



УДК 547.466.22-318.057

СТЕРЕОХИМИЯ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО АМИНИРОВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ОКСОПРОЛИНА ЭФИРАМИ ГЛИЦИНА

© 2002 г. Э. А. Елин, В. В. Оноприенко[#], А. И. Мирошников

Институт биоорганической химии им. М.М. Шелякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 21.11.2001 г. Принята к печати 21.12.2001 г.

Аминирование производных 4-оксопролина метиловым или бензиловым эфиром глицина и цианборгидридом натрия приводит к смеси соответствующих диастереомерных 4-*цис*- и 4-*транс*-глицинопролинов. Установлено, что соотношение образующихся диастереомеров главным образом зависит от строения сложноэфирной группировки (COOMe или COOBu') в молекуле 4-оксопролина и в меньшей мере – от структуры его *N*-ацильного заместителя (Cbz или CbzGly). Лучшие результаты были получены в случае *трет*-бутильной эфирной группировки, которая обеспечивает достаточный выход продуктов аминирования и значительное преобладание 4-*цис*-изомера. Структура эфира глицина мало влияет на соотношение образующихся диастереомерных *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-глицинопролинов.

Ключевые слова: восстановительное аминирование, производные 4-оксопролина, производные *N*-глицил-4-глицинопролина, разделение диастереомеров.

ВВЕДЕНИЕ

Ранее, в ходе синтеза бициклического конформационно закрепленного производного пролина (I), мы подвергли *трет*-бутиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-4-оксо-*L*-пролина (II) восстановительному аминированию метиловым эфиром глицина и получили смесь *трет*-бутиловых эфиров 4-*цис*- (VIa) и 4-*транс*-*N*-бензилоксикарбонил-4-метоксикарбонилметиламино-*L*-пролина (VIIa). Превращение этой смеси в γ -лактамы (I) с выходом, превышающим 60%, показало, что в ней преобладает 4-*цис*-диастереомер (VIa) [1].

Стереоселективность восстановительного аминирования в данном случае определяется большей легкостью подхода гидрид-иона со стороны, противоположной сложноэфирной группировке пирролидинового кольца, к C=N-связи промежуточного основания Шиффа, которое образуется в реакционной смеси при взаимодействии производного 4-оксопролина с эфиром глицина.

В настоящей работе мы провели восстановительное аминирование ряда производных 4-оксо-*L*-пролина и разделили образующиеся диастереомерные пары глицинопролинов. В результате удалось проследить за изменениями в соотношении образующихся 4-*цис*- и 4-*транс*-диастереомеров в зависимости от структур исходных производных 4-оксо-*L*-пролина и глицина.

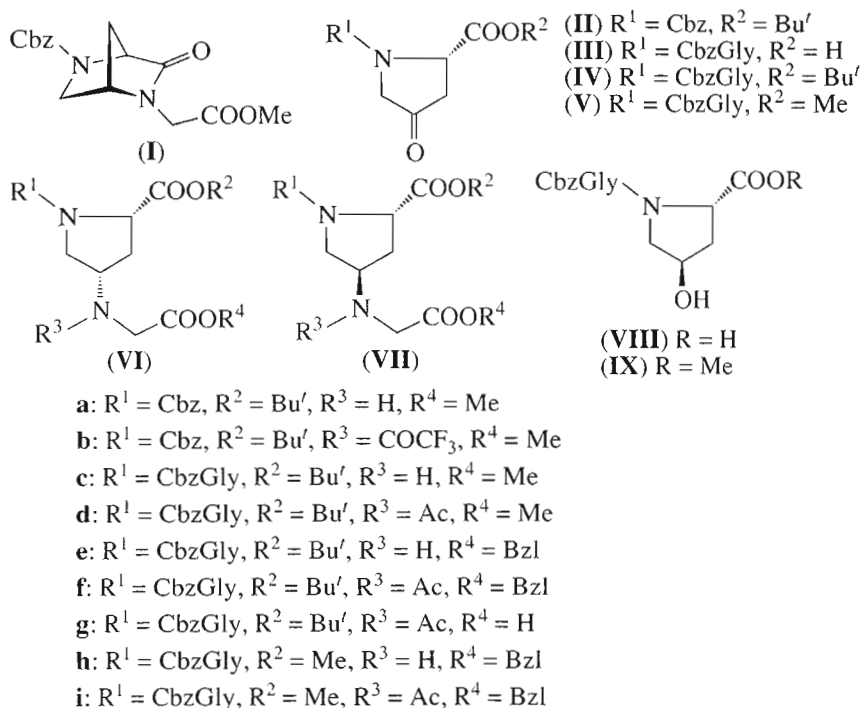
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученную ранее [1] смесь 4-*цис*- и 4-*транс*-глицинопролинов (VIa) и (VIIa) нам удалось хроматографически разделить после превращения ее в смесь соответствующих изомерных трифторацетамидов (VIb) и (VIIb), соотношение которых оказалось равным 6.5 : 1.

Прямая замена бензилоксикарбонильной защитной группировки в молекуле *трет*-бутилового эфира *N*-бензилоксикарбонил-4-оксопролина (II) на бензилоксикарбонилглицильный остаток была невозможна, так как избирательно удалить бензилоксикарбонильную защитную группировку кислотной обработкой (AcOH/HBr) было нельзя из-за присутствия в молекуле (II) кислотолabileного *трет*-бутилового эфира, а ее удаление гидрогенолизом, как известно [2], приводит к продуктам уплотнения 4-оксопролинов. Поэтому 4-*транс*-гидроксипролин был превращен в *N*-бензилоксикарбонилглицил-4-*транс*-гидроксипролин (VIII) действием *N*-сукцинимидного эфира бензилоксикарбонилглицина, затем его вторичная спиртовая группа была окислена с образованием 4-оксопроизводного (III), которое и было превращено в *трет*-бутиловый эфир (IV). Восстановительное аминирование соединения (IV) метиловым эфиром глицина привело к смеси диастереомеров (VIc) + (VIIc).

В отличие от трифторацетамидов *N*-бензилоксикарбонил-4-глицинопролинов (VIb) и (VIIb), 4-*цис*- и 4-*транс*-трифторацетамидные производные всех полученных нами производных *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-глицинопролина практически

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 336-13-00; эл. почта: onovv@mail.ibch.ru).



не отличались по хроматографической подвижности. Во всех этих случаях разделение диастереомеров было осуществлено после превращения смеси свободных оснований *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-глицинопролинов в смесь соответствующих ацетамидов. Так, диастереомерная смесь (VIc) + (VIc) была превращена в смесь ацетамидов (VIId) + (VIId), которые хорошо разделялись хроматографически.

То, что ацетамиды (VIId) и (VIId) имеют соответственно 4-*цис*- и 4-*транс*-конфигурации, было установлено их встречным синтезом из диастереомерной смеси глицинопролинов (VIa) + (VIa). Превращение этой смеси в смесь хроматографически неразделяющихся ацетамидов, последовательное удаление бензилоксикарбонильной защитной группировки и ацилирование освободившейся аминогруппы *N*-бензилоксикарбонилглицином привело к смеси диастереомерных 4-*цис*- и 4-*транс*-ацетамидов, которые были хроматографически разделены и по данным ТСХ и масс-спектрометрии оказались идентичными соответственно ацетамидам (VIId) и (VIId). Соотношение диастереомеров (VIId) и (VIId) в смеси, полученной из смеси (VIa) + (VIa) (очевидно, соответствующее соотношению 4-*цис*- и 4-*транс*-диастереомеров в этой смеси), оказалось равным 6.0 : 1, что практически соответствовало значению 6.5 : 1, полученному ранее в результате разделения трифторацетамидов 4-*цис*- и 4-*транс*-глицинопролинов (VIb) и (VIb). Соотношение же 4-*цис*- и 4-*транс*-диастереомеров (VIId) и (VIId), полученных из *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-оксопролина (IV) (4.7 : 1), показы-

вает, что замена в молекуле 4-оксопролина (II) *N*-бензилоксикарбонильной защитной группировки на *N*-бензилоксикарбонилглицильный остаток сравнительно мало сказывается на соотношении диастереомеров, образующихся при восстановительном аминировании.

Точно так же замена метилового эфира глицина его бензиловым эфиром в реакции восстановительного аминирования *трет*-бутилового эфира *N*-бензилоксикарбонилглицил-4-оксопролина (IV) не привела к существенному изменению стереоселективности реакции. Образовавшаяся диастереомерная смесь свободных оснований (VIe) + (VIe) была превращена в смесь диастереомерных ацетамидов (VIIf) + (VIIf), хроматографическое разделение которых показало, что они образуются в соотношении 4.95 : 1. Ацетамид (VIIf) оказался идентичным ацетамиду, полученному из метилового эфира 4-*цис*-ацетамидоглицинопролина (VIId) путем его омыления до кислоты (VIIf) и последующего бензилирования. Это показало, что ацетамиды (VIIf) и (VIIf) имеют 4-*цис*- и 4-*транс*-конфигурации соответственно.

Значительное снижение стереоселективности восстановления было обнаружено лишь при восстановительном аминировании метилового эфира *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-оксопролина (V), полученного обработкой гидроксикислоты (VIII) диазометаном с последующим окислением промежуточного метилового эфира (IX) хромовой кислотой. В результате аминирования метилового эфира (V) бензиловым эфиром глицина образовалась смесь диастереомерных свободных оснований

N-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-глицинопролинов (VIh) + (VIHh), которая была разделена хроматографически; соотношение этих оснований оказалось равным 2.7 : 1. Кроме того, та же смесь диастереомеров (VIh) + (VIHh) была подвергнута ацетилированию и после хроматографического разделения соотношение полученных ацетамидов (VIi) и (VIHi) оказалось равным 2.3 : 1.

Ацетилированием индивидуальных соединений (VIh) и (VIHh) были получены соответствующие ацетамиды (VIi) и (VIHi). Ацетамид (VIi) оказался идентичным соединению, полученному из 4-*цис*-ацетамида (VIi) удалением его *трет*-бутильной эфирной группировки и последующей обработкой образовавшейся кислоты диазометаном. Из этого следовало, что ацетамид (VIi) и его предшественник *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-глицинопролин (VIh) являются 4-*цис*-диастереомерами, а ацетамид (VIHi) и *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-глицинопролин (VIHh) – 4-*транс*-диастереомерами. Следует отметить, что при аминировании метилового эфира *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-оксопролина (V) общий выход соединений (VIh) и (VIHh) был значительно ниже, чем при использовании *трет*-бутиловых эфиров (II) и (IV), что вызвано, по-видимому, частичным омылением метилового эфира в ходе реакции.

Таким образом, было установлено, что стереоселективность реакции восстановительного аминирования производных 4-оксопролина метиловым или бензиловым эфиром глицина в присутствии цианборгидрида натрия определяется в основном характером сложноэфирной группировки пролинового производного и в гораздо меньшей степени *N*-ацильным заместителем в молекуле 4-оксопролина. Лучшие результаты были получены с *трет*-бутильной сложноэфирной группировкой, которая обеспечивает приемлемый выход продуктов аминирования и достаточно высокое соотношение 4-*цис* и 4-*транс*-диастереомеров. Характер сложноэфирной группировки в молекуле глицина мало влияет на соотношение образующихся диастереомерных производных глицил-4-глицинопролинов.

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'*-дициклогексилкарбодимид, 70% хлорная кислота (Merck-Schuchardt, Германия), 1,8-диазабисцикло[5.4.0]ундец-7-ен (DBU) (Fluka, Швейцария). Остальные реактивы, включая гидрохлорид метилового эфира глицина, были отечественного производства. Для аналитической и полупрепаративной ТСХ применяли готовые пластинки с основой из алюминиевой фольги или стекла (Merck), а также стеклянные пластинки НРТLC (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 рассматриванием хроматограмм в УФ-свете с длиной волны 254 нм или их опрыскиванием 0.8% раствором перманганата калия или серной кислотой с последующим нагреванием. Для колоночной хроматографии применяли силикагель 60 (40–63 мкм, Merck).

Масс-спектры определяли при ионизации электронным ударом (EI-MS, 70 эВ, Varian MAT 44) или плазмой продуктов распада ²⁵²Cf (PD-MS, МСБХ “Электрон,” г. Сумы, Украина). Температуры плавления были определены на микронагревательном столике Voetius и не исправлены.

N-Бензилоксикарбонилглицин и *n*-толуолсульфонат бензилового эфира глицина были получены по известным методикам [3].

***трет*-Бутиловые эфиры *N*-бензилоксикарбонил-4-*цис*- (VIb) и -4-*транс*-(метоксикарбонилметил)трифторацетамидо-*L*-пролина (VIIb).** К охлажденному на ледяной бане раствору 143.7 мг (0.367 ммоль) диастереомерной смеси *N*-бензилоксикарбонил-4-глицинопролинов (VIa) и (VIIa) [1] в 720 мкл сухого пиридина прибавляли 96 мкл ангидрида трифторуксусной кислоты. Реакционную смесь выдерживали при охлаждении в течение 3.5 ч, разбавляли эфиром (40 мл), промывали 1 н. HCl, водой, насыщенным раствором NaHCO₃ и водой, высушивали над Na₂SO₄ и упаривали. Остаток (170 мг) хроматографировали на колонке с силикагелем (17 г), которую элюировали ступенчатым градиентом эфира (от 0 до 80%) в гексане. Смесь гексан–эфир (3 : 7) с колонки смывали хроматографически чистый маслообразный 4-*цис*-трифторацетамид (VIb), выход 124.8 мг (69.8%), который кристаллизовался при хранении в холодильнике. После перекристаллизации из смеси эфир–гексан 4-*цис*-трифторацетамид (VIb) имел т. пл. 50.5–53°C, *R_f* 0.55 (эфир–гексан, 3 : 1), PD-MS, *m/z*: 579 [*M* + CH₂C₆H₅]⁺, 523 [*M* – C₄H₈ + CH₂C₆H₅]⁺, 489 [*M* + H]⁺, 433 [*M* + H – C₄H₈]⁺, 387 [*M* – CO₂C₄H₉]⁺. Смесь эфир–гексан (2 : 8) элюировали хроматографически чистый 4-*транс*-трифторацетамид (VIIb), масло, выход 19.2 мг (10.7%), *R_f* 0.42 (эфир–гексан, 3 : 1), масс-спектр практически идентичен PD-MS 4-*цис*-трифторацетамида (VIb). Количественное соотношение выделенных *цис*- и *транс*-диастереомеров (VIb) и (VIIb) оказалось равным 6.5 : 1.

***N*-Сукцинимидный эфир *N*-бензилоксикарбонилглицина, Cbz-Gly-ONSuc,** полученный из *N*-бензилоксикарбонилглицина по методике [4], имел т. пл. 113.5–114°C (лит. т. пл. 113–114°C [4]).

***N*-(*N*-Бензилоксикарбонилглицил)-4-оксо-*L*-пролин (III).** Раствор 721 мг (2.36 ммоль) Cbz-Gly-ONSuc в 16 мл THF прибавляли к раствору 618 мг (4.72 ммоль) *транс*-4-гидрокси-*L*-пролина в 13.1 мл 0.36 М KOH (4.72 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 2.5 ч при 20°C и упаривали в вакууме,

а к остатку прибавляли 20 мл воды и трижды экстрагировали этилацетатом. Водную часть, охлажденную на ледяной бане, подкисляли 5.5 н. HCl до pH ~2–3, насыщали NaCl и тщательно экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным раствором NaCl, сушили Na_2SO_4 и упаривали досуха. Полученный маслообразный остаток (655.1 мг) *N*-бензилоксикарбонилглицил-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролина (VIII) окисляли хромовой смесью (1.935 мл), как описано в работе [2], и получали 579.6 мг сырого кристаллического продукта, который сначала отмывали эфиром, а затем перекристаллизовывали из смеси ацетон-эфир. Получали 361.6 мг (48%, считая на Cbz-Gly-ONSuc) кетодипептида (III) с т. пл. 168–169.5°C. Повторная перекристаллизация из той же смеси растворителей приводила к чистому веществу (III), т. пл. 169–172°C, R_f 0.31 (CHCl_3 –90% MeOH–AcOH, 40 : 10 : 1), PD-MS, m/z : 365 [$M - H + 2Na$]⁺, 343 [$M + Na$]⁺, 321 [$M + H$]⁺.

трет-Бутиловый эфир *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-оксо-*L*-пролина (IV). К охлажденной до 10°C перемешиваемой суспензии 310 мг (0.969 ммоль) кетодипептида (III) в 12 мл *трет*-бутилацетата прибавляли 121 мкл 70% хлорной кислоты. Реакционную смесь перемешивали до полной гомогенности (2 ч), после чего выдерживали при той же температуре в течение 46 ч. После обычной обработки сырой продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (10 г) при элюировании смесью эфир-гексан (4 : 1). Получали 182.1 мг (50%) хроматографически однородного, частично закристаллизовавшегося *трет*-бутилового эфира кетодипептида (IV). Отмытые эфиром кристаллы имели т. пл. 57–59°C, R_f 0.44 (эфир), PD-MS, m/z : 377 [$M + H$]⁺, 321 [$M + H - C_4H_8$]⁺, 277 [$M + H - CO_2C_4H_8$]⁺.

трет-Бутиловый эфир *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*/*транс*-метоксикарбонилметиламино-*L*-пролина (VIc) + (VIc). К раствору 74.7 мг (0.199 ммоль) *трет*-бутилового эфира кетодипептида (IV) и 125 мг (0.996 ммоль) гидрохлорида метилового эфира глицина в 1.2 мл абсолютного метанола при комнатной температуре прибавляли порциями 250, 125, 63 и 32 мкл 1 н. NaOH в абсолютном метаноле с последующей выдержкой в течение 10, 15, 20 и 30 мин соответственно. Затем прибавляли 14 мг (0.22 ммоль) цианборгидрида натрия, через 1.5 ч реакционную смесь разбавляли 4 мл насыщенного раствора NaCl и экстрагировали этилацетатом. Экстракт тщательно промывали насыщенным раствором NaCl, сушили над Na_2SO_4 , упаривали и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (10 г). Элюирование хлороформом и смесью хлороформ-метанол (99 : 1) привело к 48.6 мг хроматографически чистого маслообразного продукта (VIc) + (VIc). Фракции, содержавшие загрязненный примесями основной продукт, объединяли и

дополнительные 5.8 мг продукта выделяли препаративной ТСХ в этилацетате (двукратное проявление, выделение поглощающей в УФ-свете зоны с R_f 0.47 и элюирование вещества смесью хлороформ-метанол, 2 : 1). Общий выход составлял 54.4 мг (61%), масло, R_f 0.31 (хлороформ-метанол, 24 : 1), R_f 0.30 (этилацетат), PD-MS, m/z : 450 [$M + H$]⁺, 392 [$M - C_4H_8$]⁺, 348 [$M - CO_2C_4H_8$]⁺, 157 [348 – $\text{PhCH}_2\text{CONHCHCO}$]⁺.

трет-Бутиловые эфиры *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*- (VIId) и -4-*транс*-(метоксикарбонилметил)ацетамидо-*L*-пролина (VIId). А. Раствор 54.0 мг (120.3 мкмоль) смеси соединений (VIc) + (VIc) в 600 мкл смеси пиридин-уксусный ангидрид, 1 : 1, выдерживали при комнатной температуре 3.5 ч, избыток уксусного ангидрида разлагали метанолом, и реакционную смесь упаривали досуха. Ацетамиды (VIId) и (VIId) разделяли хроматографией на колонке с силикагелем (6.3 г), элюируя вещества этилацетатом. Промежуточную фракцию, содержащую оба ацетамида, подвергали дополнительному разделению с помощью ТСХ в этилацетате (трехкратное проявление), выделяя поглощающие в УФ-свете зоны с R_f 0.61 [4-*цис*-ацетамид (VIId)] и 0.71 [4-*транс*-ацетамид (VIId)]. Суммарно получали 42.9 мг (72.7%) 4-*цис*-ацетамида (VIId), масло, R_f 0.47 (этилацетат, двукратное проявление), PD-MS, m/z : 492 [$M + H$]⁺, 436 [$M + H - C_4H_8$]⁺, 392 [$M + H - CO_2C_4H_8$]⁺, 302 [436 – $\text{C}_6\text{H}_5\text{CHCO}$]⁺ и 9.1 мг (15.4%) 4-*транс*-ацетамида (VIId), масло, R_f 0.57 (этилацетат, двукратное проявление), PD-MS-спектр практически идентичен масс-спектру 4-*цис*-изомера (VIId). Соотношение количеств выделенных *цис*- и *транс*-диастереомеров (VIId) и (VIId) оказалось равным 4.7 : 1.

Б. Диастереомерную смесь 4-глицинопролинов (VIa) + (VIa) [1] (200 мг, 510 мкмоль) ацетилировали обычным способом, реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. Экстракт последовательно промывали 1 н. HCl, 10% раствором бикарбоната натрия и водой, сушили сульфатом натрия и упаривали. Получали 220 мг хроматографически однородной смеси диастереомерных ацетамидов, малоподвижное масло, R_f 0.10 (эфир), EI-MS, m/z : 378 [$M - C_4H_8$]⁺, 334 [$M - CO_2C_4H_8$]⁺, 303 [378 – $\text{CH}_3\text{CO} - \text{CH}_2\text{OH}$]⁺, 247 [378 – $\text{CH}_3\text{CONHCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$]⁺, 202 [247 – CO_2H]⁺, 158 [202 – CO_2]⁺, 132 [$\text{CH}_3\text{CONHCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3 + \text{H}$]⁺.

Полученную смесь ацетамидов (220 мг, 507 мкмоль) гидрировали над 10% PdO/C как описано в работе [1]. Продукт гидрирования растворяли в 2.5 мл сухого хлористого метилена и к охлаждаемому на ледяной бане раствору прибавляли 113 мг (540.6 мкмоль) *N*-бензилоксикарбонилглицина и 113 мг (548.5 мкмоль) DCC. Реакционную смесь выдерживали 30 мин при охлаждении и затем 18 ч при комнатной температуре. После отделения дихлоргексилмочевины смесь ацетамидов (VIId) и

(VIIId) подвергали хроматографическому разделению как описано выше в эксперименте А. В результате получали 191.8 мг [79.0%, считая на смесь 4-глицинопролинов (VIa) и (VIIa)] 4-*цис*-ацетамида (VIId) и 32.0 мг (13.2%) 4-*транс*-ацетамида (VIIId), которые были идентичны по данным ТСХ и масс-спектрометрии соответствующим ацетамидам, полученным в эксперименте А. Соотношение количеств выделенных *цис*- и *транс*-диастереомерных ацетамидов (VIId) и (VIIId) оказалось равным 6.0 : 1; очевидно, эта же величина соответствует соотношению *цис*- и *транс*-диастереомеров в исходной смеси (VIa) + (VIIa).

трет-Бутиловые эфиры *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*- (VIe) и -4-*транс*-бензилоксикарбонилметиламино-*L*-пролина (VIIe). К раствору 106.6 мг (283 мкмоль) кетодипептида (IV) и 477 мг (1.417 ммоль) *n*-толуолсульфоната бензилового эфира глицина в 2.6 мл абсолютного метанола прибавляли при 26°C 360 мкл и после 10 мин выдержки еще 180 мкл 1 н. NaOH в абсолютном метаноле. Спустя 20 мин прибавляли 17 мг (270 мкмоль) цианборгидрида натрия, через 2 ч реакционную смесь разлагали 5 мл насыщенного раствора NaCl и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали водой, сушили над Na₂SO₄ и упаривали. Продукт выделяли при помощи колоночной хроматографии на силикагеле (23 г), элюируя вещества с колонки хлороформом и смесью хлороформ-метанол, 99.5 : 0.5. Получали 88.7 мг сырого продукта, который очищали с помощью препаративной ТСХ в этилацетате. После элюирования этилацетатом вещества из основной поглощающей в УФ-свете зоны с *R_f* 0.39 получали 76.6 мг (51.5%) хроматографически чистого продукта (VIe) + (VIIe), масло, *R_f* 0.64 (этилацетат), PD-MS, *m/z*: 526 [*M* + H]⁺, 470 [*M* + H - C₄H₈]⁺, 426 [*M* + H - CO₂C₄H₈]⁺, 334 [*M* - CO₂C₄H₈ - PhCH₂]⁺.

трет-Бутиловые эфиры *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*- (VIIf) и -4-*транс*-(бензилоксикарбонилметил)ацетамидо-*L*-пролина (VIIIf). Ацетилирование в обычных условиях 75 мг (142.8 мкмоль) смеси диастереомерных дипептидов (VIe) + (VIIe) и последующее разделение полученных ацетамидов препаративной ТСХ в этилацетате с элюированием веществ из поглощающих в УФ-свете зон с *R_f* 0.41 и 0.24 привело соответственно к 12.9 мг (16%) 4-*транс*-ацетамида (VIIIf), масло *R_f* 0.65 (этилацетат), PD-MS, *m/z*: 568 [*M* + H]⁺, 512 [*M* + H - C₄H₈]⁺, 468 [*M* + H - CO₂C₄H₈]⁺ и 63.9 мг (79%) 4-*цис*-ацетамида (VIIf), идентичного по ТСХ и PD-MS 4-*цис*-ацетамиду (VIIf), который был получен из метилового эфира 4-*цис*-ацетамида (VIId) (см. ниже). Соотношение количеств выделенных *цис*- и *транс*-диастереомерных ацетамидов (VIIf) и (VIIIf) оказалось равным 4.95 : 1.

трет-Бутиловый эфир *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*-(бензилоксикарбонилметил)ацетамидо-*L*-пролина (VIIf). К раствору 95 мг

(193 мкмоль) метилового эфира 4-*цис*-ацетамида (VIId) в 4.2 мл метанола прибавляли 575 мкл 1 н. NaOH, и смесь перемешивали 3.5 ч при 20°C. Затем реакционную смесь подкисляли 5.5 н. соляной кислотой до pH 2, метанол упаривали в вакууме, водный остаток экстрагировали этилацетатом, экстракт промывали водой, сушили над Na₂SO₄ и упаривали досуха. Остаток (91.8 мг, 192.5 мкмоль), представляющий собой хроматографически чистую кислоту (VIIf), *R_f* 0.28 (CHCl₃-MeOH-AcOH, 40 : 5 : 1), растворяли в 2.3 мл безводного бензола, к раствору прибавляли 42.5 мкл (297 мкмоль) бромистого бензила и 43.8 мкл (293 мкмоль) DBU, и реакционную смесь кипятили при перемешивании в течение 5.5 ч. После охлаждения и разбавления реакционной смеси эфиром, выпавший осадок гидробромида DBU отфильтровывали и промывали на фильтре эфиром и этилацетатом. Объединенные фильтраты промывали водой, 1 н. HCl, 10% раствором бикарбоната натрия и водой, сушили над Na₂SO₄ и упаривали. Остаток растворяли в эфире, и раствор наносили на слой силикагеля (5 г). Эфиром элюировали малополярные примеси, а этилацетатом – продукт реакции. Получали 92 мг [84%, считая на 4-*цис*-ацетамид (VIId)] бензилового эфира (VIIf), масло, *R_f* 0.48 (этилацетат), PD-MS, *m/z*: 658 [*M* + PhCH₂]⁺, 590 [*M* + Na]⁺, 568 [*M* + H]⁺, 534 [*M* + Na - C₄H₈]⁺, 512 [*M* + H - C₄H₈]⁺, 468 [*M* + H - CO₂C₄H₈]⁺, 376 [*M* - CO₂C₄H₈ - PhCH₂]⁺.

Метилловый эфир *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролина (IX). Раствор 524.3 мг *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*транс*-гидрокси-*L*-пролина (VIII) в 3 мл метанола выдерживали с избытком эфирного раствора диазометана в течение 40 мин при 0°C. Избыток диазометана разлагали уксусной кислотой, растворитель упаривали, и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (25 г), используя ступенчатый градиент метанола (0–10%) в хлороформе. Получали 441 мг (65%, считая на Cbz-Gly-ONSuc) метилового эфира дипептида (IX), густое масло, *R_f* 0.20 (хлороформ-метанол, 24 : 1), PD-MS, *m/z*: 527 [*M* + PhCH₂]⁺, 437 [*M* + H]⁺.

Метилловый эфир *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-оксо-*L*-пролина (V). Метилловый эфир глицилгидроксипролина (IX) (422.1 мг, 1.256 ммоль) окисляли хромовой смесью по методу [2] и продукт окисления очищали колоночной хроматографией на силикагеле (25 г). Последовательным элюированием хлороформом и смесями хлороформ-метанол, 99 : 1 и 99 : 2, получали 316.8 мг (75%) хроматографически чистого кетодипептида (V), масло, *R_f* 0.35 (хлороформ-метанол, 24 : 1), PD-MS, *m/z*: 335 [*M* + H]⁺.

Метилловые эфиры *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*- (VIIf) и -4-*транс*-бензилоксикарбонилметиламино-*L*-пролина (VIIIf). К раствору 297.4 мг (0.890 ммоль) кетодипептида (V) и 1.5 г (4.45 ммоль) *n*-толуолсульфоната бензило-

вого эфира глицина в 8.1 мл абсолютного метанола прибавляли при комнатной температуре 2 мл 1 н. NaOH в абсолютном метаноле и, спустя 30 мин, 54 мг (0.857 ммоль) цианборгидрида натрия. Через 70 мин реакционную смесь разбавляли эфиром, выпавший осадок экстрагировали водой, после чего продукт тщательно извлекали из эфирного раствора 1 н. HCl. Кислую водную вытяжку промывали эфиром, обрабатывали бикарбонатом натрия до щелочной реакции и экстрагировали эфиром. Экстракт промывали насыщенным раствором NaCl, сушили над Na₂SO₄ и упаривали. Остаток очищали препаративной ТСХ в системе хлороформ–метанол, 24 : 1, при двукратном проявлении. Из поглощающей в УФ-свете зоны с R_f 0.31 элюированием смесью хлороформ–метанол, 2 : 1, выделяли 157.7 мг (36.7%) смеси соединений (VIh) и (VIhh), которую разделяли препаративной ТСХ в системе хлороформ–метанол, 49 : 1, при пятикратном проявлении. Элюированием вещества из зоны с R_f 0.52 получали 67.2 мг (15.6%) 4-*цис*-изомера (VIh), масло; PD-MS, m/z : 506 [M + Na]⁺, 484 [M + H]⁺, и из зоны с R_f 0.36 – 24.7 мг (5.7%) 4-*транс*-изомера (VIhh), масло; PD-MS, m/z : 506 [M + Na]⁺, 484 [M + H]⁺. Соотношение количеств выделенных 4-*цис*- и 4-*транс*-диастереомеров оказалось равным 2.7 : 1.

Метилвые эфиры *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*- (VIi) и -4-*транс*- (бензилоксикарбонилметил)ацетамидо-*L*-пролина (VIIi). А. Незаделенную смесь (117.2 мг, 243 мкмоль) диастереомеров (VIh) и (VIhh), полученную в предыдущем опыте, ацетилировали в обычных условиях. Образовавшуюся смесь ацетамидов разделяли препаративной ТСХ в системе хлороформ–метанол, 24 : 1 (двукратное проявление), элюируя вещества из поглощающих в УФ-свете зон с R_f 0.36 [4-*транс*-ацетамид (VIIi)] и R_f 0.25 [4-*цис*-ацетамид (VIi)]. Каждый из полученных ацетамидов, содержащих примесь соответствующего 4-эпимера, очищали ТСХ в этилацетате (двукратное проявление) с выделением поглощающих в УФ-свете зон с R_f

0.50 – для 4-*транс*-ацетамида (VIIi) и R_f 0.43 – для 4-*цис*-ацетамида (VIi). Объединением соответствующих фракций получали 69.1 мг (54.2%) 4-*цис*-ацетамида (VIi) и 29.6 мг (23.2%) 4-*транс*-ацетамида (VIIi). Соотношение количеств выделенных 4-*цис*- и 4-*транс*-диастереомеров оказалось равным 2.3 : 1. Оба диастереомера имеют одинаковые PD-MS, m/z : 526 [M + H]⁺.

Б. Ацетилированием в обычных условиях предварительно разделенных диастереомерных глицилглицинопролинов (VIh) и (VIhh) с количественными выходами получали ацетамиды, хроматографическая подвижность и PD-MS-спектры которых совпадали с теми же характеристиками ацетамидов (VIi) и (VIIi) соответственно.

Метилвый эфир *N*-(*N*-бензилоксикарбонилглицил)-4-*цис*- (бензилоксикарбонилметил)ацетамидо-*L*-пролина (VIi). Раствор 3.1 мг (5.47 мкмоль) *трет*-бутилового эфира 4-*цис*-ацетамида (VIi) в 50 мкл TFA выдерживали 2.5 ч при комнатной температуре и упаривали досуха. Остаток растворяли в 100 мкл метанола и обрабатывали избытком эфирного раствора диазометана (40 мин, 0°C). После упаривания растворителя продукт очищали ТСХ в этилацетате при двукратном проявлении. Элюирование этилацетатом вещества из основной поглощающей в УФ-свете зоны привело к 1.9 мг метилового эфира 4-*цис*-ацетамида [66%, считая на 4-*цис*-ацетамид (VIi)], масло, R_f 0.43 (этилацетат, двукратное проявление), PD-MS, m/z : 526 [M + H]⁺; вещество идентично образцу ацетамида (VIi).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Елин Э.А., Оноприенко В.В. // Биоорганич. химия. 1998. Т. 24. С. 670–675.
2. Patchett A.A., Witkop B. // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 185–192.
3. Гринштейн Дж., Виниц М. // Химия аминокислот и пептидов. М.: Мир, 1965.
4. Anderson G.W., Zimmerman J.E., Callahan F.M. // J. Am. Chem. Soc. 1964. V. 86. P. 1839–1842.

Stereochemistry of the Reductive Amination of 4-Oxoproline Derivatives with Glycine Esters

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

[#]Phone: +7 (095) 336-1300; e-mail: onovv@mail.ibch.ru

Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP Moscow, 117997 Russia

An amination of 4-oxoproline derivatives with glycine methyl or benzyl ester and sodium cyanoborohydride led to the mixtures of corresponding diastereomeric 4-*cis*- and 4-*trans*-glycinoproline derivatives. We found that the ratio of diastereomers mainly depends on the structure of 4-oxoproline ester groups and, to a lesser extent, on the structure of *N*-acyl substituents. The best results were achieved with *tert*-butyl ester group; it ensured good yields of the amination products and the greatest prevalence of 4-*cis*-isomers. The structure of ester group in glycine molecule only scarcely affected the resulting ratio of *N*-(*N*-benzyloxycarbonylglycyl)-4-glycinoprolines. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2002, vol. 28, no. 6; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: *N*-glycyl-4-glycinoproline derivatives, 4-oxoproline derivatives, reductive amination, separation of diastereomers