



УДК 577.466'55

АКТИВАЦИЯ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ПИРОКАРБОНАТАМИ. ДИАЛКИЛПИРОКАРБОНАТЫ КАК КОНДЕНСИРУЮЩИЕ РЕАГЕНТЫ В СИНТЕЗЕ АМИДОВ ЗАЩИЩЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ И ПЕПТИДОВ

© 1996 г. В. Ф. Позднев

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

Поступила в редакцию 04.10.95 г.

Предложен простой метод синтеза амидов N-защищенных аминокислот и некоторых дипептидов путем активации карбоксильной группы ди-*трет*-бутилпирокарбонатом в присутствии пиридина и бикарбоната аммония. Реакция проходит в мягких условиях, и амиды получены с высокими выходами. Другие функциональные группы аминокислот, чувствительные к действию свободного аммиака, при этом не затрагиваются. Из хиральных аминокислот с N-защитными группами уретанового типа амиды образуются без потери оптической активности. Аммониевые соли N-защищенных аминокислот под действием системы ди-*трет*-бутилпирокарбонат–пиридин также превращаются в амиды, но с невысокими выходами.

Ключевые слова: аминокислоты, пептиды, амиды, синтез; ди-*трет*-бутилпирокарбонат; активация карбоксильной группы; определение степени эимеризации.

Амиды карбоновых кислот – один из ключевых классов природных и синтетических биологически активных соединений. Многие лекарственные препараты и пептидные гормоны являются амидами. Несмотря на то что в арсенале синтетической органической химии накоплен большой объем знаний в этой области [1, 2], разработка новых методов синтеза карбоксамидов остается актуальной задачей и в настоящее время [3, 4].

Амиды карбоновых кислот можно получить нагреванием их аммониевых солей [1], но этот метод применим только для ограниченного круга простейших кислот. В общем случае для превращения карбоновой кислоты в амид требуется активация карбоксильной группы, т.е. превращение ее в производное, способное реагировать с аммиаком с практически приемлемой скоростью в мягких условиях (например, при комнатной или даже более низкой температуре). Уже метиловые эфиры карбоновых кислот способны превращаться в амиды без нагревания, но при действии большого избытка аммиака в течение нескольких часов. Однако в этих условиях некоторые функциональные группы (такие, как O-ацетильная, N- и O-трифторацетильные, фталоильная, сложноэфирная и др.) изменяются, что ограничивает возможности использования этого подхода.

Сокращения: НОAt – 1-гидрокси-7-азабензотриазол, Вос₂O – ди-*трет*-бутилпирокарбонат, Fmoc – 9-флуоренилметил-оксикарбонил.

Повышение реакционной способности производных карбоновых кислот (применение активированных эфиров, ангидридов и др.) позволяет проводить реакцию аммонолиза с высокими скоростями и в очень мягких условиях. При этом аммиак можно использовать в эквивалентном или близком к эквивалентному количестве. Можно также совсем отказаться от использования аммиака, способного к побочным реакциям даже при низких концентрациях, и проводить аммонолиз некоторыми его производными. Так, авторы работы [3] нашли, что вместо аммиака можно использовать бикарбонат аммония, если карбоксил активировать 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолином. Группа итальянских химиков считает, что аммонолиз активированных эфиров N-защищенных аминокислот удобнее проводить гидрохлоридом метиленамина в присутствии триэтиламина, а не раствором аммиака [4]. Однако в любом случае при таком подходе к синтезу карбоксамидов ключевой проблемой остается выбор метода активации карбоксильной группы, который определяет трудоемкость методики, протекание побочных реакций и характер побочных продуктов.

В продолжение исследований активации карбоновых кислот диалкилпирокарбонатами [5, 6] в настоящей работе изучена возможность применения коммерчески доступного ди-*трет*-бутилпирокарбоната, который широко известен как реагент для введения Вос-защитной группы в

соединения разных классов [7–9], для активации карбоксильной группы при синтезе амидов защищенных аминокислот и пептидов.

В предыдущих работах было показано, что в апротонных растворителях и в присутствии пиридина Vos_2O способен (вероятно, в виде комплекса с пиридином [10]) реагировать с карбоновыми кислотами с образованием их смешанных ангидридов с *трет*-бутиловым эфиром угольной кислоты [11], которые при избытке карбоновой кислоты превращаются в симметричные ангидриды [12]. Если же к реагирующей смеси карбоновой кислоты и Vos_2O добавить слабый нуклеофил, с которым Vos_2O реагирует медленнее, чем с карбоксилат-ионом, то образующийся на первой стадии смешанный ангидрид (или, возможно, симметричный ангидрид) ацилирует добавленный нуклеофил с образованием соответствующего производного карбоновой кислоты. В качестве таких нуклеофилов могут выступать различные спирты, фенолы или ароматические амины. На основе этих превращений были разработаны простые и удобные методы синтеза различных сложных эфиров [5, 13–15] и ариламидов *N*-защищенных аминокислот [6, 16].

В синтезе амидов карбоновых кислот применение Vos_2O возможно в нескольких вариантах. Во-первых, вариант с промежуточным синтезом симметричных ангидридов [12] или активированных эфиров [5], которые можно превратить в амиды, обработав их аммиаком. Однако в препаративном отношении этот подход мало интересен, поскольку процесс разделяется на две стадии (синтез ангидрида или эфира и их последующий аммонолиз) и, кроме того, при обработке симметричного ангидрида аммиаком теряется 1 экв. кислоты, а из активированного эфира образуется нитрофенол или аналогичный побочный продукт, для удаления которого из реакционной смеси требуется дополнительная очистка, что, конечно, усложняет методику.

Более предпочтительным представляется другой вариант, в котором используются реакционноспособные ангидриды, образующиеся в результате реакции карбоксилат-иона с диалкилпирокarbonатом. Этот подход будет возможен, если реакцию карбоновой кислоты с пирокarbonатом проводить в присутствии производного аммиака, с которым пирокarbonат реагирует медленнее, чем с карбоксилат-ионом, или, что еще лучше, не реагирует совсем.

В этом плане представлялось привлекательным попытаться использовать для получения амидов аммониевые соли карбоновых кислот. Конечно, следовало учитывать, что в присутствии пиридина аммониевая соль может частично превращаться в соль с пиридином, освобождая аммиак, который прореагирует с Vos_2O с образо-

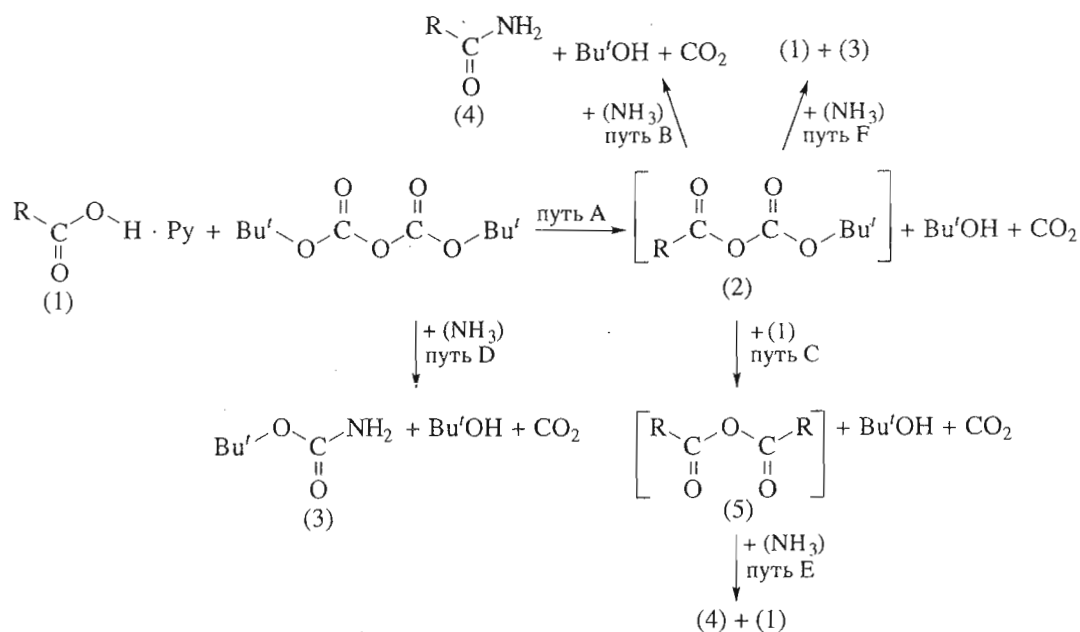
ванием *трет*-бутилкарбамата (Vos-NH_2). Если же карбоксилат-ион (соль карбоновой кислоты с аммиаком или с пиридином) будет быстрее реагировать с Vos_2O , чем аммиак, то образующийся смешанный ангидрид будет превращаться в карбоксамид. Таким образом, в результате реакции может получиться смесь карбоксамида и карбамата, соотношение которых, по-видимому, будет зависеть от условий реакции и природы карбоновой кислоты.

Действительно, если к суспензии или к раствору аммониевой соли *Vos*-аминокислоты в ацетонитриле добавить примерно 1 экв. Vos_2O , 0.1–1 экв. пиридина и смесь перемешивать при обычной температуре, то наблюдается выделение CO_2 и в результате реакции (по данным ТСХ) образуется смесь карбоксамида, *трет*-бутилкарбамата и непрореагировавшей исходной кислоты. Однако выходы амидов в этом варианте невелики (30–50%), поскольку сравнительно много Vos_2O расходуется на образование карбамата.

Амидирование проходит более эффективно, если активацию карбоновой кислоты системой Vos_2O –пиридин проводить в присутствии бикарбоната аммония [3]. В апротонных растворителях (ацетонитрил, диоксан и т.п.) *N*-защищенные аминокислоты реагируют с бикарбонатом аммония достаточно медленно. Но если к их смеси добавить Vos_2O и пиридин, то наблюдается энергичное выделение CO_2 и в результате реакции образуется главным образом карбоксамид, а *трет*-бутилкарбамат – в виде примеси. При этом в некоторых случаях исходная кислота практически полностью вступает в реакцию. Изменение порядка смешения реагентов существенного влияния на выходы амидов не оказывает. Возможный путь превращения исходных реагентов в конечные продукты можно представить следующей схемой.

Процесс начинается с взаимодействия карбоксилат-иона (1) с Vos_2O (путь А), причем образуются смешанный ангидрид (2), *трет*-бутанол и CO_2 . В то же время Vos_2O может реагировать с аммиаком (путь D) с образованием *трет*-бутилкарбамата (3). Смешанный ангидрид (2) может реагировать в двух направлениях. Реагируя с аммиаком (путь D), он превращается в амид (4) и, возможно, по крайней мере частично, в Vos-NH_2 (3) (путь F). Реагируя с карбоксилат-ионом (путь C), смешанный ангидрид (2) превращается в симметричный ангидрид (5), который, реагируя с аммиаком (путь E), дает амид (4) и карбоновую кислоту (1), которая возвращается в реакционный цикл.

В соответствии со схемой в результате реакции кроме целевого амида образуется также 2 экв. *трет*-бутилового спирта и CO_2 . Конечно, остается весь введенный в реакцию пиридин. Примечательно, что вода, образующаяся из бикарбоната



R – остаток N-защищенной аминокислоты или N-защищенного пептида

Схема.

аммония в количестве примерно 1 экв., судя по конечному результату, ни с пирокarbonатом, ни со смешанным ангидридом в условиях этого процесса практически не реагирует.

Хотя детали этого каскада конкурентных и последовательных реакций пока неясны, это не снижает практического значения метода. В препаративном отношении методика достаточно проста, и выходы амидов N-защищенных аминокислот хорошие. В общем случае смесь N-защищенной аминокислоты, пиридина, бикарбоната аммония и CO_2 в апротонном растворителе перемешивали при обычной температуре до окончания реакции. В качестве растворителей были использованы ацетонитрил, диоксан или диметилформамид. В диметилформамиде реакция идет заметно быстрее, чем в других растворителях, но выделение амида может быть осложнено, если он растворим в воде или используется экстракция хлороформом. Поскольку и бикарбонат аммония, и пирокarbonат в некоторой мере расходуются на образование $\text{CO}-\text{NH}_2$, их вводили в реакцию в небольшом избытке, до 30% по отношению к карбоксильному компоненту. Пиридин в реакции не расходуется, но влияет на скорость реакции, и его целесообразно брать 0.5–1 экв. Реакция протекает энергично и заканчивается, как правило, через 4–6 ч.

ТСХ-анализ показывает, что после завершения реакции смесь состоит главным образом из целевого амида с примесью исходной кислоты и $\text{CO}-\text{NH}_2$. Кроме того, иногда обнаруживается небольшое пятно побочного продукта, по хромато-

графической подвижности соответствующего *трет*-бутиловому эфиру исходной кислоты. Остается также непрореагировавший бикарбонат аммония. Эти примеси, как правило, легко удаляются при выделении и кристаллизации целевого амида. Однако при выделении амидов, растворимых в эфире, могут возникнуть трудности с очисткой от $\text{CO}-\text{NH}_2$, поскольку он легко растворим в эфире и его содержание в малых количествах трудно контролировать.

Для выделения целевых амидов из реакционной смеси в основном были использованы три варианта. В варианте I реакционную смесь разбавляли водой, перемешивали до окончания кристаллизации амида, продукт отделяли и перекристаллизовывали. Как правило, продукт кристаллизуется из водного раствора хроматографически чистым и вполне пригодным для последующего использования. В варианте II после упаривания растворителя остаток растворяли в смеси хлороформа и *n*-пропилового спирта (10–15%) и после обычных промывок и упаривания растворителя продукт кристаллизовали растиранием в эфире. И в III варианте реакционную смесь фильтровали, фильтрат разбавляли эфиром, выпавший продукт отделяли и при необходимости перекристаллизовывали. Полученные результаты представлены в таблице.

Как видно из таблицы, использованный метод эффективен и позволяет получать амиды как простых N-защищенных аминокислот, так и аминокислотных карбоновых кислот, содержащих сложноэфирные группировки. Амиды Z-пироглутаминовой и

Выходы и физико-химические характеристики амидов защищенных аминокислот и дипептидов RCO-NH₂

RCO	Растворитель*	Метод выделения**	Выход, %	Т. пл., °С	[α] _D (с 1, EtOH), град	Лит. данные		
						т. пл., °С	[α] _D (с 1, EtOH), град	ссылка
Вос-Ala	Диоксан	II	83	126–127	–1.4	124–125	–2.7	[3]
Вос-Asp(OBzl)	»	I	88	158–160	–2.6	157–160	–2.6	[3]
Вос-Glu(OBzl)	»	I	90	122–123	+4.1	120–122	+4.0	[3]
Вос-Leu	»	I	82	145–146	–11.1	144–146	–11.4	[3]
Вос-Met	DMF	II	88	120–121	–7.3	–	–	–
Вос-Phe	Диоксан	II	80	142–144	+16.7	142–149	+16.7	[3]
Вос-D-Phe	MeCN	II	77	141–143	–14.5	–	–	–
Вос-Pro	Диоксан	II	82	102–104	–49.4	104–106	–43.4	[3]
Вос-Trp	MeCN	II	93	137–138	+6.7	133–136	+7.7	[3]
Вос-Tyr(Вос)	MeCN	II	78	160–161	–	–	–	–
Вос-Tyr(Bzl)	Диоксан	II	76	170–172	+13.6	170–171	+16.0	[3]
Fmoc-Leu	»	II	70	138–139	–17.6	–	–	–
Fmoc-Phe	»	I	73	162–163	–18.2	–	–	–
Glp	DMF	II	92	152–160	–19.0	–	–	–
Z-Ala	Диоксан	II	78	136–137	–4.5 ^a	130–131	–4.5 ^a	[4]
Z-Glp	MeCN	II	84	156–157	+1.4	–	–	–
Z-Gly	DMF	II	80	134–135	–	138–139	–	[4]
(Z-Cys) ₂	DMF	I	87	193–194	–172.3 ^b	199–201	–177 ^b	[17]
Z-Phe	MeCN	I	92	163–164	–3.5 ^a	161–162	–2.6 ^a	[3]
Z-Val	Диоксан	I	78	205–208	+22.9 ^b	204–206	+25.5 ^b	[4]
Z-Ala-Pro	»	II	91	160–161	–40.2	–	–	–
Z-Ile-Pro	»	II	83	114–115	–93.8	–	–	–
Z-Gly-Gly	DMF	I	50	180–182	–	179–181	–	[18]
Z-Gly-Pro	DMF	III	86	152–153	–62.0	150–151	–	[19]
Z-Pro-Phe	Диоксан	I	75	171–172	–54.6	180–181	–	[20]
Z-Trp-Pro	DMF	I	92	97–98	–16.3	–	–	–
Z-Met-Pro	EA	II	76	136–137	–65.5	–	–	–

* EA – этилацетат.

** Метод выделения в “Экспериментальной части”: а) в метаноле; б) в DMF.

Fmoc-аминокислот, а также Вос-Tyr(Вос)-NH₂, потенциально чувствительных к действию свободного аммиака, также образуются без осложнений.

Как и следовало ожидать, при амидировании трифункциональных аминокислот с незащищенными боковыми функциями (Z-Arg-OH, Вос-His-OH, Вос-Ser-OH, Вос-Thr-OH) образуются смеси продуктов (экспериментальные данные не приводятся).

N-Защищенные дипептиды с C-концевым пропионом или глицином при активации их системой Вос₂O–пиридин в присутствии бикарбоната аммония превращаются в амиды без осложнений.

Ранее уже было показано, что при этерификации N-алкилоксикарбонильных производных хиральных аминокислот с использованием системы Вос₂O–пиридин потери оптической активности не происходит [13]. Сравнение физико-химических

характеристик амидов N-алкилоксикарбонил-аминокислот, полученных в настоящей работе, с характеристиками этих соединений, опубликованными ранее, позволяет считать, что активация карбоксильной группы и аммонолиз образующихся при этом активных интермедиатов также проходят без обращения конфигурации асимметрического атома углерода. Незначительные расхождения углов оптического вращения некоторых соединений с литературными данными, вероятнее всего, связаны с какими-то неучтенными различиями в определении этих характеристик, а не с эпимеризацией асимметрического центра.

С большей чувствительностью оптическая чистота *N*-Phe-NH₂ подтверждена ВЭЖХ-анализом диастереомерного состава дипептида *Z*-Pro-Phe-NH₂. Известно, что диастереомеры защищенных пептидов можно разделить колоночной хроматографией в различных вариантах [4, 20], однако это не всегда удается, поскольку эффективность колонки должна быть достаточно высокой. Мы нашли, что *Z*-Pro-*L*-Phe-NH₂ и *Z*-Pro-*D*-Phe-NH₂ хорошо разделяются на колонке с обращенной фазой Силасорб С-18 в водном ацетонитриле. Чтобы подтвердить оптическую чистоту *Woc*-Phe-NH₂, полученного с помощью *Woc*₂O, его деблокировали раствором хлористого водорода в уксусной кислоте и *L*-Phe-NH₂ ацилировали смешанным ангидридом *Z*-Pro-OH с изобутиловым эфиром угольной кислоты. *Z*-Pro-*D*-Phe-NH₂ синтезировали аналогично. Амиды дипептидов без дополнительной очистки анализировали на колонке с обращенной фазой. По результатам анализа *Z*-Pro-*L*-Phe-NH₂ не содержит примеси *L*-*D*-диастереомера.

Однако при амидировании *Z*-Pro-Phe-OH (полученного из *Z*-Pro-Phe-OBu') по стандартной методике с использованием бикарбоната аммония и без добавок, подавляющих рацемизацию, образуется 13% *Z*-Pro-*D*-Phe-NH₂. Проведение реакции в присутствии CuCl₂ [21] снижает образование *Z*-Pro-*D*-Phe-NH₂ до 0.6%. Проведение реакции в присутствии HOAt [22] подавляет образование *L*-*D*-диастереомера полностью, но выход амида дипептида при этом невысокий (около 40%).

Таким образом, с использованием системы *Woc*₂O-пиридин можно получать амиды N-защищенных аминокислот в одну стадию в мягких условиях и с высокими выходами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления определены в открытых капиллярах и не исправлены. Состав реакционных смесей и индивидуальность полученных соединений контролировали методом ТСХ на стеклянных пластинках с силикагелем (Kieselgel

60 F254, Merck) в следующих системах растворителей: хлороформ-метанол-уксусная кислота, 94 : 5 : 1 (А); хлороформ-метанол-25% аммиак, 90 : 10 : 0.1 (Б). Вещества обнаруживали окрашиванием нингидрином (5% раствор в *n*-бутиловом спирте, 110°C) и бензидиновым реактивом после хлорирования. Оптическое вращение определяли на поляриметре Perkin-Elmer 241 в кюветах длиной 10 см при 18–20°C. ИК-спектры записывали на спектрофотометре Pye-Unicum SP 1000 (Англия). Аналитическую ВЭЖХ осуществляли на приборе фирмы LKB (Швеция), колонка Силасорб С-18, 6 мкм (4.6 × 250 мм), элюент: ацетонитрил-0.01% раствор KN₂PO₄, скорость элюции 1 мл/мин, в изократическом режиме, детекция при 254 нм. Расчеты площадей пиков проводили с помощью интегратора LKB 2220. В работе использованы защищенные аминокислоты производства фирм Fluka или Reanal. Синтез *Woc*-Tyr(OH)-OH описан ранее [23]. Все оптически активные аминокислоты – *L*-ряда, кроме отмеченных как *D*. Ди-*трет*-бутилпирокарбонат (Fluka, Швейцария) дозировали в виде расплава при 35–40°C.

При выделении продуктов реакции экстракционным методом экстракты промывали 5% раствором карбоната натрия, водой, 5% раствором серной кислоты, водой, насыщенным раствором хлорида натрия, высушивали над сульфатом магния и упаривали на роторном испарителе при 40°C.

Z-Pro-Phe-OBu' получен методом смешанных ангидридов с изобутилоксикарбонилхлоридом в присутствии *N*-метилморфолина, т. пл. 70–71°C, [α]_D –27.3° (с 1, этилацетат). Лит. данные: т. пл. 72–73°C, [α]_D –27.5° (с 2, этилацетат) [24].

Z-Pro-Phe-OH получен деблокированием *Z*-Pro-Phe-OBu' 50% раствором трифторуксусной кислоты в хлористом метиле; т. пл. 123–124°C.

Синтез амидов N-защищенных аминокислот из аммониевых солей

Z-Gly-NH₂. Раствор 1.0 г (5 ммоль) *Z*-Gly-OH и 0.4 мл пиридина в 7 мл ацетонитрила насыщали сухим аммиаком и полученную суспензию продували воздухом для удаления избытка аммиака. Добавляли 1.5 мл (6.8 ммоль) *Woc*₂O, суспензию перемешивали 16 ч, разбавляли водой (20 мл), экстрагировали хлороформом (2 × 20 мл) и после стандартной обработки остаток кристаллизовали из этилацетата с добавлением эфира. Выход 0.3 г (33%), т. пл. 136–137°C, *R*_f 0.57 (Б) [4].

Z-Ala-NH₂ синтезировали аналогично, но в качестве растворителя использовали диоксан. Выход 55%, т. пл. 129–131°C, *R*_f 0.66 (Б) [4].

Z-Val-NH₂ синтезировали в ацетонитриле. После перемешивания в течение 16 ч реакционную

смесь разбавляли водой (15 мл), осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали. Выход 50%, т. пл. 205–206°C, R_f 0.66 (Б) [4].

*Синтез амидов N-защищенных аминокислот
и дипептидов с использованием Wos_2O
и бикарбоната аммония
(типовая методика)*

К примерно 1 М раствору N-защищенной аминокислоты или N-защищенного дипептида (1 экв.), пиридина (0.3–1 экв.) и Wos_2O (1.3 экв.) в апротонном растворителе (ацетонитрил, диоксан или DMF) добавляли 1.3–1.5 экв. бикарбоната аммония и суспензию перемешивали при комнатной температуре до окончания реакции. (Контроль ТСХ и визуально – по прекращению выделения CO_2 .) Амиды выделяли по одному из следующих вариантов.

Вариант I: реакционную смесь разбавляли двух-трехкратным объемом воды и перемешивали до завершения кристаллизации амида. Продукт отделяли, высушивали на воздухе, промывали эфиром и при необходимости перекристаллизовывали из этанола с добавлением эфира.

Вариант II: растворитель упаривали в вакууме, остаток растворяли в смеси хлороформа и *n*-пропилового спирта (10%) или в этилацетате и после обычных водных промывок и высушивания растворитель упаривали, остаток кристаллизовали растиранием в эфире.

Вариант III: избыток бикарбоната аммония отфильтровывали, фильтрат разбавляли эфиром, продукт отделяли, промывали эфиром, высушивали и при необходимости перекристаллизовывали.

Полученные результаты представлены в таблице.

Z-Pro-Phe-NH₂. К охлажденному до 0°C раствору Z-Pro-OH (0.7 г, 2.8 ммоль) и 0.35 мл (3.2 ммоль) N-метилморфолина в 5 мл хлористого метилена добавляли 0.45 мл (3.5 ммоль) изобутилоксикарбонилхлорида и смесь выдерживали при –10°C 10 мин.

К суспензии 0.2 г H-Phe-NH₂ · HCl (1 ммоль, получен деблокированием Wos-Phe-NH₂ раствором HCl в уксусной кислоте) в 4 мл хлористого метилена добавляли 0.12 мл (1 ммоль) N-метилморфолина, смесь перемешивали 10 мин и добавляли раствор смешанного ангидрида. После перемешивания в течение 3 ч растворитель упаривали, остаток растирали в воде, кристаллический осадок отфильтровывали и сушили на воздухе. Выход неочищенного амида дипептида 0.38 г (90%), т. пл. 167–170°C. R_f 0.68 (А); ВЭЖХ: время выхода основного пика 15.05 мин. Примеси L-D-энантиомера не обнаружено. После перекристаллизации

из спирта т. пл. 180–181°C, $[\alpha]_D$ –63.7° (с 1, EtOH). Лит. данные [20]: т. пл. 180–181°C.

Z-Pro-D-Phe-NH₂ получен аналогично. Выход 96%, т. пл. 134–135°C. После перекристаллизации из спирта т.пл. 166–167°C, $[\alpha]_D$ –47.4° (с 1, EtOH). R_f 0.68 (А); ВЭЖХ: время выхода основного пика 13.3 мин.

Z-Pro-Phe-NH₂ синтезирован из Z-Pro-Phe-OH по типовой методике, выделение проводилось по варианту I. Выход неочищенного кристаллического продукта 75%. По данным ВЭЖХ (условия в предыдущем эксперименте), содержание L-D-диастереомера 13%. После перекристаллизации из спирта т. пл. 171–172°C (таблица).

При проведении синтеза по типовой методике и добавлении в реакционную смесь 1 экв. безводного CuCl_2 [21] выход амида дипептида составил 85%, содержание L-D-диастереомера 0.6%.

При проведении синтеза по типовой методике и добавлении в реакционную смесь 1 экв. HOAt [22] выход Z-Pro-Phe-NH₂ составил 43% (без примеси L-D-диастереомера).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 94-03-08640а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бюлер К., Пирсон Д. // Органические синтезы. Ч. II, гл. 18. М.: Мир, 1973.
2. Шредер Е., Любке К. Пептиды. Т. I. М.: Мир, 1967.
3. Nozaki S., Muramatsu I. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1988. V. 61. P. 2647–2648.
4. Galaverna G., Corradini R., Dossena A., Marchelli R. // Int. J. Pept. Protein Res. 1993. V. 43. P. 53–57.
5. Pozdnev V.F. // Int. J. Pept. Protein Res. 1992. V. 42. P. 407–414.
6. Pozdnev V.F. // Int. J. Pept. Protein Res. 1994. V. 44. P. 36–48.
7. Долинская С.И., Позднев В.Ф., Чаман Е.С. // Химия природ. соединений. 1974. С. 764–767.
8. Позднев В.Ф. // Биоорган. химия. 1977. Т. 3. С. 1605–1610.
9. Позднев В.Ф. // Химия природ. соединений. 1980. С. 408–409.
10. Guibe-Jampel E., Wakselman M. // Synthesis. 1977. P. 772.
11. Позднев В.Ф. // Журн. орган. химии. 1978. Т. 14. С. 1558.
12. Позднев В.Ф. // Журн. орган. химии. 1983. Т. 14. С. 882.
13. Позднев В.Ф. // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. С. 912–920.
14. Позднев В.Ф. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. С. 725–732.

15. Позднев В.Ф. // Журн. общ. химии. 1988. Т. 58. С. 670–675.
16. Позднев В.Ф. // Биоорганич. химия. 1985. Т. 11. С. 583–589.
17. Hirotsu Y., Shiba T., Kaneko T. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1970. V. 43. P. 1564–1567.
18. Fruton J.S., Bergmann M. // J. Biol. Chem. 1942. V. 145. P. 871–878.
19. Smith E.L., Bergmann M. // J. Biol. Chem. 1944. V. 153. P. 627–630.
20. Izumiya N., Fruton J.S. // J. Biol. Chem. 1956. V. 218. P. 59–68.
21. Miyazawa T., Donkai T., Yamada T., Kuwata S. // Int. J. Pept. Protein Res. 1992. V. 40. P. 49–53.
22. Carpino L.A. // J. Am. Chem. Soc. 1993. V. 115. P. 4397–4398.
23. Позднев В.Ф. // Химия природ. соединений. 1982. С. 129–130.
24. Pedersen U., Tharsen M., El-Krisy P.-E., Clausen K., Lawesson S.-O. // Tetrahedron. 1982. V. 18. P. 3267–3269.

Activation of Carboxylic Acids by Pyrocarbonates: Dialkyl Pyrocarbonates as Condensing Reagents in the Synthesis of Amides of Protected Amino Acids and Peptides

V. F. Pozdnev

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

Abstract—A simple method for synthesis of amides of *N*-protected amino acids and some dipeptides was proposed, which consists in carboxyl group activation by di-*tert*-butyl pyrocarbonate in the presence of ammonium bicarbonate and pyridine. The reaction proceeds under mild conditions, gives high yields of amides, and does not affect any ammonia-sensitive functional groups of amino acids. Chiral amino acids with urethane type *N*-protecting groups form amides without epimerization. Ammonium salts of *N*-protected amino acids can be also transformed into carboxamides by the di-*tert*-butyl pyrocarbonate–pyridine system, but with low yields.

Key words: *amino acids, peptides, amides, synthesis; di-tert-butyl pyrocarbonate; carboxyl group activation, determination of epimerization degree.*