

УДК 577.122.5

© 1991 г.

ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА ПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ
ИМИНОКИСЛОТЫ*Ряховский В. В., Агафонов С. В., Косырев Ю. М.*

Рассмотрены особенности реакции конденсации по иминокислотным остаткам при использовании различных методов активации карбоксикомпонента. Обсуждены вопросы, связанные с рацемизацией и побочными реакциями при синтезе пептидов, содержащих иминокислоты.

Библиография — 90 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1817
II. Методы ацилирования иминокислот и их производных	1818
III. Побочные реакции, обусловленные наличием иминокислот в пептидах	1824
IV. Рацемизация иминокислот в пептидном синтезе	1829

I. ВВЕДЕНИЕ

В настоящем обзоре под термином иминокислота понимается Pro и N-замещенные аминокислоты, в которых заместителем являются (в подавляющем большинстве случаев метильный) радикалы¹.

До недавнего времени использование иминокислот в пептидной химии носило эпизодический характер и ограничивалось преимущественно Pro, иминогруппа которого наименее экранирована. Однако по мере расширения внимания к этой области химии, в реакцию конденсации стали вовлекаться и иные иминокислоты, а имеющийся сейчас экспериментальный материал позволяет сделать некоторые обобщенные заключения об основных особенностях и своеобразии использования иминокислот в синтезе пептидов.

При рассмотрении особенностей конденсаций по остаткам иминокислот следует выделить реакции ацилирования вторичной аминогруппы иминокислот и их производных, так как конденсации, в которых иминокислоты выступают в качестве карбоксикомпонента, практически не отличаются от таковых с участием обычных аминокислот. В этой связи приведены лишь наиболее общие особенности, характеризующие последний вариант.

Так, наличие в иминокислотных карбоксикомпонентах объемных боковых радикалов приводит к снижению скорости конденсации [2]. Алкильный заместитель у атома азота иминокислоты создает дополнительные стерические затруднения образованию пептидной связи, но этот эф-

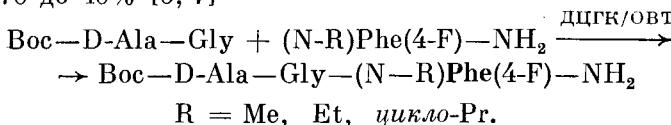
¹ В работе использованы сокращения, рекомендованные комиссией IUPAC — IUB [1], а также следующие аббревиатуры: Abu — α -аминомасляная кислота, Aib — α -аминоизомасляная кислота, BOP — бензотриазолилоксис-*трис*-(диметиламино)фосфоний гексафторфосфат, BOP-Cl—N,N-*бис*-(2-оксо-3-оксозолидинил)хлорфосфат, *трем*-Bu — *трем*-бутил, Lac — молочная кислота, (N-Me)Bmt — (4*R*)-4[*E*]-2-бутиенил]-4,N-диметил-*L*-треонин, OBT — N-оксибензтриазол, OSu — N-оксисукцини-мид, Piv-Cl — пивалоилхлорид, SPip — тиопицеколиновая кислота, ДКП — дикето-пиперазин, ДЦГК — дициклогексилкарбодиимид, ТГФ — тетрагидроуран.

фект менее значителен по сравнению с влиянием боковых радикалов. Так, в наиболее распространенных случаях активации, наличие заместителей у атома азота в N-метиламинокислотах и Pro практически не влияет на выход продукта [3].

Наличие той или иной защитной группировки у N-алкиламиногруппы карбоксикомпонента начинает оказывать существенное влияние на реакционную способность карбоксильной группы лишь в случаях стерически наиболее затрудненных конденсаций, причем лучшие выходы достигаются при использовании Z- и Fmoc- по сравнению с Вос-защищенной аминогруппы [4].

II. МЕТОДЫ АЦИЛИРОВАНИЯ ИМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Несмотря на повышенную нуклеофильность иминогруппы (pK которой на 1–1,5 единицы выше, чем у аминогруппы [5]), что должно способствовать ацилированию, продолжительность конденсации в обсуждаемых случаях резко увеличивается, а выходы пептидов снижаются. Этот факт объясняется экранированием нуклеофильного центра, которое проявляется в наименьшей степени в случае Pro и возрастает с увеличением объема N-алкильного заместителя. Например, в синтезе трипептидных фрагментов аналога энкефалина при увеличении объема радикала R выходы снижаются от 70 до 40% [6, 7].



Способность иминокислот подвергаться ацилированию также снижается с увеличением у них объема бокового радикала и наличием разветвлений у α - и β -атомов углерода [5]. Таким образом, при ацилировании иминокислотных остатков главную роль играют стерические факторы, что необходимо учитывать при выборе варианта реакции конденсации.

До недавнего времени специальные методы ацилирования остатков иминокислот не были разработаны и для этого использовались традиционные ацилирующие реагенты: активированные эфиры, симметричные или смешанные ангидриды аминокислот. Для активации карбоксикомпонента использовался также карбодиимидный метод.

1. Метод активированных эфиров

Для осуществления нуклеофильной атаки карбонильного атома углерода карбоксикомпонента иминокислотой, карбоксильная группа должна быть хорошо активирована



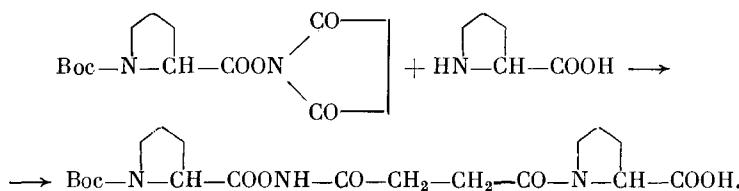
где R^1 — боковой радикал карбоксикомпонента, Y, R^2 — защитные группировки, R^3 — алкил, R^4 — боковой радикал аминокомпонента, X — электроноакцепторная группа.

Пентафторфениловые эфиры довольно успешно используются для ацилирования иминокислот, особенно Pro [8, 9]. При этом, если конденсация ведется по наименее стерически экранированным остаткам Pro или (N—Me)Ala, то для полного завершения реакции требуется от 1 ч до 1 сут, в то время как при конденсациях этим методом по первичной аминогруппе продолжительность реакции составляет от 5 до 30 мин и сравнима с продолжительностью ацилирования ангидридами.

Электроноакцепторные свойства пентахлор- и пентафторфенола однозначно связаны с их pK (5,2 и 5,5 — соответственно), которые и определяют реакционную способность соответствующих активированных эфиров. Однако хотя пентахлорфенол является более сильной кислотой за счет более слабого $+M$ -эффекта [5], соотношение скоростей аминолиза первичной аминогруппой пентахлор- и пентафторфениловых эфиров составляет 1 : 40. Это связывают с пространственным экранированием электрофильтного центра атомами хлора в орто-положении, в то время как атомы фтора, имеющие малый атомный радиус, такого экранирования не производят [5]. Таким образом, употребление пентахлорфениловых эфиров для ацилирования иминокислот вряд ли целесообразно.

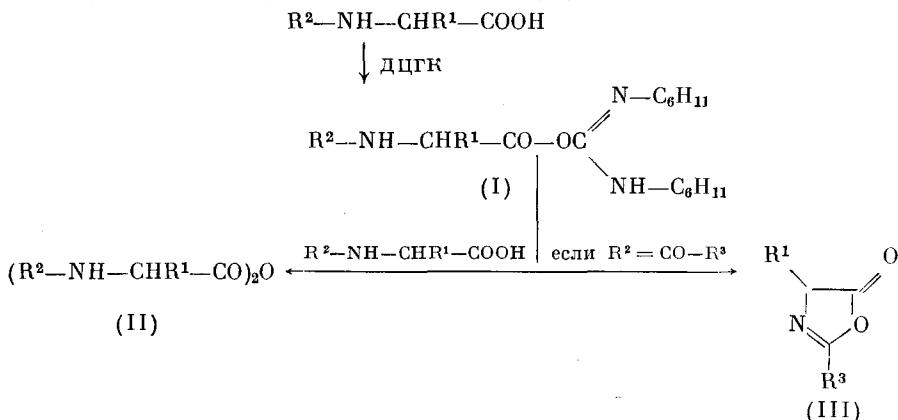
2,4,5-Трихлорфениловые эфиры аминокислот удовлетворительно ацилируют остатки (N-Me)Ala и Pro при катализе ОВТ [9, 10]. Не исключено, что в данном случае истинными ацилирующими реагентами являются ОВТ-эфиры.

В случае применения OSu-эфиров, которые не обладают достаточной реакционной способностью, наблюдается побочная реакция сукцинилирования остатков иминокислот [11–13]



2. Карбодиимидный метод

В середине 50-х г. в практику пептидного синтеза был введен ДЦГК [14]. При взаимодействии эквимолярных количеств ДЦГК и активирующей аминокислоты с уретановой защитой образуется смесь О-ацилизомочевины (I) и симметричного ангидрида (II)



Ангидриды (II) довольно легко ацилируют остатки иминокислот, а эффективность О-ацилизомочевины (I) в качестве ацилирующего реагента для иминокислот не подвергалась оценке. При наличии уретановой защиты аминогруппы карбоксикомпонента, которая обеспечивает минимальную его рацемизацию, использование ДЦГК-метода обычно приводит к хорошим результатам при длительном (сутки и более) проведении процесса в интервале температур от 0 до 20° С [3, 15–18]. При прочих равных условиях, активация карбоксикомпонента ДЦГК приводит к более высоким выходам, чем при употреблении гидрохлорида 1-этил-3-(диметилами-

но)пропильтарбодиимида [19]. При активации ДЦГК-методом фрагментов, не содержащих С-концевого Pro, или N-ациламиноислот без уретановой защиты, в качестве ацилирующего агента может выступать также оксазолон (III), эффективность которого по отношению к иминокислотам также не ясна [11].

В последнее время, из-за многочисленных побочных реакций и рацемизации при фрагментных конденсациях, активацию карбоксикомпонента чаще проводят ДЦГК в присутствии ОВТ или OSu, которые позволяют подавить образование N-ацилмочевины и свести к минимуму рацемизацию аминокислотного остатка. Продолжительность ацилирования при этом не изменяется [20]. В литературе описано много примеров использования ДЦГК/ОВТ-метода для ацилирования иминокислот с удовлетворительными и хорошими выходами [6, 7, 9, 13, 21]. Однако для реакций Piv—Pro с (N-Me)Phe—OMe и Boc-D-Ala—(N-Me)Leu—(N-Me)Leu с (N-Me)Val—OBzl метод ДЦГК/ОВТ не приводит к образованию нужного продукта, причем в последнем случае реакция не идет даже в кипящем ТГФ [2, 22].

Для ацилирования остатков иминокислот ДЦГК/OSu-метод используется не так часто как метод ДЦГК/ОВТ, но есть примеры достаточно успешного его применения. Так, в реакции Boc—Ala с (N-Me)Leu—OBzl при использовании ДЦГК/OSu-метода выход составил 96%, а при взаимодействии Z—Pro с Sar—(N-Me)Val—OBu-*tert*—82% [3, 23]. С другой стороны, в конденсации Z—Val с (N-Me)Leu—OBu-*tert* выход составил 10%, а при использовании предварительно полученного Z—Val—OSu — всего 2%. При этом в аналогичных условиях ДЦГК/ОВТ-метод дал выход 50% [13]. Однако имеются многочисленные данные по ацилированию этим методом наименее стерически затрудненного остатка Pro, когда при 20° С и продолжительности реакции 20—48 ч выходы составляют от 60 до 80% [24—26]. Неудачным оказалось использование ДЦГК/OSu-метода для реакции Z—Arg(Z₂)—Arg(Adoc₂) с Pro—Pro—Lys(Boc)—Gly [27]. Указывается также, что ДЦГК/ОВТ-метод дает меньше побочных продуктов, чем метод ДЦГК/OSu [21].

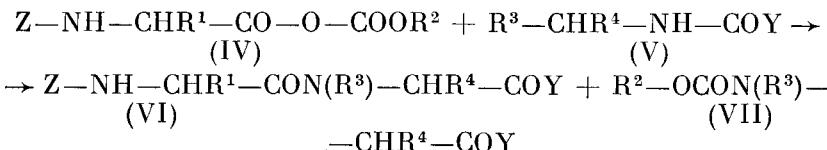
3. Метод симметричных ангидридов

Этот метод является вариантом ДЦГК-метода, когда в реакцию с ДЦГК вовлекается двойной избыток карбоксикомпонента. При этом первоначально образовавшаяся O-ацилизомочевина (I), взаимодействуя с избытком карбоксикомпонента, превращается в симметричный ангидрид (II). В настоящее время метод симметричных ангидридов является наиболее используемым в твердофазном синтезе и часто дает хорошие результаты при получении пептидов, содержащих иминокислоты. Так, этим путем с выходом 60% был получен аналог вещества Р, содержащий (N-Me)Phe и Sar [28]. Однако в этом случае однократное ацилирование остатка иминокислоты требует не менее 16 ч реакционного времени, вместо 30 мин — 1 ч в обычном варианте [5, 28]. Повышение температуры процесса способствует увеличению скорости реакции и выхода желаемого продукта. Так, при нагревании ангидрида Boc—Pro с D-(N-Me)Leu—OMe до 130° С в течение 5 мин получен дипептид с выходом 97%. По данным спектроскопии ЯМР продукт содержит примесь эпимера [19].

Серьезным ограничением карбодиимида метода является невозможность получения ангидридов из пептидных фрагментов и аминокислот без уретановой защиты, хотя они образуются из любых N-ацилзамещенных производных Pro и, возможно, других иминокислот [11]. Метод симметричных ангидридов дает также всю гамму побочных продуктов, связанных с использованием ДЦГК в пептидной химии.

4. Метод смешанных ангидридов с алкилугольными кислотами

Из традиционных методов образования пептидной связи для ацилирования иминокислот наиболее часто использовался метод смешанных ангидридов с алкилугольными кислотами [20]



Однако несмотря на высокую реакционную способность ангидридов (IV), выход пептида (VI) зачастую ниже, чем при использовании карбодиимидного метода. Основной причиной этому служит наличие у карбоксикомпонента (IV) двух реакционных центров и обусловленная этим неоднозначность реакции. Преимущественное направление атаки зависит от природы заместителей R^1 , R^2 и R^3 . Так, наличие радикалов R^1 и R^3 затрудняет образование пептида (VI) тем сильнее, чем больше их молярный объем и степень разветвления [29, 30]. В ряде случаев метод смешанных ангидридов вообще не пригоден. Например, в реакциях $\text{Boc}-D\text{-Ala}-(\text{N-Me})\text{Leu}-(\text{N-Me})\text{Leu}$ с $(\text{N-Me})\text{Val}-\text{OBzI}$ (-20°C , 26 ч) [22]; $\text{Boc}-\text{Phe}$ с фрагментом, содержащим N-концевой $(\text{N-Me})\text{Ala}$ [9]; $\text{Boc}-\text{Ile}$ с $\text{Pro}-\text{Leu}-\text{Ser}(\text{BzI})-\text{Arg}(\text{NO}_2)-\text{Leu}-\text{Phe}-\text{OMe}$ [31] — он не приводит к образованию желаемых продуктов.

Разветвленный радикал R^2 повышает электронную плотность на карбонильном атоме углерода остатка алкилугольной кислоты и в какой-то мере экранирует его, чем уменьшает возможность атаки последнего иминогруппой. Ацилирование иминокислот с использованием смешанных ангидридов изобутилугольной кислоты (IV), $\text{R}^2 = \text{изо-Ви}$, является более предпочтительным по сравнению с употреблением ангидридов этилугольной кислоты (IV), $\text{R}^2 = \text{Et}$ [20]. Так, при ацилировании трипептида, содержащего N-концевой остаток Pro, смешанным ангидридом этилугольной кислоты с выходом 61% получен уретан $\text{EtOC(O)-Pro-Lys(For)-Asp}$ [32]. Использование ангидридов изобутилугольной кислоты также сопровождается образованием уретанов (VII) [33—35], причем их выход зависит от выбора растворителя, в котором проводится конденсация, а также от типа используемого основания. Так, для реакции $\text{Z}-\text{Gly}-\text{Phe}$ с $\text{Pro}-\text{OMe}$ выход уретана повышается от 13 до 33% в ряду: ТГФ, хлороформ, ДМФА [36]. Минимальное количество уретана образуется при использовании для получения ангидридов (IV) N-метилморфолина или N-метилпиперидина [37].

На выход продукта значительное влияние оказывает и молекулярная масса как имино-, так и карбоксикомпонента [20]. Например, выходы при фрагментных конденсациях $\text{Boc}-D\text{-Ala}-\text{Gly}$ и $\text{Boc}-\text{Tug}-D\text{-Ala}-\text{Gly}$ с $(\text{N-Me})\text{Phe}-\text{Met-ol}$ составили 70 и 50% соответственно [38].

Несмотря на относительную стабильность чистых смешанных ангидридов (IV) при температурах до 25°C , они в присутствии даже следов основания, которым может служить и сам аминокомпонент (V), диспропорционируют с образованием симметричных ангидридов [22, 39]. Для подавления этого процесса конденсации проводят при $-20 : -15^\circ\text{C}$, однако для повышения выхода, реакцию желательно проводить при более высокой температуре.

Из всех перечисленных выше реагентов, симметричные ангидриды являются наиболее приемлемыми для ацилирования иминокислот, но в самых стерически затрудненных конденсациях типа $\text{Boc}-(\text{N-Me})\text{Val}$ с $(\text{N-Me})\text{Val}-\text{OBu-}t$, даже они не эффективны [2].

5. Метод смешанных ангидридов с пивалиновой кислотой и кислотами фосфора

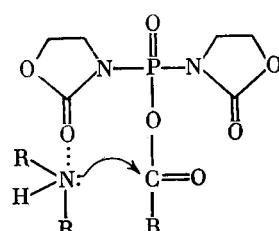
К настоящему времени наиболее известными и широко применяемыми реагентами для ацилирования иминокислот являются смешанные ангидриды, полученные на основе $\text{Piv}-\text{Cl}$ и $\text{BOP}-\text{Cl}$, которые, в частности, были с успехом использованы в синтезе циклического ундеокапептида Циклоспорин А и его аналогов, в составе которых содержится семь иминокислот [22, 40–42].

С 1962 г. в пептидной химии начал использоваться $\text{Piv}-\text{Cl}$ [43]. Однако в обычных конденсациях метод смешанных ангидридов с пивалиновой кислотой не получил широкого распространения, по-видимому из-за возможности образования N -пивалоилпептидов [20]. Например, в реакции ацетонида (N - Me) Bmt с $\text{Abu}-\text{Sar}-(\text{N}-\text{Me})\text{Leu}-\text{Val}-(\text{N}-\text{Me})\text{Leu}-\text{Ala}-\text{OBzI}$, получена смесь гептапептида и N -пивалоилгексапептида в соотношении 1 : 1 [42]. Однако позднее было показано, что при ацилировании иминокислот смешанными ангидридами пивалиновой кислоты не происходит образования N -пивалоилпептидов [22]. Другими достоинствами этого метода являются высокая ацилирующая способность такого ангидрида и его термическая устойчивость до 50° С даже в присутствии триэтиламина и N -метилморфолина, что позволяет осуществлять самые стерически затрудненные конденсации [2, 22].

К недостаткам этого метода ряд авторов [2, 44] относит значительную продолжительность стадии образования смешанного ангидрида пивалиновой кислоты, которую проводят в хлороформе. При этом отмечается, что выход целевого пептида сильно зависит от продолжительности активации. Так, для реакции $\text{Boc}-D\text{-Ala}-(\text{N}-\text{Me})\text{Leu}-(\text{N}-\text{Me})\text{Leu}$ с ($\text{N}-\text{Me}$) $-\text{Val}-\text{OBzI}$ выход тетрапептида составляет 60% при активации карбоксикомпонента $\text{Piv}-\text{Cl}$ в течение 2 ч и 88% — для 4 ч [22]. Однако при проведении активации в ТГФ образование смешанного ангидрида пивалиновой кислоты завершается через 5–20 мин при –20° С [13, 45, 46].

Активация иминокислот с уретановой защитой с помощью $\text{Piv}-\text{Cl}$ не сопровождается рацемизацией даже при повышенной температуре. Только в случае чрезвычайно стерически затрудненной конденсации $\text{Z}-(\text{N}-\text{Me})\text{Val}$ с ($\text{N}-\text{Me}$) $\text{Val}-\text{OBu-}tr\text{-p}$ в течение 24 ч при 50° С в дипептиде было обнаружено 6% эпимера [2]. Фрагментные конденсации с использованием $\text{Piv}-\text{Cl}$ сопровождаются рацемизацией, степень которой зависит от большого числа факторов [2, 22, 40].

В 1980 г. $\text{BOP}-\text{Cl}$ был предложен как реагент для синтеза эфиров и других производных карбоновых кислот [47]. Впервые его высокая эффективность при образовании пептидных связей по остаткам иминокислот была показана в 1985 г. [4]. Для объяснения этого эффекта предложена схема электрофильного катализа на стадии конденсации [2]



Отмечается, что при проведении стерически очень затрудненных конденсаций $\text{BOP}-\text{Cl}$ является более эффективным реагентом по сравнению с $\text{Piv}-\text{Cl}$ [2, 4]. Так, в реакции смешанного ангидрида $\text{Z}-(\text{N}-\text{Me})\text{Val}$ и пивалиновой кислоты с ($\text{N}-\text{Me}$) $\text{Val}-\text{OBu-}tr\text{-p}$ положительный резуль-

тат достигается только при повышенной температуре, тогда как BOP—Cl в этой конденсации позволяет получить продукт с выходом 92% за 48 ч при 20° С [2]. По мере уменьшения стерических ограничений различия в выходах продукта при использовании BOP—Cl или Piv—Cl уменьшаются. Так, в реакции Z—Pro—(N-Me)Phe с (N-Me)Ala—OBu-*tert* оба реагента приводят к образованию трипептида с выходом 85%, причем в данной конденсации в случае Piv—Cl рацемизация составляет 38%, тогда как при употреблении BOP—Cl — 64% [2]. В других примерах это соотношение меняется. Обычно использование BOP—Cl сопровождается меньшей, по сравнению с Piv—Cl, рацемизацией при фрагментных конденсациях [2]. Это, возможно, объясняется большей реакционной способностью смешанного ангидрида карбоксикомпонента с диамидом фосфорной кислоты по сравнению с его смешанным ангидридом на основе пивалиновой кислоты, поэтому большая продолжительность конденсации во втором случае ведет к увеличению степени рацемизации карбоксикомпонента [48].

Еще одним достоинством BOP—Cl является возможность его использования в качестве конденсирующего реагента в одноколбовом методе синтеза, без выделения в отдельную стадию преактивации карбоксикомпонента, тогда как аналогичный метод с использованием Piv—Cl приводит к образованию до 40% N-пивалоилпептида [22], что объясняется более низкой по сравнению с карбоксилат-анионом активностью BOP—Cl к аминогруппе [49]. Однако лучшие результаты достигаются все же при проведении отдельной стадии получения смешанного ангидрида карбоксикомпонента и диамидфосфорной кислоты, так как в противном случае образуется некоторое количество примеси BOP-аминокомпонента [2].

Проведение стерических затрудненных конденсаций с помощью BOP—Cl, как и в случае Piv—Cl, может сопровождаться небольшой рацемизацией карбоксикомпонента даже при наличии уретановой защиты его аминогруппы. Например, в реакции Z—(N-Me)Val с (N-Me)Val—OBu-*tert* получено 4% эпимера [8]. В этом случае рацемизацию можно подавить добавкой ОВТ, но не OSu [2]. Однако при добавлении ОВТ общий выход дипептида резко падает (с 92 до 21%). Этот факт легко объясняется обусловленным стерическими факторами образованием ОВТ-эфира карбоксикомпонента, который является малоэффективным ацилирующим агентом в таких трудных конденсациях.

Интересно также отметить, что BOP—Cl оказался неэффективен в конденсациях C- α -метиламинокислот. Например, после проведения реакции Boc—Aib с Aib—OBzI не было обнаружено желаемого продукта [4].

К недостаткам использования BOP—Cl для активации как иминокислот, так и аминокислот можно отнести возможность диспропорционирования таких смешанных ангидридов, особенно при большой продолжительности реакции [2, 4]. Отмечается также относительно плохая растворимость BOP—Cl в некоторых органических растворителях, обычно применяемых в пептидном синтезе [41].

Вместо BOP—Cl для активации карбоксикомпонента может быть использован BOP-азид, который является достаточно устойчивым соединением. При проведении преактивации BOP-азидом (10 мин, 0° С) в конденсациях Boc—Ala с (N-Me)Phe и Z—Phe с (N-Me)Ala—OMe за 4 ч выход дипептидов составил 60% [50].

Описано использование в качестве активирующего реагента диэтилцианфосфиноксида, который в конденсации Boc—Pro с D-(N-Me)Phe—D-Ala—Val—Ant—OMe (2 ч, 0° С; затем 24 ч, 20° С) привел к образованию пентапептида с выходом 89% [51].

В последнее время появились данные об использовании дифенилхлорфосфина в качестве высокоеффективного активирующего реагента, исполь-

зумого в реакции ацилирования остатков иминокислот [13, 52—55]. Преимущества этого реагента перед BOP—Cl показаны на примерах активации как аминокислот, так и иминокислот в синтезе фрагментов циклоспорина [54]. Использование дифенилхлорфосфина для активации карбоксикомпонента с уретановой защитой аминогруппы не сопровождается рацемизацией последнего, а процесс образования смешанного ангидрида аналогичен активации с помощью Piv—Cl [53, 54]. К преимуществам дифенилхлорфосфина относится быстрота образования и устойчивость к диспропорционированию смешанных ангидридов на его основе [48, 56].

Из новых конденсирующих реагентов следует отметить бензотриазолилокси-*трет*-(диметиламино)фосфоний гексафторфосфат, с помощью которого осуществлена фрагментная конденсация по остатку (N-Me)Bmt без рацемизации карбоксикомпонента [40, 57].

Использование прочих методов конденсации по иминокислотным остаткам носит эпизодический характер. Так, недавно был предложен новый реагент 1,2-дигидро-4,6-диметил-2-тиооксо-3-пиридинкарбонитрил, при употреблении которого был осуществлен синтез защищенного фрагмента циклоспорина (8—11) без рацемизации и с выходами на стадиях конденсации 80—87% [58]. Интересно, что этот реагент можно использовать для наращивания цепи как путем традиционной активации карбоксильной группы, так и путем активации аминогруппы аминокомпонента. Для осуществления конденсации в этом случае необходимо также наличие квимолярного количества трифенилфосфина [58].

Аидный метод иногда применяется для фрагментных конденсаций по остатку Pro [59]. N-Карбоксиангидридный метод дает плохие результаты для подобных конденсаций [60]. Отмечается хорошие результаты использования К-реагента Вудворда в твердофазном синтезе для ацилирования иминокислот [61].

III. ПОБОЧНЫЕ РЕАКЦИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАЛИЧИЕМ ИМИНОКИСЛОТ В ПЕПТИДАХ

Наряду с описанными выше особенностями использования иминокислот в пептидном синтезе, возникают также осложнения при получении их эфиров и амидов, а также при удалении защитных группировок. Все эти процессы идут значительно труднее или сопровождаются побочными реакциями, которые отсутствуют при работе с незамещенными аминокислотами.

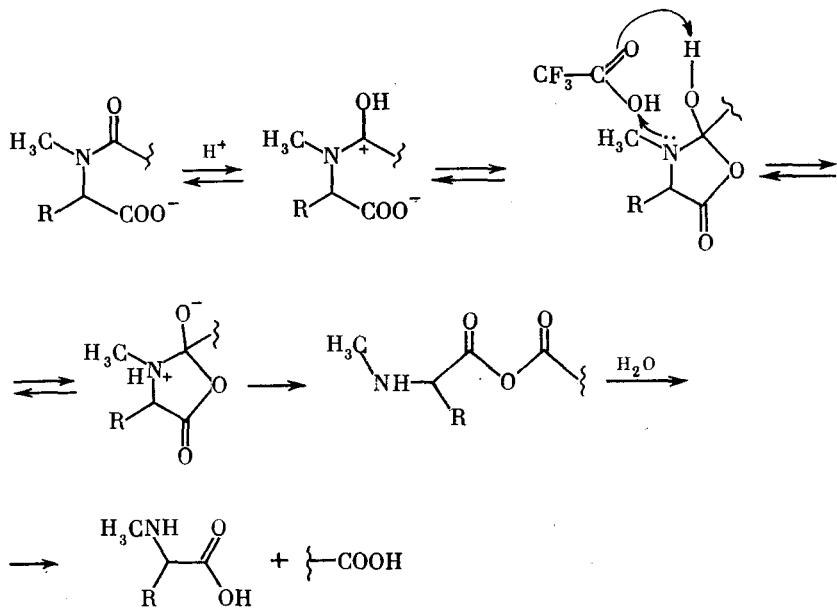
Так, например, Sar—OMe может быть получен лишь с низким выходом при использовании раствора хлористого тионила в метаноле, тогда как Gly и многие другие аминокислоты в этих условиях дают очень хорошие выходы метиловых эфиров [62]. Третбутиловый эфир Val получают в течение 4 часов при 20° С с количественным выходом при использовании изобутилена в присутствии серной кислоты. В этих же условиях для (N-Me)Val реакция не завершается даже за 96 ч [41].

Омыление алкиловых эфиров иминокислот протекает значительно труднее, чем в случае соответствующих производных незамещенных аминокислот. Так, в одинаковых условиях скорость омыления Sar—OMe в 5 раз ниже, чем для Gly—OMe [62], а гидролиз Lac—Pro—D-(N-Me)—Leu—OMe даже при трехкратном избытке гидроокиси натрия за 2 ч протекает лишь на 90% [19]. Отмечается также, что невозможно получить гидразид Bz—(N-Me)Val из его метилового эфира действием гидразин-гидрата [21]. Аналогично затруднен и аммонолиз алкиловых эфиров иминокислот, поэтому их амиды получают путем обработки активированного эфира или смешанного ангидрида защищенной иминокислоты ами-

ном [6, 7, 63]. Иногда используют обходной метод, получая амид аминокислоты с последующим алкилированием ее аминогруппы [6, 7]. Аналогичный прием используют в синтезе фрагментов, состоящих только из иминокислот. Например, при обработке трипептида $\text{Boc}-\text{Leu}-\text{Leu}-\text{Val}-\text{OBzI}$ иодистым метилом в присутствии окиси серебра происходит метилирование атомов азота во всех трех аминокислотных остатках [44]. Для предотвращения метилирования уретанового атома азота применяют более мягкие условия (CH_3I , K_2CO_3 , 18-краун-6, ДМФА, 20°C) [64]. Такой метод синтеза трипептидных последовательностей из иминокислот позволяет избежать образования циклических дипептидов (ДКП) при конденсации «1 + 2» [44].

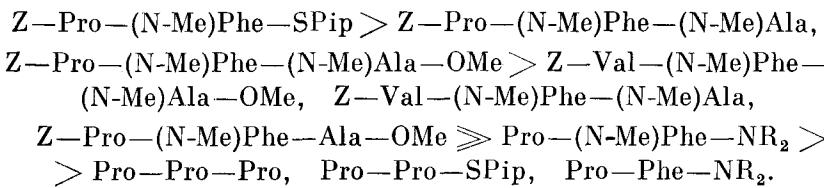
В последнее время появились данные о легком разрыве пептидной связи при обработке кислотами пептидов, содержащих последовательности из двух и более иминокислот [65, 66]. Предлагается два механизма, по которым может идти такое расщепление. Первый из них, когда процесс гидролиза не зависит от силы кислоты, в среде которой он протекает, получил название — экзопептотолиз. Второй, зависящий от силы кислоты, был назван — эндопептотолиз. Оба механизма предполагают легкость перехода пептидной связи в *цис*-форму и пространственное сближение соответствующих частей молекулы.

Экзопептотолиз можно проиллюстрировать на примере дипептида $\text{Tfa}-(\text{N}-\text{Me})\text{Phe}-(\text{N}-\text{Me})\text{Ala}$, который в среде муравьиной кислоты расщепляется по пептидной связи за 120 ч при 20°C на 29%, а в трифторуксусной кислоте в тех же условиях — на 21% [65]. В то же время, алкиловые эфиры этого дипептида устойчивы в трифторуксусной кислоте [65, 66]. Авторы [65] предлагают следующий механизм экзопептотолиза



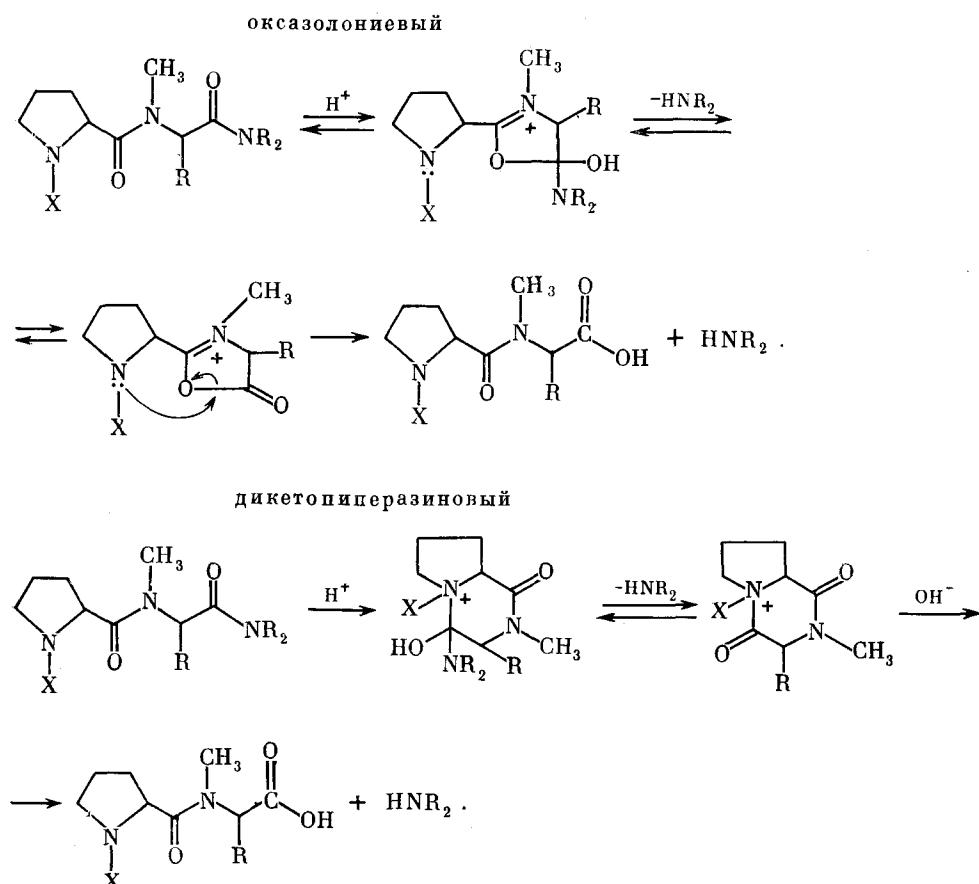
Эндопептотолиз характерен для трипептидов, построенных из иминокислот, причем N-концевое положение может быть занято остатком Gly. В кислой среде у таких трипептидов легко расщепляется пептидная связь между второй и третьей иминокислотой, особенно в тех случаях, когда N-концевой иминокислотой является Pro [66]. Скорость гидролиза таких трипептидов резко зависит от силы кислот, в среде которых осуществляется реакция: трифторуксусная \gg муравьиная \gg уксусная кислота. Чувствительность трипептидов к кислотному расщеплению пропорциональна

с терическим напряжению амидной связи между второй и третьей имино-кислотами, за исключением случая, когда в триаде первые два положения заняты остатками Pro [66]:



В некоторых случаях гидролиз идет настолько легко, что при деблокировании трипептида $\text{Z-Abu-Pro-(N-Me)Phe-SPip-OBu-tert}$ отщепление C-концевой иминокислоты осуществляется быстрее, чем снимается третибутильная защита. Эндопептолиз затруднен, если в триаде N-концевой является незащищенная иминокислота или дипептид Pro-Pro. Если последовательность состоит из чередующихся *L*- и *D*-изомеров иминокислот (*L*-, *D*-, *L*-), то скорость эндопептолиза на два порядка ниже, чем для последовательностей, содержащих только *L*-изомеры. Так, трипептид $\text{Z-Pro-D-(N-Me)Phe-(N-Me)Ala-OBu-tert}$ в присутствии трифторуксусной кислоты не разлагается в течение нескольких суток, а его *L*-(N-Me)Phe аналог в тех же условиях полностью разлагается за 15 мин [2]. Дипептид $\text{Z-Pro-D-(N-Me)Phe-NMe}_2$ в трифторуксусной кислоте остается неизменным в течение суток, тогда как его *L*-аналог в тех же условиях за 14 ч полностью теряет группу $-\text{NMe}_2$ [66]. Это может

Схема

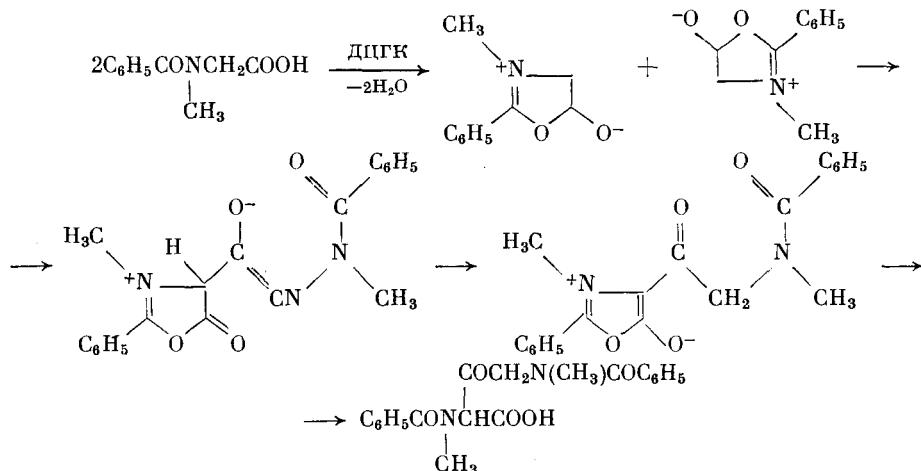


быть объяснено тем, что энергетический барьер перехода *транс*-амидной связи в *цис*-конфигурацию для *L*-, *D*-пары аминокислот в триаде выше, чем для *L*-, *L*-пары. Таким образом, вполне определено можно считать, что при кислотной обработке конформационный фактор играет важнейшую роль в устойчивости пептидной связи между аминокислотами.

Для реакции эндопептолиза предложено два возможных механизма [66] (второй является более предпочтительным) (см. схему на с. 1826).

Аналогичные процессы, по-видимому, наблюдались и при синтезе циклоспорина, когда, например, деблокирование ундекапептида Вос—*D*-Ala—(N-Me)Leu—(N-Me)Leu—(N-Me)Val—(N-Me)—Bmt—Abu—Sar—(N-Me)Leu—Val—(N-Me)Leu—Ala раствором трифторуксусной кислоты в хлороформе при 0° С с последующей нейтрализацией избытка кислоты, приводило к сложной смеси продуктов, среди которых имелись пептиды с укороченными последовательностями. Избежать побочных реакций в этом случае удалось понижением температуры процесса деблокирования до —20° С [40, 42].

Побочная реакция С- α -ацилирования остатка Sar, наблюдаемая при использовании карбодиимидного метода, также осуществляется по оксазолониевому механизму [67].



Чрезвычайно актуальной проблемой использования аминокислот в пептидном синтезе является легкость образования ДКП из некоторых производных пептидов. Прежде всего это касается реакций конденсации, где в качестве аминокомпонента выступает эфир дипептида, содержащий С-концевую аминокислоту. В этом случае энергии *цис*- и *транс*-конфигураций пептидной связи близки, и для образования ДКП необходимо преодолеть значительно меньший энергетический барьер *транс*-*цис*-перехода (так как ДКП существуют только в виде *цис*-, *цис*-изомеров), чем в случае дипептида, не содержащего аминокислот [3, 5, 20, 68]. В рассмотренном случае образование ДКП чаще всего катализируется основаниями, особенно избытком третичного амина, часто присутствующим в реакционной массе [5, 68, 69]. Скорость образования ДКП, кроме присутствия катализатора, зависит от ряда факторов. Наличие боковых радикалов и радикалов у атома азота в аминокислотах, входящих в состав дипептида, дает энергетический выигрыш при образовании шестичленного ДКП-цикла за счет энтропийного фактора. Большое значение при нуклеофильной атаке карбонильного атома углерода аминогруппой имеют стерические препятствия, которые особенно возрастают при наличии в N-концевой аминокислоте бокового радикала [68, 69].

Скорость циклизации эфиров дипептидов, состоящих из двух иминокислот, видимо, также достаточно высока за счет повышенной нуклеофильности вторичной аминогруппы [11]. Так, образование ДКП из дипептида (N-Me)Leu—(N-Me)Val—OBzI стало основным препятствием в синтезе фрагмента циклоспорина (7—11) при наращивании пептидной цепи с С-конца [22]. Процесс образования ДКП может не только конкурировать с синтезом пептида, но и полностью исключать возможность его получения при использовании в качестве аминокомпонента эфира дипептида. Особенно опасен этот процесс, видимо, при использовании в качестве аминокомпонента эфиров дипептидов, состоящих из двух иминокислот, так как в этом случае резко возрастает продолжительность конденсации при достаточно высокой скорости образования ДКП.

Наличие бокового радикала в С-концевой иминокислоте, по-видимому, не оказывает существенного влияния на скорость образования ДКП, в то время как вид третичного амина и растворителя, в котором проводится конденсация, сказываются существенно [68, 69].

Проблема образования ДКП из эфиров дипептидов с С-концевой иминокислотой характерна не только для синтеза в растворе, но и для твердофазного метода синтеза пептидов на основе хлорметилированной смолы. В случае такой полимерной подложки, ДКП легко образуется из замещенного бензилового эфира дипептида на стадии нейтрализации дипептидилполимера третичным амином после деблокирования [70]. В аналогичной ситуации, при использовании в качестве полимерной подложки сефадекса LH-20, также отмечено образование ДКП [71].

Кроме того наблюдалось, что при использовании ДЦГК-метода конденсации в твердофазном синтезе на хлорметилированной смоле, ДКП образуется и на стадии уравновешивания дипептидилполимера раствором следующей аминокислоты [72]. В этом случае имеет место кислотный катализ образования ДКП, который нашел многочисленные подтверждения и в классическом методе синтеза пептидов. В этом случае ДКП чаще всего образуется при удалении защитных группировок у эфиров дипептидов кислотами, имеющими р_K 3—5. Конкретное выражение этого эффекта находит при удалении Z-группы гидрированием в растворах, содержащих уксусную кислоту или, например, при удалении 2-(4-бифенилил)-пропил-2-оксикарбонильной защиты муравьиной кислотой [18, 73]. Механизм такого катализа, видимо, близок к механизму общего кислотного катализа.

Следует отметить, также, опасность образования ДКП из эфиров дипептидов с С-концевой иминокислотой при удалении Fmoc-защиты действием таких сильных органических оснований как пиперидин и диэтиламин [74, 75]. При использовании в этом случае 4-(аминометил)-пиперидина из бензиловых эфиров дипептидов, даже не содержащих иминокислот, образуется 10—20% ДКП [74].

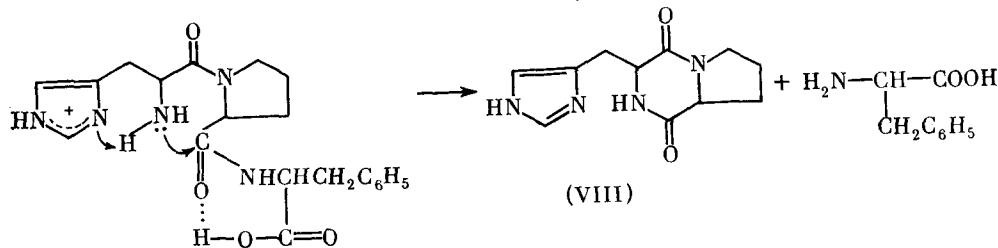
Если вместо алкилового или бензилового эфиров в реакцию конденсации вводится фенациловый эфир дипептида, то вероятность образования ДКП возрастает [5], поэтому для предупреждения этого процесса рекомендуется использовать третбутиловые эфиры дипептидов [3, 22].

В некоторых случаях циклизация в ДКП может иметь место даже у N-защищенных пептидов. Например, 4-нитрофениловый эфир дипептида Z—Gly—Pro образует (N—Z)-замещенный ДКП, а в ходе конденсации Z—(N-Me)Val с (N-Me)—Val—OBu-*tert* при использовании BOP—Cl, а особенно Piv—Cl при повышенной температуре, получается до 10% соответствующего ДКП, механизм образования которого не ясен [2, 75].

Из трипептида циннамилоксикарбонил-Pro—(N-Me)Phe—(N-Me)Ala—OMe в процессе колоночной хроматографии на силикагеле образуется ДКП цикло-[(N-Me)Phe—(N-Me)Ala] и отщепляется защищенный Pro [76].

Хотя считается, что трифторацетаты и особенно гидрохлориды эфиров дипептидов, состоящие из любых аминокислот, вполне устойчивы [72], трифторацетат дипептида (N-Me)-Phe-(N-Me)-Ala-OMe превращается в ДКП при хранении в растворе хлороформа [76].

Известно также, что и амиды дипептидов, содержащих С-концевую иминокислоту, склонны к образованию ДКП [77, 78]. Например, дипептид Phe(4-NO₂)-Pro-NH₂ образует ДКП в процессе перекристаллизации [78]. Отмечены отдельные случаи подобного трансамидирования при получении некоторых трипептидов. Так, при обработке трипептида His-Pro-Phe 50%-ной уксусной кислотой, за 24 ч при 20° С проходит отщепление Phe и образование ДКП (VIII). В тех же условиях трипептид Trp-Pro-Phe устойчив и не обнаруживает следов разложения в течение 24 ч. Промежуточное положение между этими соединениями по устойчивости занимает метиловый эфир первого трипептида. По мнению авторов [79], нестабильность трипептида His-Pro-Phe объясняется сочетанием благоприятных для образования ДКП конформационных факторов с так называемым внутримолекулярным катализом [79].

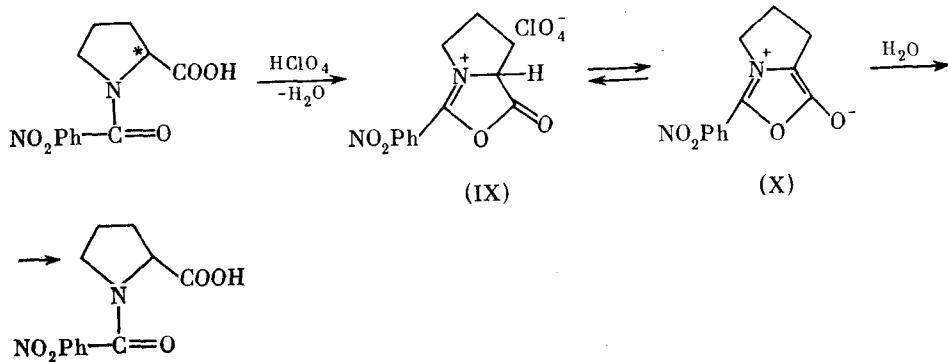


Описано также внутримолекулярное трансамидирование в трипептиде D-Val-Pro-Sar, который при хранении в течение 3 нед при 20° С разлагается на 50 %. При этом отмечается, что у гидрохлорида этого пептида в тех же условиях не обнаруживалось признаков разложения [80].

Повышенную склонность к реакции внутримолекулярного трансамидирования показал и трипептид Aib-Pro-Trp [81].

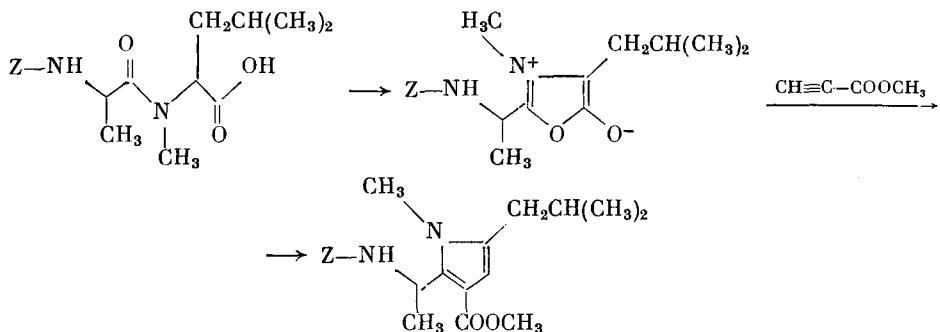
IV. РАЦЕМИЗАЦИЯ ИМИНОКИСЛОТ В ПЕПТИДНОМ СИНТЕЗЕ

Пролин является единственной широко распространенной в природе иминокислотой и давно используется в пептидном синтезе. Наряду с Gly, Pro отводится важная роль в качестве С-концевого остатка при фрагментных конденсациях, что связано с его высокой устойчивостью к рацемизации в процессах активации и удаления защитных группировок [3, 82]. Ранее это объясняли невозможностью осуществления оксазолониевого механизма рацемизации его N-ацилпроизводных вследствие отсутствия атома водорода на третичном атоме азота. Однако в 1972 г. было найдено, что N-ацилзамещенные Pro и другие иминокислоты при обработке хлорной кислотой могут давать стабильные оксазолониевые соли (IX) [67, 83].



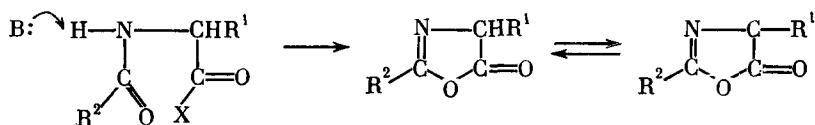
При хранении соли (IX) в присутствии безводной хлорной кислоты при 20° С имеет место полная рацемизация остатка Pro в течение 1 сут. Этот процесс связывают с равновесием в системе оксазолониевый ион (IX) — мезоионный оксазолон (X), так как при осаждении из реакционной среды соли (IX) сухим эфиром показано, что при ее хранении в сухом состоянии рацемизации не происходит [67]. Эти факты служат доказательством возможности рацемизации (N-ацил)Pro по оксазолониевому механизму, но образование из него мезоионного оксазолона (X), в силу конформационных ограничений, затруднено и происходит лишь в присутствии сильнокислых реагентов (хлорная кислота). Для других имино-кислот степень структурных ограничений гораздо ниже, чем у Pro и образование мезоионного оксазолона с последующей изомеризацией наблюдается в мягких условиях пептидного синтеза. Более того, их чувствительность к рацемизации по оксазолониевому механизму чрезвычайно высока.

Образование мезоионного оксазолона (X) сопровождается появлением быстро исчезающего ярко-желтого, специфического (λ_{max} поглощения = = 400 нм) окрашивания реакционной массы. В дальнейшем его образование удалось зафиксировать в результате реакции с 1,3-диполярофилом — ацетиленкарбоновой кислотой [3]



В 1981 г. методом ПМР спектроскопии зафиксировали сигналы мезоионного оксазолона (X) при взаимодействии Z-(N-Me)Val, а также Z-(N-Me)Ala с ДЦГК и установили, что этот ион стабилен в дейтерохлороформе при температуре $-20 \div -5$ ° С в течение 3 ч [21].

Если образование 5(4Н)-оксазолонов при активации N-ациламиноокислот обусловлено основным катализом,



то в случае N-ациламиноокислот имеет место кислотный катализ образования мезоионного оксазолона (X) [65, 67, 83]. Поэтому присутствие солей сильных кислот и третичных аминов, спутников почти любой пептидной конденсации, нежелательно в реакционной массе [3, 28]. Избыток третичного амина уменьшает рацемизацию иминоокислотных остатков при использовании ДЦГК и изобутилхлорформиата в качестве конденсирующих реагентов [3]. При этом более сильное основание — триэтиламин более эффективен чем N-метилморфолин.

При обработке производных N-ациламиноокислот сильными кислотами, например, при декарбобензоксилировании дипептида Z-Ala-(N-Me) — —Leu раствором бромистоводородной кислоты (5,6N) в уксусной кислоте,

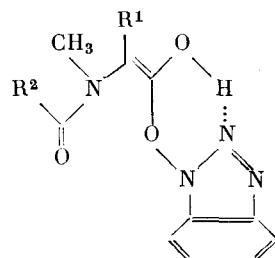
имеет место значительная рацемизация, которую авторы связывали с кислотно-катализируемой енолизацией [82]. Однако тот факт, что добавка воды в этом случае резко снижала степень рацемизации, свидетельствует о том, что в данном случае имеет место не кислотно-катализируемая енолизация, а образование мезоионного оксазолона в безводной среде.

Рацемизация производных иминокислот путем енолизации может катализироваться как щелочами, так и кислотами, а ее механизм, очевидно, тот же, что и в случае производных обычных аминокислот [20, 83].

Следует отметить, что рацемизация производных иминокислот редко идет только по одному механизму. Чаще, в зависимости от многих факторов, может преобладать или оксазолониевый механизм или енолизация.

К числу факторов, влияющих на механизм рацемизации, относятся: метод активации, природа заместителей в остатке иминокислоты, полярность используемого для конденсации растворителя, pH среды и т. п. К настоящему моменту выявлены определенные закономерности в этой проблеме.

В частности, использование таких хорошо известных антирацемизационных добавок как ОВТ или OSu при активации N-ацилиминокислот с помощью ДЦГК подавляет их рацемизацию по оксазолониевому механизму [3, 21]. При этом OSu оказался более эффективен, чем ОВТ, который, подавляя образование оксазолониевого иона, способствует рацемизации по механизму енолизации, являясь стабилизатором енольной структуры ОВТ-эфира N-алкиламинокислоты [21]



В конденсации Boc—Abu—Sar с (N-Me)Leu—Val—(N-Me)Leu—Val—(N-Me)Leu—Ala—OBzl методом смешанных ангидридов пивалиновой кислоты не наблюдалась побочная реакция C- α -ацилирования, которая идет через образование мезоионного оксазолона (типа (X), см. предыдущую гл.) [40]. Процесс рацемизации в этом случае, как и при активации ДЦГК, подавляется избытком триэтиламина более эффективно, чем N-метилморфолином. Это может служить косвенным подтверждением того, что рацемизация иминокислот при их активации Piv—Cl обусловлена кислотно-катализируемой енолизацией, а не образованием оксазолониевого иона [40].

Установлено также, что рацемизация при использовании BOP, BOP—Cl и дифенилхлорфосфина в качестве активирующих реагентов для N-ацилиминокислот преимущественно обусловлена образованием оксазолониевого иона [2, 40].

При использовании BOP—Cl, добавки ОВТ или OSu малоэффективны [84]. По другим данным ОВТ слабо влияет на подавление рацемизации, а OSu не эффективен совсем [2, 85]. Отмечается, что при циклизации шестичленного пептида с активацией остатка (N-Me)Phe с помощью BOP—Cl, добавка ОВТ даже вдвое повышала рацемизацию последнего [86].

Как и в случае обычных аминокислот, уретановая защита N-алкиламиногруппы надежно предотвращает рацемизацию иминокислот [3, 21, 22, 40]. Например, при проведении реакции Boc—(N-Me)Leu с (N-Me)·Val—OBzl с использованием Piv—Cl, даже при 50° С, продукт не содержит диастереомерной примеси [22]. Только в случаях самых стерически

затрудненных конденсаций, когда продолжительность реакции велика, наблюдается небольшая степень рацемизации иминокислот с уретановой защитой. Например, эпимеризация остатка (N-Me)Val, активированного BOP-Cl, в реакции Z-(N-Me)Val с (N-Me)Val-OBu-*tert*, через 2 сут при 20° С составила 4 %, а через 4 сут при 0° С — менее 1 % [2].

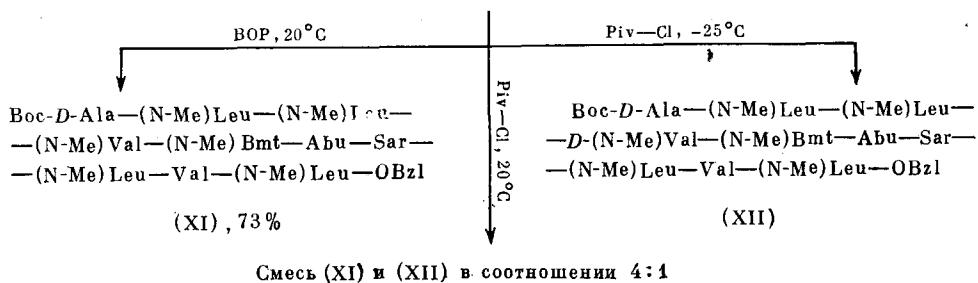
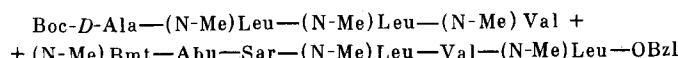
Ранее считалось, что наличие уретановой защиты предотвращает рацемизацию аминокислот по оксазолоновому механизму [20]. Позднее было установлено, что уретановая защита не может быть надежным препятствием образованию 5(4Н)-оксазолонов. В некоторых условиях, например при избытке ДЦГК в реакционной массе, из таких производных аминокислот также образуются оксазолоны, но они чрезвычайно устойчивы к таутомерным превращениям, которые обусловливают процесс рацемизации [11, 87]. Однако наличие избытка третичного амина в этом случае может приводить к заметной рацемизации [11].

При активации N-ацилиминокислот ДЦГК-методом рацемизация оказывается весьма значительной, если в качестве ацильных групп используют ацетил или бензоил. Если же ацильной группой является аминокислотный остаток, то рацемизация проявляется в меньшей степени [21].

Среди факторов, влияющих на рацемизацию производных аминокислот, которые до последнего времени мало обсуждались в печати, можно отметить так называемую асимметрическую индукцию [88, 89]. Это явление объясняет высокую степень рацемизации С-концевых аминокислотных остатков при активации или деблокировании, когда в процессе рацемизации образуется энергетически более выгодный эпимер [22]. Данный процесс может приводить к преимущественному образованию продукта с обращенной конфигурацией, поэтому термин «рацемизация» в этом случае неприемлем и следует говорить о высокой степени эпимеризации.

С другой стороны, асимметрическая индукция может быть обусловлена различной реакционной способностью L- или D-активированных аминокислот по отношению к асимметрическому аминокомпоненту. Таким образом, если активировался L-изомер, а в реакцию легче вступает D-изомер, то в результате эпимеризации, идущей параллельно с конденсацией, в качестве основного можно получить продукт, содержащий остаток преимущественно D-аминокислоты [11, 89]. В некоторых случаях этот процесс приводит к полному обращению конфигурации вводимой аминокислоты [40].

В некоторых случаях явление асимметрической индукции может стать очень ценным приемом синтеза определенных эпимеров, которые сложно получить классическими способами. Так, при получении защищенного ундекапептида, полупродукта в синтезе циклоспорина, фрагментной конденсацией «4 + 7» из одних и тех же карбокси- и аминокомпонентов, в зависимости от условий реакции, были получены два эпимера в индивидуальном состоянии [40].



Здесь, при активации тетрапептидного фрагмента с помощью $\text{Piv}-\text{Cl}$, рацемизация остатка $(\text{N}-\text{Me})\text{Val}$ идет через образование енола и, вследствие отсутствия стерических ограничений для этого процесса, образуется энергетически более выгодная последовательность D - и L -аминокислот. При активации того же тетрапептида с помощью ВОР образуется оксазолониевый ион, который в силу стерических ограничений может реагировать только в L -форме [40].

Повышенную склонность производных иминокислот, кроме Pro , к рацемизации при щелочной или кислотной обработке ранее объясняли легкостью енолизации этих соединений в указанных условиях [82]. Облегченную енолизацию связывали с отсутствием атома водорода при атоме азота в третичных амидах, таковыми являются N -ацилиминокислоты.

Водородный атом в N -ацилиминокислотах значительно более подвижен, чем атом водорода при углеродном атоме. Таким образом, ионизируясь в первую очередь, амидный атом водорода предотвращает депротонирование у углеводородного атома, что обеспечивает более высокую устойчивость аминокислот к рацемизации, по сравнению с иминокислотами.

Экспериментальным подтверждением сказанному выше служит тот факт, что щелочная обработка $(\text{N}-\text{Me})\text{Phe}-\text{OMe}$ дает 1% эпимера, тогда как $Z-(\text{N}-\text{Me})\text{Phe}-\text{OMe}$, не имеющий водородного атома при атоме азота, в тех же условиях дает 9% эпимера. Аналогично, в щелочных условиях ионизация карбоксильной группы предупреждает образование енола, а следовательно, и рацемизацию $Z-\text{Ile}$ [83].

Отмечается также, что дополнительным фактором, облегчающим енолизацию иминокислот, является электронодонорный эффект N -алкильной группировки. Однако приведенные механизмы енолизации не могут объяснить высокую устойчивость к рацемизации остатка Pro в дипептиде $\text{Boc}-\text{Ala}-\text{Pro}-\text{OMe}$ (менее 0,1% эпимера в 1N гидроксиде натрия за 3 ч) [82].

Есть указания, что повышенную склонность к рацемизации производных иминокислот нельзя в полной мере объяснить отсутствием препятствующего енолизации атома водорода у полностью замещенного атома азота [20]. Для того чтобы этот механизм в достаточной мере оправдал себя, необходимо, чтобы свыше 90% амидных групп в пептиде, состоящем из обычных аминокислот, в условиях омыления, были превращены в со-пряженные основания, что маловероятно, так как pK для монозамещенных амидов лежит в пределах 14–15. Кроме того, эти механизмы не объясняют повышенной рацемизации, связанной с образованием мезоионного оксазолона. На основании того, что дизамещенные амиды, таковыми являются N -ацилиминокислоты, существуют в виде близких по энергии *цикло*- и *транс*-конформеров, а монозамещенные амиды имеют преимущественно *транс*-конформацию амидной связи, высказано предположение, что *цикло*-конформация, более легко осуществимая в N -ацилиминокислотах, облегчает процесс рацемизации [20]. Косвенным подтверждением этому предположению является известная легкость рацемизации иминокислотных остатков в циклических дипептидах при щелочных обработках. В ДКП обе амидные связи имеют только *цикло*-конфигурацию [90]. Видимо, именно стерические факторы вносят решающий вклад в облегчение рацемизации производных иминокислот.

* * *

На основании рассмотренного выше материала можно заключить, что ни один из традиционных методов конденсации не может гарантировать успеха при ацилировании остатков иминокислот, за исключением самых

легких случаев. Такие реагенты, как дефинилхлорфосфин, BOP—Cl и Piv—Cl позволяют осуществить наиболее стерически затрудненные конденсации. В последнее время для этих целей наиболее широко применяется BOP—Cl. При синтезе пептидов, содержащих иминокислоты, а особенно последовательности из нескольких иминокислот, резко повышается риск получения нестабильных соединений, которые могут разлагаться по различным схемам. Опасность разложения таких пептидов особенно велика в процессе ацидолиза при удалении защитных группировок.

Чрезвычайно острой является также проблема побочного образования ДКП, что в ряде случаев требует изменения стратегии синтеза пептидов, содержащих иминокислоты.

Предотвращение или снижение степени рацемизации остатков иминокислот в ходе пептидного синтеза в целом может быть достигнуто известными методами: уретановая защита, антирацемизационные добавки. Однако эффективность этих методов сильно зависит от вида вступающих в реакцию карбокси- и аминокомпонентов, а также от используемого конденсирующего реагента. При использовании BOP и BOP—Cl, рацемизация иминокислотных остатков в основном обусловлена образованием оксазолониевого иона, а при употреблении Piv—Cl — кислотно-катализируемой енолизацией!.

ЛИТЕРАТУРА

1. IUPAC — IUB // Eur. J. Biochem. 1984. V. 138. № 1. P. 9.
2. Auwera C., Anteunis M. J. O. // Int. J. Pept. Prot. Res. 1987. V. 29. № 5. P. 574.
3. McDermott J. R., Benoiton N. L. // Can. J. Chem. 1973. V. 51. № 15. P. 2562.
4. Tung R. G., Rich D. H. // J. Amer. Chem. Soc. 1985. V. 107. P. 4342.
5. The Peptides / Eds. E. Gross, J. Meienhofer. N. Y.: Academ. Press., 1980. V. 2. Pt A. P. 596.
6. Нат. 4322340 США // С. А. 1982. V. 97, 39409.
7. Нат. 4265808 США // С. А. 1981. V. 95, 116010.
8. Szirter T., Kisfaludy L., Palosi E. et al. // J. Med. Chem. 1984. V. 27. № 6. P. 747.
9. Филатова М. П., Крут Н. А., Комарова О. М. и др. // Биоорганическая химия. 1986. Т. 12. № 1. С. 59.
10. Porseeo G., Gigli M., Castiglione R. // Int. J. Pept. Prot. Res. 1987. V. 29. № 4. P. 478.
11. The Peptides / Eds. E. Gross, J. Meienhofer N. Y.: Academ. Press, 1983. V. 5. Pt B. P. 508.
12. Savrda J. // J. Org. Chem. 1977. V. 42. № 19. P. 3199.
13. Galpin V. J., Mohammed A. K., Patel A. // Tetrahedron. 1988. V. 44. P. 1685.
14. Sheehan J. C., Heesw G. P. // J. Amer. Chem. Soc. 1955. V. 77. P. 1067.
15. Myokei R., Sakurai A., Chang C. et al. // Tetrahedron Lett. 1969. V. 10. № 9. P. 1501.
16. Chang C., Myokei R., Sakurai A. et al. // Agric. Biol. Chem. 1969. V. 33. № 10. P. 1501.
17. Иванов В. Т., Лавринович И. А., Лапшин В. В. // Химия природных соединений. 1975. № 1. С. 63.
18. Shin M., Inouye K., Otsuka H. // Bull. Chem. Soc. Japan. 1978. V. 51. № 5. P. 1501.
19. Join P., Poncet J., Dufour M. N. et al. // J. Org. Chem. 1989. V. 54. № 3. P. 617.
20. Пептиды. Основные методы образования пептидных связей / Под. ред. Э. Гросса, И. Майенхофера. М.: Мир, 1983. С. 421.
21. Davies J. S., Mohammed A. K. // J. Chem. Soc. Perkin I. 1981. № 11. P. 2982.
22. Wenger R. M. // Helv. Chim. Acta. 1983. V. 6. № 8. P. 2672.
23. Meienhofer J. // J. Org. Chem. 1967. V. 32. № 4. P. 1143.
24. Равдель Г. А., Монахова Н. Н., Крут Н. А. и др. // Химия природных соединений. 1975. № 1. С. 47.
25. Андронати С. А., Коротенко Т. И. // Там же. 1986. № 2. С. 222.
26. Андреев С. М., Галкин О. М., Рогожин С. В. и др. // Биоорганическая химия. 1986. Т. 12. № 6. С. 725.
27. Антоненко В. В., Прудченко И. А., Михалева И. И. и др. // Там же. 1987. Т. 13. № 10. С. 1301.
28. Calas B., Michelot R., Lecaer J. P. et al. // Int. J. Pept. Prot. Res. 1987. V. 29. № 2. P. 170.

29. Yajima H., Ocada Y., Kawatani H. et al. // Chem. Pharm. Bull. 1969. V. 17. № 6. P. 1229.
30. Yajima H., Mizokami N., Okada Y. et al. // Ibid. 1969. V. 17. № 9. P. 1958.
31. Beyerman H. C. // Chemistry and Biology of Peptides / Ed. J. Meienhofer Ann Arbor, Michigan, 1972. P. 357.
32. Yajimata H., Mizokami N., Okada Y. et al. // Chem. Pharm. Bull. 1969. V. 17. P. 1958.
33. Albertson N. F. // Org. React. 1962. V. 12. P. 157.
34. Ondetti V. F., Thomas P. L. // J. Amer. Chem. Soc. 1965. V. 87. P. 4373.
35. Rydon H. N., Smith P. W. G. // J. Chem. Soc. 1956. P. 3642.
36. Sole N., Torres J., Garcia-Anton J. et al. // Tetrahedron. 1986. V. 42. № 1. P. 193.
37. Chen F. M. F., Lee Y., Steinauer R. et al. // Can. J. Chem. 1987. V. 65. № 3. P. 613.
38. Pless J., Bauer W., Cordinaux F. et al. // Helv. Chim. acta. 1979. V. 62. № 2. P. 398.
39. Chen F. M. F., Lee Y., Steinauer R. et al. // Can. J. Chem. 1987. V. 65. № 3. P. 619.
40. Wenger R. M. // Helv. Chim. acta. 1984. V. 67. № 2. P. 502.
41. Tung R. D., Dhaon M. K., Rich D. H. et al. // J. Org. Chem. 1986. V. 51. № 17. P. 3350.
42. Rich D. H., Dhaon M. K., Dunlap B. et al. // J. Med. Chem. 1986. V. 29. № 6. P. 978.
43. Zaoral M. // Collect. Czech. Chem. Communs. 1962. V. 27. № 5. P. 1273.
44. Романова В. П., Шишин В. В. // Укр. хим. журн. 1989. Т. 55. № 5. С. 527.
45. Warnke J. G., Young G. T. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1980. № 12. P. 2797.
46. Унковский В. И., Васильева Г. А., Есстигненеева Р. П. // Журн. общ. химии. 1983. Т. 53. С. 216.
47. Diago-Meseguer J., Polamo-Coll A. L. // Synthesis. 1980. № 7. P. 547.
48. Jacobson A. G., Kenner G. W., Moore G. A. et al. // Tetrahedron Lett. 1976. V. 17. № 40. P. 3627.
49. Omodei-Sale A., Sindona G., Sola D. et al. // J. Chem. Res. Synop. 1984. № 2. P. 50.
50. Katti S. B., Misra P. K., Haq W. et al. // Indian J. Chem. 1988. V. 27. № 1. P. 3.
51. Kazunari N., Yasumasa H., Takayki S. // Chem. Pharm. Bull. 1989. V. 37. № 4. P. 930.
52. Galpin V. J., Mohammed A. K., Pattel A. // Tetrahedron. 1988. V. 44. P. 1783.
53. Galpin V. J., Mohammed A., Pattel A. et al. // Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 51. P. 6517.
54. Galpin V. J., Mohammed A., Pattel A. et al. // Tetrahedron. 1988. V. 44. № 6. P. 1763.
55. Galpin V. J., Mohammed A., Pattel A. et al. // Ibid. 1988. V. 44. № 6. P. 1773.
56. Galpin V. J., Robinson A. E. // Ibid. 1984. V. 40. P. 627.
57. Coste J., Dufour M. N. et al. // Tetrahedron Lett. 1990. V. 31. № 5. P. 669.
58. Schmidt U., Potzolli B. // Lieb. Ann. Chem. 1987. № 11. S. 935.
59. Sofuku S., Sugiyama Y., Muramatsu I. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1986. V. 59. № 1. P. 185.
60. Cheung S. T., Benoiton N. L. // Can. J. Chem. 1977. V. 55. № 5. P. 911.
61. Khosla M. C., Munoz-Ramizer H., Hall M. M. et al. // J. Med. Chem. 1976. V. 19. № 2. P. 244.
62. Purdie J. E., Benoiton N. L. // Can. J. Chem. 1971. V. 49. № 21. P. 3468.
63. Meienhofer J., Vigneaud V. // J. Amer. Chem. Soc. 1961. V. 83. № 1. P. 142.
64. Judson E., Lax A. R., Lillehoj E. B. et al. // Int. J. Pept. Prot. Res. 1986. V. 28. № 6. P. 603.
65. Auwera C., Anteunis M. J. O. // Ibid. 1988. V. 31. № 2. P. 186.
66. Anteunis M. J. O., Auwera C. // Ibid. 1988. V. 31. № 3. P. 301.
67. Boyd G. V., Wright P. H. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1972. № 7. P. 914.
68. Purdie J., Benoiton N. L. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1973. № 14. P. 1845.
69. Gaines S. H., Bada J. L. // J. Org. Chem. 1988. V. 53. № 12. P. 2757.
70. Khosla M. C., Smeby R. R., Bumpus F. M. // J. Amer. Chem. Soc. 1972. V. 94. № 13. P. 4721.
71. Власов Г. П., Гусель В. А., Кожевникова М. Ю. и др. // Журн. общ. химии. 1986. Т. 56. № 7. С. 1635.
72. Gisin B. F., Merrifield R. B. // J. Amer. Chem. Soc. 1972. V. 94. № 9. P. 3102.
73. Shute R. E., Rich D. H. // J. Chem. Soc. Chem. Communns. 1987. № 15. P. 1155.
74. Beyerman M., Bienert M., Repke H. et al. // XIX Eur. Pept. Symp. Porto. Carras. 1986. P. 107.
75. Pedroso E., Grandas A., Heras X. et al. // Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 6. P. 743.
76. Sharma N. K., Anteunis M. J. O. // Bull. Soc. Chim. Belg. 1987. V. 96. № 6. P. 467.

77. Гринштейн Д., Виниц М. // Химия аминокислот и пептидов. М.: Мир, 1965. С. 821.
78. Hardy G. W., Lowe L. A., Sang P. Y. et al. // J. Med. Chem. 1988. V. 31. № 5. P. 960.
79. Mazur R. H., Schlatter J. M. // J. Org. Chem. 1963. V. 28. № 4. P. 1029.
80. Meienhofer J. // J. Amer. Chem. Soc. 1970. V. 92. № 12. P. 3771.
81. Gerig J. T., McLeod R. S. // J. Org. Chem. 1976. V. 41. P. 1653.
82. McDermott J. R., Benoiton N. L. // Can. J. Chem. 1973. V. 51. № 15. P. 2555.
83. Boyd G. V., Wright P. H. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1972. № 7. P. 909.
84. Kolodziejczyk A. M., Wodecki Z. J. // XIX Eur. Pept. Symp. Porto Carras. 1986. P. 115.
85. Auwera C., Van Damme S., Anteunis M. J. O. // Int. J. Pept. Prot. Res. 1987. V. 29. № 4. P. 464.
86. Anteunis M. J. O., Sharma N. K. // Bull. Soc. chim. Belg. 1988. V. 97. № 4. P. 284.
87. Benoiton N. L., Chen F. M. F. // J. Chem. Soc. Chem. Communns. 1981. № 23. P. 1225.
88. Benoiton N. L., Kuroda K., Chen F. M. F. // Tetrahedron Lett. 1981. V. 22. № 35. P. 3359.
89. Benoiton N. L., Kuroda K., Chen F. M. F. // Ibid. 1981. V. 22. № 35. P. 3361.
90. Ott H., Frey A. J., Hofmann A. // Tetrahedron. 1963. V. 19. P. 1675.

Государственный союзный научно-исследовательский
институт органической химии и технологии, Москва