



УДК 645.779.931

**СИНТЕЗ N-(АМИНОАЦИЛ)-ТРЕО-1-(*n*-НИТРОФЕНИЛ)-
-2-АМИНОПРОПАДИОЛОВ-1,3 — АМИНОКИСЛОТНЫХ
АНАЛОГОВ ХЛОРАМФЕНИКОЛА**

Поповкина С. В., Турчин К. Ф., Завгородний С. Г.
Краевский А. А., Буханова М. К., Орлов В. М.,
Гнуцев Н. В., Готтих В. П.*

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Конденсацией *трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*N*-имидазола и *трет*-бутилоксикарбонилглицил-*N*-имидазола с *D*-(-)-*трео*- и *L*-(+)-*трео*-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиолом-1,3 получены соответствующие *трет*-бутилоксикарбониламинокислотные амиды названных оснований, которые после удаления *N*-защитных групп превращены в *N*-(*L*-фенилаланил)-*D*-(-)-*трео*- и *L*-(+)-*трео*-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиол-1,3 и *N*-глицил-*D*-(-)-*трео*- и *L*-(+)-*трео*-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиол-1,3, структура которых подтверждена с помощью спектров ПМР, КД, масс-, ИК-спектров. Синтезирован также *N*,*O*³-(ди-*L*-фенилаланил)-*D*-(-)-*трео*-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиол-1,3. Все полученные соединения исследованы как ингибиторы синтеза пептидной связи в нескольких бесклеточных системах с рибосомами *E. coli*. Некоторые из аналогов эффективно ингибируют этот процесс.

Антибиотик хлорамфеникол [*D*-(-)-*трео*-1-(*n*-нитрофенил)-2-дихлор-ацетамидопропандиол-1,3 (I)] ингибирует биосинтез белка на рибосомальном этапе, контактируя с акцепторным фрагментом аминоксил-тРНК за акцепторный участок пептидилтрансферазного центра рибосом [1]. Аминокислотные аналоги хлорамфеникола [*N*-(аминоацил)-*D*-(-)-*трео*-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиола-1,3 (II)], подобно хлорамфениколу, ингибируют биосинтез полипептидных цепей в белоксинтезирующих бесклеточных системах с рибосомами *E. coli* [2, 3]. Механизм их ингибирующего действия, однако, подробно изучен не был.

Необходимость проверить их на возможную пептидакцепторную активность в рибосомах возникла вследствие обнаружения ингибирующей активности аминокислотных эфиров 9-(2',3'-диоксипропил-1)-аденина на пептидилтрансферазу рибосом [4].

Кроме того, синтез амидов (II) и их физико-химические свойства подробно описаны не были.

Синтез (II) и *L*-изомеров (II) (III) осуществлен конденсацией *D*- или *L*-*трео*-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиолов-1,3 (IVa) и (IVб) с *трет*-бутилоксикарбонил(Вос)-аминоацил-*N*-имидазолами (V) в *D*-(-)-*трео*- и *L*-(+)-*трео*-*N*-(Вос-аминоацил)-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиолы-1,3 (VI) соответственно. Удаление Вос-защиты с (VI) достигалось обработкой (VI) CF₃COOH. Использование других способов активации аминокис-

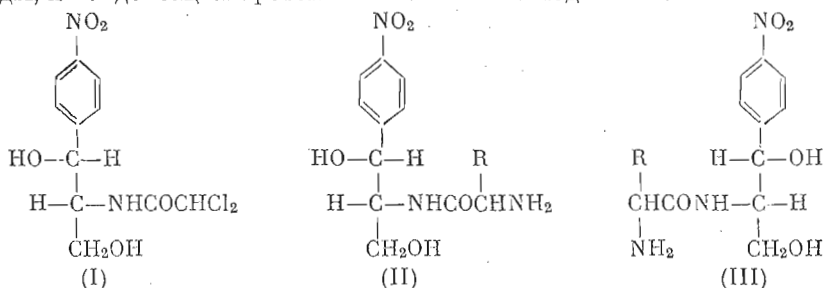
* Всесоюзный научно-исследовательский химико-фармацевтический институт им. С. Орджоникидзе, Москва.

Выход и физико-химические константы полученных веществ

Вещество	Брутто-формула	Выход, %	Т.пл., град	R_f (система)	E_f	
					по Gly	по His
(VIa)	$C_{18}H_{23}N_3O_7$	72,5	*	0,78(2)	---	---
(VIб)	$C_{23}H_{29}N_3O_7$	67,6	*	0,74(2)	---	---
(VIв)	$C_{16}H_{23}N_3O_7$	36,0	*	0,78(2)	---	---
(VIr)	$C_{23}H_{29}N_3O_7$	56,5	*	0,75(2)	---	---
(VII)	$C_{37}H_{46}N_4O_{10}$	35,0	205--8	0,35(2)	---	---
(IIa)	$C_{11}H_{15}N_3O_5$	44,6	102--3	0,10(1)	1,2	0,74
(IIб)	$C_{18}H_{21}N_3O_5$	44,6	57--8	0,38(1)	0,99	0,61
(IIIa)	$C_{11}H_{15}N_3O_5$	53,7	103--5	0,10(1)	1,2	0,74
(IIIб)	$C_{18}H_{21}N_3O_5$	28,4	127--8	0,27(1)	1,0	0,61
(VIII)	$C_{31}H_{32}F_6N_4O_{10}$	61,0	128--30	---	1,41	0,99
-2CF ₃ COOH						
(IVa)		---	---	0,19(1)	1,39	0,85
(IVб)		---	---	0,19(1)	1,39	0,85

*Масло.

лот (*N*-оксисукцинимидного и пентахлорфенилового) дал более низкие выходы, и конденсация протекала значительно медленнее.



Чистота и структура полученных амидов (II) и (III) доказывалась рядом физико-химических методов. В табл. 1 приведены выходы полученных веществ, их температуры плавления, подвижности при хроматографировании и электрофорезе на бумаге.

Для фенилаланиновых амидов *D*- и *L*-трео-соединений (IIб) и (IIIб) получены масс-спектры, для чего амиды (IIб) и (IIIб) предварительно подвергали триметилсилилированию с помощью триметилсилилдиэтиламина. Масс-спектры бис-*O*-триметилсилиловых эфиров этих соединений ($M^+ 503$) идентичны полностью (на рис. 1, а приведен спектр *D*-изомера (IIб); массовые числа фрагментов показывают схему его распада и подтверждают структуру. Пик с m/e 103 отвечает $CH_2OSi(CH_3)_3$ -группе, что исключает возможность присоединения аминокислоты по первичному гидроксилу; пик с m/e 279 возникает вследствие разрыва

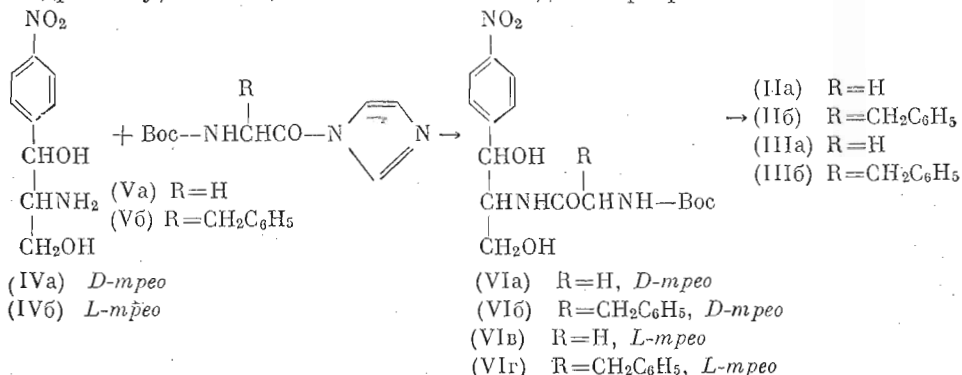


Таблица 2

УФ-и КД-спектры синтезированных соединений

Соединение	УФ-спектры			КД-спектры	
	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$E \cdot 10^{-3}$	$\lambda_{\text{мин}}$, нм	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$[\theta]_{\text{макс}}$
(IIa)	276	9,42	234	340	+429
(IIб)	276	11,2	234	342	+730
(IIIa)	276	10,6	234	342	-452
(IIIб)	276	10,9	234	335	-1072

Таблица 3

Элементарный анализ синтезированных соединений

Соединение	Найдено, %			Вычислено, %		
	C	H	N	C	H	N
(IIa)	49,18	5,62	15,69	49,07	5,58	15,62
(IIб)	49,24	5,76	15,41	49,07	5,58	15,62
(IIIa)	59,92	5,96	11,93	60,17	5,89	11,69
(IIIб)	60,16	5,71	11,98	60,17	5,89	11,69
(VIII)	51,80	4,46	7,94	50,66	4,40	7,63

C_1-C_2 связи и содержит аминокислоту, таким образом, отрицается аминокислотное ацилирование гидроксила при C_1 и доказывається аминокислотное ацилирование NH_2 -группы. Для сравнения приведен также масс-спектр исходного (IV) (рис. 1).

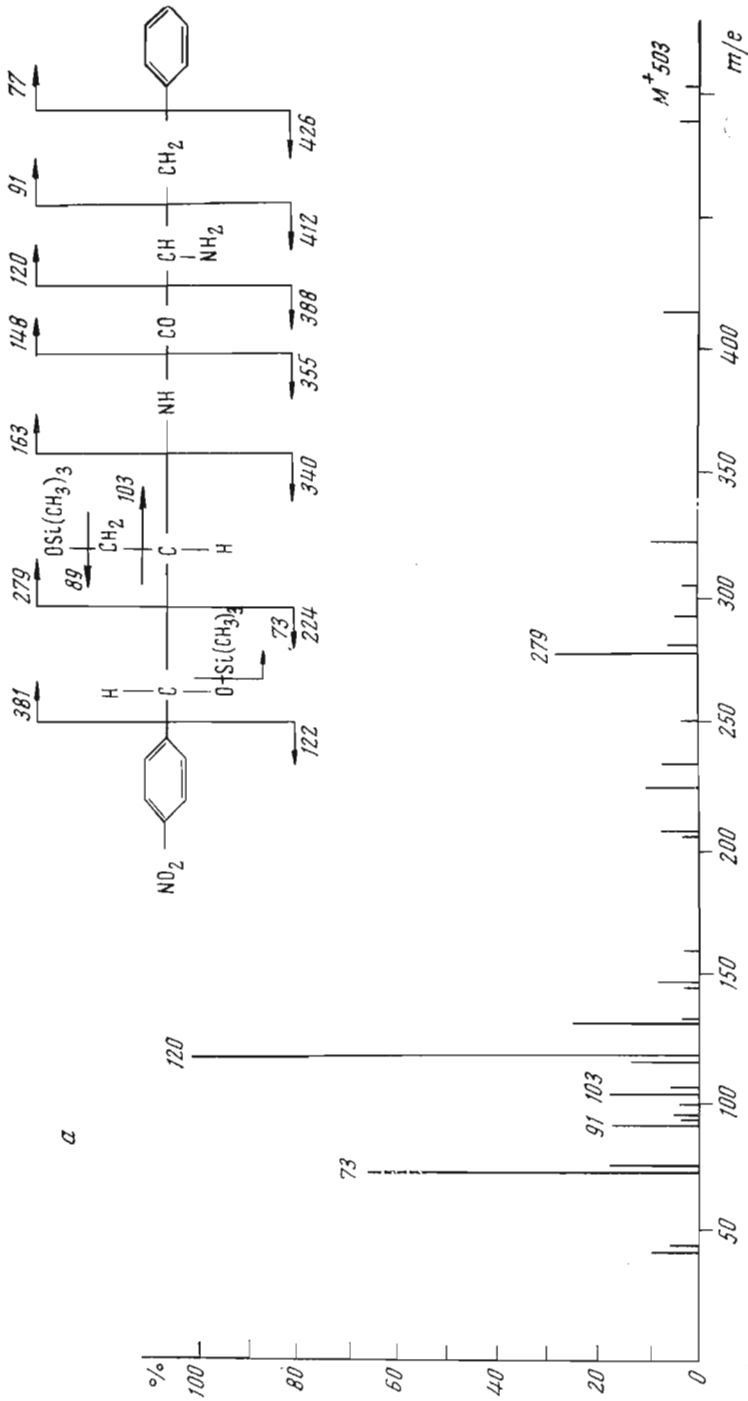
ИК-спектры (IIб) и (IIIб) также показывают наличие амидной связи ($1520-1530 \text{ см}^{-1}$).

В спектрах ПМР (рис. 2) исходных оснований (IVa) и (IVб) в $(CD_3)_2SO$ отнесения всех протонов сделаны ранее [5].

В спектрах глициновых амидов (IIa) и (IIIa), которые были полностью идентичны, алифатическим протонам пропандиольной цепи отвечают: дублет C^1H при δ 5,08 м.д. с $J_{H,H_2} \sim 4,5$ Гц; мультиплет C^2H при δ 4,23 м.д. и мультиплет C^3H_2 с центром при $\delta \sim 3,70$ м.д. Протонам CH_2 -группы глицинового остатка отвечает уширенный синглет при δ 3,82 м.д., в спектре фенилаланинового остатка при δ 7,33 м.д. Дублет при δ 5,03 м.д. с $J_{H,H_2} \sim 5$ Гц, мультиплет при δ 4,15 м.д. и мультиплет с центром при δ 4,32 м.д. были соответственно отнесены к протонам C^1H , C^2H и C^3H_2 . Алифатическим протонам аминокислотной части принадлежат триплет при δ 4,25 м.д. ($C_\alpha H$) и дублет при δ 3,18 м.д. ($C_\beta H_2$).

В спектре ПМР *L*-фенилаланинового амида *L*-трео-изомера (IIIб) сигналы фенильного ядра фенилаланинового остатка наблюдаются в виде мультиплетов при δ 7,10 и 6,78 м.д. с соотношением интенсивностей 3:2. Протонам боковой цепи отвечают дублет при δ 5,09 м.д. с J 2,5 Гц (C^1H), мультиплет при δ 4,42 м.д. (C^2H) и мультиплет при $\delta \sim 3,65-3,85$ м.д. (C^3H_2). Сигналы алифатических протонов аминокислотного остатка наблюдаются в виде триплета при δ 4,30 м.д. ($C_\alpha H$) и двух квадруплетов при δ 2,78 и 3,02 м.д. ($C_\beta H_2 H^2$).

Спектры КД (рис. 3) показывают сохранение асимметрии молекул в процессе синтеза. Глициновые амиды *D*- и *L*-оснований (IIa) и (IIIa) имеют противоположные по знаку и практически одинаковые по величине Коттон-эффекты (табл. 2). Различие в абсолютной величине Коттон-эффектов фенилаланиновых амидов (IIб) и (IIIб) связано, вероятно, с наличием в их молекулах дополнительного асимметрического центра в аминокислотном остатке.



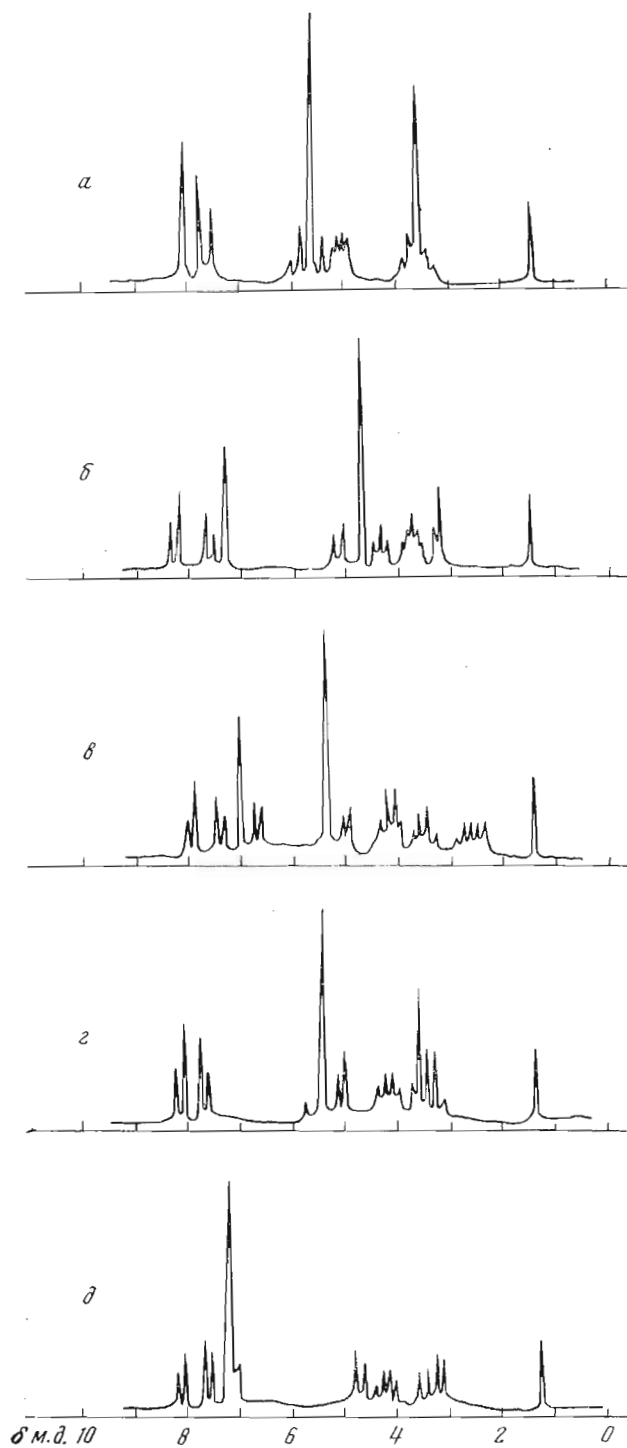


Рис. 2. Спектры ПМР соединений: *a* — (IVa); *б* — (IIб);
в — (IIIб); *г* — (IIa); *д* — (IIIa)

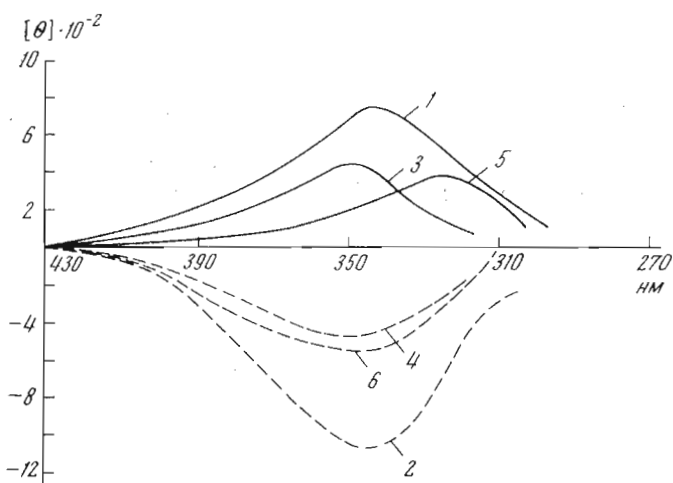


Рис. 3. КД-спектры соединений: 1 — (IIб), 2 — (IIIб), 3 — (IIа), 4 — (IIIа), 5 — (IVа), 6 — (IVб)

При использовании двукратного в молях количества Вос-*L*-фенилаланина по отношению к (IVа) получен *N,O*³-ди-(Вос-фенилаланил)-*D*-(-)-трео-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиол-1,3 (VII), структура которого доказана после удаления защитных групп ИК- и ПМР-спектрами, элементарным анализом, электрофоретической подвижностью, соответствующей при рН 2,5 двум положительным зарядам, и гидролизом в щелочной среде в (IIб). В ИК-спектре *N,O*³-ди-(фенилаланил)-*D*-(-)-трео-1-(*n*-нитрофенил)-2-аминопропандиола-1,3 (VIII), помимо полосы при 1630–1640 и 1520–1530 см⁻¹ (CO–NH-связь), имеется полоса при 1720 см⁻¹, отвечающая сложноэфирной группировке.

В спектре ПМР ди-*L*-фенилаланинового замещенного (VIII), изученном при низкой концентрации, заметны сигналы двух фенильных ядер фенилаланиновых остатков (мультиплет с центром при δ 7,37 м.д., ~10 Н), дублет С'Н при δ 4,87 м.д. с константой спин-спинового взаимодействия $J_{\text{н.н.}}$ 6 Гц и два дублета β-протонов фенилаланина при δ 3,21 и 3,12 м.д. интенсивностью по 2 Н каждый. Сигналы всех остальных протонов наблюдали в виде широкого мультиплета при δ 4,0–4,5 м.д.

Сравнение спектров ПМР моно- и дифенилаланинового производства *D*-трео-основания (IIб) и (VIII) показывает, что в (VIII) сигнал С'Н находится в несколько более сильном поле, а сигнал С³Н₂ — в значительно более слабом поле, чем в (IIб). Известно, что ацильные заместители обычно оказывают дезэкранирующее влияние на протоны, присоединенные к соответствующему углеродному атому. Отсюда следует, что в соединении (VIII) гидроксил аминоацилирован при С³.

Все полученные соединения исследованы как ингибиторы образования пептидных связей в бесклеточных системах с рибосомами *E. coli*. Некоторые из аналогов эффективно ингибируют этот процесс.

Экспериментальная часть

ВХ проводили на бумаге FN-3 (ГДР) в системе 1 *n*-бутанол — CH₃COOH — вода (78:5:17), ТСХ — на силуфоле «Kavalier» (Чехословакия) в системе 2 тетрагидрофуран — эфир (1:1). Электрофорез осуществляли на той же бумаге в 6%-ном CH₃COOH (рН 2,5), градиент потенциала 22 В/см. Спектры снимали на масс-спектрометре «Perkin-Elmer 257» (Англия), спектрометрах ЯМР JNM-MH-100 и JNM-4H-100 (Япония), УФ-спектрометре «Specord UV-Vis» (ГДР) и КД-спектрометре «Jouan-2»

ратуре и упарили в вакууме. Остаток CF_3COOH удаляли отгонкой с абс. этанолом (3×5 мл), прибавили 30 мл абс. эфира, осадок отделили, трехкратно промыли абс. эфиром и высушили в вакуум-эксикаторе. Выход, элементарный анализ и физико-химические константы см. в табл. 1–3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pestka S. (1971) *Ann. Rev. Microbiol.*, **25**, 487–562.
2. Coutsogeorgopoulos C. (1966) *Biochim. et biophys. acta*, **129**, 214–217.
3. Coutsogeorgopoulos C. (1967) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **27**, 46–52.
4. Gottikh B. P., Krayevsky A. A., Kukhanova M. K., Yatsyna A. A., Kritzyn A. M., Florentiev V. L. (1973) *Mol. Biol. Reports*, **1**, 173–178.
5. Bustard T. M., Egan R. S., Rerun T. J. (1973) *Tetrahedron*, **29**, 1961–1967.

Поступила в редакцию
1. VII. 1974

SYNTHESIS OF THE N-(AMINOACYL) *THREO*-1-(*p*-NITROPHENYL) 2-AMINOPROPANEDIOLS-1,3, AMINO ACID ANALOGS OF CHLORAMPHENICOL

S. V. POPOVKINA, K. F. TURCHIN, S. G. ZAVGORODNY, A. A. KRAYEVSKY,
M. K. KUKHANOVA, V. M. ORLOV, N. V. GNUCHEV, B. P. GOTTIKH

*Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow, and All-Union Chemical Pharmaceutical
Research Institute, Moscow*

N-(*L*-Phenylalanyl) *D*-(-)-*threo*- and *L*-(+)-*threo*-1-(*p*-nitrophenyl)-2-aminopropanediols-1,3 and N-glycyl *D*-(-)-*threo*- and *L*-(+)-*threo*-1-(*p*-nitrophenyl)-2-aminopropanediols-1,3 were obtained by the condensation of *tert*-butyloxycarbonyl *L*-phenyl-alanyl N-imidazole or *tert*-butyloxycarbonyl glycyl N-imidazole with *D*-(-)-*threo*- and *L*-(+)-*threo*-1-(*p*-nitrophenyl)-2-aminopropanediols-1,3 followed by removal of N-protecting groups. The structure of all compounds was confirmed by PMR, IR, CD and mass-spectra. N,O²-(Di-*L*-phenylalanyl) *D*-(-)-*threo*-1-(*p*-nitrophenyl)-2-aminopropanediol-1,3 was synthesized by the same method. All the compounds obtained were tested for inhibition of peptide bond formation in various systems with *E. coli* ribosomes, some of them proved effective inhibitors.