



УДК 547.466.22-318.057

СИНТЕЗ ИЗОМЕРНЫХ 4-ПРОЛИНИЛАМИНОВ И 4,4'-ДИПРОЛИНИЛАМИНОВ

© 2000 г. Э. А. Елин, В. В. Оноприенко[#], И. А. Куделина, А. И. МирошниковИнститут биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 01.06.2000 г. Принята к печати 16.06.2000 г.

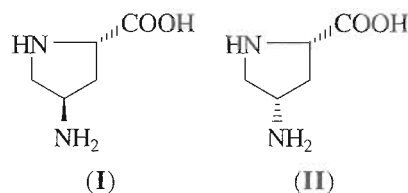
Из ранее описанных 4-эпимерных *трет*-бутиловых эфиров *N*-бензилоксикарбонил-4-гидроксипролинов с использованием промежуточных 4-*O*-мезилатов и 4-азидов синтезированы *трет*-бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*- и 4-*цис*-трифторацетиламинопролинов, соответствующие незащищенные 4-аминопролины и ряд их частично защищенных производных. При восстановительном аминировании *трет*-бутилового эфира *N*-бензилоксикарбонил-4-оксопролина ацетатом аммония были получены *трет*-бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-*цис*-4'-*цис*- и 4-*цис*-4'-*транс*-4,4'-дипролиниламинов. Описаны ¹H-ЯМР- и КД-спектры полученных соединений.

Ключевые слова: 4-аминопролины, производные, синтез, физико-химические свойства; 4,4'-дипролиниламины, синтез, физико-химические свойства; коллаген.

ВВЕДЕНИЕ

В продолжение наших исследований по конформационно закрепленным бициклическим производным пролина с 1,4-*N*-лактамной группировкой [1] мы предприняли синтез *транс*- и *цис*-4-аминопролинов (I) и (II). 4-Аминогруппа этих диаминокислот может служить для дополнительного ковалентного связывания C-концевого остатка аминокислоты, следующей в последовательности пептида за модифицированным остатком пролина, или боковых цепей остатков аспарагиновой или глутаминовой кислот через их карбоксильные группы. Кроме того, такого рода соединения могут представлять и самостоятельный практический интерес, так как еще в 1966–1968 годах появились сообщения о том, что 4-амино- и 4-амино-5-метилпролины могут снижать содержание гидроксипролина и ингибировать биосинтез коллагена [2, 3]. Доля коллагена составляет до 25–33% общего количества белка высших животных и человека и до 6% массы их тела [4, 5]. В значительной мере (до 8.3–9.4%) он состоит из остатков 3-гидрокси- и 4-гидроксипролина и на 4–8% – из остатков 5-гидроксилизина. Нарушения в биосинтезе этих аминокислотных остатков или в их поперечной сшивке в коллагене

являются основой ряда наследственных заболеваний человека.



Впервые синтез аминокислот пролинов упомянут в обзоре Могера и Виткопа [6]. Подробно 4-*транс*- и 4-*цис*-аминопролины (I), (II) и их производные описаны в статьях Андреатта и др. [7, 8] и в японском патенте [9]. К сожалению, метиловые и этиловые эфиры *N*-этоксикарбонил-, *N*-тозил-4-*цис*- и *N*-тозил-4-*транс*-аминопролинов, полученные в этих работах, трудно использовать для дальнейших синтезов ввиду отмечаемой авторами нестабильности этих соединений и жестких условий, необходимых для удаления защитных групп.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

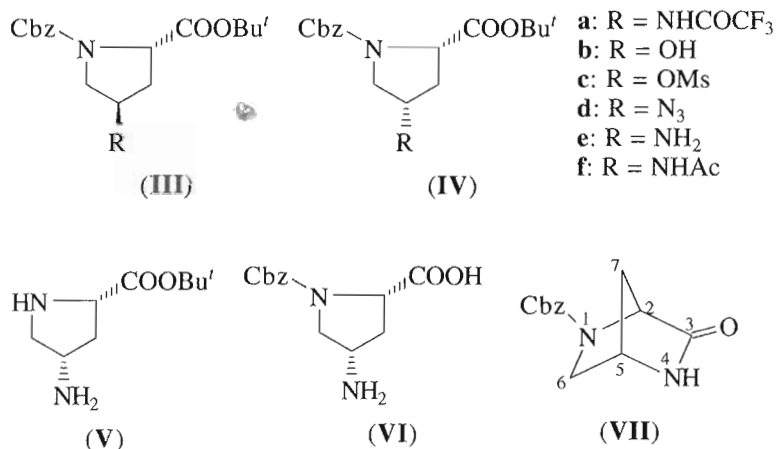
В этой работе мы осуществили синтез *трет*-бутилового эфира *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-трифторацетиламинопролина (IIIa) и его 4-*цис*-изомера (IVa). Исходными соединениями послужили описанные нами ранее [5] эпимерные *трет*-бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-гидроксипролинов (IIIb) и (IVb). Мезиловые эфиры этих производных гладко реагировали с азидом натрия, образуя соответствующие азиды (IVd) и (IIId) с обращенной конфигурацией. Анд-

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 336-1300; e-mail: onovv@ibch.ru).

реатта и др. [7] отмечали, что применение в качестве уходящей группы MsO вместо TsO резко снижает выход образующегося азида. В нашем случае выходы азидов (IVd) и (IIIId) составляли 88 и 84%. Наличие в молекулах азидов бензилоксикарбонильной группировки исключало применение каталитического гидрирования для восстановления азидной группы в аминную и поэтому восстановление азидов было осуществлено с помощью системы пропандитиол–триэтиламин [10]. В результате эимерные амины (IVe) и (IIIe) были получены с выходами 72% в расчете на исходные 4-гидроксипролины (IIIb) и (IVb). Они представляли собой вполне стабильные маслообразные вещества, которые, по данным ТСХ, не претерпевали каких-либо изменений при хранении при 4°C в течение года. Гидрохлориды обоих аминов (IVe) и (IIIe) были устойчивыми кристаллическими веществами. Кристаллические дигидробромиды свободных диаминокислот (I) и (II) были получены из защищенных производных (IIIe) и (IVe) действием сухого бромистого водорода в уксусной кислоте.

Соединения (IIIe) и (IVe) допускают также и избирательное удаление защитных группировок. Так, например, гидрирование производного (IVe) над палладиевым катализатором приводит к *трет*-бутиловому эфиру диаминокислоты (V), а его обработка трифторуксусной кислотой – к трифторацетату *N*-бензилоксикарбониламинокислоты (VI). Последний легко превращается в лактам (VII) с выходом 82% при обработке дициклогексилкарбодиимидом, что однозначно доказывает *цис*-расположение карбоксильной и аминогруппы в его молекуле.

Трифторацетамиды (IIIa) и (IVa) были получены из 4-аминопроизводных (IIIe) и (IVe) обработкой смесью трифторуксусного ангидрида и пиридина. Они легко превращаются в исходные 4-аминопроизводные (IIIe) и (IVe) (см., например, омыление трифторацетамида (IVa) в 4-амин (IVe) при действии водного раствора аммиака). Благодаря возможности избирательного удаления любой из трех защитных группировок, соединения (IIIa) и (IVa) представляют собой удобные синтоны как для пептидного синтеза, так и для дальнейших модификаций пролиновой молекулы.



Спектры ¹H-ЯМР для соединений (IIIe) и (IVe) и их *N*-ацетильных производных (IIIf) и (IVf) были измерены в дейтерохлороформе при радиочастоте 600 МГц (см. таблицу), а отнесение сигналов в их спектрах было выполнено с помощью двойного резонанса. Благодаря затрудненному вращению вокруг связи ОСО–N и/или инверсии циклического атома азота, каждое из этих соединений представляет собой равновесную смесь двух конформеров, находящихся в соотношении ~55 : 45 (ср. [8, 11]). Несмотря на связанное с этим некоторое усложнение спектров, соответствующие протоны *цис*- и *транс*-аминов (IIIe) и (IVe) и ацетамидов (IIIf) и (IVf), как правило, имеют различные химические сдвиги. Наиболее характерным признаком принадлежности 4-аминопролина к *цис*- или *транс*-ряду является разность химиче-

ских сдвигов ($\Delta\delta$) протонов **a** и **b** в положении 3. Так, $\Delta\delta_{(H3b-H3a)}$, усредненная для двух конформеров, составляет 0.62 м. д. для свободного *цис*-амина (IVe) и 0.45 м. д. для *цис*-ацетамида (IVf). Напротив, в *транс*-ряду $\Delta\delta_{(H3b-H3a)}$ равна 0.13 м. д. для свободного амина (IIIe) и ~0 м. д. для ацетамида (IIIf) (ср. [8]). Сравнение спектров ¹H-ЯМР свободных аминов (IIIe) и (IVe) позволило нам также сделать вывод, что каждое из этих соединений не содержит примеси соответствующего 4-эпимера и, таким образом, реакция замещения мезилокси-группы на азидную проходит исключительно по S_N2-механизму (ср. [6, 7] и цитируемые там работы).

В предыдущей работе [1] мы синтезировали 4-*цис*-глицинопролины восстановительным аминированием производных 4-оксопролина (VIII). Однако попытка получить этим методом 4-*цис*-

Химические сдвиги (δ , м.д.) и константы спин-спинового взаимодействия (J , Гц) в спектрах ^1H -ЯМР соединений (IIIe), (IIIf), (IVe) и (IVf)*

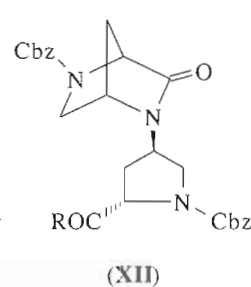
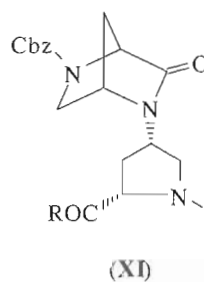
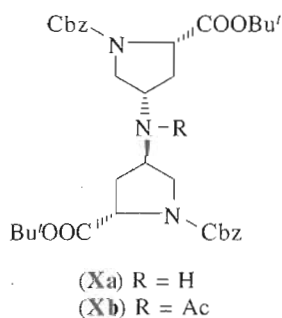
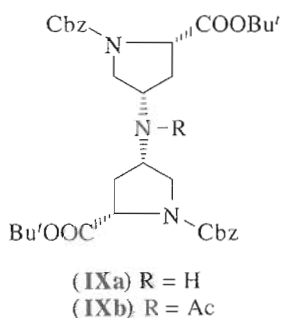
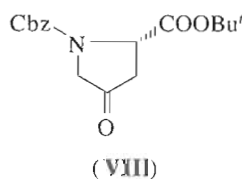
Протоны	(IIIe)		(IIIf)		(IVe)		(IVf)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
(CH ₃) ₃ C	1.346 с	1.461 с	1.361 с	1.460 с	1.370 с	1.486 с	1.367 с	1.508
H ₂	4.348 дд	4.371 дд	4.281 дд	4.328 дд	4.232 дд	4.268 дд	4.267	4.309
	$J_{2,3a}$ 8.48	$J_{2,3a}$ 8.56	$J_{2,3a}$ 7.14	$J_{2,3a}$ 7.72	$J_{2,3a}$ 4.40	$J_{2,3a}$ 4.48	уш.д	уш.д
	$J_{2,3b}$ 4.76	$J_{2,3b}$ 4.48	$J_{2,3b}$ 6.26	$J_{2,3b}$ 5.47	$J_{2,3b}$ 8.72	$J_{2,3b}$ 9.00	$J_{2,3b}$ 9.70	$J_{2,3b}$ 9.60
H _{3a}	2.051 ддд,	1.984 ддд,	2.147–2.313 м		1.824 дт,	1.849 дт,	1.992	1.958
	J_{gem} 13.30,	J_{gem} 12.85,			J_{gem} 13.60,	J_{gem} 13.20,	уш.д	уш.д
	$J_{3a,2}$ 8.48,	$J_{3a,2}$ 8.56,			$J_{3a,2}$ 4.40,	$J_{3a,2}$ 4.48,	J_{gem} 14.30	J_{gem} 14.30
	$J_{3a,4}$ 6.27	$J_{3a,4}$ 7.11			$J_{3a,4}$ 4.40	$J_{3,4}$ 4.48		
H _{3b}	2.151 ддд,**				2.476 ддд,	2.444 ддд,	2.425 м	
	J_{gem} 13.10, $J_{3b,2}$ 4.61,				J_{gem} 13.60,	J_{gem} 13.20,		
	$J_{3b,4}$ 6.20				$J_{3b,2}$ 8.72,	$J_{3b,2}$ 9.00,		
					$J_{3b,4}$ 6.48	$J_{3b,4}$ 6.48		
H ₄	3.705 ддт	3.696 ддт	4.537 м		3.554 ддт	3.564 ддт	4.644 м	
H _{5a}	3.292 дд,	3.189 дд,	3.480 дд,	3.388 дд,	3.369 дд,	3.351 дд,	3.632	3.57
	J_{gem} 10.69,	J_{gem} 10.56,	J_{gem} 11.47,	J_{gem} 11.04,	J_{gem} 10.94,	J_{gem} 10.92,	уш.д	уш.д
	$J_{5a,4}$ 5.06	$J_{5a,4}$ 5.72	$J_{5a,4}$ 3.36	$J_{5a,4}$ 3.84	$J_{5a,4}$ 4.36	$J_{5a,4}$ 4.20	J_{gem} 11.90	J_{gem} 11.58,
H _{5b}	3.789 дд,**	J_{gem} 10.63,	3.811 дд,	3.833 дд,	3.783 дд,	3.729 дд,	3.696 дд,	3.665 дд,
	$J_{5b,4}$ 6.25		J_{gem} 11.47,	J_{gem} 11.04,	J_{gem} 10.94,	J_{gem} 10.92,	J_{gem} 11.90,	J_{gem} 11.58,
			$J_{5b,4}$ 6.09	$J_{5b,4}$ 6.21	$J_{5b,4}$ 6.00	$J_{5b,4}$ 5.96	$J_{5b,4}$ 5.76	$J_{5b,4}$ 5.76
CH ₂ Ph	5.099 д и	5.122 д и	5.100–5.183 м		5.070–5.205 м		5.113 д и	5.112 д и
	5.143 д,	5.167 д,					5.159 д,	5.209 д,
	J_{gem} 12.46	J_{gem} 12.35					J_{gem} 12.50	J_{gem} 12.40
C ₆ H ₅	7.258–7.398 м		7.292–7.399 м		7.280–7.390 м		7.288–7.396 м	
NH	–	–	5.597 д,	5.551 д,	–	–	6.598 д,	6.685 д,
			$J_{NH,4}$ 4.34	$J_{NH,4}$ 5.79			$J_{NH,4}$ 7.54	$J_{NH,4}$ 8.1
CH ₃ CO	–	–	1.974 с	1.963 с	–	–	1.933 с	

* Спектры измерены при 600 МГц в дейтерохлороформе. Столбцы **A** и **B** описывают резонансы от двух конформеров, интенсивности которых имеют соотношение ~55 : 45.

** Химические сдвиги конформеров **A** и **B** практически совпадают. Константы спин-спинового взаимодействия (J) в данном случае представляют собой усредненные значения соответствующих констант для каждого из конформеров.

амин (IVe) с помощью ацетата аммония и цианборгидрида натрия привела к неожиданному результату. Хотя реакция проводилась в присутствии 10-кратного избытка ацетата аммония, обнаружить 4-цис-амин (IVe) в реакционной смеси не удалось (ср. [12]). Основным продуктом реакции оказался 4-цис-4'-цис-дипролиниламин (IXa) (выход 37.6%), помимо которого были также вы-

делены 4-цис-4'-транс-дипролиниламин (Xa) (6.3%) и алло-4-гидроксипролин (IVb) (11.2%). Очевидно, нуклеофильность образующегося в ходе реакции 4-цис-амин (IVe) настолько высока, что по мере образования он незамедлительно вступает во взаимодействие с остающимся в реакционной смеси 4-оксипролином (VIII) несмотря на присутствие большого избытка ацетата аммония.



a: R = OH
b: R = N(C₆H₁₁)CONHC₆H₁₁

Мы приписали выделенным веществам строение 4,4'-дипролиниламинов (IXa) и (Xa) на основании следующих физико-химических и химических данных. Во-первых, они проявляют в масс-спектрах одинаковые молекулярные массы (m/z 623), соответствующие их эмпирическим формулам, а их фрагментация однотипна и соответствует структуре дипролиниламинов. Их *N*-ацетаты – ацетамиды (IXb) и (Xb) – также обнаруживают одинаковые молекулярные массы (m/z 665) и однотипную фрагментацию. Во-вторых, удаленные *трет*-бутильные эфирные группы в соединениях (IXa) и (Xa) и обработка образующихся дикарбоновых кислот дициклогексилкарбодимидом приводит к образованию соответствующих лактамов (XIa) и (XIIa) (наряду с ними были также выделены соответствующие ацилмочевинные производные (XIb) и (XIIb)). Образование лактамов (XIa) и (XIIa) со всей очевидностью указывает на *цис*-расположение 4-амино- и карбоксильной групп по крайней мере в одном из пролиновых остатков и, таким образом, исключает *транс,транс*-дипролиниллин в качестве возможной структуры для диастереомерных соединений (IXa) и (Xa).

Сравнение спектров ^1H -ЯМР дипролиниламинов (IXa) и (Xa) и *цис/транс*-аминопролинов (IVe) и (IIIe) показывает, что спектры *цис*-4-аминопролина (IVe) и дипролиниламина (IXa) близки друг другу. В спектре ^1H -ЯМР дипролиниламина (IXa) химические сдвиги соответствующих протонов у обоих пролиновых остатков одинаковы, а резонансные сигналы конформеров, хорошо различимы в *цис*-4-аминопролине (IVe), несколько сближены благодаря наличию в молекуле двух одинаковых пролиновых остатков и проявляются в виде перекрывающихся мультиплетов. Напротив, *трет*-бутильные эфирные группы и слабopольные протоны в положении 5 ($\text{H}5''$) резонируют в виде двух мультиплетов. Судя по тому, что в дипролиниламине (IXa) соотношение интенсивностей этих мультиплетов составляет 58 : 42, свободное вращение вокруг C–N–C-связей, соединяющих пролиновые остатки, затруднено. В результате взаимозакранирования наблюдается значительный диамагнитный сдвиг (0.248 м. д.) резонанса 4-протонов по сравнению с *цис*-аминопролином (IVe), и их химический сдвиг совпадает со сдвигом сильнопольных протонов в положении 5 ($\text{H}5'$). Изменения химических сдвигов остальных протонов в дипролиниламине (IXa) по сравнению с *цис*-аминопролином (IVe) менее значительны и не превышают 0.07 м. д. В то же время в спектре ^1H -ЯМР диастереомерного дипролиниламина (Xa) хорошо различимы резонансные сигналы протонов, принадлежащих каждому из пролиновых остатков. Так, для протонов в положении 2 можно обнаружить не только сигналы *цис*- и *транс*-составляющих, но и сигналы конформеров *транс*-

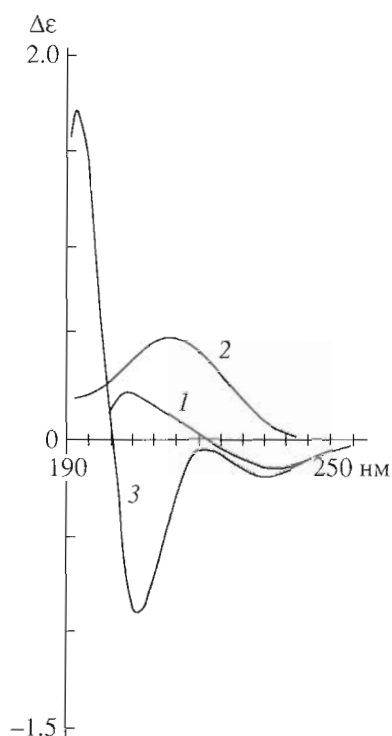


Рис. 1. КД-спектры соединений (V) (1), дигидрохлорида (V) (2) и Cbz-Pro-OBu' (3).

4-аминопролинового остатка. Резонанс слабopольного 3-протона *цис*-4-аминопролинового компонента молекулы и часть конформационных сигналов 5-протонов, принадлежащих *цис*- и *транс*-4-аминокомпонентам (см. “Эксперимент. часть”) также хорошо видны в спектре. Таким образом, на основании данных масс-спектрометрии, ^1H -ЯМР и способности к превращению в лактамы главному продукту аминирования было приписано строение 4-*цис*-4'-*цис*- (IXa), а минорному продукту – 4-*цис*-4'-*транс*-дипролиниламина (Xa).

Хорошо известно, что эффекты Коттона, обусловленные хромофорами сложноэфирных и бензилоксикарбонильных групп перекрываются, проявляясь в сравнительно узком диапазоне длин волн от 200 до 225 нм [13]. В нашем случае отнесение экспериментально наблюдаемых эффектов Коттона к тем или иным конкретным хромофорам исследуемых соединений затруднено из-за наличия нескольких хромофорных групп. Тем не менее данные КД-спектроскопии подтвердили наши выводы относительно стереохимии дипролиниламинов, сделанные с помощью спектроскопии ^1H -ЯМР.

Кривая КД *трет*-бутилового эфира основания *цис*-4-аминопролина (V) имеет два экстремума с малыми амплитудами при 238 (Δε – 0.15) и 204.5 нм (Δε + 0.24) (рис. 1, кривая 1). У дигидрохлорида (V) виден только один максимум большей

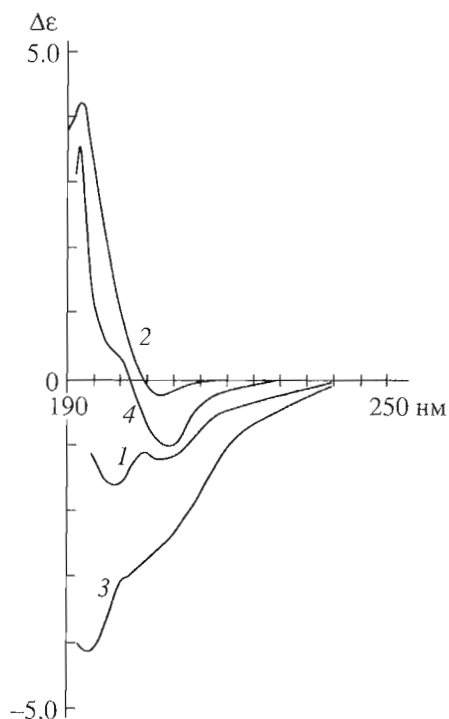


Рис. 2. КД-спектры соединений (IVe) (1), (IIIe) (2), (IXa) (3) и (Xa) (4).

амплитуды при 214 нм ($\Delta\epsilon + 0.53$) (кривая 2), что, по-видимому, связано с изменением предпочтительной конформации молекулы. В результате введения 1-*N*-бензилоксикарбонильной защитной группировки в молекулу пролина появляются два интенсивных экстремума при 205.5 ($\Delta\epsilon - 0.90$) и 192 нм ($\Delta\epsilon + 1.72$) для Cbz-Pro-OBu' (кривая 3) и при 209 ($\Delta\epsilon - 1.21$) и 199 нм ($\Delta\epsilon - 1.63$) для соединения (IVe) (рис. 2, кривая 1). Отсюда можно сделать вывод о том, что характер КД-спектров для Cbz-Pro-OBu' и соединений (IVe) и (V) определяется, главным образом, наличием или отсутствием в молекуле *N*-бензилоксикарбонильной группировки.

Поскольку *N*-бензилоксикарбонилпролины (IIIe) и (IVe) представляют собой по данным $^1\text{H-NMR}$ равновесные смеси двух конформеров, то можно было ожидать, что их соотношение и, следовательно, характер КД-спектров будет зависеть от природы и конфигурации заместителей в молекуле пролина, в частности, от конфигурации 4-аминогруппы. Действительно, КД-спектры эпимерных 4-бензилоксикарбониламинопролинов существенно отличаются друг от друга: *цис*-4-бензилоксикарбониламинопролин (IVe) проявляет λ_{max} 209 ($\Delta\epsilon - 1.21$) и 199 нм ($\Delta\epsilon - 1.63$) (рис. 2, кривая 1), тогда как его *транс*-4-эпимер (IIIe) имеет λ_{max} 207.5 ($\Delta\epsilon - 0.24$) и 192.5 нм ($\Delta\epsilon + 4.22$) (кривая 2). Сравнение КД-спектров дипролинламинов (IXa) и (Xa)

со спектрами *цис*- и *транс*-аминопролинов (IVe) и (IIIe) показывает (рис. 2), что кривая 4-*цис*-4'-*цис*-дипролинламина (IXa) (λ_{max} 209 ($\Delta\epsilon - 2.47$) и 194 нм ($\Delta\epsilon - 4.15$)) (кривая 3) практически представляет собой кривую, полученную удвоением ординат *цис*-4-аминопролина (IVe) (наблюдается только небольшое смещение коротковолнового максимума и отклонение от аддитивности), тогда как кривая 4-*цис*-4'-*транс*-дипролинламина (Xa) (λ_{max} 209 ($\Delta\epsilon - 1.03$), 199 ($\Delta\epsilon + 0.39$) и 192.5 нм ($\Delta\epsilon + 3.55$)) (кривая 4) имеет промежуточную по сравнению с кривыми соединений (IVe) и (IIIe) интенсивность и демонстрирует все присущие этим соединениям электронные переходы.

Таким образом, мы синтезировали ряд производных *транс*- и *цис*-4-аминопролинов и изучили их физико-химические характеристики. Избирательное удаление любой из защитных групп позволяет использовать эти соединения как удобные синтоны для пептидного синтеза и для модификаций пролиновой молекулы. 4-*цис*-4'-*цис*-Дипролинламин может служить исходным веществом для построения разветвленных пептидных конструкций, содержащих до четырех одинаковых или разных олигопептидных цепей. Синтезированные нами соединения могут быть основой для разработки терапевтических средств борьбы с заболеваниями коллагенсодержащих тканей и оказаться перспективными инструментами для изучения структур пролинсодержащих пептидов с ограниченной конформационной свободой.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы следующие реактивы: *транс*-4-гидрокси-*L*-пролин, *трет*-бутилацетат, цианборгидрид натрия и трифторуксусная кислота (Sigma, США), 10% PdO/C, *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид и 70% хлорная кислота (Merck-Schuchardt, Германия). Остальные реактивы – отечественного производства. Для аналитической и полупрепаративной тонкослойной хроматографии применяли готовые пластинки с основой из алюминийевой фольги или стекла (Merck), а также стеклянные пластинки НРПЛС (for Nano-TLC, Merck). Для препаративной ТСХ применяли стеклянные пластинки PLC (Merck) с толщиной слоя 2 мм. Все пластинки приготовлены на основе силикагеля 60 F₂₅₄. Пятна веществ обнаруживали в УФ-свете с длиной волны 254 нм или опрыскиванием пластинок 0.8% раствором перманганата калия или серной кислотой с последующим нагреванием. Для колоночной хроматографии применяли силикагель 60 (40–63 мкм, Merck). Для ВЭЖХ применяли модульный прибор Руче Unicam, состоящий из насоса LC-XPД, детектора LC-UV и инжектора Rheodyne. Разделения, если не указано особо, проводили на стеклянной колонке Separon SGX C18 (7 мкм, 3 × 150 мм, Tessek, Чехия), про-

дукты элюировали 60% метанолом со скоростью 0.5 мл/мин; детекцию проводили при 210 нм.

Масс-спектры регистрировали на приборах Varian MAT 44 при ионизации электронным ударом (70 эВ, EI-MS), лазерной десорбцией (MALDI-MS, VISION 2000, Великобритания) или плазмой продуктов распада ^{252}Cf (PD-MS, МСБХ "Электрон" г. Сумы, Украина). Спектры ^1H -ЯМР были получены в дейтерохлороформе на приборе Varian Unity 600; химические сдвиги ($\Delta\delta$) даны в миллионных долях и константы спин-спинового взаимодействия (J) – в герцах (Гц). Оптическое вращение определяли на поляриметре Perkin-Elmer 241, а спектры КД – на приборе Jasco в метаноле в кювете с длиной оптического пути 0.01 см. Температуры плавления были определены на микронагревательном столике Voetius и не исправлены.

трет-Бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-*L*-пролина получали из *N*-бензилоксикарбонил-*L*-пролина (VEB Berlin-Chemie, Berlin-Aldershof, т. пл. 75–76°C (из смеси гексан–этилацетат), литературная т. пл. 76–77°C [14]) по методу [1]; он имел т. пл. 44–46°C, литературная т. пл. 44–46°C [15], КД, λ_{max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 192 (+1.72), 205.5 (–0.90) и 238 (–0.17).

трет-Бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-мезилокси-*L*-пролина (IIIc) и *N*-бензилоксикарбонил-4-*цис*-мезилокси-*L*-пролина (IVc). К охлажденному на ледяной бане раствору 75.0 мг (234 мкмоль) трет-бутилового эфира *N*-бензилоксикарбонил-4-гидрокси-*L*-пролина (IIIb) в 1 мл безводного бензола прибавляли 65 мкл (467 мкмоль) триэтиламина и 27 мкл (349 мкмоль) мезилхлорида. Реакционную смесь выдерживали 24 ч при комнатной температуре (20°C), разлагали водой при 0°C и экстрагировали эфиром. Экстракт промывали 1 н. HCl, водой, насыщенным раствором NaHCO₃ и снова водой, сушили безводным сульфатом натрия и упаривали в вакууме. Выход хроматографически однородного мезилата (IIIc) составлял 87 мг (93%); масло, R_f 0.61 (этилацетат–гексан, 2 : 1), $[\alpha]_D^{23}$ –48.2° (с 1.12, метанол), EI-MS, m/z : 400 $[M + H]^+$, 399 $[M]^+$, 343 $[M - C_4H_8]^+$, 298 $[M - CO_2C_4H_9]^+$, 296 $[M - CO_2C_4H_9 - 2H]^+$, 252 $[343 - C_6H_5CH_2]^+$, 158 $[343 - C_6H_5CH - CH_3SO_3]^+$. Мезилат (IIIc) был использован при получении азиды (IVd) без дополнительной очистки.

Таким же способом из трет-бутилового эфира *N*-бензилоксикарбонил-4-*L*-алло-гидроксипролина (IVb) [5] с выходом 96% получали *цис*-мезилат (IVc), масло, R_f 0.51 (этилацетат–гексан, 2 : 1), $[\alpha]_D^{25}$ –31.9° (с 1.18, метанол), EI-MS, m/z : 400 $[M + H]^+$, 399 $[M]^+$, 343 $[M - C_4H_8]^+$, 299 $[M - CO_2C_4H_8]^+$, 298 $[M - CO_2C_4H_9]^+$, 296 $[M - CO_2C_4H_9 - 2H]^+$, 252 $[343 - C_6H_5CH_2]^+$, 208 $[299 - C_6H_5CH_2]^+$,

204 $[299 - CH_3SO_3]^+$, 158 $[343 - C_6H_5CH - CH_3SO_3]^+$. Без дальнейшей очистки он был использован на стадии получения азиды (IIIId).

трет-Бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-*цис*-азидо-*L*-пролина (IVd) и *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-азидо-*L*-пролина (IIIId). К раствору 158.8 мг (398 мкмоль) *транс*-мезилата (IIIc) в 6.5 мл безводного DMF прибавляли 52.0 мг (800 мкмоль) порошкообразного азиды натрия и смесь выдерживали при 70°C в течение 10 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли эфиром, эфирный слой промывали водой, насыщенным раствором NaHCO₃, водой, сушили Na₂SO₄ и упаривали досуха. Остаток (126 мг) хроматографировали на колонке с силикагелем (13 г) с применением ступенчатого градиента этилацетата (от 0 до 35%) в гексане. Выход маслообразного *цис*-азиды (IVd) составлял 115.6 мг (84%), R_f 0.42 (гексан–этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D^{26}$ –22.6° (с 0.70, метанол), EI-MS, m/z : 346 $[M]^+$, 345 $[M - H]^+$, 289 $[M - C_4H_9]^+$, 288 $[M - H - C_4H_9]^+$, 244 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 243 $[M - H - HCO_2C_4H_9]^+$, 201 $[244 - HN_3]^+$, 173 $[M - CO_2C_4H_9 - CO_2 - N_2]^+$, 155 $[M - CO_2C_4H_8 - C_6H_5CH_2]^+$, 111 $[155 - CO_2]^+$.

Аналогичным образом из *цис*-мезилата (IVc) с выходом 88% получали маслообразный *транс*-азид (IIIId), R_f 0.55 (гексан–этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D^{26}$ –56.8° (с 0.975, метанол), EI-MS, m/z : 346 $[M]^+$, 345 $[M - H]^+$, 303 $[M - HN_3]^+$, 302 $[M - H - HN_3]^+$, 289 $[M - C_4H_9]^+$, 288 $[M - H - C_4H_9]^+$, 244 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 243 $[M - H - HCO_2C_4H_9]^+$, 201 $[244 - HN_3]^+$, 173 $[M - CO_2C_4H_9 - CO_2 - N_2]^+$, 155 $[M - CO_2C_4H_8 - C_6H_5CH_2]^+$, 111 $[155 - CO_2]^+$.

трет-Бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-*цис*-амино-*L*-пролина (IVe) и *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-амино-*L*-пролина (IIIe) и их гидрохлориды. А. К раствору 486.5 мг (1.41 ммоль) *цис*-азиды (IVd) в 7.3 мл абсолютного метанола прибавляли 705 мкл (7.04 ммоль) пропандитиола и 983 мкл (7.04 ммоль) триэтиламина. Воздух из колбы вытесняли аргоном, реакционную смесь выдерживали в течение суток при комнатной температуре (23°C) и упаривали в вакууме. Остаток обрабатывали эфиром, вытравивший бесцветный осадок отфильтровывали и тщательно промывали эфиром. Объединенные эфирные фильтраты упаривали, и полученный продукт очищали на колонке с силикагелем (50 г) с применением ступенчатого градиента метанола (от 0 до 10%) в хлороформе. Выход маслообразного *цис*-амин (IVe) составлял 417 мг (93%; 73%, считая на исходный 4-гидроксипролин (IIIb)); R_f 0.39 (хлороформ–метанол, 94 : 6, двукратное проявление); $[\alpha]_D^{27}$ –52.3° (с 0.91, метанол), КД, λ_{max} , нм, ($\Delta\epsilon$):

199 (-1.63) и 209 (-1.21); EI-MS, m/z : 319 $[M - H]^+$, 318 $[M - 2H]^+$, 302 $[319 - NH_3]^+$, 301 $[318 - NH_3]^+$, 263 $[319 - C_4H_8]^+$, 262 $[318 - C_4H_8]^+$, 219 $[M - CO_2C_4H_9]^+$, 218 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 175 $[219 - CO_2]^+$, 174 $[218 - CO_2]^+$, 158 $[175 - NH_3]^+$, 157 $[174 - CO_2]^+$; PD-MS, m/z : 319 $[M - H]^+$, 263 $[M - H - C_4H_8]^+$, 217 $[M - H - HCO_2C_4H_9]^+$, 173 $[217 - CO_2]^+$; данные 1H -ЯМР см. в таблице.

Гидрохлорид *цис*-амина (IVe) получали медленным прибавлением 50 мкл 3.25 н. раствора HCl в абсолютном метаноле к охлаждаемому на ледяной бане и перемешиваемому на магнитной мешалке раствору 12.7 мг *цис*-амина (IVe) в 1 мл безводного эфира. После упаривания растворителя при комнатной температуре, маслообразный остаток растворяли без нагревания в минимальном объеме абсолютного этанола, прибавляли эфир и оставляли кристаллизоваться. Получали 6.5 мг (46%) гидрохлорида (IVe); т. пл. 152–153.5°C, R_f 0.39 (хлороформ-метанол, 94 : 6, двукратное проявление); $[\alpha]_D^{21}$ -37.0° (с 0.39, метанол), КД, λ_{max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 210 (-1.54); PD-MS, m/z : 319 $[M - H]^+$, 263 $[M - H - C_4H_8]^+$, 218 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 174 $[218 - CO_2]^+$, 129 $[M - CO_2C_4H_8 - C_6H_5CH_2]^+$, где M – молекулярная масса свободного основания (IVe).

Б. К раствору 18.6 мг (44.7 мкмоль) трифторацетамида (IVa) в 800 мкл метанола прибавляли равный объем 11% водного раствора аммиака. Смесь перемешивали при комнатной температуре (18°C) до тех пор, пока она не становилась прозрачной (~30 мин), после чего добавляли еще 1.0 мл раствора аммиака и перемешивание продолжали в течение 4 ч. Реакционную смесь упаривали досуха, остаток распределяли между эфиром и насыщенным раствором бикарбоната натрия, эфирный слой отделяли, промывали раствором бикарбоната натрия и сушили над безводным сульфатом натрия. После упаривания растворителя с количественным выходом получали маслообразный *цис*-амин (IVe). Его гидрохлорид, полученный как описано в методике А, оказался идентичным описанному выше образцу по данным ТСХ, а их смешанная проба не обнаруживала депрессии температуры плавления.

транс-Амин (IIIe) получали по методике А из *транс*-азида (IIIд). В процессе хроматографической очистки сырого продукта использовали ступенчатый градиент метанола в хлороформе (от 0 до 20% MeOH). Выход амина (IIIe) составлял 86% (73%, считая на исходный 4-алло-гидроксипролин (IVb)), R_f 0.34 (хлороформ-метанол, 94 : 6, двукратное проявление), $[\alpha]_D^{27}$ -53.8° (с 1.00, метанол), КД, λ_{max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 192.5 (+4.22) и 207.5 (-0.24); EI-MS, m/z : 319 $[M - H]^+$, 318 $[M - 2H]^+$, 302 $[319 -$

$-NH_3]^+$, 301 $[318 - NH_3]^+$, 263 $[319 - C_4H_8]^+$, 262 $[318 - C_4H_8]^+$, 219 $[M - CO_2C_4H_9]^+$, 218 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 175 $[219 - CO_2]^+$, 158 $[175 - NH_3]^+$; данные 1H -ЯМР см. в таблице.

Гидрохлорид *транс*-амина (IIIe) получали таким же способом, как и гидрохлорид *цис*-амина (IVe). В этом случае кристаллический гидрохлорид (т. пл. 152–155.5°C) выпадал из реакционной смеси в ходе прибавления метанольного раствора HCl (выход 83%). После перекристаллизации из смеси изопропанол-эфир гидрохлорид *транс*-амина (IIIe) имел т. пл. 154–156°C, R_f 0.34 (хлороформ-метанол, 94 : 6, двукратное проявление), $[\alpha]_D^{21}$ -57.6° (с 0.51, метанол), PD-MS, m/z : 319 $[M - H]^+$, 263 $[M - H - C_4H_8]^+$, 218 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 174 $[218 - CO_2]^+$, 129 $[M - CO_2C_4H_8 - C_6H_5CH_2]^+$, где M – молекулярная масса свободного основания (IIIe).

трет-Бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-*цис*-ацетамидо-*L*-пролина (IVf) и *N*-бензилоксикарбонил-4-*транс*-ацетамидо-*L*-пролина (IIIф). Раствор 5.0 мг *цис*-амина (IVe) в 100 мкл смеси пиридин-уксусный ангидрид (1 : 1) выдерживали 3.5 ч при комнатной температуре (20°C) и упаривали. Полученное вещество очищали препаративной ТСХ на HPTLC-пластинке в системе хлороформ-метанол, 98 : 2. Получали 3.4 мг (60%) хроматографически однородного *цис*-ацетамида (IVf), масло, R_f 0.60 (хлороформ-метанол, 94 : 6), $[\alpha]_D^{27}$ -5.0° (с 0.28, метанол), КД, λ_{max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 198.5 (+3.76) и 214 (-1.12); EI-MS, m/z : 363 $[M + H]^+$, 362 $[M]^+$, 306 $[M - C_4H_8]^+$, 305 $[M - C_4H_9]^+$, 302 $[M - CH_3CONH_3]^+$, 301 $[M - H - CH_3CONH_3]^+$, 287 $[M - H - C_4H_9OH]^+$, 260 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 259 $[M - H - HCO_2C_4H_9]^+$, 246 $[302 - C_4H_8]^+$, 245 $[301 - C_4H_8]^+$, 228 $[M - C_6H_5CHOCO]^+$, 215 $[306 - C_6H_5CH_2]^+$, 214 $[305 - C_6H_5CH_2]^+$, 202 $[260 - CH_3CONH]^+$, 201 $[259 - CH_3CONH]^+$, 171 $[M - CO_2C_4H_8 - C_6H_5CH_2]^+$, 169 $[260 - C_6H_5CH_2]^+$, 158 $[202 - CO_2]^+$; PD-MS, m/z : 453 $[M + C_6H_5CH_2]^+$, 385 $[M + Na]^+$, 363 $[M + H]^+$, 329 $[385 - C_4H_9]^+$, 307 $[363 - C_4H_8]^+$, 263 $[363 - CO_2C_4H_8]^+$, 218 $[M - HCO_2C_4H_8 - CH_3CO]^+$, 158 $[M - HCO_2C_4H_8 - CH_3CONH - CO_2]^+$; данные 1H -ЯМР см. в таблице.

Ацетилированием *транс*-амина (IIIe) в течение 70 мин при тех же условиях (включая обработку и хроматографическую очистку) с выходом 92% получали *транс*-ацетамид (IIIф), масло, R_f 0.32 (хлороформ-метанол, 94 : 6), $[\alpha]_D^{27}$ -30.3° (с 0.37, метанол), КД, λ_{max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 196 (+7.57) и 216.5 (+0.49); EI-MS, m/z : 363 $[M + H]^+$, 362 $[M]^+$, 306 $[M - C_4H_8]^+$, 305 $[M - C_4H_9]^+$, 304 $[M -$

– CH_3CONH^+ , 302 [$M - \text{CH}_3\text{CONH}_3$] $^+$, 301 [$M - \text{H} - \text{CH}_3\text{CONH}_3$] $^+$, 288 [$M - \text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$] $^+$, 287 [$M - \text{H} - \text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$] $^+$, 260 [$M - \text{HCO}_2\text{C}_4\text{H}_9$] $^+$, 259 [$M - \text{H} - \text{HCO}_2\text{C}_4\text{H}_9$] $^+$, 246 [$302 - \text{C}_4\text{H}_8$] $^+$, 245 [$301 - \text{C}_4\text{H}_8$] $^+$, 226 [$M - \text{H} - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}$] $^+$, 217 [$260 - \text{CH}_3\text{CO}$] $^+$, 216 [$259 - \text{CH}_3\text{CO}$] $^+$, 202 [$260 - \text{CH}_3\text{CONH}$] $^+$, 201 [$259 - \text{CH}_3\text{CONH}$] $^+$, 171 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_8 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 158 [$202 - \text{CO}_2$] $^+$; данные ^1H -ЯМР см. в таблице.

трет-Бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-цис-трифторацетида-*L*-пролина (IVa) и *N*-бензилоксикарбонил-4-транс-трифторацетида-*L*-пролина (IIIa). К охлажденному на ледяной бане раствору 17.9 мг (55.9 мкмоль) *цис*-амина (IVe) в 200 мкл безводного пиридина прибавляли 20 мкл (141.6 мкмоль) трифторуксусного ангидрида, реакцию смесь выдерживали в течение 1.5 ч, давая температуре постепенно повышаться до комнатной, и упаривали. Остаток растворяли в этилацетате, раствор промывали 1 н. HCl, насыщенным раствором NaHCO_3 и водой, высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученное желтое масло очищали препаративной ТСХ в системе гексан–этилацетат, 2 : 1. Элюированием основной зоны, поглощающей в УФ-свете, получали 20.2 мг (87%) хроматографически чистого *цис*-трифторацетида (IVa), бесцветное масло, R_f 0.40 (гексан–этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D^{27} -7.5^\circ$ (c 0.93, метанол), EI-MS, m/z : 359 [$M - \text{H} - \text{C}_4\text{H}_8$] $^+$, 358 [$M - 2\text{H} - \text{C}_4\text{H}_8$] $^+$, 342 [$M - \text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$] $^+$, 341 [$M - \text{H} - \text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$] $^+$, 313 [$M - \text{H} - \text{HCO}_2\text{C}_4\text{H}_9$] $^+$, 312 [$M - 2\text{H} - \text{HCO}_2\text{C}_4\text{H}_9$] $^+$, 300 [$M - \text{CF}_3\text{CONH}_2 - 3\text{H}$] $^+$, 269 [$M - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 268 [$359 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 246 [$359 - \text{CF}_3\text{CONH}_2$] $^+$, 245 [$359 - \text{CF}_3\text{CONH}_3$] $^+$, 224 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_9 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 181 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_8 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}$] $^+$, 158 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_9 - \text{CF}_3\text{CONH}_2 - \text{CO}_2$] $^+$; PD-MS, m/z : 507 [$M + \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 451 [$M - \text{C}_4\text{H}_8 + \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 417 [$M + \text{H}$] $^+$, 361 [$M - \text{C}_4\text{H}_8 + \text{H}$] $^+$, 315 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_9$] $^+$.

Аналогичной обработкой *транс*-амина (IIIe) получали с выходом 98% хроматографически чистый продукт, кристаллизующийся при прибавлении эфира, т. пл. 117–121°C. После перекристаллизации из смеси эфир–гексан *транс*-трифторацетамид (IIIa) имел т. пл. 122–123°C, R_f 0.50 (гексан–этилацетат, 2 : 1), $[\alpha]_D^{27} -24.6^\circ$ (c 0.43, метанол), EI-MS, m/z : 415 [$M - \text{H}$] $^+$, 359 [$M - \text{H} - \text{C}_4\text{H}_8$] $^+$, 358 [$M - 2\text{H} - \text{C}_4\text{H}_8$] $^+$, 342 [$M - \text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$] $^+$, 341 [$M - \text{H} - \text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$] $^+$, 313 [$M - \text{H} - \text{HCO}_2\text{C}_4\text{H}_9$] $^+$, 301 [$M - \text{CF}_3\text{CONH}_2 - 2\text{H}$] $^+$, 279 [$M - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO} - 2\text{H}$] $^+$, 269 [$M - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 268 [$359 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 246 [$359 - \text{CF}_3\text{CONH}_2$] $^+$, 245 [$359 - \text{CF}_3\text{CONH}_3$] $^+$, 224 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_9 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$] $^+$, 181 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_8 - \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}$] $^+$, 158 [$M - \text{CO}_2\text{C}_4\text{H}_9 -$

– $\text{CF}_3\text{CONH}_2 - \text{CO}_2$] $^+$. PD-MS-спектр *транс*-трифторацетида (IIIa) идентичен аналогичному спектру *цис*-изомера (IVa).

Дигидробромиды 4-цис-амино-*L*-пролина (II) и 4-транс-амино-*L*-пролина (I). Раствор 30.9 мг (96.5 мкмоль) *цис*-амина (IIIe) растворяли в 1 мл ледяной уксусной кислоты, насыщенной бромистым водородом, раствор выдерживали 48 ч при 20°C, после чего реакцию смесь разбавляли безводным эфиром. Образовавшийся аморфный осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали в вакууме. Получали 28.0 мг (99%) дигидробромида *цис*-амина (II), который после кристаллизации из абсолютного этанола имел т. пл. 158–160°C (разл.); R_f 0.53 (метанол–11% аммиак, 4 : 1); $[\alpha]_D^{25} -24.1^\circ$ (c 0.49, вода); MALDI-MS, m/z : 131 [$M + \text{H}$] $^+$, где M – молекулярная масса свободного основания 4-*цис*-амино-*L*-пролина (II).

Дигидробромида *транс*-амина (I) получали из *транс*-амина (IIIe) в тех же условиях с выходом 90%; т. пл. 219–222°C (разл.). После перекристаллизации из смеси абсолютный этанол–эфир продукт имел т. пл. 240–241.5°C (разл.), R_f 0.58 (метанол–11% аммиак, 4 : 1), $[\alpha]_D^{26} -25.7^\circ$ (c 0.28, вода), MALDI-MS, m/z : 131 [$M + \text{H}$] $^+$, где M – молекулярная масса свободного основания 4-*транс*-амино-*L*-пролина (I).

Дигидрохлорид трет-бутилового эфира 4-цис-амино-*L*-пролина (V). Раствор 56.0 мг (175 мкмоль) бензилоксикарбонил-*цис*-амина (IVe) в 5.0 мл *трет*-бутанола прибавили к суспензии предварительно восстановленного 10% PdO/C (20.0 мг) в 2 мл *трет*-бутанола. Реакционную смесь перемешивали на магнитной мешалке при нормальном давлении и комнатной температуре (20°C) в атмосфере водорода в течение 2.5 ч и отфильтровали. Осадок катализатора промывали *трет*-бутанолом и объединенные фильтраты упаривали. Получали 32.3 мг (99%) практически чистого *трет*-бутилового эфира *цис*-аминопролина (V), который подвергли микродистилляции при остаточном давлении 0.1 мм рт. ст. и температуре бани 45°C. Собранный маслообразный продукт (V) закристаллизовался и имел т. пл. 65–68°C, R_f 0.1 (хлороформ–90% водный метанол, 3 : 1), КД, λ_{max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 203.5 (+0.25) и 238 (–0.15).

К охлажденному на ледяной бане раствору 7.9 мг (42.5 мкмоль) *трет*-бутилового эфира *цис*-аминопролина (V) в 570 мкл абсолютного метанола прибавляли 70 мкл 3.25 н. раствора HCl в абсолютном метаноле, реакцию смесь перемешивали 10 мин и упаривали в вакууме без нагревания. Остаток закристаллизовывали растиранием с эфиром, отфильтровывали и промывали эфиром. Получали 8.2 мг (74%) дигидрохлорида *трет*-бутилового эфира *цис*-аминопролина (V), т. пл.

139.5–140°C (разл.), хроматографическая подвижность идентична хроматографической подвижности свободного основания (V), PD-MS, m/z : 185 $[M - H]^+$, 129 $[M - C_4H_8]^+$, 84 $[M - CO_2C_4H_9]^+$, где M – молекулярная масса свободного основания (V); КД, λ_{\max} ($\Delta\epsilon$): 214 (+0.53) нм.

(2S,5S)-1-Бензилоксикарбонил-3-кето-1,4-дизабцикло[2.2.1]гептан (VII). Раствор 51.0 мг (159 мкмоль) *цис*-амина (IVe) в 400 мкл трифторуксусной кислоты выдерживали 3 ч при 18°C, упаривали и тщательно высушивали. Полученная с количественным выходом трифторацетатная соль *N*-бензилоксикарбонил-4-*цис*-амино-*L*-пролина (VI) представляла собой стекловидную пленку, R_f 0.32 (хлороформ–90% водный метанол, 3 : 1, двукратное проявление), $[\alpha]_D^{23}$ -5.3° (c 0.53, вода), MALDI-MS, m/z : 287 $[M + Na]^+$, 265 $[M + H]^+$, 221 $[M + H - CO_2]^+$, где M – молекулярная масса свободного основания (VI).

А. К раствору 9.5 мг (25.1 мкмоль) трифторацетатной соли аминокислоты (VI) в 4 мл безводного DMF, прибавляли 8.5 мкл (61.1 мкмоль) триэтиламина и 7.0 мг (34.0 мкмоль) дициклогексилкарбодиимида. Реакционную смесь выдерживали 6 сут при 20°C и упаривали, остаток обрабатывали небольшим количеством охлажденного этилацетата, и осадок отфильтровывали. Фильтрат после упаривания подвергали препаративной ТСХ на НРТС-пластинке в этилацетате (двукратное проявление). Элюирование основной зоны, поглощающей в УФ-свете, давало 5.1 мг (82%) лактама (VII), R_f 0.22 (этилацетат, двукратное проявление), $[\alpha]_D^{25}$ $+13.6^\circ$ (c 1.0, метанол), EI-MS, m/z : 245 $[M - H]^+$, 244 $[M - 2H]^+$, 201 $[M - HCONH_2]^+$, 157 $[201 - CO_2]^+$, 155 $[M - C_6H_5CH_2]^+$. ¹H-ЯМР (смесь конформеров **A** (65%) и **B** (35%)): 1.808 (0.35 Н, уш. с, Н3'), 1.854 (0.65 Н, уш. с, Н3'), 2.043 (1 Н, д, $J_{H3', H3''}$ 9.73, Н3''), 3.324 (1 Н, уш. с, Н5'), 3.535 (1 Н, д, $J_{H5', H5''}$ 10.54, Н5''), 4.124 (1 Н, с, Н4), 4.508 (0.65 Н, уш. с, Н2), 4.576 (0.35 Н, уш. с, Н2), 5.092–5.264 (2 Н, м, СН₂Ph), 6.346 (0.65 Н, уш. с, NH), 6.605 (0.35 Н, уш. с, NH), 7.292–7.412 (5 Н, м, Ph).

Б. К охлажденному на ледяной бане раствору 10.4 мг (27.5 мкмоль) трифторацетатной соли аминокислоты (VI) в 4 мл безводного DMF прибавляли 4.6 мкл (33.1 мкмоль) триэтиламина, 7.7 мг (37.4 мкмоль) дициклогексилкарбодиимида и 9.0 мг (66.7 мкмоль) НОВТ. Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры (20°C), выдерживали 40 ч и упаривали. Остаток обрабатывали небольшим количеством охлажденного этилацетата и отфильтровывали. Фильтрат разбавляли этилацетатом, промывали 1 н. HCl, водой, насыщенным раствором NaHCO₃ и снова водой, сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали. Из остатка с помощью ТСХ (как опи-

сано в методике А) выделяли 3.7 мг (55%) лактама (VII).

(2S,4S,2'S,4'R)- и (2S,4S,2'S,4'R)-4,4'-бис-(1-Бензилоксикарбонил-2-*трет*-бутилоксикарбонилпирролидил)амины (IXa) и (Xa). К перемешиваемому на магнитной мешалке и охлажденному до 10°C раствору 518.0 мг (1.62 ммоль) кетоэфира (VIII) [1] в 8.1 мл абсолютного метанола, содержащего 1.250 г (16.23 ммоль) ацетата аммония и 400 мкл (7.0 ммоль) ледяной уксусной кислоты, прибавляли порциями в течение 3.5 ч 70.0 мг (1.11 ммоль) NaBH₃CN. Реакционную смесь перемешивали еще 1 ч 45 мин при комнатной температуре (16°C), выдерживали в течение ночи и упаривали в вакууме. Остаток экстрагировали эфиром, экстракт промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и водой, сушили Na₂SO₄ и упаривали. Маслообразный остаток (512.9 мг) растворяли в 15 мл безводного эфира и к охлажденному до 10°C раствору в течение 10 мин прибавляли при перемешивании на магнитной мешалке 375 мкл 3.25 н. раствора HCl в абсолютном метаноле. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали эфиром. Получали 201.3 мг (37.6%) гидрохлорида 4-*цис*-4'-*цис*-дипролинламина (IXa); т. пл. 167–171.5°C. После перекристаллизации из смеси абсолютного этанола и эфира гидрохлорид (IXa) имел т. пл. 168–172°C, $[\alpha]_D^{22}$ -63.3° (c 0.61, метанол), R_f 0.62 (хлороформ–метанол, 7 : 3), R_f 0.85 (эфир–этилацетат, 6 : 1, двукратное проявление), RT 10.00 мин (Separon SGX C18, 5 мкм, 4.0 × 250 мм, элюент 80% MeOH, содержащий 0.1% TFA, скорость 900 мкл/мин), EI-MS, m/z : 622 $[M - H]^+$, 565 $[M - H - C_4H_9]^+$, 521 $[M - HCO_2C_4H_9]^+$, 509 $[M - 2C_4H_9]^+$, 493 $[M - C_4H_9 - C_4H_9O]^+$, 465 $[M - C_4H_9 - CO_2C_4H_9]^+$, 449 $[M - HCO_2C_4H_9 - C_4H_9O]^+$, 422 $[M - HCO_2C_4H_9 - CO_2C_4H_9]^+$, 388 $[M - CO_2C_4H_9 - C_6H_5CHOCO]^+$, 375 $[M - CO_2C_4H_9 - C_4H_8 - C_6H_5CH_2]^+$, 359 $[M - CO_2C_4H_8 - C_4H_9O - C_6H_5CH_2]^+$, 331 $[M - CO_2C_4H_9 - CO_2C_4H_8 - C_6H_5CH_2]^+$, 320 [*трет*-бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-аминопролина]⁺, 301 [320 - NH₄ - 2H]⁺, 289 $[M - 2CO_2C_4H_8 - C_6H_5CHOCO]^+$, 263 [320 - C₄H₉]⁺, 246 [320 - C₄H₉OH]⁺, 220 [320 - CO₂C₄H₈]⁺, 202 [320 - CO₂C₄H₉ - NH₃]⁺, 158 [202 - CO₂]⁺; PD-MS, m/z : 714 $[M + C_6H_5CH_2]^+$, 624 $[M + H]^+$, 512 $[M - 2C_4H_8 + H]^+$, 422 $[M - CO_2C_4H_9 - CO_2C_4H_8]^+$, 330 $[M - 2CO_2C_4H_9 - C_6H_5CH_2]^+$, где M – молекулярная масса свободного основания (IXa).

Свободное основание 4-*цис*-4'-*цис*-дипролинламина (IXa) получали из этого гидрохлорида его обработкой водным пиридином и реэкстракцией продукта эфиром в виде масла, которое проявляло ту же хроматографическую подвижность при ТСХ и ВЭЖХ, что и гидрохлорид, и имело та-

кой же EI-MS; $[\alpha]_D^{24} -50.8^\circ$ (*c* 0.48, метанол), КД, λ_{\max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 194 (–4.15) и 209 (–2.47); $^1\text{H-NMR}$ (четыре конформера): 1.346, 1.354 (10.44 H, два с, Bu'O), 1.456, 1.468 (7.56 H, два с, Bu'O), 1.868 (2 H, м, H3'), 2.389 (2 H, м, H3''), 3.311 (4 H, уш. с, H4 + H5'), 3.702 (0.84 H, м, H5''), 3.782 (1.16 H, м, H5''), 4.195–4.267 (2 H, м, H2), 5.09–5.19 (4 H, м, CH₂Ph), 7.280–7.382 (10 H, м, Ph).

Маточный раствор после осаждения гидрохлорида 4-*цис*-4'-*цис*-дипролинамина (IXa) упаривали, и остаток (337.2 мг) хроматографировали на колонке с силикагелем (35.0 г) с применением ступенчатого градиента метанола (от 0 до 3%) в хлороформе. Фракции, содержащие по данным ТСХ (хлороформ–метанол, 7 : 3), 4-*цис*-4'-*транс*-дипролинамин (Xa) и *алло*-спирт (IVb), объединяли и упаривали. Полученное маслообразное вещество (208.3 мг) подвергали разделению на трех препаративных пластинках (20 × 20 × 0.2 см) в системе хлороформ–метанол, 9 : 1, двукратное проявление. Элюированием зон с *R_f* 0.54 и 0.44, поглощающих в УФ-свете, получали соответственно 47.9 мг *цис,транс*-дипролинамина (Xa) и 71.6 мг *алло*-спирта (IVb). Окончательную очистку *цис,транс*-дипролинамина (Xa) осуществляли препаративной ТСХ в системе эфир–этилацетат, 6 : 1. Получали 31.7 мг (6.3%) маслообразного хроматографически однородного продукта (Xa); *R_f* 0.62 (хлороформ–метанол, 7 : 3); *R_f* 0.80 (эфир–этилацетат, 6 : 1, двукратное проявление); *RT* 7.98 мин (условия см. выше); $[\alpha]_D^{23} -48.0^\circ$ (*c* 1.2, метанол), КД, λ_{\max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 192.5 (+3.55), 199 (перегиб, +0.39) и 209 (–1.03); $^1\text{H-NMR}$ (четыре конформера): 1.341, 1.346 (9.9 H, два с, Bu'O), 1.459, 1.464 (8.1 H, два с, Bu'O), 1.883–2.060 (2 H, м, H3' *цис*- и *транс*-аминопролиновых остатков), 2.082 (1 H, м, H3'' *транс*-аминопролинового остатка), 2.355 (1 H, м, H3' *цис*-аминопролинового остатка), 3.184 (0.45 H, м, H5' *транс*-аминопролинового остатка), 3.250–3.418 (2.4 H, м, H4 + H5'), 3.447 (1.15 H, м, H4 + H5'), 3.673 (0.2 H, дд, $J_{\text{H5}', \text{H5}''} 10.8$, $J_{\text{H5}', \text{H4}} 6.3$, H5'' *цис*-аминопролинового остатка), 3.707 (0.3 H, дд, $J_{\text{H5}', \text{H5}''} 10.4$, $J_{\text{H5}', \text{H4}} 5.9$, H5'' *цис*-аминопролинового остатка), 3.727–3.811 (1.50 H, м, H5'' *цис*- и *транс*-аминопролиновых остатков), 4.200–4.271 (1 H, м, H2 *цис*-аминопролинового остатка), 4.292 (0.55 H, дд, $J_{\text{H2}, \text{H3}'} 7.63$, $J_{\text{H2}, \text{H3}''} 4.4$, H2 *транс*-аминопролинового остатка), 4.326 (0.45 H, дд, $J_{\text{H2}, \text{H3}'} 8.00$, $J_{\text{H2}, \text{H3}''} 2.80$, H2 *транс*-аминопролинового остатка), 5.079–5.202 (4 H, м, CH₂Ph), 7.277–7.301 (10 H, м, Ph); EI-MS- и PD-MS-спектры *цис,транс*-дипролинамина (Xa) аналогичны соответствующим спектрам *цис,цис*-изомера (IXa). Нам не удалось получить кристаллический гидрохлорид *цис,транс*-дипролинамина (Xa) в описанных выше условиях.

алло-Спирт (IVb) очищали дополнительной препаративной ТСХ в системе эфир–этилацетат, 6 : 1, двукратное проявление. Получали 56.9 мг (11%) чистого вещества, идентичного по данным ТСХ, ВЭЖХ и EI-MS заведомому образцу *алло*-спирта (IVb) (ср. [1]).

(2*S*,4*S*,2'*S*,4'*S*)- (IXb) и (2*S*,4*S*,2'*S*,4'*R*)-4,4'-бис-(1-бензилоксикарбонил-2-*трет*-бутилоксикарбонилпирролидил)ацетамид (Xb). Раствор 9.8 мг (14.9 мкмоль) гидрохлорида *цис,цис*-дипролинамина (IXa) в 300 мкл смеси пиридина и уксусного ангидрида (2 : 1) нагревали в течение 4 ч при 50°C. Реакционную смесь упаривали досуха и остаток очищали препаративной ТСХ в системе эфир–этилацетат, 3 : 1, трехкратное проявление. Элюированием основной зоны, поглощающей в УФ-свете, получали 9.5 мг (96%) маслообразного *цис,цис*-ацетамида (IXb), *R_f* 0.33 (эфир–этилацетат, 6 : 1, двукратное проявление), $[\alpha]_D^{24} -47.2^\circ$ (*c* 0.78, метанол), КД, λ_{\max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 201 (+6.04) и 224.5 (–2.32); EI-MS, *m/z*: 608 [*M* – C₄H₉]⁺, 563 [*M* – HCO₂C₄H₉]⁺, 553 [*M* – 2C₄H₈]⁺, 507 [608 – CO₂C₄H₉]⁺, 461 [*M* – 2HCO₂C₄H₉]⁺, 430 [*M* – CO₂C₄H₉ – C₆H₅CHOCO]⁺, 417 [608 – CO₂C₄H₈ – C₆H₅CH]⁺, 372 [*M* – 2CO₂C₄H₉ – C₆H₅CH₂]⁺, 363 [1-бензилоксикарбонил-2-*трет*-бутилоксикарбонил-4-ацетамидопирролидин + H]⁺, 362 [363 – H]⁺, 327 [461 – C₆H₅CHOCO]⁺, 306 [1-бензилоксикарбонил-2-*трет*-бутилоксикарбонилпирролидин + H]⁺, 305 [306 – H]⁺, 302 [362 – H₃NC(=O)CH₃]⁺, 301 [362 – H₃NC(=O)CH₃ – H]⁺, 261 [362 – CO₂C₄H₉]⁺, 246 [302 – C₄H₈]⁺, 245 [301 – C₄H₈]⁺, 202 [302 – CO₂C₄H₈]⁺, 173 [362 – HCO₂C₄H₉ – CH₃CO – CO₂]⁺, 158 [202 – CO₂]⁺; PD-MS, *m/z*: 666 [*M* + H]⁺, 610 [*M* + H – C₄H₈]⁺, 564 [*M* – CO₂C₄H₉]⁺, 554 [*M* + H – 2C₄H₈]⁺, 510 [*M* + H – C₄H₈ – CO₂C₄H₈]⁺.

4-*цис*-4'-*транс*-Дипролинацетамид (Xb) был получен таким же способом из 4-*цис*-4'-*транс*-дипролинамина (Xa) (продолжительность нагревания 8 ч) с выходом 83%, $[\alpha]_D^{25} -30.0^\circ$ (*c* 0.1, метанол), КД, λ_{\max} , нм, ($\Delta\epsilon$): 192.5 (+1.56), 200 (+0.45) и 221.5 (–1.27); хроматографическая подвижность, EI-MS- и PD-MS-спектры *цис,транс*-дипролинацетамида (Xb) практически не отличались от соответствующих характеристик *цис,цис*-изомера (IXb).

(2*S*,5*S*,2'*S*,4'*S*)-1-бензилоксикарбонил-3-оксо-4-[4'-(1'-бензилоксикарбонил-2'-карбоксихлоридил)]-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (XIa). Раствор 20.3 мг (30.8 мкмоль) гидрохлорида *цис,цис*-дипролинамина (IXa) в 120 мкл трифторуксусной кислоты выдерживали 3 ч при 21°C и упаривали досуха. Остаток растирали с эфиром, а полученный аморфный осадок отфильтровывали и про-

мывали эфиром. Выход трифторацетатной соли аминокислоты составлял 18.5 мг (29.6 мкмоль). Соль растворяли в 3 мл безводного DMF и к охлажденному на ледяной бане раствору прибавляли 8.2 мкл (59.0 мкмоль) триэтиламина и 12.2 мг (59.0 мкмоль) дициклогексилкарбодиимида. Реакционную смесь выдерживали 19 ч при комнатной температуре и упаривали досуха. Остаток обрабатывали охлажденным этилацетатом, раствор отфильтровывали от выпавшей дициклогексилмочевины и упаривали. Полученную смесь (20.4 мг) разделяли с помощью препаративной ТСХ в системе эфир–этилацетат, 3 : 1, трехкратное проявление. Маслообразный лактам (XIb), представляющий собой ацилпроизводное дициклогексилмочевины, элюировали из малополярной зоны, поглощающей в УФ-свете, этилацетатом; выход 6.7 мг (32%), R_f 0.70 (эфир–этилацетат, 4 : 1, трехкратное проявление), MALDI-MS, m/z : 722 $[M + Na]^+$, 575 $[M - C_6H_{11}NHCO + 2H]^+$. Затем ту же пластинку трижды проявляли системой хлороформ–метанол–AcOH, 49 : 1 : 1, и из полярной зоны, поглощающей в УФ-свете, элюировали смесь хлороформ–метанол, 3 : 1, 9.4 мг (65%) маслообразного лактама (XIa), R_f 0.45 (хлороформ–метанол–AcOH, 49 : 1 : 1), MALDI-MS, m/z : 538 $[M - H + 2Na]^+$, 516 $[M + Na]^+$, 450 $[M + H - CO_2]^+$.

(2*S*,5*S*,2'*S*,4'*R*)-1-Бензилоксикарбонил-3-оксо-4-[4'-(1'-бензилоксикарбонил-2'-карбоксихипролилдил)]-1,4-дизабицикло[2.2.1]гептан (XIIa). Из 9.9 мг (15.9 мкмоль) *cis*–*trans*-дипролинламина (Xa) по такой же методике получали лактамацилмочевину (XIIb), выход 45%, R_f 0.58 (эфир–этилацетат, 4 : 1, трехкратное проявление), MALDI-MS, m/z : 722 $[M + Na]^+$, 597 $[M - C_6H_{11}NCO + Na]^+$, 575 $[M - C_6H_{11}NCO + H]^+$, 531 $[M - C_6H_{11}NHCO - CO_2]^+$, 441 $[531 - C_6H_5CH]^+$, 420 $[M - C_6H_{11}NHCONC_6H_{11}NCO - CO]^+$, и лактам (XIIa), выход 10%, R_f 0.51 (хлороформ–метанол–AcOH,

49 : 1 : 1, трехкратное проявление), MALDI-MS, m/z : 516 $[M + Na]^+$, 465 $[M - CO]^+$, 439 $[M - COCH=CH]^+$, 420 $[465 - CO_2H]^+$, 393 $[439 - HCO_2H]^+$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Елин Э.А., Оноприенко В.В. // Биоорганич. химия. 1998. Т. 24. С. 670–675.
2. Yoshitoshi J., Oda T., Ishii K., Tasaka S. // Abstracts of Papers, 3 Int. Symp. on Liver Research. Tokyo, 1966 (Pub. 1967), Chem. Abstr. 1968. V. 69. 85300v.
3. Igarashi S. // Sekagaku. 1968. V. 40. P. 828–837. Chem. Abstr. 1969. V. 71. 48171z.
4. Ленинджер А. Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1. С. 176–184.
5. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. // Основы биохимии. М.: Мир, 1981.
6. Mauger A.B., Witkop B. // Chem. Rev. 1966. V. 66. P. 47–86.
7. Andreatta R.H., Nair V., Robertson A.V., Simpson W.R.J. // Aust. J. Chem. 1967. V. 20. P. 1493–1509.
8. Andreatta R.H., Nair V., Robertson A.V. // Aust. J. Chem. 1967. V. 20. P. 2701–2713.
9. Mizoguchi T., Sakaguchi R. // Jpn. Patent 13 742. 1965. Chem. Abstr. 1964. V. 63. P11508ab.
10. Bayley H., Standing D.N., Knowles J.R. // Tetrahedron Lett. 1978. P. 3633–3634.
11. McClure K.F., Renold P., Kemp D.S. // J. Org. Chem. 1995. V. 60. P. 454–457.
12. Borch R.F., Bernstein M.D., Durst H.D. // J. Am. Chem. Soc. 1971. V. 93. P. 2897–2904.
13. Краббе П. // Применение хироптических методов в химии. М.: Мир, 1974.
14. Гринштейн Дж., Виниц М. // Химия аминокислот и пептидов. М.: Мир, 1965.
15. Anderson G.W., Callahan F.M. // J. Am. Chem. Soc. 1960. V. 82. P. 3359–3363.

The Synthesis of Isomeric 4-Prolinylamines and 4,4'-Diprolinylamines

E. A. Yelin, V. V. Onoprienko[#], I. A. Kudelina, and A. I. Miroshnikov

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

Starting from the previously described *tert*-butyl esters of 4-epimeric *N*-benzyloxycarbonyl-4-hydroxyprolines and *N*-benzyloxycarbonyl-4-*trans*- and 4-*cis*-trifluoroacetamidoproline *tert*-butyl esters, the corresponding unprotected 4-aminoproline and a number of their partially protected derivatives were synthesized via the intermediate 4-*O*-mesyl and 4-azide derivatives. The reductive amination of *N*-benzyloxycarbonyl-4-oxoproline *tert*-butyl ester with ammonium acetate led to *N*-benzyloxycarbonyl-4-*cis*-4'-*cis*- and 4-*cis*-4'-*trans*-diprolinylamines. The ¹H NMR and CD spectra of the synthesized compounds are described.

Key words: 4-aminoproline, physicochemical properties, synthesis; 4,4'-diprolinylamines, physicochemical properties, synthesis; collagen

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

For the full text of English translation of this article, see *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2000, vol. 26, no. 11. It is also available (free) in PDF format through the Web Site <http://www.maik.rssi.ru/>.