文章编号: 1008-1542(2011)02-0162-03

N-乙酰基-*L*-脯氨酸-N-糖基修饰的丝氨酸二肽酯的合成与结构解析

甄小丽, 雷光华, 韩金鑫, 韩建厅, 侯富华

(河北科技大学理学院, 河北石家庄　050018)

摘　要: 以 *L*-脯氨酸和 *L*-丝氨酸为原料, 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)为缩合剂, 将C端和N端分别通过烯丙基和Fmoc保护的 *L*-丝氨酸与乙酰基保护的 *L*-脯氨酸缩合得到 N-乙酰基-*L*-脯氨酸-Fmoc-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯。脱去Fmoc保护后, 再与 2, 3, 4-O-三乙酰基-6-O-三氟甲磺酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷作用, 得到 N-乙酰基-*L*-脯氨酸-N-6-(2, 3, 4-O-三乙酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷)-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯, 通过核磁共振氢谱、高分辨质谱对其结构进行了表征。

关键词: 脯氨酸-丝氨酸二肽酯; 葡萄糖修饰的二肽酯; *D*-葡萄糖; 合成; 表征

中图分类号: Q532　　文献标志码: A

Synthesis and structural characterization of N-acetyl-*L*-pro-N-glucopyranoside-*L*-ser dipeptide ester

ZHEN Xiao-li, LEI Guang-hua, HAN Jin-xin, HAN Jian-ting, HOU Fu-hua

(College of Sciences, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China)

Abstract: Using *L*-proline and *L*-serine as raw materials, EDC·HCl as coupling reagents, *L*-N-acetyl-pro-N-Fmoc-*L*-ser-(O-allyl) dipeptide ester were obtained by coupling reaction of *L*-N-acetyl-proline and N-Fmoc-*L*-serine allyl ester. After deprotecting Fmoc, the substitution reaction of obtained compound and 2, 3, 4-tri-O-acetyl-6-O-triflyl-α-*D*-glucopyranoside occurred, giving N-Acetyl-*L*-pro-N-glucopyranoside-*L*-ser dipeptide ester. The structures of the final product and intermediates were characteried by ^{1}H NMR, HR-MS.

Key words: *L*-pro-*L*-ser-(O-allyl) dipeptide esters; glucosyl dipeptide esters; *D*-glucose; synthesis; characterization

在现代有机合成中, 糖蛋白的合成被认为是具有挑战性的问题之一, 特别是天然生成的糖蛋白, 通常糖基通过精氨酸、丝氨酸或苏氨酸与蛋白质骨架相连, 并且具有非常复杂的寡糖结构。尽管生物化学家们在糖化学和肽化学方面进行了大量研究, 但是这两类物质的研究往往是相互独立的, 而系统地对于糖肽类物质的合成、结构及性能研究相对较少。因此研究糖肽类物质的合成、结构与性能对于了解糖蛋白在生物体内的作用机制具有非常重要的意义[1]。在糖肽类物质的合成中, 由于氨基酸与糖基都是多官能团的化合物, 因此选择合适的偶合条件及保护基是非常关键的因素之一。糖氨基酸(SAA)作为糖蛋白和糖肽的基本单元被广泛应用于制备各种具有单一性能的新结构化合物[2]。在以前的研究中, 笔者曾以 *D*-葡萄糖为原料通过保

收稿日期: 2010-12-12; 修回日期: 2011-01-05; 责任编辑: 张士莹
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873139); 河北省自然科学基金资助项目(B2010000836)
作者简介: 甄小丽(1962-), 女, 河北石家庄人, 教授, 主要从事药物中间体合成及有机合成方面的研究。

护、脱保护、活化 6-位羟基、偶合等得到与 6-位相连的 N-葡萄糖氨基酸酯。而本文以 *L*-丝氨酸与 *L*-脯氨酸为原料, 合成葡萄糖 6-位与丝氨酸的 N 端相连形成糖基修饰的二肽酯, 并且对其结构进行了解析。

1　实验部分

1.1　试剂

L-脯氨酸, *L*-丝氨酸, Fmoc-Cl, 烯丙基溴等试剂, 均为分析纯。N-乙酰基-*L*-脯氨酸(Ⅰ), Fmoc-*L*-丝氨酸(Ⅱ), Fmoc-*L*-丝氨酸烯丙酯(Ⅲ), 2, 3, 4-O-三乙酰基-6-O-三氟甲磺酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷(Ⅳ), 分别按照文献[3] – 文献[6]制备。

1.2　仪器

Bruker AVANCE Ⅱ500 核磁共振仪, 瑞士 Bruker Boispin 公司提供; LC-MS2010EV 液相色谱-质谱联用仪, 日本岛津公司提供。

1.3　N-乙酰基-*L*-脯氨酸-Fmoc-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯(Ⅴ)的合成

向带有氯化钙干燥管的 100 mL 单口瓶中加入 60 mL 的 DCM 和 3 mL 的 DMF 及 2 mmol 的化合物Ⅲ, 电磁搅拌下使固体溶解。加入 2.4 mmol 的化合物Ⅰ和 2.4 mmol 的 EDC·HCl, 再加入 0.1 g 的 DMAP, 室温反应 15 h。减压除去溶剂, 并向残留物中加入 50 mL 水, 用乙酸乙酯萃取(20 mL×5)。合并有机相, 分别用水、5%(质量分数) K_2CO_3、2%(体积分数) HCl、饱和 NaCl 溶液洗涤, 用无水 $MgSO_4$ 干燥。过滤、浓缩后, 将粗产物经硅胶柱层析纯化(用 *V*(石油醚)∶ *V*(乙酸乙酯)= 1∶ 2 作为洗脱剂), 得产物为白色粉末状固体Ⅴ, 产率为 88%。

^{1}H NMR(500 MHz, $CDCl_3$)。δ 1.86(*m*, 1H), 1.98(*m*, 2H), 2.09(*s*, 3H), 2.18(*m*, 1H), 3.52(*dd*, 1H), 3.64(*dd*, 1H), 4.24(*m*, 1H), 4.37(*m*, 2H), 4.40(*m*, 1H), 4.51(*m*, 1H), 4.67(*m*, 2H), 4.70(*m*, 1H), 4.72(*m*, 1H), 5.25(*d*, 1H), 5.35(*d*, 1H), 5.93(*m*, 1H), 6.45(*d*, 1H), 7.32(*m*, 2H), 7.40(*m*, 2H), 7.67(*m*, 2H), 7.77(*m*, 2H)。HR-MS(ESI, M+1) calcd. for $C_{28}H_{30}N_2O_7$: 507.213 1; Found: 507.212 2。

1.4　N-乙酰基-*L*-脯氨酸-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯(Ⅵ)的合成

将 2 mmol 化合物Ⅴ加入到带有氯化钙干燥管的 100 mL 单口瓶中, 加入 20 mL 的 DCM 和 6.6 mL 三乙胺, 电磁搅拌下室温反应 6 h。减压蒸馏除去 DCM 和三乙胺, 所得固体用正己烷重结晶, 即得产物Ⅵ, 无需进行柱层析即可用于下一步反应。

1.5　N-乙酰基-*L*-脯氨酸-N-6-(2, 3, 4-O-三乙酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷)-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯(Ⅶ)的合成

向配放空阀、温度计、氮气球和恒压滴液漏斗的四口瓶中加入 10 mL 的 DCM 和几粒活化后的分子筛。冰盐浴冷却至– 15 ℃左右, 加入 3 mmol 化合物Ⅳ, 电磁搅拌使其溶解, 抽真空, 通氮气。将0.3 mmol化合物Ⅵ溶于 10 mL 的 DCM 溶液中并转移至滴液漏斗中, 缓慢滴加至四口瓶中。待滴加完毕, 加入 1.2 mmol 的 K_2CO_3 和 0.9 mmol 的 $AgSO_3CF_3$, 室温反应 30 h 后过滤除去 K_2CO_3 和生成的 AgBr 沉淀。母液减压浓缩, 粗产物经硅胶柱层析纯化(用 *V*(二氯甲烷)∶ *V*(甲醇)= 80∶ 1 混合液作为洗脱剂), 得产物为白色粉末状固体Ⅶ, 产率为 50%。

^{1}H NMR(500 MHz, $CDCl_3$)。δ 1.86(*m*, 1H), 2.00(*m*, 2H), 2.15(*m*, 1H), 2.18(*s*, 12H), 2.95(*m*, 1H), 3.15(*m*, 1H), 3.40(*s*, 3H), 3.56(*m*, 1H), 3.65(*m*, 1H), 3.96(*m*, 1H), 4.23(*m*, 1H), 4.29(*dd*, 1H), 4.50(*m*, 2H), 4.71(*m*, 2H), 4.87(*d*, 1H), 4.91(*dd*, 1H), 5.15(*dd*, 1H), 5.25(*m*, 1H), 5.30(*dd*, 1H), 5.35(*m*, 1H), 5.95(*m*, 1H)。HR-MS(ESI, M+1) calcd. for $C_{26}H_{38}N_2O_{13}$: 587.245 2; Found: 587.244 5。

2　结果讨论

2.1　合成

图 1 为目标化合物的合成路线。在二肽酯的合成中, 通常用的缩合剂有 DCC, CDI, EDC, DPBA, DPBO 等, 而在本实验中采用 EDC 的盐酸盐为缩合剂可以得到较高收率的二肽酯(化合物Ⅴ)。化合物Ⅴ在二氯甲烷中与三乙胺作用下, 室温可脱去丝氨酸中 N 端的保护基 Fmoc, 得到化合物Ⅵ, 不经过提纯即可与 2, 3, 4-O-三乙酰基-6-O-三氟甲磺酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷(Ⅳ)进行反应, 得到产物 N-乙酰基-*L*-脯氨酸-N-6-

(2,3,4-O-三乙酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷)-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯(Ⅶ)。在此过程中,笔者对 Ag_2CO_3, $AgClO_4$, $AgSO_3CF_3$ 等催化剂进行筛选。结果表明,用前两者作催化剂时产物的收率均较低,而选用 $AgSO_3CF_3$ 作催化剂时产物的收率为 50%。

2.2 结构分析

通过对产物的 ^{1}H NMR 吸收峰解析发现,δ 为 1.86, 2.00, 2.15, 3.56, 3.65, 4.29 处的 6 组多重峰为脯氨酸中的 7 个氢质子的吸收峰,其中 1.86, 2.15, 3.56, 3.65 是与手性 C 以及与 N 相连的 2 个亚甲基的吸收峰;δ 2.18 的 12 个氢的单峰为糖环上 3 个与 O 相连的乙酰基以及 1 个与脯氨酸 N 相连的乙酰基的吸收峰;δ 2.95, 3.15 为葡萄糖中 6 位与 N 相连的亚甲基的吸收峰;δ 3.40 为葡萄糖苷键中甲基氢的吸收峰;δ 3.96 的 1 个氢的多重峰是丝氨酸中次甲基的氢;δ 4.50 的 2 个氢是丝氨酸中亚甲基的氢;δ 4.71 的 2 个氢的吸收峰是烯丙酯中的亚甲基的吸收峰;而化学位移值为 5.25, 5.35, 5.95 分别为烯丙酯中与双键相连的 3 个氢的吸收峰;δ 4.23, 4.87, 4.91, 5.15, 5.30 的 5 个氢分别是甲基葡萄糖苷中 5 位,1 位,2 位,4 位,3 位氢的吸收峰,产物的高分辨质谱分析结果与理论值一致。

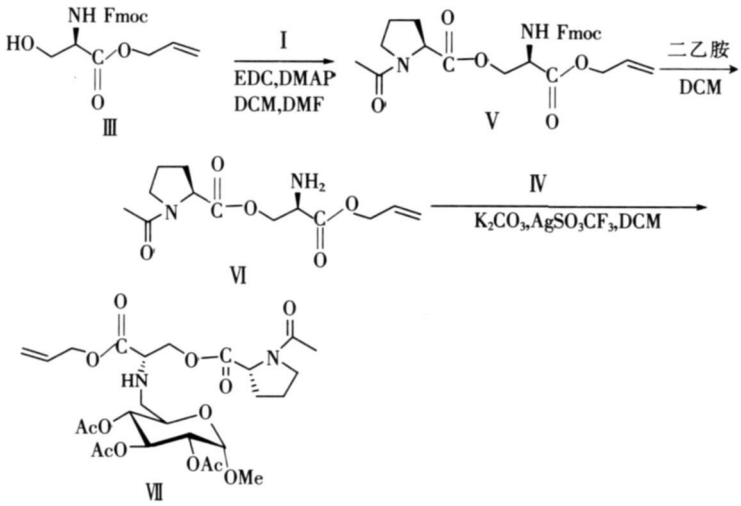

图 1 产物的合成

Fig. 1 Synthesis of product

3 结 语

以 *L*-脯氨酸、*L*-丝氨酸为原料,合成了 N-乙酰基-*L*-脯氨酸-N-β-(2,3,4-O-三乙酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷)-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯。通过核磁共振氢谱、高分辨质谱对化合物的结构进行了表征,确定所合成的化合物为 N-乙酰基-*L*-脯氨酸-N-β-(2,3,4-O-三乙酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷)-*L*-丝氨酸烯丙酯二肽酯。

参考文献:

[1] 张宝华,史兰香. *L*-脯氨酰-*L*-苯丙氨酸催化的直接不对称 Mannich 反应研究[J]. 河北科技大学学报(Journal of Hebei University of Science and Technology), 2010, 31(4): 309-311.

[2] MANUEL A, CLAUDE T, FRANOISE C, et al. Synthesis and solution conformation of homo-β-peptides consisting of N-Mannofurano-syl-3-ulosonic acids[J]. J Org Chem, 2009, 74: 7651-7659.

[3] GRUNER S A W, YOCARDI E, YOHOF E, et al. Carbohydrate-based mimetics in drug design: Sugar amino acids and carbohydrate scaffolds[J]. Chem Rev, 2002, 102: 491-514.

[4] 宋叔琴,杨会龙,史兰香. *L*-脯氨酰胺的合成工艺改进[J]. 河北科技大学学报(Journal of Hebei University of Science and Technology), 2008, 29(4): 325-327.

[5] REDDY A, VEERA R B. Acetylation under ultrasonic conditions: Convenient preparation of N-acetylamino acids[J]. Syn Comm, 1992, 22(2): 257-264.

[6] CHINCHILLA R, DODSWORTH D J, NAJERA C, et al. A new polymer-supported reagent for the Fmoc protection of amino acids[J]. Tetra Lett, 2001, 42: 7579-7581.

[7] NICOLE M A J, DMITRI V F, VANDEN E H, et al. Stepwise solid phase synthesis of uridylylated viral genome-linked peptides using uridylylated amino acid building blocks[J]. Tetrahedron, 2003, 59(9): 1589-1597.

[8] 甄小丽,李小六,鹿 欣. N-β-(2,3,4-三氧乙酰基-α-*D*-甲基吡喃葡萄糖苷)亮氨酸甲酯的合成与表征[J]. 河北大学学报(自然科学版)(Journal of Hebei University (Natural Science Edition)), 2009, 30(2): 164-167.