

В. А. Славинская, Г. И. Чипенс, Дз. Э. Силе, Э. Х. Корчагова,
М. Ю. Каткевич, В. Д. Григорьева, Э. Лукевич

**СИНТЕЗ ЭТИЛОВОГО ЭФИРА
N-БУТОКСИКАРБОНИЛАЛАНИЛ-1,4-ДИОКСА-7-АЗАСПИРО[4,4]-
НОНАН-8(S)-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ**

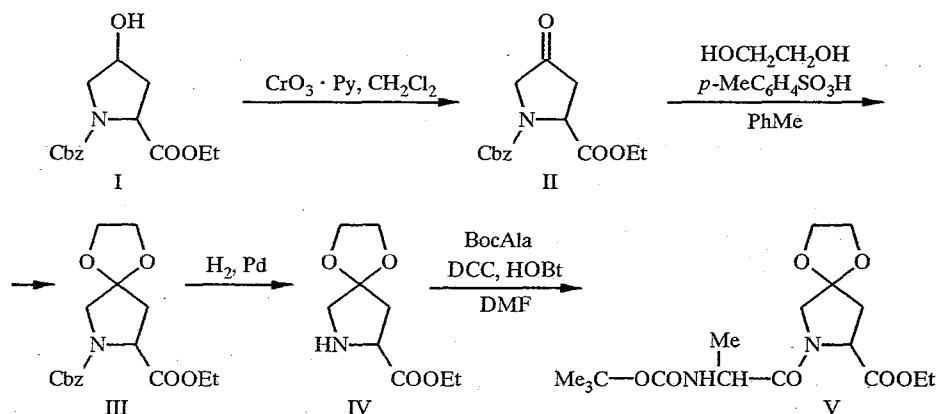
Разработан четырехстадийный метод синтеза этилового эфира N-бутоксикарбонилаланил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(S)-карбоновой кислоты через образование этилового эфира N-бензилоксикарбонил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(S)-карбоновой кислоты.

В последнее десятилетие большое значение приобретает синтез и изучение свойств пептидов, содержащих остатки неприродных аминокислот [1—3]. Эти соединения отличаются более высокой устойчивостью к ферментативному расщеплению по сравнению с пептидами, имеющими лишь остатки природных аминокислот. Часто они обладают более высокой биологической активностью и нередко приобретают новые виды активности.

Дипептид аланилпролин и особенно его производные являются ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента. В этом ряду соединений известны весьма активные антигипертензивные препараты, которые в настоящее время широко применяются для лечения гипертензии и сердечной недостаточности (эналаприл, лизиноприл и др.).

Одним из наиболее плодотворных путей поиска новых антигипертензивных средств является замена остатка пролина в фрагменте дипептида аланилпролина на остаток неприродной аминокислоты (препараты квиноприл, спироприл и др.). В качестве таковой может служить 1,1-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(S)-карбоновая кислота, которая имеет не только самостоятельное значение, но и может быть использована для синтеза производных дегидропролина и 4-кетопролина [4].

Синтез этилового эфира N-бутоксикарбонилаланил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(S)-карбоновой кислоты (V) нами осуществлен по следующей схеме:



В качестве исходного вещества используют этиловый эфир N-Cbz-4-оксипролина (I), который окисляют в этиловый эфир N-Cbz-4-кетопролина (II), используя $\text{CrO}_3 \cdot \text{Py}$. При взаимодействии кетопролина II с

этиленгликolem в присутствии *n*-толуолсульфокислоты в условиях азеотропной отгонки воды образуется этиловый эфир N-бензилоксикарбонил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты (III). Основание IV, полученное гидрогенолизом соединения III, конденсируют с *трет*-бутоксикарбонилаланином дициклогексилкарбодиимидным (DCC) методом, что приводит к дипептиду V. Конечный продукт выделяют хроматографически.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследованиях использована циклогексиламмониевая соль N-Cbz-оксипролина (Reanal, Венгрия). Этерификация N-Cbz-оксипролина (после снятия СНА) абсолютированным этанолом осуществлена по известной методике в присутствии хлористого тионила [5]. Чистота сложного эфира I 98 %. Этиловый эфир N-Cbz-4-кетопролина синтезирован по методу [6].

Содержание N-Cbz-оксипролина и этилового эфира N-Cbz-4-кетопролина, а также чистоту целевого продукта определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Du Pont 850. Использовали колонку, заполненную обращенно-фазовым сорбентом Silasorb C18; размер колонки 4,6 × 100 мм. Элюент для N-Cbz-оксипролина и его этилового эфира — система, состоящая из 15 % CH₃CN и 85 % 0,2 М AcONH₄; для N-Cbz-4-кетопролина — 40 % CH₃CN и 60 % 0,1 М фосфатного буфера, pH 2,5. Детектирование осуществлено на УФ спектрофотометре при длине волны $\lambda = 220$ нм.

Количество этилового эфира N-Cbz-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты, эфира незамещенной аминокислоты (IV) и дипептида — этилового эфира N-бутоксикарбонилаланил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты определено с использованием упомянутой обращенной фазы.

Для этилового эфира N-Cbz-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты и эфира незамещенной аминокислоты элюент — система, состоящая из 40 % CH₃CN и 60 % 0,2 М AcONH₄, $\lambda = 230$ нм. Для дипептида — этилового эфира N-бутоксикарбонилаланил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты элюент: 50 % CH₃CN и 50 % 0,2 М AcONH₄, $\lambda = 225$ нм.

Спектры ПМР сняты на спектрометре Bruker WH-90/DS в растворе CDCl₃, внутренний стандарт TMS.

Этиловый эфир N-бензилоксикарбонил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты (III). В качестве основного использован метод [4]. В трехгорлую колбу, снабженную механической мешалкой, обратным холодильником и насадкой Дина—Старка, вводят 2,07 г вещества, которое содержит 1,8 г (6,17 ммоль) этилового эфира N-бензилоксикарбонил-4-кетопролина, 7,3 г (117,6 ммоль) этиленгликоля и 65 мл свежеперегнанного сухого толуола. Реакционную смесь нагревают на масляной бане до 120 °C и выдерживают при этой температуре в течение 17,5 ч, осуществляя азеотропную отгонку воды. Во время реакции из насадки Дина—Старка небольшими порциями удаляют толуол, содержащий воду, и в реакционную смесь добавляют порции сухого толуола. После охлаждения реакционную смесь выливают на раздробленный лед. Экстрагируют этилацетатом (3 × 100 мл). Экстракты объединяют и сушат над безводным Na₂SO₄. Последний фильтруют, промывают этилацетатом. Раствор упаривают на ротационном испарителе. Получают 1,09 г сырца, содержащего 37 % целевого продукта. Чистят на колонке с силикагелем (элюент гексан— этилацетат, 4 : 1, 2 л). Упаривают и получают 0,65 г бесцветного масла (чистота 77,0 %). Спектр ПМР (CDCl₃): 7,5...7,4 (5Н, м, Ph), 5,18* (2Н, д, CH₂—Ph), 5,07* (2Н, д, CH₂—Ph), 4,53...4,43 (1Н, м, α -Pro), 4,23* (2Н, кв, O—CH₂—CH₃), 4,08* (2Н, м, O—CH₂CH₃), 3,99...3,88 (4Н, м, O—CH₂CH₂—O), 3,64...3,56 (2Н, д, д, δ -Pro), 2,48...2,36 и 2,27...2,18 (2Н, м, β -Pro), 1,25* (3Н, т, CH₃), 1,13* м. д. (3Н, т, CH₃).

Этиловый эфир 1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты (IV). В двухгорлую колбу, снабженную магнитной мешалкой и барботером для ввода водорода, помещают 0,54 г вещества, содержащего 0,42 г (1,25 ммоль) этилового эфира N-бензилоксикарбонил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(*S*)-карбоновой кислоты (III), растворяют в 30 мл метанола и добавляют 3 мл CH₃COOH и 0,6 мл дистиллированной воды. К полученному раствору добавляют свежеприготовленную палладиевую чернь и гидрируют водородом до исчезновения сырья (~5 ч). Катализатор отфильтровывают, промывают метанолом (30 мл) и фильтрат упаривают досуха на

* Наличие ротамеров по CO—N связи.

ротационном испарителе. Получают масло (0,24 г, чистота 75%), которое сушат в эксикаторе над P_2O_5 . Выход уксуснокислой соли этилового эфира 1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(S)-карбоновой кислоты 55,4%.

Этиловый эфир N-бутоксикарбонилаланил-1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(S)-карбоновой кислоты (V). В круглодонную колбу (объем 100 мл), снабженную магнитной мешалкой и капельной воронкой, помещают 0,24 г (0,918 ммоль) уксуснокислой соли этилового эфира 1,4-диокса-7-азаспиро[4,4]нонан-8(S)-карбоновой кислоты и растворяют в 2,5 мл предварительно очищенного сухого диметилформамида. При этой же температуре добавляют по каплям 0,173 г BocAla, растворенного в 2 мл диметилформамида. Раствор охлаждают до $-5^{\circ}C$ и добавляют по каплям 0,128 мл триэтаноламина (0,848 ммоль), перемешивая, охлаждают до $-35^{\circ}C$ и добавляют по каплям раствор 0,14 г оксибензотриазола в 0,5 мл диметилформамида. Раствор охлаждают до $-60^{\circ}C$ и добавляют 0,14 г DCC, растворенного в 0,8 мл диметилформамида. При этой температуре выдерживают 1 ч 15 мин, затем уменьшают охлаждение. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре 5 ч и оставляют в холодильнике на двое суток. Отфильтровывают осадок дициклогексимочевину и промывают диметилформамидом ($3 \times 0,5$ мл). К фильтрату добавляют 21 мл воды и экстрагируют этилацетатом (4×10 мл). Слой этилацетата промывают последовательно 15 мл 5% раствора $NaHCO_3$, 10 мл дистilledированной воды, 15 мл 5% раствора $KHSO_4$, 11 мл насыщенного раствора $NaCl$ и 11 мл H_2O . Сушат над безводным Na_2SO_4 . Последний отфильтровывают и фильтрат упаривают при пониженном давлении. Сушат в эксикаторе над P_2O_5 . Получают 0,035 г густого масла (чистота 85% по данным ВЭЖХ). Выход 8,3%. Спектр ПМР ($CDCl_3$): 5,30...5,40 (1Н, уш. с, NH-Ala), 4,64 (1Н, д. д., α -Pro), 4,33...4,42 (1Н, м, α -Ala), 4,18 (2Н, кв, $COCH_2$), 3,90...4,00 (4Н, м, CH_2 —O), 3,75 (1Н, д, δ -Pro), 3,60 (1Н, д, δ -Pro), 2,35 (1Н, д. д., β -Pro), 2,18 (1Н, д. д., β -Pro), 1,51 (9Н, с, CH_3), 1,31 (3Н, д, CH_3 Ala), 1,21 м. д. (3Н, т, CH_2CH_3).

С П И С О К Л И Т Е Р А Т У Р Ы

1. Чипенс Г. И., Славинская В. А., Страутиня А. К., Силе Д. Э., Крейле Д. Р., Крикис А. Ю. Модифицированные аминокислоты и пептиды на их основе. — Рига: Зиннатне, 1987. — 278 с.
2. Schöllkopf U. // Liebigs Ann. Chem. — 1988. — S. 781.
3. Williams R. M. // Synthesis of Optically Active α -Amino Acids. — Oxford: Pergamon Press, 1989. — 410 p.
4. Smith E. M., Swiss G. F., Neustadt B. R., Gold E. H., Sommer J. A., Brown A. D., Chiu P. J. S., Moran R., Sybertz E. J., Baum Th. // J. Med. Chem. — 1988. — Vol. 31. — P. 875.
5. Гринштейн Дж., Виниц М. // Химия аминокислот и пептидов. — М.; Л.: Мир, 1965. — С. 427.
6. Sufrin J. R., Balasubramanian T. M., Vora C. M., Marshall G. R. // Int. J. Peptide and Protein Res. — 1982. — Vol. 20. — P. 438.