



УДК 547.466.22-318.057

МЕТОД СИНТЕЗА БИЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ПРОЛИНА С 1,4-*N*-ЛАКТАМНОЙ ГРУППИРОВКОЙ

© 1998 г. Э. А. Елин, В. В. Оноприенко[#]

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 31.03.98 г. Принята к печати 03.04.98 г.

Показано, что *трет*-бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-кетопролина, полученный из *транс*-4-гидроксипролина, может быть восстановительно аминирован эфирами α - или β -аминокислот до соответствующих (4*S*)-4-аминопроизводных. Одно из них, (4*S*)-4-глицинопроизводное, гладко циклизовалось после избирательного удаления кислотолабильной защитной группы. В результате были получены мостиковые бициклические соединения: (2*S*,5*S*)-1-бензилоксикарбонил-4-метоксикарбонилметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан, (2*S*,5*S*)-1-(9-флуоренилметоксикарбонил)-4-метоксикарбонилметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан и (2*S*,5*S*)-1-(9-флуоренилметоксикарбонил)-4-карбоксиметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан – синтоны, пригодные для применения в пептидном синтезе. Обсуждено возможное применение этих синтонов для изучения биологически значимых конформаций биологически активных пролинсодержащих олигопептидов.

Ключевые слова: пролин; 4-гидроксипролины; 4-аминопролины, производные, 1,4-*N*-лактамы.

ВВЕДЕНИЕ

Среди 20 обычных аминокислот пролин уникален по своему влиянию на конформацию белков и пептидов [1, 2]. Наличие в остатке пролина объемистого цикла и отсутствие амидного протона приводят к равноценности *цис*- и *транс*-конформаций Pro–Хаа-связи и, следовательно, к тому, что в присутствии остатка пролина всегда нарушается регулярная конформация полипептидной цепи (спираль или β -складчатый лист) и образуются β -изгибы, петли, изломы или другие нерегулярные элементы структуры. Предполагается, что остатки Pro контролируют скорость фолдинга белков [3–6], всегда входят в состав иммунных детерминант [7], регулируют активацию и распад пептидных гормонов [8] и т.п. В случае биологически активных олигопептидов изучение пространственной структуры особенно интересно, так как конформация с минимальной энергией не обязательно совпадает с биологически значимой конформацией, а энергетически близкие конформации обычно различаются по энергии всего на 3–15 ккал/моль [2, 9, 10]. Поэтому синтез пептидных строительных блоков с ограниченной конформационной подвижностью становится в настоящее время все более актуальным для изучения связи между строением и биологической активностью олигопептидов (ср., например, [11, 12] и цитированные там работы).

Для ограничения конформационной подвижности пептидного скелета химически чаще всего создают лактамные мостики между функциональными группами боковых цепей [12, 13]; надо отметить, что и в природных структурах тоже часто реализуется этот принцип (ср., например, [14–16]). Альтернативная стратегия состоит в синтезе пептидометиков. В случае пролина описан ряд бициклических производных, в которых дополнительное кольцо замкнуто между соседними положительными его исходного пятичленного цикла, т.е. в положениях 1,2-*N* [11, 17–22], 5,2-*N* [23], 1,2 [24] или 3,4 [25]. Только в одном случае описана трициклическая мостиковая структура – (2*S*,5*S*,8*S*,11*S*)-1-ацетил-1,4-дизаза-3-кето-5-карбокси-10-тиатрицикло[2,8,1,0]тридекан, которая была построена на основе 4-*алло*-тиопролина [26].

Цель настоящей работы состояла в разработке общего метода синтеза бициклических γ -лактамов, замыкаемых между карбоксильной группой пролина и 4-*цис*-аминофункцией, специально вводимой в молекулу этой аминокислоты.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве исходного соединения для синтеза мы использовали коммерчески доступный *транс*-4-гидрокси-*L*-пролин (I) (см. схему). Для введения аминокислотного заместителя он был превращен известными методами в *N*-бензилоксикарбонил-4-гидрокси-*L*-пролин (II) и далее окислен до *N*-бензилоксикарбонил-4-кето-*L*-пролина (V) [27]. Последний был

[#]Автор для переписки (тел.: +7 (095) 336-13-00; e-mail: onovv@ibch.siobch.ras.ru).

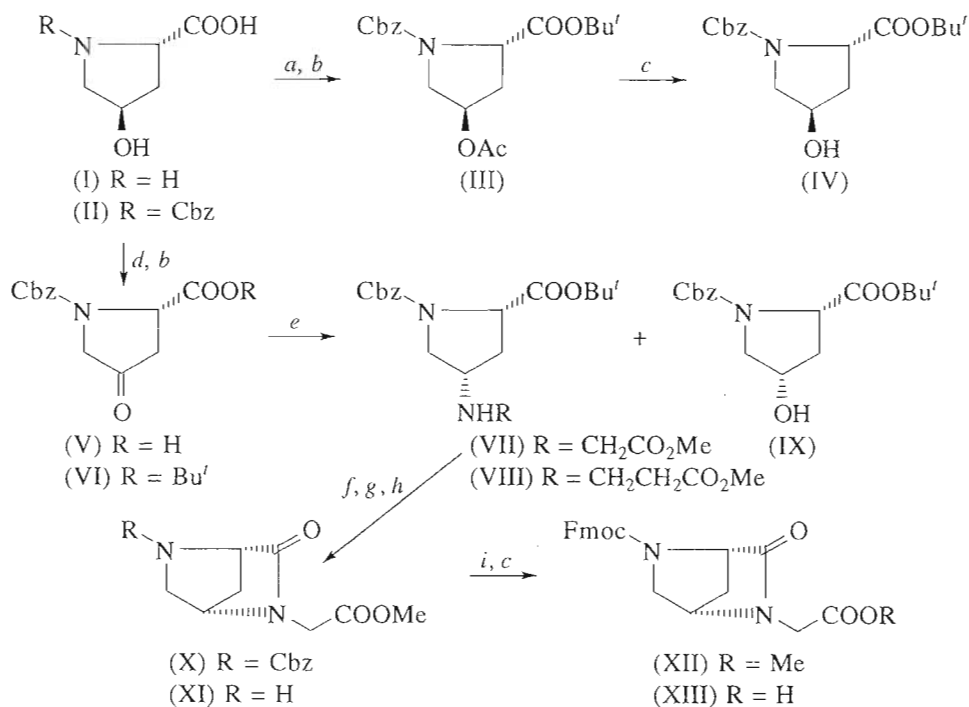


Схема.

Реагенты: *a* – Ac₂O + Py; *b* – Bu'^tOAc + HClO₄, 11°C; *c* – 0.18 н. NaOH; *d* – 2.67 М CrO₃/8 н. H₂SO₄, ацетон, комнатная температура; *e* – GlyOMe (XIV) или βAlaOMe (XV), NaBH₃CN, pH 7–8; *f* – TFA; *g* – DCC; *h* – H₂/10% PdO/C, Bu'^tOH; *i* – Fmoc-Cl + Na₂CO₃.

этерифицирован *трет*-бутилацетатом, как описано в работе [28]. Восстановительное аминирование полученного эфира (VI) с помощью метилового эфира глицина (XIV) (при молярном соотношении этих реагентов 1 : 5) и цианборгидрида натрия гладко протекало в метаноле при значениях pH, близких к нейтральным, в соответствии с методикой [29] и приводило к соответствующему глицинопроизводному (VII) с выходом более 70%. Однако при соотношении реагентов (VI) и (XIV) 1 : 2 происходило существенное снижение выхода глицинопроизводного (VII) (до 50%) и образование значительного количества (37%) *алло*-4-гидроксиэфира (IX). По данным ВЭЖХ (60% MeOH) выделенный *алло*-4-гидроксиэфир (IX) содержал 2–3% примеси *транс*-4-гидроксиэфира (IV). Образец последнего, необходимый для ВЭЖХ, мы получили последовательным ацетилированием и бутилированием *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролина (II) до ацетоксиэфира (III) и омылением ацетоксигруппы последнего. Следует отметить, что попытки получить *трет*-бутиловый эфир (IV) без предварительной защиты 4-гидроксигруппы приводили к смеси веществ, в которой преобладало ди-*трет*-бутильное производное *N*-бензилоксикарбонил-4-гидро-

ксипролина (II). С тем чтобы исследовать применимость данной реакции к другим аминам, мы изучили аминирование эфира (VI) метиловым эфиром β-аланина (XV) и нашли, что соответствующее производное (VIII) также образуется с достаточно высоким выходом. Однако такие же реакции с ацетатом аммония и хлоргидратом метиламина протекали не столь однозначно и сопровождались образованием значительных количеств *алло*-4-гидроксиэфира (IX); результаты этих экспериментов будут нами опубликованы позднее.

Полученные восстановительным аминированием глицино- и β-аланинопроизводные представляли собой, по-видимому, смеси 4-эпимеров, в которых *алло*-производные (VII) и (VIII) должны были преобладать по аналогии с известной стереонаправленностью восстановления 4-кетопролина боргидридом натрия [27]. Нам не удалось, однако, обнаружить изомерных продуктов с помощью тонкослойной хроматографии на силикагеле, но дальнейшие превращения показали, что по крайней мере основной изомер глицинопроизводного представляет собой *алло*-производное (VII). Действительно, после удаления кислотолabileйной *трет*-бутильной защитной груп-

пы свободная кислота гладко циклизовалась в лактам (X), выделенный с выходом 61%, а образование этого циклического производного возможно только при *цис*-ориентации карбоксильной и аминогруппы. Строение лактама (X) было однозначно доказано его масс- и ^1H -ЯМР-спектрами, приведенными в "Экспериментальной части". Дальнейшим гидрогенолизом до свободного амина (XI) и ацилированием лактам (X) был превращен в флуоренилметоксикарбонильное производное (XII), более удобное для применения в твердофазном пептидном синтезе. Синтон со свободной карбоксильной группой (XIII) был приготовлен из эфира (XII) мягким щелочным гидролизом, не затрагивающим другие функциональные группировки молекулы, что было подтверждено обратным превращением кислоты (XIII) при обработке диазометаном в эфир (XII).

ВЫВОДЫ

Таким образом, мы показали, что *трет*-бутиловый эфир *N*-замещенного 4-кетопролина (VI) может быть восстановительно аминирован эфирами α - или β -аминокислот, и полученные (4*S*)-4-аминопроизводные могут быть гладко циклизованы после избирательного удаления кислотолabileй защитной группы. В результате мы получили мостиковые бициклические синтоны: (2*S*,5*S*)-1-бензилоксикарбонил-4-метоксикарбонилметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (X), (2*S*,5*S*)-1-(9-флуоренилметоксикарбонил)-4-метоксикарбонилметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (XII) и (2*S*,5*S*)-1-(9-флуоренилметоксикарбонил)-4-карбоксиметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (XIII), пригодные для применения в пептидном синтезе. Синтез аналогичных пролинсодержащих бициклических синтонов с использованием иных (кроме глицина) аминокислот для изучения связи структура-активность в ряду миелопептидов будет нами описан позднее.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы следующие реактивы: *транс*-4-гидрокси-*L*-пролин, *трет*-бутилацетат, 9-флуоренилметилхлороформат (Fmoc-Cl), цианборгидрид натрия и трифторуксусная кислота (Sigma, США), 10% PdO/C, *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид и 70% хлорная кислота (Merck-Schuchardt, Германия). Остальные реактивы были отечественного производства. Для аналитической и полупрепаративной тонкослойной хроматографии применяли готовые пластинки с основой из алюминиевой фольги или стекла (Merck), а также стеклянные пластинки HPTLC (for Nano-TLC, Merck). Для препаративной ТСХ применяли стеклянные пластинки PLC (Merck) с толщиной

слоя 2 мм. Все пластинки были приготовлены на основе силикагеля 60 F₂₅₄. Пятна веществ обнаруживали рассматриванием пластинок в УФ-свете с длиной волны 254 нм, опрыскиванием 0.8% раствором перманганата калия или опрыскиванием серной кислотой с последующим нагреванием. Для колоночной хроматографии применяли силикагель 60 (40–63 мкм, Merck). Для ВЭЖХ мы использовали модульную систему фирмы Pharmacia LKB Biotechnology, состоящую из детектора модели 2140 (Rapid Spectral Detector), работавшего под контролем компьютерной программы Wavescan EG, градиентного контроллера модели 2152, двух насосов (2150 HPLC Pump), термостата для колонок (2155 Column Oven) и инжектора (2154 Sample Injector). Применялись изократические разделения в водном метаноле (скорость потока 500 мкл/мин) на стеклянных колонках Separon SGX C18 (7 мкм, 3.3 × 150 мм). Масс-спектры определяли на приборах Varian MAT 44 при ионизации электронным ударом (70 эВ, EI-MS) или плазмой продуктов распада ^{252}Cf (PD-MS, прибор из г. Сумы, Украина). Спектры ^1H -ЯМР были получены на приборе Bruker WM 500 (Германия). Оптическое вращение определяли на поляриметре Perkin-Elmer 241, а спектры КД – на приборе Jasco. Температуры плавления были определены на микронагревательном столике Voetius и не исправлены.

***N*-Бензилоксикарбонил-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролин (II)** был синтезирован и превращен в 4-кетопроизводное (V), как описано в работе [27].

***трет*-Бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролина (IV)**. К раствору 50 мг (0.19 ммоль) *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролина (II) в 0.74 мл пиридина прибавили 0.37 мл уксусного ангидрида и после выдерживания в течение суток смесь упарили досуха. Остаток растворили в 2.13 мл *трет*-бутилацетата, прибавили 80 мкл 70% HClO_4 и выдержали 17 ч при 11°C. Затем реакционную смесь разбавили эфиром, промыли насыщенным раствором бикарбоната натрия и водой, высушили над безводным сульфатом натрия и упарили. В результате получили 50.5 мг маслообразного сырого ацетоксиэфира (III); выход 73%, R_f 0.38 (эфир–гексан, 3 : 2); EI-MS, m/z : 363 $[M]^+$, 303 $[M - \text{CH}_3\text{COOH}]^+$, 262 $[M - \text{COOC}_4\text{H}_9]^+$, 202 $[M - \text{CH}_3\text{COOH} - \text{COOC}_4\text{H}_9]^+$, 158 $[M - \text{CH}_3\text{COOH} - \text{COOC}_4\text{H}_9 - \text{CO}_2]^+$.

Полученный ацетоксиэфир (III) (50.5 мг, 0.14 ммоль) растворили в 4 мл смеси метанол–диоксан (1 : 1), и к раствору прибавили 400 мкл 2 н. NaOH. Смесь перемешивали на магнитной мешалке в течение 40 мин при 17°C, профильтровали, упарили до небольшого объема и разбавили водой. Продукт экстрагировали этилацетатом, экстракт промыли водой, высушили над сульфатом натрия и упарили. Остаток закристаллизова-

ли растиранием в гексане, кристаллы отфильтровали и промыли гексаном. Получили 30.3 мг *транс*-4-гидроксиэфира (IV); выход 50%, считая на гидроксикислоту (II), т. пл. 49–51.5°C, R_f 0.48 (эфир), RT 5.50 мин (60% MeOH); EI-MS, m/z : 321 $[M]^+$, 265 $[M - C_4H_8]^+$, 248 $[M - C_4H_9O]^+$, 220 $[M - COOC_4H_9]^+$, 176 $[M - COOC_4H_9 - CO_2]^+$, 158 $[M - COOC_4H_9 - CO_2 - H_2O]^+$, 130 $[M - COOC_4H_8 - PhCH_2]^+$.

трет-Бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-кето-*L*-пролина (VI). К раствору 4-кетопроизводного (V) [27] (263 мг, 1 ммоль) в 6 мл *трет*-бутилацетата прибавили 125 мкл 70% $HClO_4$, реакционную смесь выдержали 28 ч при 11°C и после обычной обработки получили сырой кетоэфир (VI) в виде бесцветного масла, которое использовали в дальнейших реакциях без дополнительной очистки; выход 252 мг (79%); R_f 0.62 (эфир-гексан, 7 : 4); EI-MS, m/z : 320 $[M + 1]^+$, 263 $[M - C_4H_8]^+$, 218 $[M - COOC_4H_9]^+$, 174 $[M - COOC_4H_9 - CO_2]^+$, 128 $[M - COOC_4H_8 - PhCH_2]^+$.

трет-Бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-алло-гидрокси-*L*-пролина (IX). К охлажденному до 0–1°C раствору кетоэфира (VI) (239.2 мг, 0.75 ммоль) в 8.6 мл метанола порциями в течение 9 мин прибавили борогидрид натрия (100 мг, 2.6 ммоль). Реакционную смесь выдержали в течение 50 мин и упарили в вакууме при комнатной температуре. Остаток разбавили водой и экстрагировали эфиром, экстракт промыли водой, высушили сульфатом натрия и упарили. Выход маслообразного оксиэфира (IX) 212 мг (88%); R_f 0.48 (эфир); RT 5.90 мин (60% MeOH); EI-MS, m/z : 321 $[M]^+$, 303 $[M - H_2O]^+$, 265 $[M - C_4H_8]^+$, 248 $[M - OC_4H_9]^+$, 220 $[M - COOC_4H_9]^+$, 177 $[M - COOC_4H_9 - CO_2 + H]^+$, 176 $[M - COOC_4H_9 - CO_2]^+$, 159 $[177 - H_2O]^+$, 158 $[176 - H_2O]^+$, 130 $[M - COOC_4H_8 - PhCH_2]^+$. Согласно ВЭЖХ, этот образец содержал ~2% примеси *трет*-бутилового эфира *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролина (IV) с RT 5.50 мин.

трет-Бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-метоксикарбонилметиламино-*L*-пролина (VIII). К раствору гидрохлорида метилового эфира глицина (XIV) (955 мг, 7.61 ммоль) и кетоэфира (VI) (484 мг, 1.517 ммоль) в 8.2 мл метанола в течение 45 мин прибавили 3.58 мл 1 н. раствора NaOH в метаноле (после окончания прибавления щелочи pH раствора в микропробах после двукратного разбавления водой был около 8 по индикатору Нейтральный красный). После 30 мин выдержки к этому раствору прибавили при комнатной температуре (17°C) цианборогидрид натрия (70.0 мг, 1.11 ммоль), реакционную смесь выдержали 80 мин при комнатной температуре, разбавили 7.4 мл насыщенного раствора поваренной соли и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промыли насыщенным раствором поваренной соли, высу-

шили над сульфатом натрия и упарили. Остаток (598 мг) разделили препаративной ТСХ при двукратном проявлении эфиром и главную УФ-поглощающую зону элюировали смесью хлороформ-метанол, 2 : 1. В результате получили глицинопроизводное (VII), которое казалось гомогенным при ТСХ на силикагеле; выход 429 мг (72%); R_f 0.22 (эфир); EI-MS, m/z : 393 $[M + H]^+$, 392 $[M]^+$, 337 $[M + H - C_4H_8]^+$, 336 $[M - C_4H_8]^+$, 319 $[M - OC_4H_9]^+$, 304 $[M - NHCH_2COOMe]^+$, 291 $[M - COOC_4H_9]^+$, 277 $[M - COOMe - C_4H_8]^+$, 245 $[M - C_4H_8 - PhCH_2]^+$, 202 $[M - COOC_4H_9 - NH_2CH_2COOMe]^+$, 159 $[M - COOC_4H_9 - CO_2 - NHCH_2COOMe]^+$, 158 $[M - COOC_4H_9 - CO_2 - NH_2CH_2COOMe]^+$.

трет-Бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-(β -метоксикарбонилэтил)амино-*L*-пролина (VIII). К раствору гидрохлорида метилового эфира β -аланина (XV) (218.6 мг, 1.57 ммоль) и кетоэфира (VI) (100 мг, 0.313 ммоль) в 1.7 мл метанола в течение 30 мин прибавили 0.74 мл 1 н. раствора NaOH в метаноле (после окончания прибавления щелочи pH раствора в микропробах после двукратного разбавления водой был около 8 по индикатору Нейтральный красный). Затем эту смесь упарили в вакууме и высушили трехкратным растворением и отгонкой бензола. Остаток растворили в абсолютном метаноле (2 мл), обработали цианборогидридом натрия (12 мг, 0.190 ммоль) и выдержали 2 ч при комнатной температуре. К этому раствору прибавили 2 мл насыщенного раствора поваренной соли, метанол удалили в вакууме, а оставшийся водный слой экстрагировали этилацетатом. Экстракт промыли насыщенным раствором поваренной соли, высушили над сульфатом натрия и упарили. Остаток разделили препаративной ТСХ. Двукратное проявление смесью хлороформ-метанол (95 : 5) и элюция основной зоны, поглощающей в УФ-свете, привели к маслообразному аминпроизводному (VIII), не содержащему примеси гидроксиэфира (IX) и гомогенному по данным ТСХ; выход 67.2 мг (53%); R_f 0.29 (хлороформ-метанол, 49 : 1); EI-MS, m/z : 407 $[M + H]^+$, 406 $[M]^+$, 351 $[M + H - C_4H_8]^+$, 350 $[M - C_4H_8]^+$, 349 $[M - C_4H_9]^+$, 334 $[M + H - C_4H_9O]^+$, 333 $[M - C_4H_9O]^+$, 306 $[M - COOC_4H_8]^+$, 305 $[M - COOC_4H_9]^+$, 277 $[M - CH_2COOMe - C_4H_8]^+$, 262 $[M + H - COOC_4H_9 - CO_2]^+$, 261 $[M - COOC_4H_9 - CO_2]^+$, 249 $[M - C_4H_8 - NN=CHCH_2COOMe]^+$, 215 $[M - COOC_4H_8 - PhCH_2]^+$, 159 $[M - COOC_4H_9 - CO_2 - NHCH_2CH_2COOMe]^+$, 158 $[M - COOC_4H_9 - CO_2 - NH_2CH_2CH_2COOMe]^+$.

(2*S*,5*S*)-1-Бензилоксикарбонил-4-метоксикарбонилметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (X). Глицинопролиновое производное (VII) (503 мг, 1.28 ммоль) растворили в трифторуксус-

ной кислоте (2.37 мл), раствор выдержали 20 мин при комнатной температуре и упарили в вакууме. Полученную сырую моно кислоту растворили в 150 мл безводного хлористого метилена, охладили на ледяной бане и последовательно обработали триэтиламино (178.5 мкл, 1.28 ммоль) и DCC (295 мг, 1.43 ммоль). Через 20 мин реакционную смесь нагрели до комнатной температуры и выдержали 20 ч. После упаривания до объема ~10 мл и охлаждения выпавший осадок дициклогексилмочевины отфильтровали, а фильтрат упарили. Остаток разделили колоночной хроматографией на силикагеле (80 г) с применением ступенчатого градиента этилацетата в эфире (от 0 до 50% этилацетата). Выход маслообразного продукта (X) составил 250 мг (61%); R_f 0.34 (AcOEt-эфир, 1 : 1); EI-MS, m/z : 318 $[M]^+$, 287 $[M - OMe]^+$, 259 $[M - COOMe]^+$, 245 $[M - CH_2COOMe]^+$, 231 $[M - NCH_2COOMe]^+$, 227 $[M - PhCH_2]^+$, 201 $[M - HCONHCH_2COOMe]^+$, 187 $[M - NCH_2COOMe - CO_2]^+$, 183 $[M - PhCH_2OCO]^+$, 157 $[M - HCONHCH_2COOMe - CO_2]^+$; 1H -ЯМР (CDCl₃): 1.896 (1H, уш. д, J 8.5, 3-H_a), 2.166 (1H, дд, J 8.5 и 3.0, 3-H_b), 3.47 (2H, с, NCH₂CO), 3.71 (3H, с, OMe), 3.83 (1H, д, J 13.0, 5-H_a), 4.19 (1H, уш. с, 4-H), 4.255 (1H, д, J 13.0, 5-H_b), 4.555 (1H, уш. с, 2-H), 5.09 (1H, уш. д, J 13.0, PhCH_aOCOR), 5.23 (1H, уш. д, J 13.0, PhCH_bOCOR).

(2S,5S)-1-(9-Флуоренилметоксикарбонил)-4-метоксикарбонилметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (XII). 10% PdO/C (100 мг) гидрировали в 10 мл *трет*-бутанола на магнитной мешалке в течение 1.5 ч при комнатной температуре и атмосферном давлении. К подготовленной суспензии катализатора прибавили раствор Sbz-производного (X) (225 мг, 0.71 ммоль) в 10 мл *трет*-бутанола и реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода 2.5 ч. Затем катализатор отфильтровали через целит марки Filtercel, осадок промыли *трет*-бутанолом, а объединенные фильтраты упарили. Полученный свободный амин (XI) растворили в 4.5 мл диоксана, раствор охладили до 12°C и к нему медленно, в течение 20 мин, прибавили раствор 9-флуоренилметилхлороформиата (183.3 мг, 0.71 ммоль, свежеперекристаллизован из эфира) в 9 мл диоксана. В ходе прибавления этого раствора реакционной смеси дали нагреться до комнатной температуры. Через 80 мин реакционную смесь упарили в вакууме до объема 1–2 мл, разбавили водой и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промыли разбавленной соляной кислотой, водой, 5% раствором бикарбоната натрия и водой, высушили над сульфатом натрия и упарили. Полученное сырое Fmoc-производное (XII) (286 мг) перекристаллизовали из эфира; выход 212.9 мг (74%), т. пл. 130–131°C; R_f 0.39 (AcOEt-Et₂O, 1 : 1); EI-MS, m/z : 406 $[M]^+$, 375 $[M - OMe]^+$, 319 $[M - NCH_2COOMe]^+$,

275 $[M - NCH_2COOMe - CO_2]^+$, 251 $[FmocN=CH_2]^+$, 220 $[M - CH_2=CHCONCH_2COOMe - CO_2]^+$, 178 [дибензофульвен]⁺, 165 [флуорен - H]⁺; PD-MS, m/z : 835 $[2M + Na]^+$, 813 $[2M + H]^+$, 625 $[2M - CH_2CH_2CONCH_2COOMe - CO_2]^+$, 429 $[M + Na]^+$, 407 $[M + H]^+$, 378 $[M - CO]^+$, 319 $[M - NCH_2COOMe]^+$, 219 $[M - CH_2CH_2CONCH_2COOMe - CO_2]^+$, 178 [дибензофульвен]⁺, 165 [флуорен - H]⁺.

(2S,5S)-1-(9-Флуоренилметоксикарбонил)-4-карбоксиметил-3-кето-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (XIII). К раствору метилового эфира (XII) (600 мг, 1.48 ммоль) в 7.3 мл диоксана при перемешивании на магнитной мешалке прибавили 1 н. NaOH (1.48 мл) и перемешивание продолжали в течение 1 ч. Затем реакционную смесь разбавили 140 мл воды, нейтральные и основные примеси экстрагировали этилацетатом и экстракт отбросили. Водный слой подкислили HCl до pH 3 и выделившееся масло экстрагировали этилацетатом. Этот экстракт промыли насыщенным раствором поваренной соли, сушили над сульфатом натрия и упарили. Полученное кристаллическое вещество растворили в метаноле (50 мл), отфильтровали и фильтрат упарили. Получили хроматографически однородное карбоксильное производное (XIII); выход 480 мг (82.5%); т. пл. 180–181°C; R_f 0.39 (хлороформ-метанол-уксусная кислота, 40 : 5 : 1); $[\alpha]_D^{32}$ -8.2° (с 0.364, метанол); PD-MS, m/z : 431 $[M + K]^+$, 415 $[M + Na]^+$, 219 $[M - CH_2CH_2CONCH_2COOH - CO_2]^+$, 179 [дибензофульвен + H]⁺, 165 [флуорен - H]⁺; КД (метанол): λ_{max} (Δε): 193 (-16.32) и 230 (+12.72) нм.

Карбоксильное производное (XIII), растворенное в метаноле, обработали избытком эфирного раствора диазометана и после 20 мин выдержки растворитель упарили. Полученное вещество по температуре плавления, ТСХ и EI-MS оказалось идентичным метиловому эфиру (XII).

Благодарим фирму Affymax Co. (США) за полезные дискуссии и частичную финансовую поддержку этой работы и Ю.П. Козьмина (Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН) за измерение масс-спектров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Richardson J.S., Richardson D.C. // Principles and Patterns of Protein Conformation. В сб.: Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation / Ed. G.D. Fasman, N. Y.: Plenum Press, 1989. P. 1–98.
2. Schneider J.P., Kelly J.F. // Chem. Rev. 1995. V. 95. P. 2169–2187.
3. Brandts J.F., Halvorson H.R., Brennan M. // Biochemistry. 1975. V. 14. P. 4953–4963.

4. *Texter F.L., Spencer D.B., Rosenstein R., Matthews C.R.* // *Biochemistry*. 1992. V. 31. P. 5687–5691.
5. *Shalongo W., Jagannadham M.V., Heid P., Stellwagen E.* // *Biochemistry*. 1992. V. 31. P. 11390–11396.
6. *Kiefhaber T., Kohler H.H., Schmid F.X.* // *J. Mol. Biol.* 1992. V. 224. P. 217–225.
7. *Richards N.G.J., Hinds M.G., Brennand D.M., Glenzie M.J., Welsh J.M., Robinson J.A.* // *Biochem. Pharmacol.* 1990. V. 40. P. 119–123.
8. *Yaron A., Naider F.* // *Crit. Revs. Biochem. Mol. Biol.* 1993. V. 28. P. 31–39.
9. *Dill K.A.* // *Biochemistry*. 1990. V. 29. P. 7133–7155.
10. *Robl J.A., Cimarusti M.P., Simpkins L.M., Weller H.N., Pan Y.Y., Malley M., DiMarco J.D.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. V. 116. P. 2348–2355.
11. *Fobian Y.M., d'Avignon D.A., Moeller K.D.* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996. V. 6. P. 315–318.
12. *Kostetsky P.V., Arkhipova S.F., Artem'ev I.V., Rodionov I.L., Rodionova L.N., Ivanov V.T.* // *Bioorg. Khim.* 1997. V. 23. P. 531–538.
13. *Thaisrivongs S., Pals D.T., Turner S.R., Kroll L.T.* // *J. Med. Chem.* 1988. V. 31. P. 1369–1376.
14. *Ienaga K., Nakamura K., Goto T.* // *Tetrahedron Lett.* 1987. V. 28. P. 1285–1286.
15. *Pettit G.R., Gao F., Cerny R.L., Doubek D.L., Tackett L.P., Schmidt J.M., Chapuis J.-P.* // *J. Med. Chem.* 1994. V. 37. P. 1165–1168.
16. *Shah A.H., Pandey V.B., Eckhardt G., Miana G.A.* // *Heterocycles*. 1988. V. 27. P. 2777–2781.
17. *Federsel H.-J., Kunberg E., Lilljequist L., Swahn B.-M.* // *J. Org. Chem.* 1990. V. 55. P. 2254–2256.
18. *Bi Y., Schultz G.* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996. V. 6. P. 2299–2300.
19. *Lenman M.M., Ingham S.L., Gani D.* // *Chem. Commun.* 1996. P. 85–87.
20. *Lombart H.-G., Lubell W.D.* // *The Proceedings of the Fourteenth American Peptide Symp.* Leiden, The Netherlands: Escom, 1995.
21. *Lombart H.-G., Lubell W.D.* // *J. Org. Chem.* 1994. V. 59. P. 6147–6149.
22. *Curran T.P., McEnaney P.M.* // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 36. P. 191–194.
23. *Kemp D.S., Curran T.P.* // *J. Org. Chem.* 1986. V. 51. P. 2377–2378.
24. *Ewing W.R., Joullie M.M.* // *Heterocycles*. 1988. V. 27. P. 2843–2850.
25. *Yoo Sung-eun, Lee S.H.* // *J. Org. Chem.* 1994. V. 59. P. 6968–6972.
26. *McClure K.F., Renold P., Kemp D.S.* // *J. Org. Chem.* 1995. V. 60. P. 454–457.
27. *Patchett A.A., Witkop B.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. V. 79. P. 185–192.
28. *Taschner E., Wasielewski Cz., Biernat J.F.* // *Liebigs Ann. Chem.* 1961. V. 646. P. 119–122.
29. *Borch R.F., Bernstein M.D., Durst H.D.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1971. V. 93. P. 2897–2904.

The Synthesis of Bicyclic Proline Derivatives with 1,4-N-Lactam Grouping

E. A. Yelin and V. V. Onoprienko[#]

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

The *N*-benzyloxycarbonyl-4-oxoproline *tert*-butyl ester prepared from *trans*-4-hydroxy-*L*-proline was shown to be capable of a reductive amination with esters of α - or β -amino acids to the corresponding (4*S*)-4-aminoderivatives. One of the resulting products, (4*S*)-4-glycinoderivative, was easily cyclized after selective removal of the acid-labile protective group. There resulted bridge bicyclic synthons suitable for peptide synthesis: (2*S*,5*S*)-benzyloxycarbonyl-4-methoxycarbonylmethyl-3-oxo-1,4-diazabicyclo[2.2.1]heptane, (2*S*,5*S*)-1-(9-fluorenylmethoxycarbonyl-4-methoxycarbonyl-3-oxo-1,4-diazabicyclo[2.2.1]heptane, and (2*S*,5*S*)-1-(9-fluorenylmethoxycarbonyl-4-carboxymethyl-3-oxo-1,4-diazabicyclo[2.2.1]heptane. Their possible use for the study of biologically significant conformations of bioactive proline-containing oligopeptides is discussed.

Key words: proline; 4-hydroxyprolines; 4-aminoproline, derivatives, 1,4-*N*-lactams

[#] To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 336-1300; e-mail: onovv@ibch.siobc.ras.ru.