

医药与日化原料

# *N*-甲基二肽 MeVal-MePhe-O<sup>t</sup>Bu 的合成研究\*

王晓季 陈立功\* 李 阳

(天津大学 药物科学与技术学院 天津 300072)

摘要:以邻硝基苯磺酰氯对 *L*-缬氨酸和 *L*-苯丙氨酸的氨基进行活化,经甲基化、偶合、脱除等 7 步反应,合成了对人体肿瘤细胞 KB 和 LoVo 具有中等细胞毒性的天然环酯肽 *Obyanamide*<sup>[1]</sup>中具有较大空间位阻的 *N*-甲基二肽结构片段 MeVal-MePhe-O<sup>t</sup>Bu,总收率达 48.2%。

关键词:邻硝基苯磺酰氯;*L*-缬氨酸;*L*-苯丙氨酸;*N*-甲基二肽

中图分类号:O621.3 文献标识码:A 文章编号:1003-5214(2004)06-0434-05

## Synthesis of *N*-Methyldipeptide MeVal-MePhe-O<sup>t</sup>Bu

WANG Xiao-ji, CHEN Li-gong\*, LI Yang

(School of Pharmaceutical Technology & Science, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

**Abstract:** Hindered *N*-methyldipeptide (MeVal-MePhe-O<sup>t</sup>Bu), the segment of a novel cyclic depsipeptide *Obyanamide* which exhibits moderate cytotoxicity against KB and LoVo cells, was synthesized from *L*-valine and *L*-phenylalanine in overall yield of 48.2%. This synthesis was accomplished in seven steps from *N*-Ns-(*L*)-Val-O<sup>t</sup>Bu and *N*-Ns-(*L*)-Phe-O<sup>t</sup>Bu which were activated with 2-nitrobenzenesulfonyl chloride.

**Key words:** 2-nitrobenzenesulfonyl chloride; *L*-valine; *L*-phenylalanine; *N*-methyldipeptide

许多从海洋生物中分离得到的天然多肽化合物的分子结构中含有 *N*-甲基二肽结构片段,它对整个分子的生物活性起着重要的作用<sup>[1]</sup>。例如,有研究表明,两个 *N*-甲基氨基酸所形成的二肽能有效抑制蛋白质水解,提高药物口服效果并延长药物作用时间<sup>[2]</sup>。然而,绝大多数 *N*-甲基氨基酸及其衍生物在自然界是难以得到的,而且由于它们的空间位阻较大,在进行偶合反应时相对比较困难<sup>[3]</sup>。文献报道的诸多 *N*-甲基二肽及 *N*-甲基氨基酸的合成方法常常需要加入价格昂贵的偶合试剂,而且由于受到保护基团及反应条件的诸多限制一般不具备普遍适用性,尤其当分子结构中含有某些敏感基团时,常常会发生消旋化和一些意想不到的副反应。因此,手性

合成具有较大空间位阻的 *N*-甲基氨基酸及其衍生物是多肽合成化学中具有挑战性的领域之一。

作者以 *L*-缬氨酸和 *L*-苯丙氨酸为原料,首先与乙酸叔丁酯进行酯化反应<sup>[4]</sup>,然后用邻硝基苯磺酰氯<sup>[5]</sup>(NsCl)对氨基酸氨基进行保护与活化,经甲基化、偶合、脱保护等反应,高收率地合成了对人体肿瘤细胞 KB 和 LoVo 具有中等细胞毒性的天然环酯肽 *Obyanamide*<sup>[1]</sup>中具有较大空间位阻的 *N*-甲基二肽结构片段 MeVal-MePhe-O<sup>t</sup>Bu。合成策略见图 1。

## 1 实验

### 1.1 仪器与试剂

BRUKER AV-400 MHz 核磁共振仪,CDCl<sub>3</sub> 作

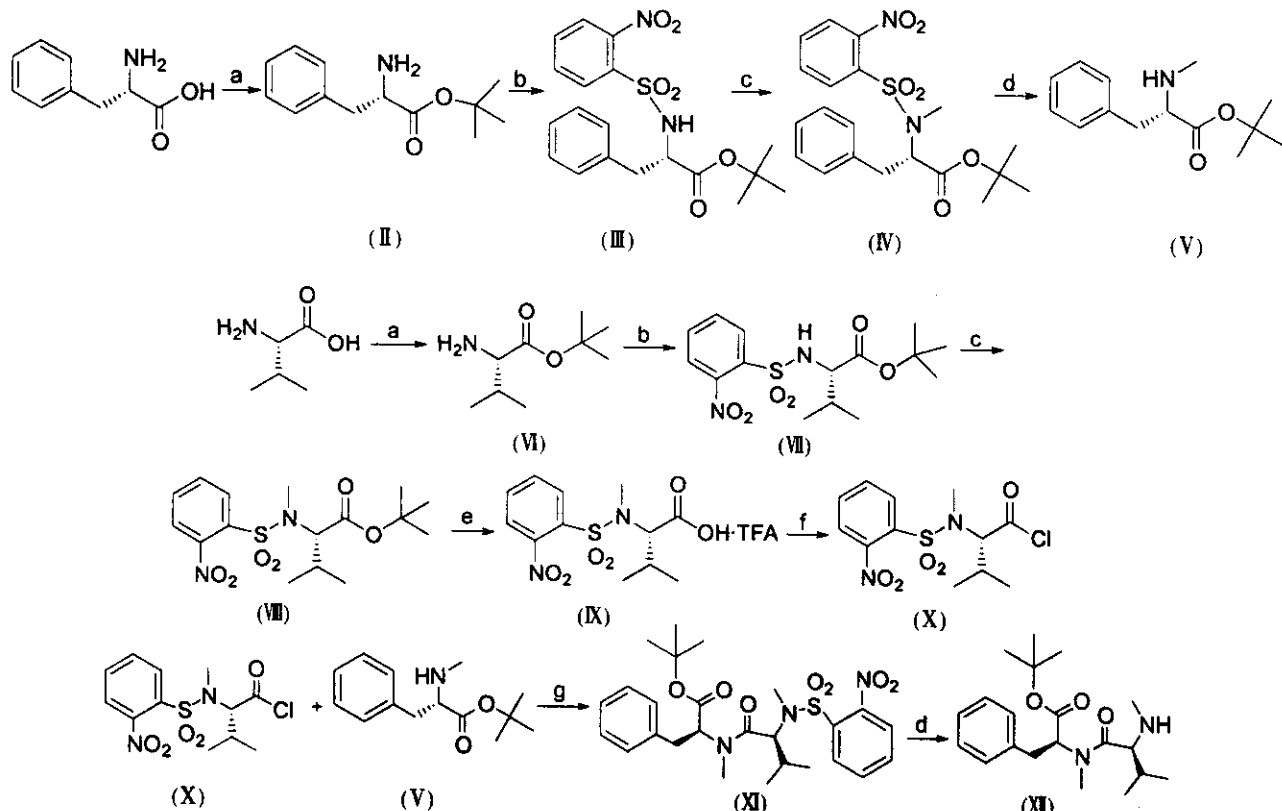
\* 收稿日期 2003-09-24

作者简介:王晓季(1975-),男(回族),山东菏泽人,博士研究生,从事药物及天然化合物的合成研究,电话:022-27406314, E-mail: wangxiaoji2000@hotmail.com。

联系人:陈立功(1962-),男,山东蓬莱人,天津大学教授,博导,博士学位,主要从事药物及天然化合物的合成研究,电话:022-27406314, E-mail: lgchen@tju.edu.cn。

溶剂;日本柳本 MT-3 型元素分析仪;Agilent 6890N 型质谱仪;BIO-RAD FTS 3000 型红外光谱

仪;所用溶剂均经过标准方法精制。



式中 a—*t*-butyl acetate, perchloric acid, 0 °C ~ r. t.; b—2-nitrobenzenesulfonyl chloride, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C ~ r. t.; c—CH<sub>3</sub>I, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, r. t.; d—thioglycolic acid, LiOH, DMF, r. t.; e—TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C ~ r. t.; f—(COCl)<sub>2</sub>, DMF, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C; g—CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0 °C

图 1 合成策略

Fig. 1 Synthetic scheme

## 1.2 *L*-PheO<sup>t</sup>Bu (II)

在 N<sub>2</sub> 保护下,于干燥的两口瓶中加入 20 mL 乙酸叔丁酯和 0.60 g *L*-苯丙氨酸 (3.63 mmol),冷却至 0 °C 后,在 10 min 内缓慢滴加 0.46 mL 高氯酸 (5.3 mmol),在 0 °C 下搅拌 1 h 后,升至室温,继续搅拌反应 6 h。反应结束后,先以 50 mL 水对反应混合物进行萃取,再用浓度为 0.5 mol/L (15 mL × 2) 的盐酸对有机相进行萃取,合并水相并用 *w* (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) = 10% 的水溶液调 pH 至 8 ~ 9,然后用二氯甲烷 (30 mL × 3) 萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得淡黄色黏稠物 II 0.72 g,收率 89.6%。

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.418 (s, 9H), 2.807 ~ 2.860 (dd, *J*<sub>1</sub> = 13.56 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7.68 Hz, 1H), 2.999 ~ 3.048 (dd, *J*<sub>1</sub> = 13.56 Hz, *J*<sub>2</sub> = 5.68 Hz, 1H), 3.582 ~ 3.616 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 7.68 Hz, *J*<sub>2</sub> = 5.68 Hz), 7.100 ~ 7.267 (m, 5H); <sup>13</sup>CNMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 27.904 (3CH<sub>3</sub>), 41.055 (CH<sub>2</sub>), 56.067 (CH), 80.716 (quat. C), 126.354 (CH), 128.310 (2CH), 129.393

(2CH), 137.362 (quat. C), 174.032 (C=O)。IR (neat)  $\nu$ /cm<sup>-1</sup>: 3381, 3314, 2978, 2933, 1730。元素分析 (C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>) 理论值: *w* (C) = 70.56%, *w* (H) = 8.65%, *w* (N) = 6.33%; 实验值: *w* (C) = 70.42%, *w* (H) = 8.53%, *w* (N) = 6.41%。EI-MS: 221, 205, 164, 148, 120, 77, 57, 44。

## 1.3 *N*-Ns-*L*-PheO<sup>t</sup>Bu (III)

在 N<sub>2</sub> 保护下,将 0.64 g 化合物 II (2.89 mmol) 溶于 20 mL 二氯甲烷中并冷却至 0 °C,在 2 min 内滴加 0.61 mL 三乙胺 (4.35 mmol),然后一次加入 0.73 g 邻硝基苯磺酰氯 (3.19 mmol),在 0 °C 下搅拌 1 h,然后升至室温,并在室温下搅拌过夜后,依次用水 (15 mL × 3)、饱和氯化钠溶液 (15 mL × 3) 洗涤反应混合物,无水硫酸镁干燥,浓缩得黄色油状物 III 1.12 g,收率 95.6%。

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.192 (s, 9H), 3.098 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 4.353 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.170 ~ 7.254 (m, 5H), 7.667 ~ 7.695 (m, 2H), 7.872 (d, *J*

= 9.2 Hz, 1H)  $\delta$ : 0.18 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 28.056 (3CH<sub>3</sub>), 39.554 (CH<sub>2</sub>), 58.212 (CH), 82.769 (quat. C), 125.517 (CH), 127.261 (CH), 128.504 (2CH), 129.488 (2CH), 130.383 (CH), 132.849 (CH), 133.384 (CH), 136.464 (quat. C), 147.637 (quat. C), 169.255 (C=O)。IR (neat),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3302, 2979, 1736, 1541, 1362, 1343, 1152。元素分析 (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S), 理论值:  $w(\text{C}) = 56.15\%$ ,  $\mu(\text{H}) = 5.46\%$ ,  $\mu(\text{N}) = 6.89\%$ ; 实验值:  $w(\text{C}) = 56.07\%$ ,  $w(\text{H}) = 5.33\%$ ,  $w(\text{N}) = 6.96\%$ 。EI-MS: 406, 349, 333, 305, 284, 205, 186, 143, 101, 91, 57, 44。

#### 1.4 *N*-Ns-*N*(Me)-*L*-PheO<sup>1</sup>Bu(IV)

在 N<sub>2</sub> 保护下将 0.42 g 化合物 III (1.03 mmol) 溶于 5.0 mL DMF 中, 在室温下向反应体系中依次加入 0.59 g 无水碳酸钾 (4.26 mmol) 0.32 mL 碘甲烷 (5.12 mmol)。反应混合物在室温下搅拌 12 h 后, 加入少量饱和的氯化铵水溶液以终止反应, 随之用 V(苯)/V(乙酸乙酯) = 1/2 (7 mL × 3) 萃取, 然后依次以浓度为 0.75 mol/L 的柠檬酸 (15 mL × 2)、饱和氯化钠水溶液 (15 mL × 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得灰黄色油状物 IV 0.41 g, 收率 94.5%。

$^1\text{H}$ NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.314 (s, 9H), 2.917 ~ 2.975 (dd,  $J_1 = 14.2$  Hz,  $J_2 = 9.05$  Hz, 1H), 3.015 (s, 3H), 3.288 ~ 3.340 (dd,  $J_1 = 14.2$  Hz,  $J_2 = 6.56$  Hz, 1H), 4.802 ~ 4.841 (dd,  $J_1 = 9.05$  Hz,  $J_2 = 6.56$  Hz, 1H), 7.185 ~ 7.240 (m, 5H), 7.512 ~ 7.547 (m, 2H), 7.601 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.725 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 27.777 (3CH<sub>3</sub>), 30.810 (CH<sub>3</sub>), 35.870 (CH<sub>2</sub>), 61.436 (CH), 124.038 (CH), 126.946 (CH), 128.543 (2CH), 129.158 (2CH), 130.959 (CH), 131.661 (CH), 133.355 (CH), 136.246 (quat. C), 147.813 (quat. C), 170.917 (C=O)。IR (neat),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3092, 2981, 1733, 1544, 1371, 1352, 1158。元素分析 (C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S), 理论值:  $w(\text{C}) = 57.13\%$ ,  $w(\text{H}) = 5.75\%$ ,  $\mu(\text{N}) = 6.66\%$ ; 实验值:  $w(\text{C}) = 57.08\%$ ,  $\mu(\text{H}) = 5.66\%$ ,  $w(\text{N}) = 6.73\%$ 。EI-MS: 420, 405, 363, 347, 329, 319, 234, 122, 101, 91, 57, 44。

#### 1.5 *N*(Me)-*L*-PheO<sup>1</sup>Bu(V)

室温下将 0.22 g 化合物 IV (0.52 mmol) 溶于 6.0 mL DMF 中, 然后依次加入 0.23 g 一水合氢氧化锂 (5.48 mmol) 0.09 mL 质量分数为 90% 的巯基乙酸 (1.29 mmol)。室温反应 30 min 后加入少量饱

和氯化铵水溶液以终止反应, 随之用 V(苯)/V(乙酸乙酯) = 1/2 (7 mL × 3) 萃取, 然后依次用饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL × 3)、饱和食盐水 (10 mL × 3) 洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压蒸除溶剂得黄色油状物 V 0.12 g, 收率 93.6%。

$^1\text{H}$ NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.347 (s, 9H), 1.866 (s, br., 1H), 2.368 (s, 3H), 2.827 ~ 2.880 (dd,  $J_1 = 13.56$  Hz,  $J_2 = 7.6$  Hz, 1H), 2.920 ~ 2.970 (dd,  $J_1 = 13.6$  Hz,  $J_2 = 6.4$  Hz, 1H), 3.299 ~ 3.334 (m, 1H), 7.180 ~ 7.279 (m, 5H),  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 27.861 (3CH<sub>3</sub>), 34.428 (CH<sub>3</sub>), 39.479 (CH<sub>2</sub>), 64.953 (CH), 80.959 (quat. C), 126.421 (CH), 128.142 (2CH), 129.223 (2CH), 137.323 (quat. C), 173.551 (C=O)。元素分析 (C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>), 理论值:  $w(\text{C}) = 71.46\%$ ,  $\mu(\text{H}) = 8.99\%$ ,  $w(\text{N}) = 5.95\%$ ; 实验值:  $w(\text{C}) = 71.38\%$ ,  $w(\text{H}) = 8.85\%$ ,  $w(\text{N}) = 6.01\%$ 。EI-MS: 235, 220, 205, 178, 162, 144, 134, 101, 73, 57, 44。

#### 1.6 *L*-ValO<sup>1</sup>Bu(VI) ~ *N*-Ns-*N*(Me)-*L*-ValO<sup>1</sup>Bu(VIII)

采用与 1.2 ~ 1.4 节反应步骤类似的方法分别制得化合物 VI (收率 88.3%)、化合物 VII (收率 96.7%)、化合物 VIII (收率 95.3%)。

化合物 VI 的分析数据:  $^1\text{H}$ NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.831 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.911 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.408 (s, 9H), 1.925 ~ 1.959 (m, 1H), 3.101 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 16.913 (CH<sub>3</sub>), 19.166 (CH<sub>3</sub>), 28.145 (3CH<sub>3</sub>), 31.781 (CH), 60.198 (CH), 80.564 (quat. C), 174.719 (C=O)。IR (neat),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3348, 3302, 2962, 1728。元素分析 (C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>), 理论值:  $w(\text{C}) = 62.39\%$ ,  $\mu(\text{H}) = 11.05\%$ ,  $\mu(\text{N}) = 8.08\%$ ; 实验值:  $w(\text{C}) = 62.28\%$ ,  $\mu(\text{H}) = 10.98\%$ ,  $\mu(\text{N}) = 8.14\%$ 。EI-MS: 173, 157, 130, 101, 73, 57, 43。

化合物 VII 的分析数据:  $^1\text{H}$ NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.926 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.024 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.186 (s, 9H), 2.102 ~ 2.153 (m, 1H), 3.875 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 6.053 (s, br., 1H), 7.703 ~ 7.726 (m, 2H), 7.897 ~ 7.921 (m, 1H), 8.049 ~ 8.073 (m, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 17.251 (CH<sub>3</sub>), 18.966 (CH<sub>3</sub>), 27.589 (3CH<sub>3</sub>), 31.601 (CH), 62.598 (CH), 82.331 (quat. C), 125.473 (CH), 130.398 (CH), 132.814 (CH), 133.471 (CH), 134.308 (quat. C), 147.760 (quat. C), 169.576

(C=O)。元素分析( $C_{15}H_{22}N_2O_6S$ )理论值  $w(C)=50.27\%$   $w(H)=6.19\%$   $w(N)=7.82\%$  ;实验值  $w(C)=50.19\%$   $w(H)=6.12\%$   $w(N)=7.90\%$ 。EI-MS: 358, 315, 285, 236, 201, 157, 122, 73, 57, 44。

化合物 VIII 的分析数据:  $^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$ ,  $\delta$ : 0.939(d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 0.981(d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 1.273(s, 9H), 2.129~2.188(m, 1H), 3.038(s, 3H), 3.997(d,  $J=10.0$  Hz, 1H), 7.578~7.601(m, 1H), 7.650~7.680(m, 2H), 8.001~8.024(m, 1H);  $^{13}\text{CNMR}(\text{CDCl}_3)$ ,  $\delta$ : 19.195( $\text{CH}_3$ ), 19.225( $\text{CH}_3$ ), 27.653( $3\text{CH}_3$ ), 28.812( $\text{CH}_3$ ), 30.759( $\text{CH}$ ), 65.681( $\text{CH}$ ), 82.032(quat. C), 123.883( $\text{CH}$ ), 128.209( $\text{CH}$ ), 131.065( $\text{CH}$ ), 133.241(quat. C), 133.372( $\text{CH}$ ), 148.042(quat. C), 169.006(C=O)。IR(neat)  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3097, 2971, 1717, 1545, 1372, 1350, 1159。元素分析( $C_{16}H_{24}N_2O_6S$ )理论值  $w(C)=51.60\%$   $w(H)=6.49\%$   $w(N)=7.52\%$  ;实验值  $w(C)=51.54\%$   $w(H)=6.41\%$   $w(N)=7.59\%$ 。EI-MS: 372, 357, 329, 315, 271, 215, 186, 157, 129, 122, 101, 57。

### 1.7 *N*-Ns-*N*(Me)-*L*-Val·TFA (IX)

在  $N_2$  保护下将 0.58 g 化合物 VIII(1.56 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷并降温至 0 °C, 在 2 min 内向反应液中缓慢滴加 5 mL 三氟乙酸。在此温度下搅拌反应 1 h, 室温反应 2 h。浓缩反应物, 然后向残余物中加入 10 mL 二氯甲烷, 再浓缩, 得黏稠的油状物 IX 0.65 g 直接用于下步反应。

### 1.8 *N*-Ns-*N*(Me)-*L*-Val·Cl (X)

在  $N_2$  保护下将 0.20 g 化合物 IX(0.48 mmol) 溶于 6.0 mL 二氯甲烷并降至 0 °C, 在此温度下向反应液中缓慢滴加 0.50 mL 草酰氯(4.93 mmol)和催化剂量的 DMF, 反应结束后, 浓缩得棕黄色液体 X 0.21 g 直接用于下步反应。

### 1.9 *N*-Ns-*N*(Me)-*L*-Val-*N*(Me)-*L*-Phe-O<sup>t</sup>Bu (XI)

向 25 mL 两口瓶中加入 5 mL 二氯甲烷和 5 mL 水, 冷却至 0 °C, 搅拌下依次加入 0.17 g 化合物 V(0.72 mmol), 0.19 g 碳酸氢钠(2.28 mmol), 0.15 g 碳酸钠(1.42 mmol), 在此温度下于 1 min 内滴加 0.21 g 化合物 X(0.63 mmol) 溶于 3 mL 二氯甲烷形成的溶液。加毕, 在 0 °C 下搅拌反应 30 min, 然后用二氯甲烷(7 mL  $\times$  3)萃取反应液, 合并有机相, 依次用质量分数为 0.5% 的盐酸(20 mL  $\times$  3)、饱和食

盐水(20 mL  $\times$  3)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后经柱色谱分离得黄色黏稠油状物 XI 0.28 g, 收率 83.6%。

$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$ : 0.592(d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 0.925(d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 1.419(s, 9H), 2.138~2.216(m, 1H), 2.896~2.939(dd,  $J_1=14.2$  Hz,  $J_2=6.8$  Hz, 1H), 2.959(s, 3H), 3.064(s, 3H), 3.278~3.321(dd,  $J_1=14.2$  Hz,  $J_2=5.6$  Hz, 1H), 4.190~4.228(m, 1H), 4.455~4.482(d,  $J=10.8$  Hz, 1H), 7.174~7.277(m, 5H), 7.564~7.643(m, 3H), 7.851~7.874(m, 1H);  $^{13}\text{CNMR}(\text{CDCl}_3)$ ,  $\delta$ : 18.482( $\text{CH}_3$ ), 18.521( $\text{CH}_3$ ), 22.825( $\text{CH}$ ), 23.623( $\text{CH}_3$ ), 27.989( $3\text{CH}_3$ ), 28.782( $\text{CH}_3$ ), 32.762( $\text{CH}_2$ ), 59.097( $\text{CH}$ ), 59.210( $\text{CH}$ ), 81.867(quat. C), 123.961( $\text{CH}$ ), 126.417( $\text{CH}$ ), 128.506(2CH), 129.270(2CH), 132.307( $\text{CH}$ ), 133.309(quat. C), 137.094(quat. C), 147.885(quat. C), 169.429(C=O), 170.571(C=O)。元素分析( $C_{26}H_{35}N_3O_7S$ )理论值  $w(C)=58.52\%$   $w(H)=6.61\%$   $w(N)=7.87\%$  ;实验值  $w(C)=58.43\%$   $w(H)=6.54\%$   $w(N)=7.93\%$ 。EI-MS: 533, 490, 476, 460, 432, 328, 271, 262, 205, 186, 161, 133, 122, 91, 73, 57, 43。

### 1.10 MeVal-MePhe-O<sup>t</sup>Bu (XII)

室温下将 10.13 g 化合物 XI(18.98 mmol) 溶于 150 mL DMF 中, 然后依次加入 8.67 g 一水合氢氧化锂(206.7 mmol), 4.00 mL 质量分数为 90% 的巯基乙酸(57.40 mmol)。室温反应 30 min 后加入少量饱和氯化铵水溶液以终止反应, 随之用  $V(\text{苯})/V(\text{乙酸乙酯})=1/2$  (50 mL  $\times$  3) 萃取, 然后依次用饱和碳酸氢钠水溶液(100 mL  $\times$  3)、饱和食盐水(100 mL  $\times$  3)洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压蒸除溶剂得黄色油状物 XII 6.19 g, 收率 93.5%。

$^1\text{HNMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$ : 0.866(d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 0.915(d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 1.407(s, 9H), 1.708(s, 3H), 2.857(s, 3H), 2.234~2.286(m, 1H), 2.886~2.920(m, 1H), 3.174~3.231(dd,  $J_1=14.2$  Hz,  $J_2=5.68$  Hz, 1H), 3.300~3.350(dd,  $J_1=14.2$  Hz,  $J_2=5.12$  Hz, 1H), 5.493~5.534(dd,  $J_1=11.2$  Hz,  $J_2=5.2$  Hz, 1H), 7.078~7.232(m, 5H);  $^{13}\text{CNMR}(\text{CDCl}_3)$ ,  $\delta$ : 17.734( $\text{CH}_3$ ), 19.850( $\text{CH}_3$ ), 27.720( $\text{CH}$ ), 27.836( $3\text{CH}_3$ ), 31.059( $\text{CH}_3$ ), 34.440( $\text{CH}_2$ ), 34.457( $\text{CH}_3$ ), 58.068( $\text{CH}$ ), 65.042( $\text{CH}$ ), 81.606(quat. C), 126.369( $\text{CH}$ ), 128.187(2CH),

128.703 ( 2CH ), 137.008 ( quat. C ), 169.822 ( C=O ), 175.083 ( C=O )。元素分析 ( C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ) 理论值  $w(C) = 68.93\%$   $w(H) = 9.26\%$   $w(N) = 8.04\%$  ; 实验值  $w(C) = 68.86\%$   $w(H) = 9.21\%$   $w(N) = 8.12\%$ 。EI-MS 348 333 305 275 , 247 205 143 133 128 113 101 99 73 57。

## 2 结果与讨论

### 2.1 活化试剂的选择

在肽化学合成领域,可用于对氨基酸氮原子进行活化的活化基团不胜枚举,不同的活化基团具有不同的适用范围。作者选择邻硝基苯磺酰氯对氨基进行活化主要是基于以下几方面的考虑(1)对氨基进行邻硝基苯磺酰基活化时,反应可以定量完成<sup>[6]</sup>(2)由于邻硝基苯磺酰基的强吸电子效应使得随之进行的 *N*-甲基化反应易于发生<sup>[6]</sup>(3)脱除活化基后,产品的分离与提纯相对容易(4)邻硝基苯磺酰氯价廉易得。另外,邻硝基苯磺酰基对强酸、强碱都非常稳定<sup>[4]</sup>,尤其适用于分子结构中含有某些敏感基团的化合物的合成。

### 2.2 邻硝基苯磺酰基的脱除

在不同条件下脱除邻硝基苯磺酰基的方法大致有以下几种<sup>[5,7]</sup>: HSCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H - LiOH, HSCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H - K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HSCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H - DBU, PhSH - K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH - DBU 以及 HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH - KO<sup>t</sup>Bu 等。实验结果显示,选用 2 mol 巯基乙酸和 10 mol 氢氧化锂进行此脱除反应时,可以得到最好的结果。在此条件下,反应生成的副产物 *o*-O<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H 用饱和碳酸氢钠水溶液经简单洗涤就可除去,而且所得产品纯度很高,不需进行柱色谱提纯就可直接进行下一步反应,若氢氧化锂的用量少于 10 mol,则不能使脱除反应彻底进行。

### 2.3 偶合反应

手性合成具有较大空间位阻的 *N*-甲基肽是多肽合成化学中具有挑战性的领域之一。目前文献报道了许多有关此类化合物的合成方法,如 Akaji 小组<sup>[8]</sup>将 Cbz-MeLeu-OH 在偶合试剂 CIP-HOAt 的作用下与 MeVal-OMe 进行偶合反应得 *N*-甲基二肽 Cbz-MeLeu-MeVal-OMe;另外,Wenger 及 Rich 研究小组分别采用混三甲基乙酰胺和 BOP-Cl 作为偶合试剂进行类似化合物的合成。这些方法的共同缺点是收率低、后处理复杂,而且在进行偶合反应时需要加入比较昂贵的偶合试剂。作者采取的偶合策略

是:将化合物 IX 做成酰氯,利用酰氯的高反应活性与另一 *N*-甲基氨基酸衍生物 MePhe-O<sup>t</sup>Bu 进行偶合,高收率地完成了具有较大空间位阻的 *N*-甲基二肽 MeVal-MePhe-O<sup>t</sup>Bu 的合成。此方法与传统方法相比具有以下优点:不需另外加入特殊的偶合试剂、手性碳原子的构型得到很好的保持、反应速度快、反应条件温和、收率高,尤其适用于具有较大空间位阻的 *N*-烷基肽的合成。

综上所述,作者采用廉价易得的邻硝基苯磺酰氯对氨基酸进行保护可以有效活化氨基,使得后续的甲基化反应得以顺利进行;在进行偶合反应时,利用酰氯的高反应活性、不需加入任何偶合试剂,顺利实现了采用传统方法不易合成的、具有较大空间位阻的 *N*-甲基二肽;在脱保护阶段,本文讨论了不同脱保护试剂和不同碱的用量对反应的影响。

致谢:感谢香港理工大学应用化学与生物系叶涛博士以及香港理工大学深圳研究院手性合成开放实验室对本课题的大力资助。

### 参考文献:

- [1] Williams P G, Yoshida W Y, Moore R E *et al.* Isolation and structure determination of obyanamide, a novel cytotoxic cyclic depsipeptide from the marine cyanobacterium *Lyngbya confervoides* [J]. *J Nat Prod* 2002 65 29-31.
- [2] Mazur R H, James P A, Tyner D A *et al.* Bradykinin analogues containing *N*-alpha-methyl amino acid [J]. *J Med Chem* 1980 23: 758-763.
- [3] Ali F E, Bennett D B, Calvo R R *et al.* Conformationally constrained peptides and semipeptides derived from RGD as potent inhibitors of the platelet fibrinogen receptor and platelet aggregation [J]. *J Med Chem* 1994 37 769-780.
- [4] Jingdan Hu, Miller M J. Total synthesis of a *Mycobacterin S* siderophore and growth promoter of *Mycobacterium Smegmatis* and determination of its growth inhibitory activity against *Mycobacterium Tuberculosis* [J]. *J Am Chem Soc* 1997 119 3462-3468.
- [5] Fukuyama T, Jow C K, Cheung M. 2- and 4-Nitrobenzenesulfonamides: exceptionally versatile means for preparation of secondary amines and protection of amines [J]. *Tetrahedron Lett* 1995 36 6373-6374.
- [6] Miller S C, Scanlan T S. Site-selective *N*-methylation of peptides on solid support [J]. *J Am Chem Soc* 1997 119 2301-2302.
- [7] Miller S C, Scanlan T S. *o*NBS-SPPS: a new method for solid-phase peptide synthesis [J]. *J Am Chem Soc* 1998 120 2690-2691.
- [8] Akaji K, Hayashi Y, Kiso Y. Convergent synthesis of dolastatin 15 by solid phase coupling of an *N*-methylamino acid [J]. *J Org Chem* 1999 64 405-411.