаляется при очистке целевых продуктов.

На стадии деблокирования пептидов, содержащих  $\text{Woc}_3$ -аргинин, напротив, возможны затруднения, и эта стадия требует специального контроля полноты удаления  $\text{Woc}$ -групп с гуанидинового остатка. Сравнительно легко все  $\text{Woc}$ -группы с дипептидов, содержащих  $\text{Woc}_3$ -аргинин, удаляются трифторуксусной кислотой (30—50 мин при  $20^\circ\text{C}$ ). Не исключено, конечно, что деблокирование более крупных пептидов будет протекать медленнее, чем деблокирование дипептидов. В настоящей работе после деблокирования трифторацетаты эфиров дипептидов переводили в гидрхлориды, которые легче кристаллизовались при растирании в эфире и менее гигроскопичны. Только дигидрохлорид метилового эфира  $L$ -аргинил- $L$ -аланина оказался очень гигроскопичным.

При обработке пептидов с  $\text{Woc}_3$ -аргином 1 М раствором хлористого водорода в ледяной уксусной кислоте деблокирование проходит не полностью даже при длительном проведении реакции. Так, после обработки ди-

пептида (V) 1 М раствором HCl в уксусной кислоте в течение 30 мин был выделен кристаллический продукт, который при ТСХ давал два пятна, легко окрашивающихся нингидрином и отличающихся по подвижности и от исходного пептида (V), и от дигидрохлорида метилового эфира аргинилаланина, который при этом не образовывался совсем. Аналогичная картина наблюдалась и при обработке 1 М раствором HCl в уксусной кислоте дипептида (VII), причем в этом случае после удаления N<sup>α</sup>-Вос-группы смесь гидрохлоридов выпадала в осадок, и дальнейшее деблокирование практически останавливалось.

Действие других деблокирующих реагентов на пептиды с Вос<sub>3</sub>-аргинином в настоящей работе не изучалось.

Наращивание пептидной цепочки путем ацилирования эфиров пептидов с N-концевым аргинином обычно не вызывает затруднений. С целью демонстрации возможности применения Вос<sub>3</sub>-аргинина для синтеза пептидов, содержащих аргинин в середине цепи, в настоящей работе приведено два примера: синтез Вос-Trp-Arg-Ala-OMe исходя из дипептида (V) и Вос-Trp-OSu и синтез тетрапептида Вос-Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>·HCl (XVI).

Применение Вос<sub>3</sub>-аргинина позволяет существенно упростить синтез амида тетрапептида 2HCl·Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>, обладающего психотропной активностью [16]. Ранее этот пептид синтезировали с использованием N<sup>α</sup>-нитроаргинина [16, 17] и при удалении нитрогруппы столкнулись со значительными трудностями, а очистка конечного продукта оказалась весьма трудоемкой. Мы исходили из защищенного дипептида (IX), который был получен с выходом 90%. Деблокированием его трифторуксусной кислотой с последующей обработкой раствором хлористого водорода в диоксане получали 2HCl·Arg-Phe-ONb (XIII), сочетанием которого с Вос-Phe-Met-OH с помощью DCC и HOBT получали защищенный тетрапептид Вос-Phe-Met-Arg-Phe-ONb. Эфир тетрапептида превращали в амид обработкой его раствором аммиака в изопропиловом спирте и после удаления Вос-групп получали 2HCl·Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub> (XVI) в хроматографически гомогенном состоянии. После перекристаллизации с высоким выходом получали конечный продукт в аналитически чистом виде с характеристиками, соответствующими опубликованным ранее [16, 17].

В твердофазном синтезе пептидов Вос<sub>3</sub>-аргинин также может найти применение как для присоединения аргинина к полимеру, так и для наращивания пептидной цепи. Например, из калиевой соли Вос<sub>3</sub>-аргинина и хлорметилированного сополимера стирола с дивинилбензолом в диметилформамиде при комнатной температуре аргинилполимер образуется с выходом 34%. Выход, очевидно, можно повысить оптимизацией условий реакции. Применение Вос<sub>3</sub>-аргинина для наращивания пептидной цепи в твердофазном синтезе пептидов в настоящее время изучается.

### Экспериментальная часть

ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F<sub>254</sub> Merck (ФРГ) в следующих системах растворителей: гептан — диоксан, 7 : 3 (А); толуол — хлороформ — метилэтилкетон — изопропиловый спирт, 10 : 6 : 3 : 1 (Б); хлороформ — метанол — вода, 15 : 3 : 1, нижний слой (В); хлороформ — метанол — 25% раствор аммиака, 25 : 15 : 4 (Г); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода — этилацетат, 1 : 1 : 1 : 1 (Д). Вещества детектировали в УФ-свете, 5% раствором нингидрина в смеси *n*-бутилового спирта и муравьиной кислоты (9 : 1) с нагреванием при 100—110° С и *o*-толидиновым реактивом после хлорирования. Производные аргинина окрашивали по Сакагучи в следующей модификации: пластинку после высушивания опрыскивали 4 М раствором КОН в воде, затем 0,1% раствором 8-гидроксихинолина в спирте и 0,1% раствором гипобромита. Производные аргинина с защищенной гуанидиновой группировкой предварительно опрыскивали 1 М раствором бромистоводородной кислоты в уксусной кислоте, нагревали при 100—110° С 5—7 мин и затем окрашивали по Сакагучи. Производные триптофана окрашивали по Эрлиху или реактивом Дениже [18] при нагревании до ~100° С. Реактивом Дениже также обнаруживали соединения с Вос-группой (60° С) и холестерол и его эфир (100° С).

Для ВЭЖХ применяли прибор фирмы LKB (Швеция), колонка (250 × 4 мм) с Lichrosorb RP-18, 5 мкм, подвижная фаза — смесь метанола, 0,1% раствора трифторуксусной кислоты и 0,1% трифторацетата натрия в воде. Элюцию проводили в изократическом режиме при 18—20° С со скоростью 1 мл/мин, детектирование — при 226 нм (Uvicord SD) с регистрирующим интегратором (LKB 2220).

Оптическую активность измеряли на поляриметре Perkin — Elmer 241. УФ-спектры снимали на спектрофотометре Spcord UV VIS (ГДР), ИК-спектры — на спектрометре Pye-Unicum SP 1000 (Англия),  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр — на спектрометре Tesla BS-567 (СССР) с рабочей частотой 100 МГц в DMSO- $d_6$ , внутренний стандарт — тетраметилсилан.

Температуры плавления определяли в открытых капиллярах и не исправляли.

При стандартной обработке реакционных смесей растворы соединений в органических растворителях промывали водой, 5% раствором  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , водой, 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , водой, насыщенным раствором NaCl и упаривали в вакууме на роторном испарителе при 40° С. Конечные продукты высушивали в вакуум-эксикаторе над концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и KOH.

Все использованные в работе аминокислоты *L*-ряда, кроме специально отмеченных.

*Boc-Arg (Boc<sub>2</sub>)-OH (I)*. Раствор 1,74 г (10 ммоль) аргинина и 3 мл  $\text{Boc}_2\text{O}$  в 3 мл воды и 3 мл *трет*-бутилового спирта перемешивали 30 мин при 20° С и 30 мин при 35—40° С и охлаждали до 10° С. Добавляли 6 мл  $\text{Boc}_2\text{O}$  и перемешивали, поддерживая pH 12—13 добавлением 4 М KOH с помощью pH-стата. Через 30—40 мин добавляли 1 г бензилтриметиламмонийбромид и перемешивали еще 16—20 ч при pH 12—13 и 20—22° С. Смесь разбавляли водой до 100 мл, экстрагировали смесью эфира и гексана 1 : 1 (2 × 20 мл). По данным ВЭЖХ (элюент — 70% метанол), водный раствор на этой стадии содержит смесь калиевых солей  $\text{Boc}_3$ -аргинина (два изомера в соотношении ~ 4 : 1) и  $\text{Boc}_2$ -аргинина (~5%).  $\text{Boc}_3$ -Аргинин выделяли по одному из следующих вариантов:

а) к щелочному раствору приливали 30 мл эфира и осторожно подкисляли лимонной кислотой до pH 3, экстрагировали эфиром (1 × 30 и 2 × 20 мл). Объединенные эфирные экстракты промывали 0,5 М раствором  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , водой и насыщенным раствором NaCl;

б) щелочной раствор экстрагировали хлороформом (1 × 30 и 2 × 20 мл). Хлороформный экстракт промывали водой, 10% раствором лимонной кислоты (20 × 20 мл), 0,5 М раствором  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , водой, насыщенным раствором NaCl.

В обоих вариантах экстракты высушивали  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме. Получали 4,5—5 г продукта в виде сухой смолы. Для кристаллизации продукт растворяли в изопропиловом спирте и упаривали до образования вязкой массы, которую растворяли при нагревании (40—45° С) в 25—30 мл гексана и оставляли в холодильнике. При образовании смолообразного осадка его растирали при 18° С. Продукт кристаллизуется медленно, но при внесении затравки кристаллизация ускоряется и проходит при 15—20° С, причем образуется густая кристаллическая суспензия. Ее разбавляли гексаном до ~50 мл, осадок отфильтровывали, промывали гексаном и высушивали в вакууме до постоянного веса. Получали 1,5—2,7 г (32—57%) соединения (I), т. пл. 123—124° С.  $R_f$  0,30 (B), 0,59 (B),  $[\alpha]_D^{20}$  — 5,0° (с 1, DMF), +8,0° (с 1,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ). При ВЭЖХ в 70% метаноле имеется один пик с временем удерживания 5,48 мин. ИК-спектр (в KCl,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ): 3420 (NH), 1715 (COOH), 1665, 1610, 1515, 1170.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 1,35 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ), 1,39 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,45 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,5—2,0 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ — $\text{CH}_2$ ); 3,80 (м, 3H,  $\text{C}^\alpha\text{H}$ ,  $\text{CH}_2\text{N}$ ); 7,0 (д, 1H, NH); 9,20 (с, 2H,  $\text{HN}=\text{CNH}$ ). Найдено, %: С 52,83; Н 8,01; N 11,9.  $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_8$ . Вычислено, %: С 53,15; Н 8,07; N 11,8.

После отделения кристаллического продукта фильтрат упаривали досуха и в остатке получали ~2 г смеси изомеров (I),  $R_f$  0,59 (B), 0,48 (B) с примесью *Boc-Arg (Boc)-OH*,  $R_f$  0,25 (B). При ВЭЖХ наблюдаются три пика с временами удерживания 3,95; 5,77 и 7,45 мин. Соотношение площадей пиков изомеров (I) 3 : 2.

*Boc-D-Arg(Boc<sub>2</sub>)-OH (Ia)* получали аналогично соединению (I). Выход 42%, т. пл. 118—121° С,  $[\alpha]_D^{20}$  +5,0° (с 1, DMF); —7,5° (с 1,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ),  $R_f$  0,59 (B).

*Boc-DL-Arg (Boc<sub>2</sub>)-OH (Iб)* получали аналогично соединению (I). Выход 47%, т. пл. 120—123° С,  $R_f$  0,59 (B).

*Boc-Arg (Boc<sub>2</sub>)-ONd (II)*. К охлажденному до —5° С раствору 1,2 г (2,5 ммоль)  $\text{Boc}_3$ -аргинина и 0,5 г (3,0 ммоль) *N*-окси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимида в 15 мл хлористого метилена приливали раствор 0,6 г

DCC в 5 мл хлористого метилена, смесь выдерживали 1 ч при охлаждении и 3 ч при 20° С. Осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в этилацетате, раствор фильтровали, промывали водой, насыщенным раствором NaCl, высушивали MgSO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток кристаллизовали растиранием в петролейном эфире, осадок отфильтровывали, промывали гексаном и высушивали в вакууме до постоянного веса. Получали 1,3 г (82%) соединения (II) с т. пл. 55—60° С (с разложением),  $[\alpha]_D^{20}$  —14,3° (с 1, С<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН). *R*<sub>f</sub> 0,37 (А), 0,68 (Б). ИК-спектр (в KCl, ν, см<sup>-1</sup>): 3420, 3000, 2960, 1820, 1780, 1745, 1610, 1520, 1160. Найдено, %: С 56,55; Н 7,30; N 10,8. С<sub>30</sub>H<sub>45</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>. Вычислено, %: С 56,57; Н 7,13; N 11,0.

*Voc-Arg (Voc<sub>2</sub>)-OSu (III)*. К охлажденному до —5° С раствору 1,5 г (3,1 ммоль) Voc<sub>3</sub>-аргинина и 0,5 г (4,3 ммоль) N-оксисукцинимид в 5 мл тетрагидрофурана добавляли раствор 0,7 г (3,3 ммоль) DCC. Смесь выдерживали 1 ч при охлаждении и 3 ч при 20° С, добавляли три капли ледяной уксусной кислоты и осадок отфильтровывали. Фильтрат упаривали, остаток растворяли в этилацетате (30 мл), раствор промывали водой, раствором NaCl, высушивали MgSO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток растворяли в 20 мл эфира, добавляли 10—15 мл петролейного эфира, раствор отфильтровывали, фильтрат упаривали и остаток кристаллизовали растиранием в петролейном эфире или гексане. Получали 1,5 г (84%) соединения (III) с т. пл. 64—65° С,  $[\alpha]_D^{20}$  —17,0° (с 1, С<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН). *R*<sub>f</sub> 0,30 (А), 0,65 (Б). ИК-спектр (в KCl, ν, см<sup>-1</sup>): 3420, 3010, 2960, 1820, 1785, 1745, 1715, 1610, 1530, 1170. Найдено, %: С 52,91; Н 7,40; N 11,9. С<sub>25</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>. Вычислено, %: С 52,52; Н 7,23; N 12,2.

*Voc-Arg (Voc<sub>2</sub>)-OCh (IV)*. Раствор 1,6 г (3,4 ммоль) Voc<sub>3</sub>-аргинина, 1,2 г (3,1 ммоль) холестерина, 0,3 мл пиридина, 40 мг 4-диметиламинопиридина и 1,0 мл (4,4 ммоль) Voc<sub>2</sub>O в 5 мл тетрагидрофурана перемешивали 5 ч и оставляли на 16 ч. Смесь разбавляли до 30 мл этилацетатом и после стандартной обработки остаток растворяли в минимальном количестве метанола и хроматографировали на колонке (70 × 2,5 см) с сефадексом LH-20 в метаноле (скорость элюции 50 мл/ч, отбирали фракции по 5 мл). Содержание продукта в элюате контролировали ТСХ. Фракции, содержащие соединение (IV), объединяли, упаривали, остаток кристаллизовали растиранием в воде. Осадок отфильтровывали и высушивали сначала на воздухе, затем в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Получали 2,0 г (69%) соединения (IV) с т. пл. 53—55° С (с разложением).  $[\alpha]_D^{20}$  —24,6° (с 1, С<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН). *R*<sub>f</sub> 0,75 (А). ИК-спектр (в KCl, ν, см<sup>-1</sup>): 3420, 3000, 2910, 1725, 1640, 1615, 1180, 1050. Найдено, %: С 68,42; Н 9,70; N 6,5. С<sub>48</sub>H<sub>82</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>. Вычислено, %: С 68,37; Н 9,92; N 6,6.

*Voc-Arg (Voc<sub>2</sub>)-Ala-OMe (V)*. а) Раствор 1,5 г (3,1 ммоль) Voc<sub>3</sub>-аргинина, 0,50 г (3,6 ммоль) гидрохлорида метилового эфира аланина, 0,4 г НОВТ и 0,4 мл N-метилморфолина в 10 мл хлористого метилена охлаждали до —10° С, добавляли раствор 0,65 г (3,1 ммоль) DCC в 5 мл тетрагидрофурана, выдерживали 1 ч при охлаждении и перемешивали 16 ч при 20° С. Раствор фильтровали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в этилацетате и после стандартной обработки остаток растворяли в спирте, фильтровали и упаривали. Остаток растирали в воде до затвердевания, осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме. Получали 1,3 г (82%) соединения (V) с температурой разложения ~50° С,  $[\alpha]_D^{20}$  —9,8° (с 1, С<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН). *R*<sub>f</sub> 0,50 (А), 0,57 (Б). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр (δ, м.д.): 1,25—2,00 (СН<sub>3</sub>, СН<sub>2</sub>—СН<sub>2</sub>); 1,37 (с, СН<sub>3</sub>); 1,41 (с, СН<sub>3</sub>); 1,49 (с, СН<sub>3</sub>); 3,60 (с, ОСН<sub>3</sub>); 3,80 (д, С<sup>α</sup>Н); 4,07 (м, С<sup>α</sup>Н Ala); 6,65 (д, NH Arg); 8,25 (д, NH Ala); 9,15 (с, NHC=NH).

б) Раствор 1,2 г (2,1 ммоль) соединения (III), 0,4 г (2,9 ммоль) гидрохлорида метилового эфира аланина и 0,30 мл N-метилпиридина в 10 мл ацетонитрила перемешивали 16 ч, упаривали и остаток растирали в нескольких порциях воды до образования кристаллического осадка. Осадок отфильтровывали, высушивали и получали 0,9 г (84%) хроматографически гомогенного соединения (V),  $[\alpha]_D^{20}$  —9,7° (с 1, С<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН). *R*<sub>f</sub> 0,56 (Б).

*Voc-Arg (Voc<sub>2</sub>)-Phe(4-NO<sub>2</sub>)-OMe (VI)*. а) Раствор 1,2 г (2,5 ммоль) Voc<sub>3</sub>-аргинина, 0,65 г (2,5 ммоль) гидрохлорида метилового эфира 4-нитрофенилаланина, 0,3 г НОВТ и 0,30 мл N-метилпиперидина в 10 мл хлористого

метилена охлаждали до  $-10^{\circ}\text{C}$ , добавляли раствор 0,55 г DCC в 5 мл хлористого метилена, перемешивали 1 ч при охлаждении и 4 ч при  $18^{\circ}\text{C}$ . Добавляли три капли ледяной уксусной кислоты, фильтровали и фильтрат упаривали. Остаток растворяли в этилацетате (50 мл) и после стандартной обработки упаривали. Остаток растворяли в 20 мл бензола, фильтровали через  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (толщина слоя 1 см), промывали бензолом и фильтрат упаривали. Остаток растирали в гексане, осадок отфильтровывали, промывали гексаном и высушивали до постоянного веса. Получали 1,2 г (70%) соединения (VI) (без четкой температуры плавления).  $[\alpha]_D^{20} -1,2^{\circ}$  (с 1,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ),  $-10,7^{\circ}$  (с 1, DMF).  $R_f$  0,50 (A), 0,65 (B). УФ-спектр, спирт — вода. 1 : 1,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм, ( $\epsilon$ ): 278 (10 100).

б) Смесь изомеров дипептида (VI) из смеси изомеров  $\text{Voc}_3$ -аланина (VIa). К охлажденному до  $-10^{\circ}\text{C}$  раствору 2 г ( $\sim 4$  ммоль) смеси изомеров  $\text{Voc}_3$ -аргинина (смолообразный остаток после упаривания фильтрата от кристаллического  $\text{Voc}_3$ -аргинина) и 0,7 г НОВТ в 10 мл DMF приливали раствор 0,9 г DCC в 5 мл DMF, перемешивали 30 мин и добавляли раствор 1,2 г (4,6 ммоль) гидрохлорида метилового эфира 4-нитрофенилаланина и 0,55 мл N-метилпиперидина в 5 мл DMF. Смесь перемешивали 1,5 ч при  $-10^{\circ}\text{C}$ , постепенно нагревали до  $18^{\circ}\text{C}$  и оставляли на 16 ч. Затем добавляли 10 мл воды, фильтровали, фильтрат разбавляли водой до 50 мл и экстрагировали этилацетатом ( $1 \times 25$  и  $2 \times 15$  мл). Экстракт после стандартной обработки упаривали, остаток растворяли в 20 мл бензола, фильтровали через  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , промывали бензолом и фильтрат упаривали. Остаток растирали в гексане, осадок отфильтровывали и высушивали. Получали 2,1 г (75%) соединения (VIa),  $[\alpha]_D^{20} -1,5^{\circ}$  (с 1,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ),  $-13,2^{\circ}$  (с 1, DMF).  $R_f$  0,40 (A), 0,51 (A), 0,60 (B), 0,65 (B). УФ-спектр в водном спирте,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 278 (10 000).

*Voc-Arg (Voc<sub>2</sub>)-Trp-OMe (VII)*. Раствор 1,0 г (2,1 ммоль) соединения (II), 0,5 г гидрохлорида метилового эфира триптофана и 0,3 мл N-метилморфолина в 5 мл DMF перемешивали 5 ч, разбавляли водой до 50 мл, экстрагировали смесью этилацетата с диэтиловым эфиром, 1 : 1 ( $2 \times 20$  мл) и после стандартной обработки остаток растирали в петролейном эфире. Осадок отфильтровывали, промывали гексаном и высушивали. Выход соединения (VII) 0,8 г (74%),  $[\alpha]_D^{20} +4,5^{\circ}$  (с 1,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ),  $R_f$  0,52 (A), 0,60 (B), УФ-спектр в спирте,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 280 (5670).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 1,37 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,41 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,48 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,5—2,0 (м, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 3,18 (д, 2H,  $\text{C}^{\beta}\text{H}_2\text{Trp}$ ); 3,54 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,84 (с, 2H,  $\text{CH}_2 - \text{N}^{\text{G}}$ ); 4,00 (м, 1H,  $\text{C}^{\alpha}\text{H Arg}$ ); 4,62 (м, 1H,  $\text{C}^{\alpha}\text{H Trp}$ ); 6,80 (м, 1H,  $\text{N}^{\alpha}\text{H Arg}$ ); 7,00—7,65 (м, 4H); 7,24 (м, 1H,  $\text{CH} =$ ); 8,24 (м, 1H,  $\text{N}^{\alpha}\text{H Trp}$ ); 9,22 (с, 2H,  $\text{NH} = \text{CNH}$ ); 10,92 (с, 1H,  $\text{NH}^{\text{in}}$ ). Время удерживания при ВЭЖХ в 70% метаноле 7,74 мин. Найдено, %: С 58,87; Н 7,61; N 12,3.  $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{N}_6\text{O}_9$ . Вычислено, %: С 58,73; Н 7,40; N 12,4.

*Voc-D-Arg (Voc<sub>2</sub>)-Trp-OMe (VIII)*. К раствору 0,56 г (2,3 ммоль) гидрохлорида метилового эфира триптофана и 0,3 мл N-метилморфолина в 3 мл DMF добавляли раствор 0,95 г (2,0 ммоль)  $\text{Voc-D-Arg (Voc}_2\text{)-OH}$  в 5 мл диоксана и 0,5 мл  $(\text{PhO})_2\text{PON}_3$ . Смесь перемешивали 4 ч, добавляли 0,1 мл N-метилморфолина и оставляли на 16 ч. Разбавляли 50 мл воды, экстрагировали смесью эфира и этилацетата, 1 : 1 ( $2 \times 20$  мл), и после стандартной обработки экстракта остаток растирали в петролейном эфире. Осадок отфильтровывали, промывали гексаном и высушивали. Выход соединения (VIII) 1,1 г (83%).  $[\alpha]_D^{20} -5,0^{\circ}$  (с 1,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ).  $R_f$  0,52 (A), 0,61 (B). Время удерживания при ВЭЖХ в 70% метаноле 7,73 мин.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 1,38 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,40 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,47 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,5—2,0 (м, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 3,10 (д, 2H,  $\text{CH}_2\text{ Trp}$ ); 3,57 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,78 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}^{\text{G}}$ ); 4,0 (м, 1H,  $\text{C}^{\alpha}\text{H Arg}$ ); 4,56 (м, 1H,  $\text{C}^{\alpha}\text{H Trp}$ ); 6,76 (м, 1H,  $\text{N}^{\alpha}\text{H Arg}$ ); 7,00—7,65 (м, 4H); 7,15 (м, 1H,  $\text{CH} =$ ); 8,22 (м, 1H,  $\text{N}^{\alpha}\text{H Trp}$ ); 9,20 (с, 2H,  $\text{NH} = \text{CNH}$ ); 10,90 (с, 1H,  $\text{NH}^{\text{in}}$ ).

*Voc-Arg (Voc<sub>2</sub>)-Phe-ONb (IX)*. Раствор 1,8 г (3,8 ммоль)  $\text{Voc}_3$ -аргинина, 0,5 г НОВТ, 1,8 г (3,9 ммоль) бензолсульфоната 4-нитробензилового эфира фенилаланина и 0,45 мл N-метилморфолина в 10 мл тетрагидрофурана охлаждали до  $-10^{\circ}\text{C}$ , добавляли раствор 0,85 г (4,1 ммоль) DCC в 5 мл

тетрагидрофурана, перемешивали 1 ч при охлаждении и оставляли на 16 ч. К смеси добавляли 0,2 мл уксусной кислоты, фильтровали, фильтрат упаривали и остаток растворяли в 50 мл этилацетата. После стандартной обработки остаток растирали в воде, сменяя ее несколько раз. Осадок отфильтровывали и высушивали до постоянного веса. Получали 2,6 г (90%) соединения (IX) с т. пл. 60—65°С (с разложением).  $[\alpha]_D^{20} +7,5^\circ$  (с 1, диоксан).  $R_f$  0,60 (А), 0,68 (Б). УФ-спектр в спирте,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 268 (10 100).  $^1\text{H-NMR}$ -спектр ( $\delta$ , м.д.): 1,36 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,44 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,48 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1,25—2,00 (м, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 3,05 (д, 2H,  $\text{CH}_2$  Phe); 3,80 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ); 4,00 (м, 1H,  $\text{C}^\alpha\text{H}$  Arg); 4,65 (м, 1H,  $\text{C}^\alpha\text{H}$  Phe); 5,25 (с, 2H,  $\text{OCH}_2$ ); 6,80 (д, 1H,  $\text{N}^\alpha\text{H}$  Arg); 7,28; 7,55; 8,30 ( $\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ ); 8,40 (м, 1H,  $\text{N}^\alpha\text{H}$  Phe); 9,20 (с, 2H,  $\text{HN}=\text{CNH}$ ). Найдено, %: С 59,37; Н 6,30; N 11,2.  $\text{C}_{37}\text{H}_{52}\text{N}_5\text{O}_{11}$ . Вычислено, %: С 58,71; Н 6,92; N 11,0.

*HCl·Arg-Ala-OMe* (X). а) Раствор 0,9 г (1,7 ммоль) соединения (V) в 10 мл трифторуксусной кислоты выдерживали до прекращения выделения  $\text{CO}_2$  (~ 2 ч), упаривали, остаток растворяли в 10 мл 1M HCl в уксусной кислоте и упаривали. Остаток растворяли в 15 мл изопропилового спирта, упаривали до объема ~5 мл и разбавляли эфиром. Кристаллический осадок отфильтровывали, промывали эфиром. Получали 0,5 г (90%) хроматографически гомогенного и очень гигроскопичного соединения (X).  $R_f$  0,38 (Г), 0,60 (Д) (окрашивание нингидрином и по Сакагучи).

б) *Деблокирование соединения (V) раствором HCl в уксусной кислоте.* Раствор 300 мг соединения (V) в 3 мл 1 M раствора HCl в уксусной кислоте выдерживали 1,5 ч, упаривали в вакууме, остаток растирали в эфире, кристаллический осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали 220 мг негигроскопичного кристаллического продукта без четкой температуры плавления. На ТСХ два пятна,  $R_f$  0,82 и 0,90 (Г); 0,72 и 0,78 (Е).

*2HCl·Arg-Trp-OMe* (XI). а) Раствор 110 мг (0,16 ммоль) соединения (VII) в 3 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 50 мин и упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 5 мл изопропилового спирта, добавляли 3 мл 1 M HCl в уксусной кислоте и снова упаривали. Остаток опять растворяли в 3 мл изопропилового спирта и разбавляли эфиром (~20 мл). Осадок растирали, отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали 60 мг (85%) соединения (XI), т. пл. 110—115°С (с разложением).  $R_f$  0,40 (Г), 0,62 (Д). Пятно видно в УФ-свете, окрашивается по Эрлиху и по Сакагучи. УФ-спектр в водном спирте,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 280 (5200).

б) *Деблокирование соединения (VII) раствором HCl в уксусной кислоте.* Суспензию 1,1 г (1,6 ммоль) соединения (VII) в 20 мл 1 M HCl в уксусной кислоте выдерживали 50 мин, при этом образовывалась гелеобразная масса. Смесь разбавляли эфиром, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали 0,8 г кристаллического продукта, представляющего собой смесь двух веществ.  $R_f$  0,85 и 0,95 (Г); 0,75 и 0,78 (Д).

*2HCl·Arg-Phe(NO<sub>2</sub>)-OMe* (XII). а) Раствор 680 мг (1 ммоль) соединения (VI) в 7 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 2 ч, упаривали, остаток растворяли в 5 мл 1 M HCl в уксусной кислоте и снова упаривали. Остаток растворяли в 10 мл изопропилового спирта, упаривали до объема 2—3 мл и разбавляли эфиром. Осадок растирали в эфире, отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Выход хроматографически гомогенного соединения 400 мг (88%), т. пл. 50—55°С (с разложением).  $[\alpha]_D^{20} +15,4^\circ$  (с 1,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{OH}$ ).  $R_f$  0,40 (Г), 0,62 (Д). УФ-спектр в водном спирте,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 278 (9500).

б) Раствор 1,7 г (2,5 ммоль) соединения (VIa) в 15 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 2 ч и обрабатывали, как в пункте «а». Выход хроматографически гомогенного соединения (XII) 1,0 г (88%),  $[\alpha]_D^{20} +15,2^\circ$  (с 1,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{OH}$ ),  $R_f$  0,40 (Г).

*2HCl·Arg-Phe-ONb* (XIII). Раствор 2,5 г (3,3 ммоль) соединения (IX) в 20 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 2 ч, упаривали в вакууме, остаток растворяли в 20 мл 4 M HCl в диоксане и снова упаривали. Остаток растирали в эфире, осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали 1,7 г (96%) соединения (XIII), содержащего, по данным



ТСХ, небольшую примесь (пятно на старте). Для очистки продукт растворяли в 15 мл изопропилового спирта, разбавляли вдвое ацетоном, раствор фильтровали, упаривали до ~10 мл и разбавляли эфиром. Осадок растирали в эфире, отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали хроматографически чистое соединение (XIII) с т. пл. 176—178° С (с разложением).  $[\alpha]_D^{20} +22,0^\circ$  (*c* 1, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH). *R<sub>f</sub>* 0,42 (Г), 0,67 (Д). УФ-спектр в спирте,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 268 (10 100).

*Вос-Trp-Arg-Ala-OMe·HCl* (XIV). К раствору 1,5 ммоль соединения (X) в 10 мл изопропилового спирта добавляли 0,25 мл N-метилпиперидина и раствор 0,7 г (1,5 ммоль) N-оксисукцинимидного эфира Вос-Trp в 3 мл тетрагидрофурана. Смесь оставляли на 16 ч, разбавляли до 30 мл раствором NaCl, экстрагировали смесью хлороформа с *n*-пропиловым спиртом, 3 : 1 (1 × 30 и 2 × 15 мл). Экстракт промывали насыщенным раствором NaCl, высушивали MgSO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток растирали в эфире, кристаллический осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали 0,8 г (90%) соединения (XIV) с т. пл. 120—125° С (с разложением).  $[\alpha]_D^{20} -26,0^\circ$  (*c* 1, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), *R<sub>f</sub>* 0,41 (Г), 0,82 (Д). УФ-спектр в водном спирте,  $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 280 (5600).

*Вос-Phe-Met-Arg-Phe-ONb·HCl* (XV). Раствор 0,9 г (2,2 ммоль) Вос-Phe-Met-OH, 1,1 г (2,0 ммоль) соединения (XIII) и 0,3 г НОВТ в 10 мл DMF охлаждали до -10° С, добавляли 0,3 мл триэтиламина, перемешивали 5 мин, добавляли раствор 0,50 г (2,4 ммоль) DCC в 3 мл хлористого метилена, перемешивали при охлаждении 1 ч и оставляли на 20 ч при 18° С. Реакционную смесь фильтровали, фильтрат выдерживали в вакууме, разбавляли до 50 мл насыщенным раствором NaCl и экстрагировали смесью этилацетата с *n*-пропиловым спиртом, 4 : 1 (1 × 30 и 2 × 20 мл). Экстракт промывали водой, насыщенным раствором NaCl, высушивали MgSO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток растворяли в изопропиловом спирте, раствор фильтровали, упаривали до объема 10—15 мл и разбавляли эфиром. Осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали. Получали 1,3 г (78%) соединения (XV) с т. пл. 140—150° С (с разложением),  $[\alpha]_D^{20} -22,2^\circ$  (*c* 1, CH<sub>3</sub>OH), *R<sub>f</sub>* 0,75 (Г).

*Вос-Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>·HCl* (XVI). Раствор 1,0 г (1,2 ммоль) соединения (XV) в 20 мл изопропилового спирта насыщали аммиаком при 0° С и раствор оставляли в холодильнике на 16 ч. Упаривали досуха, остаток растирали в эфире, осадок отфильтровывали и высушивали. Выход соединения (XVI) 0,8 г (97%),  $[\alpha]_D^{20} -18,6^\circ$  (*c* 1, CH<sub>3</sub>OH), *R<sub>f</sub>* 0,41 (Г).

*2HCl·Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>* (XVII). Раствор 600 мг соединения (XVI) и 0,5 г *o*-крезола в 25 мл 1 М HCl в уксусной кислоте выдерживали 2 ч и упаривали досуха. Остаток растирали в эфире, осадок отфильтровывали, промывали на фильтре изопропиловым спиртом, эфиром и высушивали в вакууме. Получали 0,55 г хроматографически однородного соединения (XVII) с т. разл. 190—195° С. Для дополнительной очистки продукт растворяли в смеси метанола с хлороформом, раствор фильтровали, разбавляли ацетоном и выдерживали в холодильнике. Осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и высушивали. Получали 470 мг (86%) соединения (XVII) в виде белого негигроскопичного порошка, т. пл. 235—236° С (с разложением),  $[\alpha]_D^{20} -4,6^\circ$  (*c* 1, CH<sub>3</sub>OH), *R<sub>f</sub>* 0,67 (Д). Найдено, %: Cl 10,1; N 16,4. C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>·2HCl. Вычислено, %: Cl 10,6; N 16,7.

*Вос-Arg-OCH<sub>2</sub>-полимер* (XVIII). Раствор 1,5 г (3,1 ммоль) Вос<sub>3</sub>-аргинина в 3,5 мл 1 М КОН в метаноле упаривали досуха, к остатку добавляли толуол, упаривали и остаток высушивали в вакууме. Хлорметилированный сополимер стирола с 2% дивинилбензола (3 г, 3 экв. хлора) промывали на фильтре бензолом (2 × 20 мл), DMF (2 × 20 мл) и смешивали с раствором 3,1 ммоль калиевой соли соединения (I). Суспензию встряхивали 24 ч при 20° С, полимер отфильтровывали, промывали спиртом, водой, спиртом (2 × 20 мл), эфиром и высушивали в вакууме до постоянного веса. Получали 3,5 г соединения (XVIII). Для определения содержания аргинина на полимере навеску полимера деблокировали трифторуксусной кислотой (3 мл на 100 мг) в течение 3 ч и содержание аминокрупп определяли пикриновым методом [19]. 1 г полимера содержит 0,34 ммоль аргинина.

Автор выражает благодарность Е. П. Прокофьеву за съемку и обсуждение  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Позднев В. Ф. Химия природн. соедин., 1971, № 3, с. 385—386.
2. Позднев В. Ф. Химия природн. соедин., 1974, № 6, с. 764—767.
3. Позднев В. Ф. Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 12, с. 1605—1610.
4. Позднев В. Ф., Подгорнова Н. Н., Зенцова Н. К., Ауконе Г. И., Калей У. О. Химия природн. соедин., 1979, № 4, с. 543—548.
5. Позднев В. Ф. Химия природн. соедин., 1980, № 3, с. 379—383.
6. Позднев В. Ф. Химия природн. соедин., 1982, № 1, с. 129—130.
7. Loffel A. *Experientia*, 1967, v. 23, № 5, p. 406—407.
8. Yamashiro D., Blake J. J. *Amer. Chem. Soc.*, 1972, v. 94, № 8, p. 2855—2859.
9. Schnabel E. J. *Liebigs Ann. Chem.*, 1967, B. 702, № 1, S. 188—196.
10. Arold H., Reismann S. Z. *Chem.*, 1968, B. 8, № 3, с. S. 107—108.
11. Allen M. G., Brundisc D. E., Wade R. J. *Chem. Soc. Perkin Trans I*, 1980, p. 1928—1932.
12. Zervas L., Winitz M., Greenstein J. B. *J. Org. Chem.*, 1957, v. 22, № 6, p. 1515—1527.
13. Wünsch E., Wendlberger G. *Chem. Ber.*, 1967, B. 100, № 1, S. 160—172.
14. Jager G., Geiger R. *Chem. Ber.*, 1970, B. 103, № 6, S. 1727—1747.
15. Позднев В. Ф. Биоорган. химия, 1985, т. 11, № 6, с. 725—732.
16. Шевчик Ю. П., Шишкина А. А. *Журн. общ. химии*, 1983, т. 53, № 2, с. 486.
17. Пат 4152322 (США), опубл. 01.05.1979. РЖ «Химия», 1980, 170, 20.
18. Вайбель С. Идентификация органических соединений. М.: ИЛ, 1957, с. 59.
19. Gisin V. F. *Anal. chim. acta*, 1972, v. 58, № 2, p. 278.

Поступила в редакцию  
13.I.1986

### $\text{N}^\alpha$ , $\text{N}^\beta$ , $\text{N}^\gamma$ -TRI-*tert*-BUTYLOXYCARBONYL ARGININE — A NEW ARGININE DERIVATIVE FOR PEPTIDE SYNTHESIS

POZDNEV V. F.

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

The synthesis of  $\text{N}^\alpha$ ,  $\text{N}^\beta$ ,  $\text{N}^\gamma$ -tri-*tert*-butyloxycarbonyl arginine was carried out by acylating arginine with di-*tert*-butylpyrocarbonate. The product was an amorphous mixture of isomers differing by the position of Boc-groups at nitrogen atoms in the guanidine residue. One isomer was isolated in the crystalline state with about 50% yield. Starting from crystalline  $\text{Boc}_3$ -arginine, several active esters and a cholesterol ester were prepared. A series of protected dipeptides were synthesized from both crystalline and amorphous  $\text{Boc}_3$ -arginine with the use of various condensing reagents. The removal of Boc groups from the dipeptides was achieved by trifluoroacetic acid, whereas with hydrogen chloride dissolved in glacial acetic acid deblocking was incomplete. It was demonstrated that  $\text{Boc}_3$ -arginine is suitable for coupling to a styrene-divinylbenzene copolymer.