

# 一种合成脱氢肽的新方法

龙康侯 简志刚 钟世舟  
(化学系) (测试中心)

## 摘 要

由N端保护的氨基酸或肽与 $\beta$ -羟基- $\alpha$ -氨基酸酯在三苯基膦、三乙胺、四氯化碳的存在下直接缩合,一步就可得到C端含脱氢氨基酸的肽类。在L-苏氨酸甲酯的情况下,全部生成Z型脱氢氨基酸。其可能的反应历程是N端保护的氨基酸或肽与 $\beta$ -羟基- $\alpha$ -氨基酸酯首先缩合形成肽键,然后进一步脱水生成产物。当用同样试剂处理Boc-L-Ile-L-Ser-L-Ile-OMe时,则形成肽类噁唑啉。影响反应方向的主要因素是 $\alpha$ -C-H键质子酸性和酰胺N-H键质子酸性的相对强弱。

**关键词** 脱氢肽, 脱氢氨基酸, 噁唑啉

脱氢肽是一类重要的肽类化合物,不少脱氢肽具有很好的生物活性<sup>[1-3]</sup>。有人认为,脱氢氨基酸的存在有利于肽链产生生物活性必需的构型<sup>[4]</sup>。同时,脱氢氨基酸也可能是D型氨基酸或其它特殊氨基酸生物合成的前体。

尽管已有大量的脱氢肽合成方法的报导<sup>[5-11]</sup>,但是由于双键与氨基相连导致氨基的亲核性能大大下降,脱氢氨基酸酯与N端保护的氨基酸或肽的直接缩合仍是一个没有很好解决的问题<sup>[11]</sup>。目前这类化合物的合成主要有两种方式,一种是首先合成脱氢氨基酸的衍生物如N-羧酸脱氢氨基酸酐,然后将其接到肽链上<sup>[10]</sup>;另一种是先合成含 $\beta$ -羟基<sup>[8]</sup>、 $\beta$ -卤素<sup>[9]</sup>、或 $\beta$ -氨基<sup>[6]</sup>取代的 $\alpha$ -氨基酸肽,将这些基团转变为容易离去的基团后再发生消除反应生成脱氢肽。前一种方式脱氢氨基酸衍生物本身的制备比较麻烦。后一种方式反应步骤多,而且要用到五氯化磷、甲磺酰氯等性质比较强烈的试剂,因而在多肽中的应用受到限制。

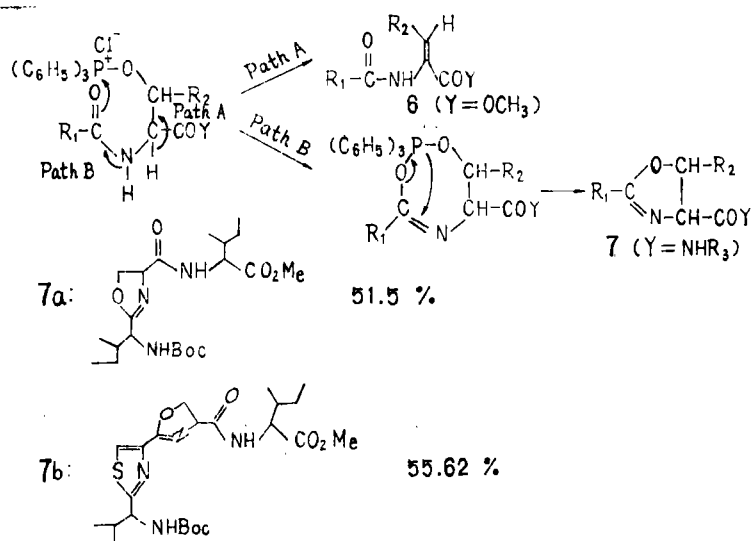
本文报导一种合成脱氢肽的新方法,使 $\beta$ -羟基- $\alpha$ -氨基酸酯与N端保护的氨基酸或肽直接缩合,一步即可得到C端含脱氢氨基酸的肽类。并讨论其可能的反应历程以及反应物结构对反应方向的影响。

本文1986年9月收到



缘故<sup>[11]</sup>。我们发现的新方法中,由于先生成肽键,然后脱水生成产物,避免了氨基亲核能力的下降,所以反应能够顺利地进行。我们从N端保护的二肽出发,合成了两个C端含脱氢丙氨酸和脱氢丁氨酸的三肽,产率分别为43%和57.8%。由于反应体系中大量三苯基氧磷的存在,使得产物的分离比较困难,目前所得产率还不理想,有待进一步改进后处理以提高产率。

有人用同样试剂使脂肪或芳香酸与邻羟基胺作用合成含噁唑啉环的化合物<sup>[12]</sup>。但是当我们把氨基酸或肽用于此反应时却只能得到C端含脱氢氨基酸的衍生物。这是由于中间体5中吸电子的酯基和酰胺基的存在,使 $\alpha$ -碳氢键上质子的酸性比酰胺氢键上质子的酸性强,在碱的作用下只能发生消除反应生成脱水产物6。因此,要合成含噁唑啉环的化合物,必须改变反应结构,减弱 $\alpha$ -碳氢键上质子的酸性。由于酰胺中 $\alpha$ -碳氢键质子的酸性较酯中 $\alpha$ -碳氢键质子的酸性弱<sup>[13]</sup>,因此,若用肽键取代甲酯将会有利于噁唑啉环的生成。当将用肽键取代甲酯的化合物用于此反应时,成功地合成了肽类噁唑啉7。该反应的转化率相当高,粗产物的薄层层析分析和<sup>1</sup>H核磁共振谱表明反应物基本上转化为产物。



## 二、实验部分

熔点用毛细管法测定,未经校正。红外光谱用5DX红外光谱仪测定。质谱用ZAB-HS高分辨质谱仪测定。核磁共振谱用FX-90Q核磁共振仪测定。元素分析用240C型元素分析仪测定。

### 1. 脱氢肽的合成

1mmol N端保护的氨基酸(或肽)和1mmol  $\beta$ -羟基- $\alpha$ -氨基酸甲酯溶于5~10 ml无水乙腈,加入3mmol三乙胺(或乙基二异丙基胺)和3mmol四氯化碳,然后在

室温、搅拌下, 3小时内滴入3mmol三苯基磷的无水乙腈溶液, 室温下静置12~24小时后减压挥去溶剂, 残余物溶于40ml乙醚, 用水洗(3×15ml), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 挥去溶剂后用氧化铝柱层析分离(石油醚和乙酸乙酯梯度洗脱)。

(1) 叔丁氧羰酰异亮氨酸-脱氢丁氨酸甲酯(6a)

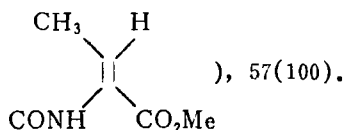
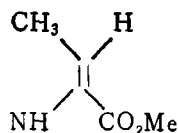
m. p. 114~116°C.

元素分析(C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>) 理论值: C 58.54%, H 8.54%, N 8.54%; 实验值: C 58.53%, H 8.70%, N 8.38%.

IR  $\nu_{max}^{KBr}$  (cm<sup>-1</sup>) 3325, 3275, 1770, 1625.

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.9(t, 3H, J=7Hz), 0.98(d, 3H, J=7Hz), 1.20(m, 2H), 1.44(s, 9H), 1.75(d, 3H, J=7.2Hz, 烯甲基), 1.92(m, 4H), 3.72(s, 3H), 4.06(dd, 1H), 5.08(d, 1H, NH), 6.80(Q, 1H, J=7.2Hz, 烯质子), 7.47(br. s, 1H, NH).

MS m/e(%) 328(1.5, M<sup>+</sup>), 214(2, M<sup>+</sup>), 186(7.5, M<sup>+</sup>)



(2) 叔丁氧羰酰异亮氨酸-脱氢丙氨酸甲酯(6b)

m. p. 102~104°C.

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.92(t, 3H, J=7.2Hz), 0.98(d, 3H, J=7.2Hz), 1.28(m, 2H), 1.48(s, 9H), 1.98(m, 1H), 3.86(s, 3H), 4.08(dd, 1H), 5.08(d, 1H, NH), 5.92(s, 1H, 烯质子), 6.64(s, 1H, 烯质子), 8.24(br. s, 1H, NH).

(3) 苄氧羰酰缬氨酸-脱氢丙氨酸甲酯(6c)

m. p. 182~184°C.

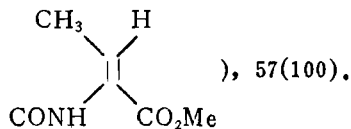
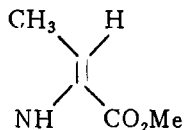
<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.96(m, 6H), 2.04(m, 1H), 3.84(s, 3H), 4.10(dd, 1H), 5.12(s, 2H), 5.40(d, 1H, NH), 5.90(s, 1H, 烯质子), 6.60(s, 1H, 烯质子), 7.33(s, 5H), 8.14(br. 1H, NH).

(4) 叔丁氧羰酰异亮氨酸-缬(噻唑)氨酸-脱氢丁氨酸甲酯(6d)

IR (CHCl<sub>3</sub>) (cm<sup>-1</sup>) 3325, 3300, 3280, 1710, 1685, 1660, 1620.

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.6~1.1(m, 12H), 1.25(m, 2H), 1.44(s, 9H), 1.64(m, 1H), 1.85(d, 3H, J=7.2Hz, 烯甲基质子), 2.40(m, 1H), 3.80(s, 3H), 4.06(dd, 1H), 5.08(br. d, 1H, NH), 5.24(dd, 1H), 6.88(br. d, 1H), 6.90(q, 1H, J=7.2Hz, 烯质子), 8.08(s, 1H), 8.66(br. 1H, NH).

MS m/e(%) 510(1.6, M<sup>+</sup>), 397(22, M<sup>+</sup>), 368(2.7, M<sup>+</sup>)

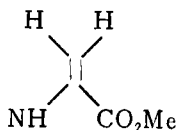
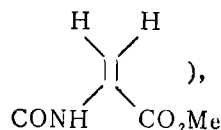


## (5) 叔丁氧碳酸异亮氨酸-缬(噻唑)氨酸-脱氢丙氨酸甲酯(6e)

m. p. 132~134°C.

IR  $\nu_{max}^{KBr}$  (cm<sup>-1</sup>) 3330, 3300, 3280, 1715, 1680, 1655, 1620.

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.5~1.1(m, 12H), 1.24(m, 2H), 1.42(s, 9H), 1.88(m, 1H), 2.40(m, 1H), 3.92(s, 3H), 4.02(dd, 1H), 5.04(d, 1H, NH), 5.22(dd, 1H), 5.96(s, 1H) 6.78(s, 1H), 6.98(br. d, 1H, NH), 8.05(s, 1H), 9.62(br. s, 1H, NH).

MS m/e(%) 496(8, M<sup>+</sup>), 383(3, M<sup>+</sup>), 355(6, M<sup>+</sup>

57(100).

## 2. 2-CL-1-(叔丁氧碳酸胺基-2-甲丁基)噻唑啉-4-甲酰-L-异亮氨酸甲酯(7a)的合成

将445mg叔丁氧碳酸-L-异亮氨酸-L-丝氨酸-L-异亮氨酸甲酯(1mmol)溶于5ml无水乙腈,加入0.42ml乙基二异丙基胺和0.3ml四氯化碳,然后在室温和搅拌下3小时内向其中滴入0.4克三苯基磷的无水乙腈(8ml)溶液。室温静置20小时后减压浓缩至干,向其中加入15ml水,用乙醚(3×20ml)抽提,抽提液合并后用水洗(2×15ml),无水硫酸钠干燥。过滤,将溶液浓缩至干,残余物用氧化铝柱层析分离(石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱),得220mg7a。

m. p. 138~139°C.

元素分析(C<sub>21</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>·H<sub>2</sub>O) 理论值: C 56.63%, H 8.76%, N 9.44%; 分析值: C 56.59%, H 8.79%, N 9.32%。

IR  $\nu_{max}^{KBr}$  (cm<sup>-1</sup>) 3320, 3300, 1740, 1670, 1645.

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.8~1.0(m, 12H), 1.04~1.08(m, 4H), 1.42(s, 9H), 1.6~2.1(m, 2H), 3.74(s, 3H), 4.2~4.8(m, 5H), 5.12(d, 1H), 6.98(d, 1H).

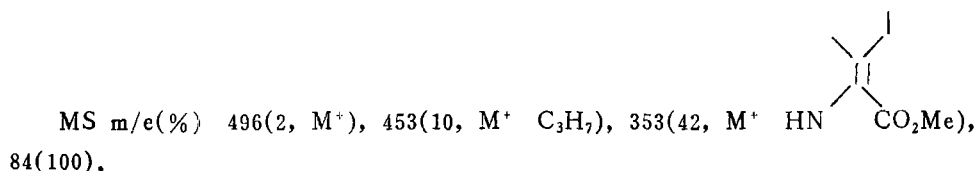
MS m/e(%) 427(1.6, M<sup>+</sup>), 57(100).

## 3. 2-[2-(1-叔丁氧碳酸氨基-2-甲丙基)噻唑-4]噻唑啉-4-甲酰-异亮氨酸甲酯(7b)的合成

将1.51g叔丁氧碳酸-D-缬(噻唑)氨酸-L-丝氨酸-L-异亮氨酸甲酯(2.9mmol)溶于15ml无水乙腈,加入1ml乙基二异丙基胺和0.85ml四氯化碳,然后在室温和搅拌下向其中滴入1.14g三苯基磷的无水乙腈(30ml)溶液(2.5小时滴完)。室温静置21小时后将溶液减压浓缩至干,剩余物中加入50ml乙醚和15ml水,充分摇匀后分去水层。乙醚层用水洗(3×20ml),无水硫酸钠干燥。乙醚溶液浓缩至10ml左右直接用柱层析分离(硅胶柱,石油醚和乙酸乙酯洗脱),得0.8g油状(7b),55%。

元素分析(C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S) 理论值: C 55.64%, H 7.25%, N 11.29%; 实验值: C 55.33%, H 7.24%, N 10.96%。

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.7~1.08(m, 12H), 1.26(m, 2H), 1.44(s, 9H), 1.88(m, 1H), 2.4(m, 1H), 3.75(s, 3H), 4.48~4.90(m, 5H), 5.36(d, 1H, NH), 7.05(d, 1H, NH), 7.90(s, 1H).



本文所用缩写符号均按文献规定。其中, Boc代表叔丁氧羰基; ILe代表异亮氨酸, Val代表缬氨酸; Val(Thz)代表缬(噻唑)氨酸; ΔBut代表脱氢丁氨酸; ΔAla代表脱氢丙氨酸。

### 参 考 文 献

- [1] J. M. Liesch and K. L. Rinehart, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, 99, 1645.
- [2] T. Kitagawa, T. Tamura, and H. Taniyama, *J. Biochem.*, 1977, 81, 1757.
- [3] H. Umezawa, T. Shiba, and T. Takita, *Bioactive Peptides*, Microorganisms, Kodansha Ltd., Tokyo. 1978.
- [4] Y. Shimohigashi, S. Lee, T. Kato, and N. Izumiya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1978, 51, 584.
- [5] Ananthachari Srinivasan, Robert W. Stephenson, and Richard K. Olsen, *J. Org. Chem.*, 1977, 42, 2256.
- [6] Shinya Nomoto, Akihiko Sano, and Tetsuo Shiba, *Tetrahedron Lett.*, 1979, 20, 521.
- [7] Yasuchika Yonezawa, Chung-gi Shin, Yuji Ono, and Juji Yoshimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1980, 53, 2905.
- [8] Chung-gi Shin, Yasuchika Yonezawa, Masatoshi Takahashi, and Juji Yoshimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1981, 54, 1132.
- [9] Chung-gi Shin, Yasuchika Yonezawa, Toyofumi Yamada, and Juji Yoshimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1982, 55, 2147.
- [10] Chung-gi Shin, Toyofumi Yamada, and Yasuchika Yonezawa, *Tetrahedron Lett.*, 1983, 24, 2175.
- [11] Chung-gi Shin, Yasuchika Yonezawa, and Toyofumi Yamada, *Chem. Pharm. Bull.*, 1984, 32, 2825.
- [12] Heimit Vorbruggen, and Konrad Krolikiewicz, *Tetrahedron Lett.*, 1981, 22, 4471.
- [13] R. G. Pearson, and R. L. Dillon, *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, 75, 2439.

## A New Synthetic Method of Dehydropeptides

Long Kanghou    Jian Zhigang    Zhong Shizhou

### Abstract

A new synthetic method of dehydropeptides, by direct coupling of N-protected amino acids or N-protected peptides with  $\beta$ -hydroxy  $\alpha$ -amino acid esters in the presence of three equivalents of each of triphenylphosphine, carbon tetrachloride, and triethylamine or ethyl diisopropylamine, was developed. Compounds synthesized by this method were Boc-DL-Ile- $\Delta$ But-oMe, Boc-DL-Ile- $\Delta$ Ala-oMe, Boc-DL-Val- $\Delta$ Ala-OMe, Boc-L-Ile-DL-Val(Thz)- $\Delta$ But-oMe, and Boc-L-Ile-DL-Val(Thz)- $\Delta$ Ala-oMe. In the case of L-threonine methyl ester, only  $\beta$ -dehydroamino acid residue was observed. A possible mechanism was proposed. It was believed that the N-protected amino acid or N-protected peptide was coupled first with  $\beta$ -hydroxy  $\alpha$ -amino acid ester, forming a peptide having a  $\beta$ -hydroxyamino acid residue at the C terminal, and then dehydration of the newly formed peptide gave dehydropeptide. The same reagents were used to synthesize peptide oxazolines. The key factor affecting reaction directions was the acidity of the protons at the  $\alpha$ -C-H bond and at the N-H bond.

**Keywords**    Dehydropeptide, Dehydroamino acid, Oxazoline