

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

СИНТЕЗ

N-(1-КАРБОКСИ-3-ФЕНИЛПРОПЕН-2-ИЛ)АЛАНИЛПРОЛИНА

Разработан метод синтеза N-(1-карбокси-3-фенилпропен-2-ил)аланилпролина восстановительным алкилированием аланилпролина натриевой солью 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты с использованием цианборгидрида натрия и боргидрида натрия в качестве восстановителей. Выделение продукта хроматографическое. В условиях реакции боргидрид натрия в нейтральной среде преимущественно восстанавливает двойную связь основания Шиффа. Цианборгидрид натрия восстанавливает также двойную связь остатка 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты, образуя эналаприлат.

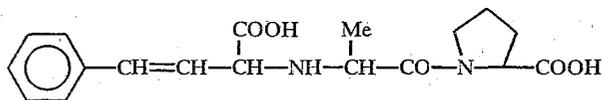
Отклонение системы ренин—ангиотензин—альдостерон от нормы является причиной ряда патологических состояний, среди которых наиболее распространена артериальная гипертензия [1]. По данным Американской кардиологической ассоциации, этим заболеванием в США страдают свыше 25 млн. человек, причем примерно в 50% случаев вследствие нарушения функционирования указанной системы [1, 2]. Поэтому исследование последней с целью создания новых высокоэффективных лекарственных препаратов — весьма актуальная задача.

Система ренин—ангиотензин—альдостерон характеризуется прессорным действием, обусловленным октапептидом — ангиотензином II, образующимся из ангиотензина I под влиянием дипептидилпептидазы или ангиотензинпревращающего фермента. Эффект повышения кровяного давления, вызванный ангиотензином II, обусловлен сужением сосудов, стимуляцией системы альдостерона и катехоламинов надпочечниками.

Клинико-фармакологические исследования показывают, что ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента — высокоэффективные препараты для лечения артериальной гипертензии и сердечной недостаточности [3]. Применение ангиотензинпревращающего фермента в отличие от других известных вазодилататоров обуславливает уменьшение роли тахикардии и инфаркта миокарда как побочных эффектов при лечении гипертензии. Каптоприл, эналаприл и лизиноприл признаны лучшими средствами для лечения артериальной гипертензии, однако эналаприл — самый популярный препарат среди ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента.

В основу дизайна этих препаратов положена модель активных центров ангиотензинпревращающего фермента, предложенная Ондетти и Кашменом [4, 5]. Согласно этой модели, активный центр фермента состоит из семи структурных элементов: 1) положительно заряженного иона, 2) «кармана» для гидрофобной группы C-концевой аминокислоты, 3) донора водорода, 4) «кармана» для гидрофобной группы предпоследней аминокислоты, 5) акцептора водорода, 6) иона цинка фермента, являющегося комплексообразователем с субстратом и ингибиторами фермента, 7) «карманов» за ионом цинка.

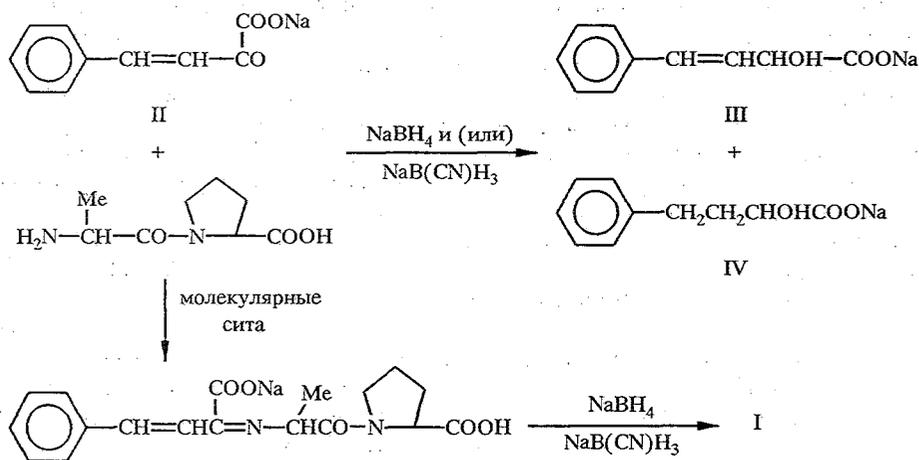
С целью варьирования N-конца молекулы эналаприлата, взаимодействующего с «карманом» за ионом цинка (активное место S₁) модели Кашмена и Ондетти [4, 6], нами синтезирован ненасыщенный аналог N-(1-карбокси-3-фенилпропен-2-ил)аланилпролин (I):



I

Осуществлено восстановительное алкилирование дипептида аланилпролина натриевой солью бензилиденпиридиноградной кислоты в присутствии боргидрида натрия и цианборгидрида натрия в качестве гидрирующих агентов (схема). При этом имеют место две параллельные реакции: образование натриевой соли ненасыщенного аналога эналаприла (I) и восстановление натриевой соли 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты в натриевую соль 2-окси-4-фенилбутеновой кислоты (III). Кроме того, в щелочной среде соединение III изомеризуется в натриевую соль 2-оксо-4-фенилбутановой кислоты [7]. Последняя при участии боргидридов восстанавливается в натриевую соль 2-окси-4-фенилбутановой кислоты (IV). При этом восстановительное превращение натриевой соли 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты (II) протекает с большой скоростью, что обуславливает большие избытки соединения II и боргидридов в реакционной смеси. Получают *E*-изомеры (*R,S,S*)- и (*S,S,S*)-производных I. Кроме того, в реакционной смеси присутствовали (*R,S,S*)- и (*S,S,S*)-диастереомеры эналаприлата.

Схема



Их содержание в реакционной смеси увеличивается при использовании $\text{NaB}(\text{CN})\text{H}_3$ в качестве восстановителя.

Изучено также восстановительное алкилирование аланилпролина этиловым эфиром 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты в среде абсолютного этилового спирта в присутствии молекулярных сит с использованием $\text{NaB}(\text{CN})\text{H}_3$ и NaBH_4 в качестве восстановителей. Кроме того, восстановительное алкилирование дипептида этиловым эфиром 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты было осуществлено в присутствии молекулярных сит в условиях каталитического гидрирования на 1,6% Pd/C катализаторе. Однако соответствующий ненасыщенный аналог эналаприла образовывался лишь в небольшом количестве и выделить его из сложной реакционной смеси продуктов реакции нам не удалось. В этих условиях преимущественно образуются диастереомеры эналаприлата [9].

Таким образом, для получения ненасыщенного аналога карбокси-метилаланилпролина оптимальной является конденсация натриевой соли 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты с дипептидом Ala-Pro в присутствии молекулярных сит и использованием NaBH_4 в качестве восстановителя.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гидрохлорид бензилового эфира L-пролина синтезирован взаимодействием L-пролина с бензиловым спиртом в присутствии тионилхлорида. Чистота соединения после перекристаллизации 99%.

Аланилпролин синтезирован конденсацией $\text{BocAla} + \text{ProOBzl}$ методом DCC с последующим ацилизмом Boc- и гидрогенолизом Bzl-группы. Чистота продукта 96,2%.

Исходные соединения и целевой продукт анализировали методом ВЭЖХ на хроматографе Du Pont 850, детектор УФ спектрометр при условиях: натриевая соль 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты — сорбент Zorbax ODS, размер колонки $4,6 \times 150$ мм, элюент 15% изопропанола, 0,2% H_3PO_4 , 84,8% H_2O , $\lambda = 230$ нм; дипептид Ala-Pro — сорбент Silasorb CPH C18, размер колонки $4,6 \times 150$ мм, элюент 0,1 М фосфатный буферный раствор, pH 2,5, $\lambda = 220$ нм; N-(1-карбокси-3-фенилпропен-2-ил)аланилпролин — сорбент Zorbax ODS, размер колонки $4,6 \times 250$ мм, элюент 5% CH_3CN и 95% 0,2 М AcONH_4 , $\lambda = 220$ нм.

В работе использовали следующие реактивы: Bu^1 -оксикарбонилаланин и пролин (Reanal, Венгрия), этиловый эфир пировиноградной кислоты (Fluka AG).

Взаимодействие натриевой соли 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты с солянокислой солью аланилпролина. В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, помещают 4,45 г (22,5 ммоль) натриевой соли 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты и суспендируют 4 мл дистиллированной воды, добавляют 0,9 г (4,0 ммоль) солянокислой соли аланилпролина, растворенного в 4 мл дистиллированной воды, перемешивают. Доводят pH реакционной смеси до 7, используя 25% NaOH, и разбавляют 4 мл дистиллированной воды. В реакционную смесь вводят 0,06 г (0,9 ммоль) $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_3$, растворенного в 1 мл дистиллированной воды. Перемешивают 2 ч. Добавляют 0,1 г (2,6 ммоль) NaBH_4 , поддерживая pH 7 при помощи 4 н. HCl. Реакционную смесь перемешивают в течение 10 ч. Добавляют 0,1 г (2,6 ммоль) NaBH_4 и снова корректируют pH до 7. Через 2 ч добавляют 1,1 г (5,5 ммоль) натриевой соли 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты, чередуя с NaBH_4 , поддерживая pH 7. Во время реакции контролируют наличие непрореагировавшего дипептида методом ТСХ. Исчезновение исходного соединения достигается через 10 сут при комнатной температуре. Мольное соотношение реагентов дипептид : натриевая соль 2-оксо-4-фенилбутеновой кислоты : цианборгидрид натрия : боргидрид натрия 1 : 20,2 : 0,23 : 5,8. Для очистки реакционной смеси используют колонку, наполненную анионитом Dowex AG⁰50 W-X2 (кислотная форма). Размер колонки 31×490 мм. Для удаления примесей сначала через колонку пропускают элюент метанол : вода, 1 : 2 (объем 1 л), и воду (2 л). Для выделения целевого продукта используют элюент 2% водный раствор пиридина. Получают смесь диастереомерных форм N-(1-карбокси-3-фенилпропен-2-ил)аланилпролина и примеси диастереомерных форм эналаприлата [9]. Окончательную очистку осуществляют методом ВЭЖХ при использовании сорбента Zorbax ODS, размер колонки $21,2 \times 250$ мм. Элюент 22% CH_3CN и 78% AcONH_4 . Поток элюента 1,6 мл/мин. Детектор — УФ спектрофотометр, $\lambda = 230$ нм.

Получена смесь (S,S,S)- и (R,S,S)-диастереомеров, $R_t = 0,45$ и $R_t = 0,52$ (система n-бутанол : пиридин : уксусная кислота : вода, 15 : 10 : 3 : 6). Спектры ПМР: 1,2 (3H, м, $^3J = 11,4$ Гц, Ala- CH_3), 1,75...1,90 (5H, м, βH , γH , Pro), 1,95...2,25 (H, м, βH , Pro), 3,8 (1H, м, αH , Ala), 4,31 (1H, м, αH , Pro), 6,11 (H, д. д., $^3J = 16,3$, $^4J = 3,1$ Гц, Ph- $\text{CH}=\text{C}$), 6,48...6,66 (1H, м, $=\text{CH}-\text{CH}$), 7,15...7,44 м. д. (5H, Ph). Мультиплетность сигналов ПМР удваивается в связи с наличием ротационных изомеров по пептидной связи Ala-Pro.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шварц Г. Я., Граник В. Ф. // Хим.-фарм. журн. — 1984. — № 3. — С. 271.
2. Шварц Г. Я. // Фармакол. токсикол. — 1984. — Т. 47, № 2. — С. 105.
3. Чипенс Г. И., Славинская В. А., Страутина А. К., Силе Д. Э., Корчагова Э. Х., Галкин О. М. Структура и действие ингибиторов цинксодежащих ферментов — кининазы II и энкефалиназы / Ред. Чипенс Г. И. — Рига: Зинатне, 1990. — 238 с.

4. *Ondetti M. A., Cushman D. W.* // Inhibitors of angiotensin converting enzyme. Biochemical regulation of blood pressure/ Ed. Soffer R. L. — New York: J. Wiley & Sons, 1981. — P. 165.
5. *Ondetti M. A., Rubin B., Cushman D. W.* // Sci. Washington. — 1977. — Vol. 196. — P. 441.
6. *Cushman D. W., Ondetti M. A.* // Progress Med. Chem. — 1980. — Vol. 17. — P. 41.
7. *Cordier P.* // Pharm. Weekbl. — 1958. — Vol. 93. — P. 55.
8. *Славинская В. А., Каткевич М. Ю., Силе Д. Э., Корчагова Э. Х., Вегнер Р. Э.* // Latv. ķīm. žurn. — 1994. — N 5. — P. 608.
9. *Wyvrat M. J., Tristom E. W., Ikeler T. J., Lahr M. S., Jashua H., Springer J. P., Arison B. H., Patchett A. A.* // J. Org. Chem. — 1984. — N 49. — P. 2816.
10. *Каткевич М. Ю., Корчагова Э. Х., Силе Д. Э., Григорьева В. Д., Славинская В. А.* // Latv. ķīm. žurn. — 1993. — N 2. — P. 220.

Латвийский институт органического
синтеза, Рига LV-1006

Поступило в редакцию 13.02.96