

9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯的合成

蒋庆锋², 周有骏^{1*}, 姚斌¹, 郑灿辉¹, 吕加国¹, 朱驹¹

(1. 第二军医大学药学院药物化学教研室, 上海 200433; 2. 西藏军区总医院药物研究所, 拉萨 850007)

[摘要] 目的: 寻找合成 9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯的新方法。方法: 以 9-芴甲氧羰基氯与 3 种不同的氨基酸(甘氨酸、苯丙氨酸和脯氨酸)在碱性条件下分别反应制得相应的 9-芴甲氧羰基氨基酸后, 再以二碳酸二叔丁基酯作为酯化试剂, 以 4-二甲氨基吡啶为催化剂, 与制得的 9-芴甲氧羰基氨基酸反应合成得到相应的 9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯。结果: 采用本法合成得到 3 个 9-芴甲氧羰基氨基酸的叔丁基酯, 化合物结构均经 ¹H NMR 确证。结论: 本法是操作简单、反应条件温和、产率高、适用性广的制备 9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯的新方法。

[关键词] 9-芴甲氧羰基; 氨基酸; 叔丁基酯; 合成

[中图分类号] R 914.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)01-0101-02

Synthesis of 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acid *tert*-butyl ester

JIANG Qing-feng², ZHOU You-jun^{1*}, YAO Bin¹, ZHENG Can-hui¹, LÜ Jia-guo¹, ZHU Ju¹ (1. Department of Medical Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Institute of Pharmaceutical Research, General Hospital, PLA Tibet Military Area Command, Lhasa 850007)

[ABSTRACT] **Objective:** To search for a new method for synthesis of 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acid *tert*-butyl ester. **Methods:** Glycine, *L*-Proline, and *L*-Phenylalanine were separately allowed to react with 9-fluorenylmethylchloroformate to obtain the corresponding 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids. With 4-(dimethylamine) pyridine (DMAP) used as catalyst, the 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids were allowed to react with *Tert*-butyl dicarbonate for the corresponding 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acid *tert*-butyl esters. **Results:** Three 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acid *tert*-butyl esters were successfully synthesized by this method and their structures were confirmed by ¹H NMR. **Conclusion:** Ours is a simple method with mild condition and high yielding rate for synthesis of 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acid *tert*-butyl esters.

[KEY WORDS] 9-Fluorenylmethoxycarbonyl; amino acid; *tert*-butyl ester; synthesis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(1): 101-102]

9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯是多肽合成中一个重要的起始反应物^[1], 其在多肽合成中得到广泛的应用^[2-3]。目前该类保护氨基酸的制备主要采用异丁烯法^[4-5], 异丁烯是一种易燃气体, 危险性大, 而且用该法制备的起始和结束阶段均需要异丙醇/干冰浴进行降温处理, 条件苛刻, 操作繁琐, 实验室制备困难。Pozdnev 等^[6]采用二碳酸二叔丁基酯(Boc₂O)和 N 保护氨基酸反应可以制得相应的叔丁基酯, 反应条件温和。本研究采用 Boc₂O 为酯化试剂, 考察其对 3 种 9-芴甲氧羰基氨基酸的叔丁基酯化反应, 研究提出适合实验室制备的、反应条件温和的 9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯的制备新方法(图 1)。

1 仪器和试剂

DRX500 核磁共振仪(德国 Bruker), P-1030 数字式全自动旋光仪(日本分光 JASCO), RY-2 型熔点仪(天津市分析仪器厂), 温度未经校正。9-芴甲氧羰基氯(Fmoc-Cl)和 Boc₂O 购于上海缘聚化工有限责任公司, 脯氨酸、甘氨酸和苯丙氨酸购于苏州天马医药公司, 其他常用试剂购自上海试剂公司。

2 方法和结果

2.1 9-芴甲氧羰基氨基酸的合成^[7] 氨基酸(15 mmol)加

入到圆底烧瓶中, 加入 40 ml 10% 的 Na₂CO₃ 水溶液搅拌溶解, 再加入 20 ml 二氧六环, 冰浴下将 10% Fmoc-Cl 的二氧六环溶液(15 mmol)慢慢滴加进入反应液, 滴加完成后在冰浴中反应 2 h, 再在室温下反应 2~8 h。加入 800 ml 水稀释, 用乙醚萃取 3 次(200 ml, 150 ml, 150 ml), 水层置于冰浴中, 用浓盐酸调节 pH 到刚果红试纸显蓝色, 在冰箱中放置过夜, 得到白色沉淀物用乙酸乙酯提取, 合并有机液用水洗涤, 有机层用无水硫酸镁干燥, 抽干得产品, 3 种保护氨基酸(甘氨酸、苯丙氨酸和脯氨酸)均为白色固体, 产率分别为 91.37%、96.70% 和 100%, m. p. 分别为 184.5~187.0℃、189.0~195.0℃ 和 120.0~122.3℃。

2.2 Fmoc-Pro-OtBu 的合成 室温下, 将 16.87 g (50 mmol) Fmoc-proline, 40 ml 叔丁醇和 4 ml 吡啶加入到 100 ml 乙酸乙酯中, 搅拌溶解后, 加入 12.00 g (55 mmol) Boc₂O 和 150 mg (1.2 mmol) 4-二甲氨基吡啶(DMAP), 在干燥环境下室温搅拌反应 8 h。以 300 ml 乙酸乙酯稀释, 所得溶液用 500 ml 水、500 ml 5% 碳酸钾溶液、500 ml 水、500 ml 5% 硫酸、500 ml 饱和食盐水依次洗涤, 有机层用无水硫酸镁干

[作者简介] 蒋庆锋, 博士, 药师. E-mail: jiqf327@sohu.com
* Corresponding author. E-mail: zhouyoujun2005@yahoo.com.cn

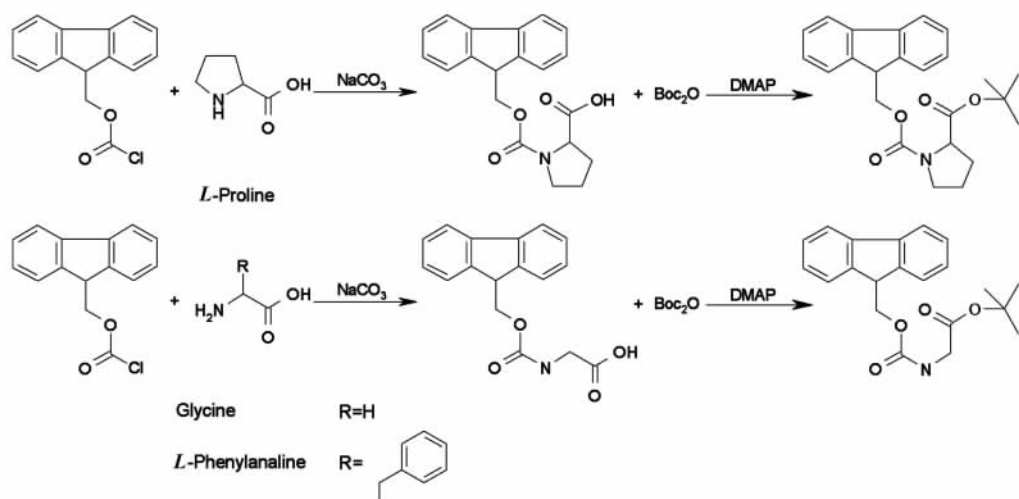


图 1 9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯的合成

Fig 1 Synthesis of 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acid *tert*-butyl ester

干燥,过滤,所得滤液于40℃抽除大部分溶剂,余少量溶剂结晶,得到产品18.92 g。产率96.16%。m. p. 108~112℃, $[\alpha]_D^{25} - 75.70$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ1.44, 1.47 (2s, 9H), 1.95 (m, 3H), 2.20 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.66 (m, 1H), 4.16, 4.28 (2m, 3H), 4.42 (m, 1H), 7.31 (t, J=7.5 Hz, 2H), 7.40 (t, J=7.5 Hz, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.76 (d, J=7.5 Hz, 2H)。

2.3 Fmoc-Phe-OtBu 的合成 室温下,3.00 g (7.74 mmol) Fmoc-Phenylalanine 加入到16 ml 乙酸乙酯中,再加入6.20 ml 叔丁醇和0.62 ml 吡啶,搅拌溶解,加入3.76 g (17 mmol) Boc₂O 和23 mg DMAP,在干燥环境下室温搅拌反应20 h,以100 ml 乙酸乙酯稀释,得到的溶液用100 ml 水、100 ml 5%碳酸钾溶液、100 ml 水、100 ml 5%硫酸、100 ml 饱和盐水依次洗涤,有机层用无水硫酸镁干燥,过滤,蒸干,得到油状物经硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯为6:1)纯化得到2.48 g 无色油状物,产率72.21%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ1.43 (s, 9H), 3.10, 3.12 (d, J=6 Hz, 2H), 4.20~4.59 (m, 4H), 7.16~7.19 (m, 2H), 7.26~7.35 (m, 2H), 7.39~7.44 (m, 5H), 7.57~7.61 (m, 2H), 7.77, 7.79 (d, J=7.5 Hz, 2H)。

2.4 Fmoc-Gly-OtBu 的合成 室温下,5.95 g (20 mmol) Fmoc-Glycine 加入到40 ml 乙酸乙酯中,再加入16 ml 叔丁醇和1.6 ml 吡啶,搅拌溶解,加入4.80 g (22 mmol) Boc₂O 和60 mg DMAP,在干燥环境下室温搅拌10 h,以100 ml 乙酸乙酯稀释,得到的溶液用100 ml 水、100 ml 5%碳酸钾溶液、100 ml 水、100 ml 5%硫酸、100 ml 饱和盐水依次洗涤,有机层用无水硫酸镁干燥,过滤。40℃抽除溶剂,得到淡黄色油状物6.15 g。产率86.99%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ1.45, 1.49 (2 s, 9H), 3.62~3.74 (m, 2H), 4.22~4.31 (m, 3H), 7.13~7.24 (m, 2H), 7.39~7.44 (m, 2H), 7.52~7.75 (m, 2H), 7.76~7.77 (m, 2H)。

3 讨论

我们以3种不同的氨基酸(甘氨酸、苯丙氨酸和脯氨酸)

为研究对象,采用Fmoc-Cl分别对3个氨基酸的N-端进行保护,考察采用Boc₂O对N端Fmoc保护的氨基酸的羧端叔丁基酯化反应。合成了3个不同的9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯,所得目标化合物的结构均经¹H NMR 确证。

本法反应条件温和,所有反应均在室温或0℃进行,反应收率高,N端Fmoc保护收率在90%以上,C端叔丁基酯化反应收率在70%以上。与目前常用的异丁烯法相比,本法使用的都是常规试剂,避免了原方法中的异丁烯等易燃气体。实验的操作简单易行,反应条件温和,去除了原方法中超低温等苛刻的条件。本法是适合实验室制备9-芴甲氧羰基氨基酸叔丁基酯的新合成方法。

【参考文献】

- [1] 彭师奇. 多肽药物化学[M]. 北京:科学出版社,1993.
- [2] Jean-Francois L, Karen W, Cristina P. Synthesis of protected derivatives and short peptides of antAib, a novel Ca-tetrasubstituted α-amino acid of the Ac5c type possessing a fused anthracene fluorophore[J]. Tetrahedron, 2006, 62: 6203-6213.
- [3] Tobias S, Sohnke V, Roland B, et al. Lipanthionine peptides act as inhibitors of TLR2-mediated IL-8 Secretion. Synthesis and structure-activity relationships[J]. J Med Chem, 2006, 49: 1754-1765.
- [4] Pettit G R, Lippert J W 3rd, Taylor S R, et al. Synthesis of phakellistatin 11: a micronesia (Chuuk) marine sponge cyclooctapeptide[J]. J Nat Prod, 2001, 64: 883-891.
- [5] Adamson J G, Blaskovich M A, Lajoie G A, et al. Simple and convenient synthesis of *tert*-butyl ethers of Fmoc-serine, Fmoc-threonine, and Fmoc-tyrosine[J]. J Org Chem, 1991, 56: 3447-3449.
- [6] Pozdnev V F. Activation of carboxylic acids by pyrocarbonates. Synthesis of symmetric anhydrides and esters of N-protected α-amino acids using dialkyl pyrocarbonates as condensing reagents [J]. Int J Peptide Protein Res, 1992, 40: 407-414.
- [7] Carpino L A, Han G Y. The 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino-protecting group[J]. J Org Chem, 1972, 37: 3404-3408.

【收稿日期】 2006-07-24

【修回日期】 2006-11-29

【本文编辑】 尹 茶