

Н. В. Соколова, В. Г. Ненайденко*

**СИНТЕЗ ПЕПТИДНЫХ КОНЪЮГАТОВ МЕСТРАНОЛА
ПОСРЕДСТВОМ CLICK-РЕАКЦИИ
1,3-ДИПОЛЯРНОГО ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ**

Представлен эффективный метод синтеза серии пептидных конъюгатов 3-метилового эфира этинилэстрадиола и соответствующих азидопептидов посредством катализируемой солями меди(I) click-реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения.

Ключевые слова: азиды, Местранол, пептиды, этинилэстрадиол, click-реакция, 1,3-диполярное циклоприсоединение.

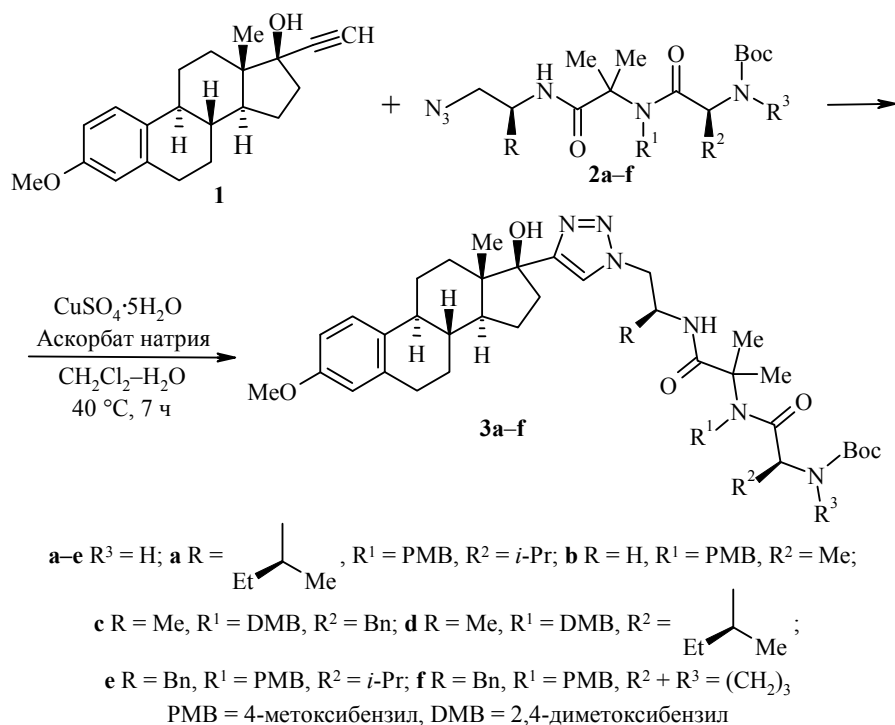
В последнее десятилетие одним из наиболее перспективных синтетических направлений в области высокоэффективных методов молекулярного дизайна органических молекул являются click-реакции [1, 2]. Стандартом click-химии стало катализируемое солями меди(I) 1,3-диполярное циклоприсоединение по Хьюзгену азидов к терминальным алкинам с образованием 1,4-дизамещённых 1,2,3-триазолов. Как правило, 1,2,3-триазольный фрагмент отсутствует в природных биологически активных веществах, однако синтетические молекулы, содержащие 1,2,3-триазольные циклы, представляют широкий класс физиологически активных веществ. Более того, 1,2,3-триазольная группа биоизостерна амидной связи, что может быть использовано для синтеза пептидомиметиков с улучшенными медицинскими свойствами и для объединения пептидных молекул с другими биологически активными соединениями [3–5].

Четырёхкомпонентная реакция Уги [6, 7] на основе изонитрилов – эффективный метод построения структурных фрагментов аминокислот и синтеза пептидов и пептидомиметиков [8–13]. Ранее нами были получены хиральные азидоизонитрилы и на их основе разработана Уги/click стратегия синтеза триазоломодифицированных пептидов [14, 15]. Эта стратегия является удобным методом декорации биологически активных молекул пептидными остатками.

Целью данной работы является модификация известного лекарственного препарата Местранол (**1**), обладающего эстрогенной активностью, пептидными фрагментами click-реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения. Наличие в молекуле Местранола (**1**) ацетиленового фрагмента предоставляет возможность click-получения соответствующих замещённых триазолов.

Пептиды **2a–f**, содержащие азидогруппу, были получены нами ранее с помощью четырёхкомпонентной реакции Уги на основе хиральных азидоизонитрилов, Вос-защищённых аминокислот, ацетона и 4-метоксибензил- или 2,4-диметоксибензиламина.

Нагревание 3-метилового эфира этинилэстрадиола (Местранола (**1**)) и азидов **2a–f** с 10% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и 40% аскорбата натрия в двухфазной смеси $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{--H}_2\text{O}$, 10:1, в течение 7 ч при 40 °С привело к получению желаемых конъюгатов **3a–f**. Click-реакция протекала региоселективно и с хорошими выходами.



Все соединения выделены методом колоночной хроматографии на силикагеле. Их строение подтверждено ИК, ЯМР ^1H , ^{13}C спектроскопией и масс-спектрометрией высокого разрешения.

Образование 1,2,3-триазольного цикла подтверждается наличием в спектрах ЯМР ^1H всех соединений $\mathbf{3a-f}$ синглета в области 7.5–7.8 м. д., а также двух сигналов в области 122–124 и 153–154 м. д. в спектре ЯМР ^{13}C .

Таким образом, нами разработан эффективный метод синтеза пептидных конъюгатов Местранола за счёт катализируемого солями меди(I) образования 1,4-дизамещённых 1,2,3-триазолов. Полученные пептидные конъюгаты Местранола, содержащие триазольный цикл, представляют значительный интерес в плане последующего изучения их биологической активности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК спектры записаны на спектрометре UR-20 в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы на спектрометре Bruker Avance 400 (400 и 100 МГц соответственно) в CDCl_3 , внутренний стандарт ТМС. Масс-спектры высокого разрешения записаны на приборе Bruker micrOTOF II, ионизация электрораспылением (ESI), регистрировали положительные (напряжение на капилляре 4500 В) или отрицательные (напряжение на капилляре 3200 В) ионы. Диапазон сканирования масс 50–3000 Да, калибровка – внешняя или внутренняя (Electrospray Calibrant Solution, Fluka). Использован шприцевой ввод вещества для растворов в MeCN, MeOH или H_2O , скорость потока 3 мкл/мин. Газ-распылитель N_2 (4 л/мин), температура интерфейса – 180 °С. Температуры плавления определены на Electrothermal IA9100 Digital Melting Point Apparatus. Контроль за ходом реакций осуществлялся методом ТСХ на пластинках DC-Alufohlen Kieselgel 60 F254 (Merck), проявление в УФ свете и в подкисленном растворе KMnO_4 . Для препаративной хроматографии использовали Fluka Silica gel 60 (0.063–0.200 мм).

Триазолы 3a–f (общая методика). К раствору 0.31 г (1 ммоль) 3-метилового эфира этинилэстрадиола (**1**) в 10 мл CH_2Cl_2 при интенсивном перемешивании прибавляют 1 ммоль азидопептида **2a–f**, 0.25 г (0.1 ммоль) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 0.5 мл H_2O и 0.08 г (0.4 ммоль) аскорбата натрия в 0.5 мл H_2O . Реакционную смесь выдерживают 7 ч при 40 °С. Растворитель упаривают в вакууме, остаток очищают колоночной хроматографией (элюент гексан–EtOAc, 1:1, затем EtOAc).

N-(трет-Бутоксикарбонил)-L-валил-N(1)-[(1S,2S)-1-({4-[17-гидрокси-3-метоксиэстра-1(10),2,4-триен-17-ил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил}метил)-2-метилбутил]-N(2)-(4-метоксибензил)-2-метилаланинамид (3a). Выход 0.60 г (70%); т. пл. 111–112 °С. R_f 0.8 (EtOAc). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3600–3200 (ОН, NH), 1710, 1650, 1620 (C=O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.79–0.83 (6H, м, 2CH_3); 0.88–0.92 (3H, м, CH_3); 0.99–1.05 (6H, м, 2CH_3); 1.10–1.18 (1H, м) и 1.61–1.66 (1H, м, CH_2); 1.31–1.55 (22H, м) и 2.04–2.16 (2H, м, 5CH_3 , 3CH_2 , 3CH); 1.83–1.99 (5H, м, 2CH_2 , CH); 2.31–2.44 (1H, м, CH); 2.74–2.89 (2H, м, CH_2); 3.74 (3H, с, OCH_3); 3.78 (3H, с, OCH_3); 4.13–4.21 (1H, м, CH); 4.30–4.39 (1H, м, CH); 4.43–4.55 (2H, м, CH_2); 4.59–4.69 (2H, м, CH_2); 5.22 (1H, д, $^3J = 9.6$, NH); 5.66 (1H, д, $^3J = 8.1$, NH); 6.59–6.66 (2H, м, H Ar); 6.87 (2H, д, $^3J = 8.3$, H Ar); 7.10 (1H, д, $^3J = 8.6$, H Ar); 7.28–7.32 (2H, м, H Ar); 7.73 (1H, уш. с, CH триазол). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 11.2; 14.2; 15.5; 17.4; 19.5; 23.4; 24.0; 24.5; 25.0; 26.3; 27.3; 28.3; 29.9; 32.2; 32.9; 36.0; 37.6; 39.4; 43.3; 47.1; 48.3; 50.6; 53.5; 55.1; 55.2; 56.2; 62.9; 63.6; 79.5; 82.1; 111.3; 113.7; 114.3; 122.8; 126.2; 127.6; 129.9; 132.6; 138.0; 153.7; 155.4; 157.3; 159.0; 173.4; 174.3. Найдено, m/z : 879.5320 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $\text{C}_{49}\text{H}_{72}\text{N}_6\text{NaO}_7$. Вычислено, m/z : 879.5360.

N-(трет-Бутоксикарбонил)-L-аланил-N(1)-(2-{4-[17-гидрокси-3-метоксиэстра-1(10),2,4-триен-17-ил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил}этил)-N(2)-(4-метоксибензил)-2-метилаланинамид (3b). Выход 0.62 г (80%); т. пл. 112–113 °С. R_f 0.2 (EtOAc). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3600–3200 (ОН, NH), 1700, 1650, 1610 (C=O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.03 (3H, с, CH_3 Местранол); 1.12 (3H, д, $^3J = 6.3$, CH_3 аланин); 1.24–1.50 (20H, м, 5CH_3 , 2CH_2 , CH); 1.60–1.71 (1H, м) и 1.85–1.99 (3H, м, 2CH_2); 2.05–2.20 (3H, м, CH_2 , CH); 2.31–2.47 (1H, м, CH); 2.77–2.90 (2H, м, CH_2); 3.54–3.67 (1H, м) и 3.70–3.80 (7H, м, 2OCH_3 , CH_2); 4.35–4.51 (3H, м, CH_2 , CH); 4.58 (1H, д, АВ-система, $^2J = 18.0$) и 4.80 (1H, д, АВ-система, $^2J = 18.0$, CH_2); 5.34 (1H, д, $^3J = 7.2$, NH); 6.32 (1H, уш. с, NH); 6.58–6.70 (2H, м, H Ar); 6.87 (2H, д, $^3J = 8.1$, H Ar); 7.07 (1H, д, $^3J = 8.4$, H Ar); 7.31 (2H, д, $^3J = 8.1$, H Ar); 7.88 (1H, уш. с, CH триазол). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.1; 18.5; 23.3; 23.6; 24.4; 26.2; 27.2; 28.2; 29.7; 32.8; 37.5; 39.4; 40.1; 43.2; 47.0; 47.2; 47.3; 48.3; 49.0; 55.0; 55.1; 60.3; 62.7; 79.7; 82.0; 111.3; 113.6; 114.2; 123.5; 126.1; 127.3; 129.8; 132.5; 137.8; 153.2; 155.3; 157.2; 158.8; 174.6; 175.3. Найдено, m/z : 773.4611 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{43}\text{H}_{61}\text{N}_6\text{O}_7$. Вычислено, m/z : 773.4602.

N-(трет-Бутоксикарбонил)-L-фенилаланил-N(2)-(2,4-диметоксибензил)-N(1)-((1S)-2-{4-[17-гидрокси-3-метоксиэстра-1(10),2,4-триен-17-ил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил}-1-метилэтил)-2-метилаланинамид (3c). Выход 0.67 г (75%); т. пл. 113–114 °С. R_f 0.4 (EtOAc). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3600–3200 (ОН, NH), 1700, 1650, 1620 (C=O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.05 (3H, с, CH_3 Местранол); 1.18 (3H, д, $^3J = 6.6$, CHCH_3); 1.24–1.55 (20H, м, 5CH_3 , 2CH_2 , CH); 1.61–1.70 (1H, м), 1.78–1.99 (4H, м) и 2.08–2.20 (2H, м, 3CH_2 , CH); 2.39–2.49 (1H, м, CH); 2.76–2.99 (4H, м, 2CH_2); 3.75 (3H, с, OCH_3); 3.77 (6H, с, 2OCH_3); 4.17–4.40 (3H, м, CH_2 , CH); 4.47–4.67 (3H, м, CH_2 , CH); 5.26 (1H, д, $^3J = 7.4$, NH); 5.71–5.79 (1H, м, NH); 6.37–6.46 (2H, м, H Ar); 6.60–6.65 (2H, м, H Ar); 7.03–7.11 (3H, м, H Ar); 7.19–7.25 (4H, м, H Ar); 7.78 (1H, уш. с, CH триазол). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.2; 17.7; 23.3; 23.4; 24.1; 26.3; 27.3; 28.2; 29.9; 33.0; 37.7; 39.4; 39.9; 42.3; 43.4; 45.9; 47.2; 48.4; 53.1; 53.6; 55.1; 55.2; 60.3; 62.7; 79.6; 82.2; 98.5; 104.2; 111.4; 113.7; 118.1; 123.0; 126.2; 126.8; 128.3; 128.4; 129.6; 132.6; 136.6; 137.9; 153.6; 154.8; 157.1; 157.3; 160.2; 173.3; 174.7. Найдено, m/z : 893.5187 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{51}\text{H}_{69}\text{N}_6\text{O}_8$. Вычислено, m/z : 893.5177.

N-(трет-Бутоксикарбонил)-L-изолейцил-N(2)-(2,4-диметоксибензил)-N(1)-((1S)-2-{4-[17-гидрокси-3-метоксиэстра-1(10),2,4-триен-17-ил]-1H-1,2,3-триазол-

1-ил}-1-метилэтил)-2-метилаланинамид (3d). Выход 0.71 г (83%); т. пл. 110–111 °С. R_f 0.4 (EtOAc). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3600–3200 (ОН, NH), 1710, 1650, 1620 (C=O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.79–0.86 (6H, м, 2CH₃); 0.93–0.98 (1H, м) и 1.27–1.57 (22H, м, 5CH₃, 3CH₂, 2CH); 1.02 (3H, с, CH₃ Местранол); 1.15 (3H, д, $^3J = 6.6$, CH₃); 1.59–1.72 (2H, м, CH₂); 1.84–1.96 (3H, м) и 2.07–2.17 (2H, м, 2CH₂, CH); 2.32–2.40 (1H, м, CH); 2.75–2.87 (2H, м, CH₂); 3.73 (3H, с, OCH₃); 3.76 (6H, с, 2OCH₃); 4.18–4.32 (1H, м, CH); 4.34–4.63 (5H, м, 2CH₂, CH); 5.21 (1H, д, $^3J = 8.7$, NH); 5.68–5.73 (1H, м, NH); 6.42–6.48 (2H, м, H Ar); 6.58 (1H, с, H Ar); 6.61–6.68 (1H, м, H Ar); 7.08 (1H, д, $^3J = 8.7$, H Ar); 7.36–7.42 (1H, м, H Ar); 7.74 (1H, уш. с, CH триазол). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 11.3; 14.1; 15.6; 17.6; 20.9; 23.3; 23.5; 23.7; 26.2; 27.3; 28.2; 29.8; 32.9; 37.6; 38.7; 39.4; 42.5; 43.3; 45.9; 47.2; 48.4; 53.4; 53.5; 55.1; 55.2; 60.3; 62.8; 79.2; 82.0; 98.6; 104.2; 111.3; 113.7; 118.1; 122.9; 126.2; 128.7; 132.5; 137.9; 153.5; 155.2; 157.2; 157.3; 160.3; 173.7; 174.6. Найдено, m/z : 859.5336 [M+H]⁺. C₄₈H₇₁N₆O₈. Вычислено, m/z : 859.5333.

***N*-(трет-Бутоксикарбонил)-L-валил-N(2)-(4-метоксибензил)-N(1)-((1S)-2-{4-[17-гидрокси-3-метоксиэстра-1(10),2,4-триен-17-ил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил}-1-метилэтил)-2-метилаланинамид (3e).** Выход 0.61 г (69%); т. пл. 114–115 °С. R_f 0.8 (EtOAc). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3600–3200 (ОН, NH), 1700, 1650, 1620 (C=O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.80–0.86 (6H, м, 2CH₃); 1.04 (3H, с, CH₃ Местранол); 1.24–1.55 (21H, м, 5CH₃, 2CH₂, 2CH); 1.64–1.70 (1H, м) и 2.07–2.20 (2H, м, CH₂, CH); 1.85–2.00 (4H, м, 2CH₂); 2.36–2.48 (1H, м, CH); 2.75–2.99 (4H, м, 2CH₂); 3.74 (3H, с, OCH₃); 3.78 (3H, с, OCH₃); 4.27–4.36 (1H, м, CH); 4.38–4.68 (5H, м, 2CH₂, CH); 5.23 (1H, д, $^3J = 9.2$, NH); 5.81–5.91 (1H, м, NH); 6.59–6.67 (2H, м, H Ar); 6.86 (2H, д, $^3J = 8.1$, H Ar); 7.10 (1H, д, $^3J = 8.6$, H Ar); 7.22–7.32 (7H, м, H Ar); 7.73 (1H, уш. с, CH триазол). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.1; 17.3; 19.6; 23.4; 23.7; 24.3; 26.2; 27.3; 28.2; 29.8; 31.9; 33.0; 37.3; 37.6; 39.4; 43.3; 47.2; 48.3; 51.1; 51.2; 55.1; 55.2; 56.2; 60.3; 62.8; 79.5; 82.1; 111.3; 113.7; 114.2; 123.5; 126.2; 126.9; 127.6; 128.7; 129.3; 129.7; 132.6; 136.7; 137.9; 153.4; 155.5; 157.3; 158.9; 173.6; 174.5. Найдено, m/z : 891.5381 [M+H]⁺. C₅₂H₇₁N₆O₇. Вычислено, m/z : 891.5384.

***N*-(трет-Бутоксикарбонил)-L-пролил-N(2)-(4-метоксибензил)-N(1)-((1S)-2-{4-[17-гидрокси-3-метоксиэстра-1(10),2,4-триен-17-ил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил}-1-метилэтил)-2-метилаланинамид (3f).** Выход 0.65 г (73%); т. пл. 116–117 °С. R_f 0.5 (EtOAc). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3600–3200 (ОН, NH), 1740, 1680, 1640 (C=O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.02 (3H, с, CH₃ Местранол); 1.28–1.64 (20H, м, 5CH₃, 2CH₂, CH); 1.64–1.72 (1H, м) и 1.77–2.20 (9H, м, 4CH₂, 2CH); 2.29–2.43 (1H, м) и 2.63–2.91 (3H, м, 2CH₂); 2.96–3.21 (2H, м, CH₂); 3.32–3.59 (2H, м, CH₂); 3.74 (3H, с, OCH₃); 3.80 (3H, с, OCH₃); 4.29–4.65 (6H, м, 2CH₂, 2CH); 6.54 (1H, д, $^3J = 7.2$, NH); 6.59–6.67 (2H, м, H Ar); 6.92 (2H, д, $^3J = 8.1$, H Ar); 7.05–7.11 (1H, м, H Ar); 7.22–7.31 (7H, м, H Ar); 7.56 (1H, уш. с, CH триазол). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.2; 23.2; 23.3; 24.4; 24.5; 26.2; 27.2; 28.5; 29.8; 30.6; 32.9; 37.5; 37.7; 39.4; 43.2; 47.2; 47.8; 48.4; 51.3; 51.8; 55.1; 55.3; 57.4; 60.3; 63.5; 79.7; 80.0; 111.3; 113.6; 114.2; 114.3; 122.6; 126.2; 127.1; 128.6; 129.3; 130.6; 132.6; 137.3; 137.9; 153.6; 154.7; 157.3; 158.8; 174.5; 174.9. Найдено, m/z : 889.5219 [M+H]⁺. C₅₂H₆₉N₆O₇. Вычислено, m/z : 889.5228.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. C. W. Tornøe, C. Cristensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.*, **67**, 3057 (2002).
2. V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **41**, 2596 (2002).
3. Y. L. Angell, K. Burgess, *Chem. Soc. Rev.*, **36**, 1674 (2007).
4. C. O. Kappe, E. Van der Eycken, *Chem. Soc. Rev.*, **39**, 1280 (2010).
5. N. G. Angelo, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 17134 (2005).
6. A. Domling, I. Ugi, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **39**, 3168 (2000).

7. A. V. Gulevich, A. G. Zhdanko, R. V. A. Orru, V. G. Nenajdenko, *Chem. Rev.*, **110**, 5235 (2010).
8. A. G. Zhdanko, V. G. Nenajdenko, *J. Org. Chem.*, **74**, 884 (2009).
9. A. G. Zhdanko, A. V. Gulevich, V. G. Nenajdenko, *Tetrahedron*, **65**, 4629 (2009).
10. A. V. Gulevich, N. E. Shevchenko, E. S. Balenkova, G.-V. Rösenthaller, V. G. Nenajdenko, *Synlett*, 403 (2009).
11. A. V. Gulevich, E. S. Balenkova, V. G. Nenajdenko, *J. Org. Chem.*, **72**, 7878 (2007).
12. V. G. Nenajdenko, A. V. Gulevich, E. S. Balenkova, *Tetrahedron*, **62**, 5922 (2006).
13. A. V. Gulevich, N. E. Shevchenko, E. S. Balenkova, G.-V. Rösenthaller, V. G. Nenajdenko, *Tetrahedron*, **64**, 11706 (2008).
14. V. G. Nenajdenko, A. V. Gulevich, N. V. Sokolova, A. V. Mironov, E. S. Balenkova, *Eur. J. Org. Chem.*, 1445 (2010).
15. N. V. Sokolova, G. V. Latyshev, N. V. Lukashev, V. G. Nenajdenko, *Org. Biomol. Chem.*, **9**, 4921 (2011).

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова,
Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Москва 119991, Россия
e-mail: nen@acylium.chem.msu.ru

Поступило 14.06.2011