

СИНТЕЗ ФОСФИНОВОГО ПСЕВДОМЕТИОНИЛГЛУТАМИЛГИСТИДИНА

© 2023 г. М. Э. Дмитриев¹, К. В. Шевченко², В. П. Шевченко², И. Ю. Нагаев²,
И. П. Калашникова¹, В. В. Рагулин^{1,*}, Н. Ф. Мясоедов²

¹ Институт физиологически активных веществ Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук, Северный пр. 1, Черноголовка, 142432 Россия

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, 123182 Россия

*e-mail: rvalery@dio.ru

Поступило в редакцию 2 июня 2023 г.

После доработки 6 июля 2023 г.

Принято к печати 6 июля 2023 г.

Предложен синтез NC(O)OEt-защищенного фосфинового псевдо-Met-Glu-пептида амидоалкилированием фосфонистой кислоты, содержащей структурный изостер диэтилглутамата, с использованием этилкарбамата и 3-(метилтио)пропиональдегида. Последующая адамантильная защита фосфорильной функции и гидролиз карбоновых групп позволили получить фосфиновый Met-[P]-Glu пептид в форме циклического глутаматного ангидрида. Последний реагирует с третьей аминокислотной компонентой – гистиридином – с образованием фосфинового Met-[P]-Glu-γ-His трипептида.

Ключевые слова: амидоалкилирование, фосфиновые пептиды, циклический ангидрид, псевдометионилглутамилгистидин

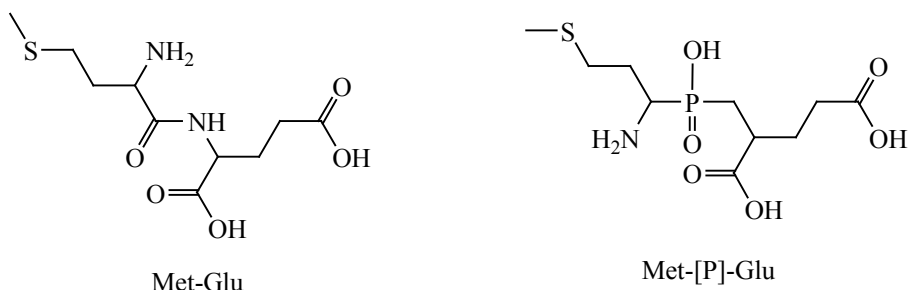
DOI: 10.31857/S00444460X23080103, **EDN:** IYICRT

Значительным недостатком отечественного ноотропного препарата, гептапептида Семакс является его низкая стабильность в живых организмах, что обусловлено уязвимостью N-концевой метионилглутаматной пептидной связи в молекуле препарата по отношению к действию аминопептидаз [1]. Имитация пептидной связи Met-Glu посредством структурно близкого не гидролизующего метиленфосфорильного фрагмента может сохранить и увеличить ноотропные свойства аналогов Семакса, содержащих фосфиновый структурный изостер метионилглутамата. Следовательно, фосфиновые аналоги Семакса могут быть более привлекательными средствами для лечения соответствующих патологий. Изучение цитотоксичности и нейропротекторных свойств фосфинового аналога трипептида Pro-ψ[P(O)(OH)CH₂]-Gly-Pro позволило

обнаружить его участие в модуляции образования отложений в клеточной системе протеинопатии, что может указывать на их потенциальные антиагрегационные свойства [2]. Поэтому фосфиновая модификация пептидных связей в молекуле коротких пептидов является перспективным подходом к поиску физиологически активных веществ [3–10].

Настоящая работа посвящена синтезу пептида Met-ψ[P(O)(OH)CH₂]-Glu-HisOMe, фосфинового изостера N-концевой трипептидной составляющей препарата Семакс. В работе предложена защита Семакса от агрессивного воздействия аминопептидаз путем замены природной Met-Glu дипептидной составляющей структурно близким

Схема 1.



фосфиновым псевдо-Met-[P]¹-Glu-дипептидом (схема 1) с дальнейшим присоединением третьей аминокислотной компоненты, гистидина.

В качестве ключевого строительного блока был синтезирован N,P-защищенный фосфиновый псевдо-Met-[P]-Glu-дипептид, содержащий структурный изостер глутамата в виде циклического ангидрида **1** (схема 2). Ангидрид **1** был синтезирован в соответствии с цепочкой превращений, представленных на схеме 2, начиная с фосфонистой кислоты **2**. Образование α -аминофосфорильной функции связывающей метионин и глутамат в молекулу фосфинового дипептида **3** было осуществлено в среде уксусного ангидрида амидоалкилированием фосфонистой кислоты **2**, содержащей структурный изостер глутаминовой кислоты в виде диэтилового эфира, с использованием этилкарбамата **4** и метилтиопропионового альдегида **5** в соответствии с трехкомпонентной процедурой синтеза N-защищенных фосфиновых пептидов, предложенной нами ранее [11–13].

На следующем этапе проведена селективная защита фосфорильного фрагмента путем образования фосфоадамантилового эфира (POAd), фосфината **6**, устойчивого при последующих превращениях. Первоначальная попытка синтеза фосфинового псевдометионилглутамилдипептида **3** в реакционной среде хлористого ацетила привела к

частичному дезалкилированию сложноэфирных карбоновых функций [14].

Поэтому был проведен поиск более мягких, но эффективных условий синтеза псевдодипептида **3** с использованием фосфонистой кислоты **2**, содержащей диэтиловый эфирный фрагмент. Установлено, что наличие 15 мол% *p*-толуолсульфокислоты (*p*-TSA) в растворе уксусного ангидрида при комнатной температуре позволяет получить искомым фосфиновый пептид **3** с выходом 63%.

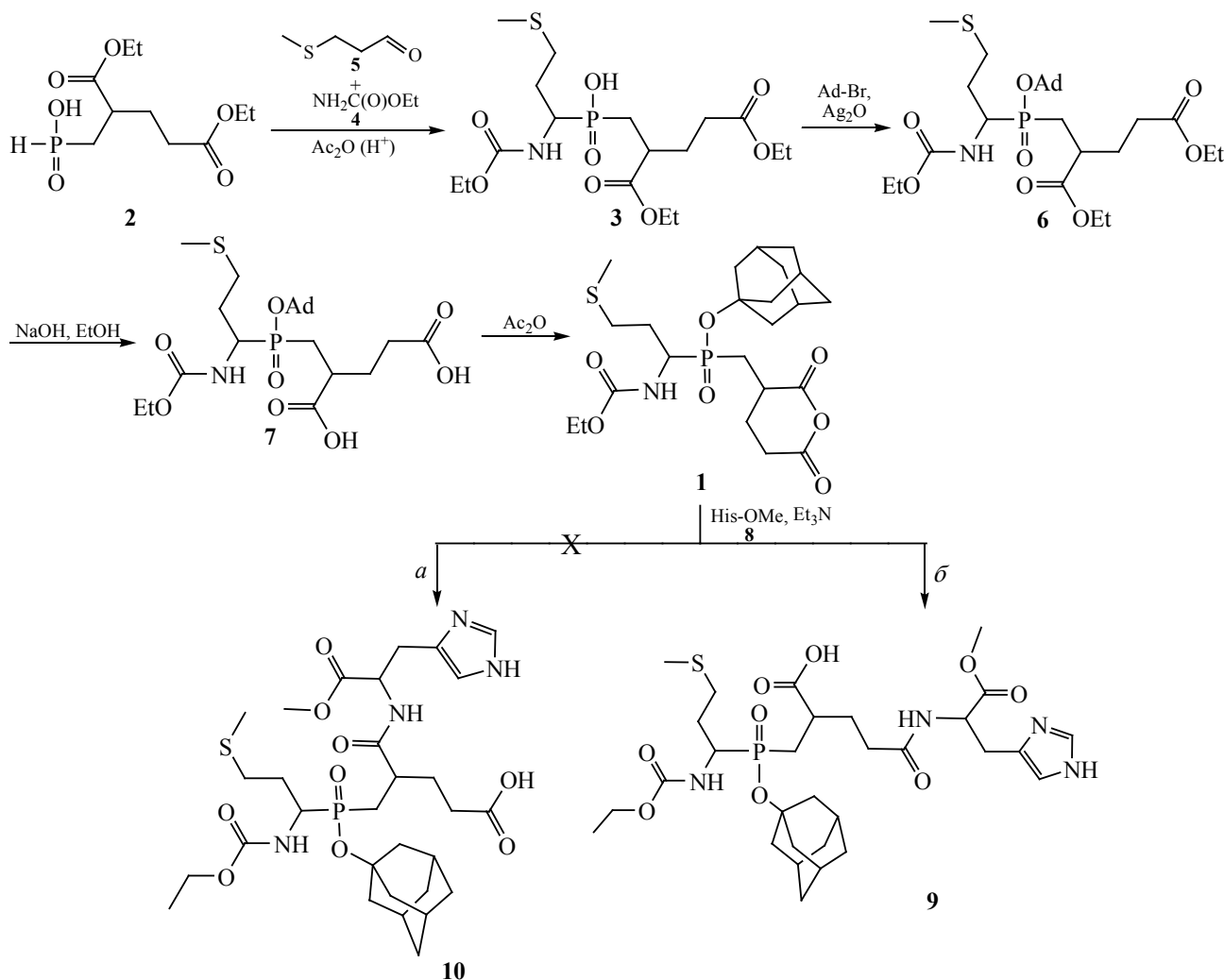
Синтез Р-адамантилового эфира дипептида **6** проводили обработкой фосфинового кислого дипептида **3** смесью адамантилбромид и окиси серебра в кипящем хлороформе [15, 16]. Последующая хроматография на силикагеле [элюент – CHCl₃–*i*-PrOH (3→10%)] позволяет выделить Р-адамантиловый дикарбоновый эфир фосфинового Met-[P]-Glu дипептидного блока **6** с выходом 71%. Гидролиз карбоновых эфирных функций 4 н. раствором щелочи в спирте приводит к дикарбоновой кислоте **7** с выходом 87%.

Использование дипептида (фосфината) **7** с двумя свободными карбоксильными группами для присоединения третьей аминокислотной компоненты в виде метилового эфира гистидина **8** посредством образования классической пептидной связи является нецелесообразным по причине образования смеси продуктов с участием обеих карбоновых групп. Задача селективной функционализации карбоксильных групп оказалась достаточно сложной.

Поэтому был предложен подход с промежуточным превращением дипептида (фосфината) **7** с двумя свободными карбоксильными группами

¹ Здесь и далее [P]=ψ[P(O)(OH)CH₂]. В названии фосфиновых кислых дипептидов в последнее время в литературе наблюдается сокращение – фосфиновые пептиды (phosphinic peptides) по аналогии с литературными источниками на английском языке. Поэтому в данной работе используется термин «фосфиновые пептиды».

Схема 2.



в соответствующий циклический ангидрид **1**, что приводит к активации карбоновых функций для последующего пептидного синтеза путем нуклеофильной атаки атома азота третьей аминокислотной компоненты. Кипячение фосфината **7** со свободными карбоновыми кислотами в избытке уксусного ангидрида в течение 2 ч приводит к образованию ангидрида **1** с почти количественным выходом.

Дальнейший синтез проводили с использованием циклического глутаматного ангидрида **1**, который в силу стерических причин предпочтительно реагирует с аминокислотным реагентом

с образованием производных γ -карбоновой функции глутаматного фрагмента молекулы. Такой путь реакции полностью соответствует выводам, полученным из классических работ, где изучалось влияние различных факторов на взаимодействие производных циклического глутаматного ангидрида с различными аминокислотными реагентами [17, 18]. Кроме того, в нашем случае основным фактором, определяющим образование γ -продукта **9**, является значительное стерическое влияние объемной эфирной адамантильной (POAd) группы.

Присоединение гистидиновой компоненты проводили в безводном хлороформе. Раствор фос-

Таблица 1. Масс-спектрометрические характеристики полученных соединений

Соединение	$[M + H]^+$	$[M + Na]^+$	$[M - H]^-$
Met-[P]-OAd-Glu(O) (1)	502.2	524.2	500.2
Met-[P]-Glu-His-OMe (9)	671.3	693.3	669.3
Met-[P]-Glu-His-OH (9*)	657.3	679.3	655.3

финового производного глутаминового ангидрида **1** обрабатывали солянокислым метиловым эфиром гистидина при соотношении 1.5:1 в присутствии Et₃N в течение суток. После очистки на колонке Reprosil pur C18aq трипептид **9** удалось выделить с чистотой 95–97% и выходом 73%.

Попытки использовать для реакции с ангидридом **1** свободный гистидин приводили к получению смеси, из которой выделить Met-[P]-Glu-His-OH **9*** можно было только при использовании аналитических колонок. Выделенных количеств оказалось достаточным для идентификации фосфинового трипептида спектральными методами, например, масс-спектрометрией (табл. 1). Выделить препаративные количества этого соединения не удалось.

Строение полученных соединений **1**, **3**, **6**, **7**, **9** установлено с помощью данных ЯМР ¹H, ³¹P и ¹³C. Для фосфинового трипептида Met-[P]-Glu-γ-HisOMe **9** наиболее информативным является спектр ЯМР ¹³C в области химических сдвигов, относящихся к карбоксильным атомам углерода. Обычно сигналы C(O)OH углеродов в молекуле фосфинового пептида располагаются в виде дублетов в характерной области около 176–180 м. д. [11–13]. В спектре трипептида **9** наблюдается два дублета диастереомерных форм в области 170.6 и 171.0 м. д. с характерными константами спин-спинового взаимодействия ³J_{PC} 14.8 и ³J_{PC} 18.4 Гц соответственно. При этом сигнал углерода C(O) второй карбоновой функции глутаматного фрагмента и сигнал C(O) гистидиновой компоненты проявляются в виде синглетов при 174.0 и 174.9 м. д.

Для трипептида **10** аналогичный сигнал углерода C(O)OH группы наблюдался бы в этой же области, но в виде синглета по причине удаленности от ядра фосфора. Сигналы NC(O) углеродов обычно находятся в области 156–159 м. д. [11–13]. Это подтверждается наличием дублета при 156.7 м. д. с константой ³J_{PC} 13.6 Гц. Кроме того, в спектре

ЯМР ¹³C фосфинового трипептида присутствуют сигналы в области 117.2, 129.9 и 134.4 м. д., соответствующие углеродам имидазольного цикла гистидиновой компоненты.

При использовании приведенных методов не удалось идентифицировать продукт **10** в реакционной смеси, но исключить полное отсутствие этого продукта с участием α-карбоновой функции глутаматного ангидридного цикла нельзя. Возможно, в исследуемых условиях он образуется лишь в минимальных количествах и отделяется при ВЭЖХ.

Исследуемые соединения представляют собой смесь диастереомеров, что обусловлено наличием хиральных центров на α-углеродном атоме аминокислотного фрагмента (PCHN) и α-углеродном атоме псевдоглутаматного фрагмента (CHCOO). После установки эфирной адамантильной защиты на атоме фосфора формируется еще один хиральный центр на атоме фосфора. Кроме того, для всех соединений характерно наличие конформерных форм, что обусловлено присутствием в молекуле амидного (пептидного) NC(O) фрагмента. Соотнесение спектральных данных ЯМР с определенными диастереомерными и конформерными формами исследуемых соединений представляется достаточно затруднительным и такой анализ не являлся целью настоящей работы. Наличие смеси диастереомеров и конформеров наиболее наглядно проявляется в спектрах ЯМР ³¹P исследуемых фосфиновых кислых производных и фосфинатов (POAd).

Таким образом, в работе предложен синтез N-защищенного фосфинового дипептида Met-[P]-Glu, что позволило осуществить синтез нового трипептида Met-[P]-Glu-γ-HisOMe. Показана принципиальная возможность дальнейшей селективной функционализации глутаматной компоненты трипептида.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ^1H , ^{31}P и ^{13}C ЯМР снимали на Фурье-спектрометре Bruker DPX-200. Катионит Purolite C100E (H^+) использовали для ионообменной хроматографии. Температуру плавления определяли в блоке в открытом капилляре. Анализ реакционных масс осуществляли при использовании колонки Reprosil pur C18aq (2×100 мм, размер частиц 5 мкм, элюент А – метанол–вода–уксусная кислота (5:95:0.1), элюент В – метанол, линейный градиент от 30 до 100% В за 20 мин). ТСХ-анализ индивидуальных соединений и реакционных масс проводили на пластинках Silufol, на стеклянных пластинках Merck с толщиной слоя силикагеля UV-254 0.2 мм [элюент – хлороформ–изопропанол (3–7%)], а также на пластинках Alufol (Kavaliar) (нейтральная окись алюминия на алюминиевой фольге) с проявлением пятен в парах иода или УФ свете. Масс-спектрометрические данные получали на приборе LCQ Advantage MAX (Термоэлектрон, США), с ионизацией электрораспылением, прямым вводом раствора образца с концентрацией 10 мкг/мл в метаноле и дальнейшей фрагментацией молекулярного пика в анализаторе методом ионных соударений при 35 эВ.

2,4-Бис(этилоксикарбонил)бутилфосфонистая кислота **2**, содержащая структурный глутаматный изостер, была получена согласно описанному ранее методу [14].

1-(N-Этилоксикарбонил)амино-3-метилтиопропил-2,4-бис(этилоксикарбонил)бутилфосфиновая кислота {Met-[P]-Glu(OEt)₂} (3). К перемешиваемой при комнатной температуре смеси 0.27 г (1.0 ммоль) 2,4-бис(этилоксикарбонил)-бутилфосфонистой кислоты и 0.09 г (1.0 ммоль) этилкарбамата в 3 мл уксусного ангидрида добавляли 0.03 г (0.15 ммоль) *n*-толуолсульфокислоты и затем медленно по каплям добавляли 0.13 г (1.1 ммоль) 3-метилтиопропионового альдегида. За ходом реакции следили с помощью спектроскопии ЯМР ^{31}P по соотношению интенсивности сигналов исходной фосфонистой кислоты **2** (23–25 м. д.) и образующейся фосфиновой кислоты **3** (52–54 м. д.). По завершении реакции реакционную массу разбавляли 3–4 мл хлороформа и образовавшуюся смесь упаривали в вакууме. Остаток разделяли между 5 мл хлороформа и 2 мл воды.

Органическую фазу промывали дополнительно 2 мл воды и упаривали в вакууме. Остаток представляет собой масло, спектральные данные соответствуют фосфиновой кислоте **3**. Выход 0.28 г (63%). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.: 1.19–1.23 м (9H, CH_3), 1.65–2.00 м (4H, $\text{PCH}_2 + \text{CH}_2\text{S}$), 2.05 с (3H, SMe), 2.10–2.95 м [7H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$ (Glu) + $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$], 3.95–4.25 м (7H, $3\text{CH}_2\text{O} + \text{PCHN}$), 5.32* д (1H, NH, $^3J_{\text{PH}}$ 10.9 Гц), 5.56 д (1H, NH, $^3J_{\text{PH}}$ 11.6 Гц), 12.1 уш. с (1H, POOH). Здесь и далее *звездочкой* обозначены соответствующие сигналы минорной формы диастереомера или конформера. Спектр ЯМР ^{31}P (CDCl_3), δ_{P} , м. д.: 52.9*, 53.3, 53.5, 54.3*. Найдено, %: С 45.93, 46.03; Н 7.53, 7.47; Р 7.08, 7.21. $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{NO}_8\text{PS}$. Вычислено, %: С 46.25; Н 7.31; Р 7.02.

Р-Адамантиловый эфир 1-(N-этилоксикарбонил)амино-3-метилтиопропил-2,4-бис(этилоксикарбонил)бутилфосфиновой кислоты {Met-[POAd]-Glu(OEt)₂} (6). К перемешиваемому раствору 0.44 г (1.0 ммоль) фосфиновой кислоты **3** и 0.24 г (1.1 ммоль) адамантилбромида в 5 мл хлороформа порциями добавляли 0.23 г (1.0 ммоль) двуокиси серебра(I). Реакционную смесь кипятили при перемешивании в течение 6 ч, затем концентрировали упариванием в вакууме. Образовавшийся раствор пропускали через слой окиси алюминия (нейтральная по Брокману) объемом 10 мл (элюент – хлороформ). Элюат упаривали в вакууме и остаток хроматографировали на силикагеле [элюент – хлороформ–толуол (1:1), хлороформ, хлороформ–*i*-PrOH (3–10%)]. Выход 0.41 г (71%), желтоватое масло, $R_f \sim 0.5$ (толуол–этилацетат, 4:1), $R_f \sim 0.65$ (хлороформ–ацетон, 4:1). Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.: 1.10–1.35 м (9H, CH_3), 1.58 уш. с (6H, CH_2 , Ad), 1.60–1.70 м (2H, PCH_2), 1.72–2.20 м (16H, $3\text{CH}_2\text{Ad} + 3\text{CHAd} + \text{SCH}_3 + 2\text{CH}_2$, Met), 2.20–2.85 м (5H, $2\text{CH}_2 + \text{CH}$, Glu), 3.90–4.30 м (7H, $3\text{CH}_2\text{O} + \text{PCHN}$), 4.84* м (NH), 5.23 м (NH). Спектр ЯМР ^{31}P (CDCl_3), δ_{P} , м. д.: 45.3*, 45.7*, 46.9, 48.0, 48.5. Найдено, %: С 55.96, 56.10; Н 8.25, 8.32; Р 5.03, 5.17. $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{NO}_8\text{PS}$. Вычислено, %: С 56.33; Н 8.05; Р 5.38.

Р-Адамантиловый эфир 1-(N-этилоксикарбонил)амино-3-метилтиопропил-2,4-бис(гидроксикарбонил)бутилфосфиновой кислоты {Met-[POAd]-Glu(OH)₂} (7). К 0.58 г (1 ммоль)

диэтилового эфира **6** в растворе 5 мл метанола добавляли по каплям 2 мл 4 н. водного раствора гидроокиси натрия. За ходом реакции следили с помощью анализа ТСХ и (или) ЯМР малых аликуот после соответствующей нейтрализации и экстракции этилацетатом. После окончания реакции смесь подкисляли при 0–5°C добавлением (медленно по каплям) 0.3 н. раствора HCl до pH ~ 3 и образовавшуюся суспензию экстрагировали этилацетатом (2×10 мл). Экстракт упаривали, остаток растворяли в смеси ацетонитрил–вода (~3:1) и пропускали через колонку (10 мл) с катионитом Purolite в (H⁺)-форме. Элюат упаривали в вакууме, остаток растворяли в 10 мл хлороформа и промывали водой (2×5 мл), сушили сульфатом магния и упаривали, остаток сушили в вакууме. Выход 0.40 г (77%), бесцветное масло, $R_f \sim 0.40$ (хлороформ–изопропанол, 95:5), $R_f \sim 0.25$ (хлороформ–ацетон, 5:1). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д.: 1.24 т (3H, CH₃, ³J_{HH} 7.0 Гц), 1.60 уш. с (6H, CH₂, Ad), 1.65–2.25 м (18H, PCCH₂ + 3CH_{2Ad} + 3CH_{Ad} + SCH₃ + 2CH₂, Met), 2.20–2.85 м (5H, 2CH₂ + CH, Glu), 3.67 уш. с (1H, PCNH*), 4.00–4.25 м (3H, CH₂O + PCNH), 5.17* д (NH, ³J_{PH} 9.4 Гц), 5.33* д (NH, ³J_{PH} 11.2 Гц), 6.35 д (NH, ³J_{PH} 10.6 Гц), 6.58 д (NH, ³J_{PH} 10.6 Гц), 7.98 уш. с (2H, COOH). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ_C, м. д.: 14.6 (CH₃), 15.3, 15.5* (CH₃S), 27.1, 27.6, 29.3 д (¹J_{PC} 88.2 Гц), 29.6* д (¹J_{PC} 85.9 Гц), 30.6, 30.8, 31.2 (3CH_{Ad}), 35.6, 36.0* (3CH_{2Ad}), 38.7 д (³J_{PC} 16.1 Гц), 41.5 д (³J_{PC} 22.2 Гц), 44.3, 45.2* (3CH_{2Ad}), 49.3 д (¹J_{PC} 110.8 Гц), 49.8* д (¹J_{PC} 105.8 Гц), 50.3 д (¹J_{PC} 110.8 Гц), 61.5*, 61.6 (OCH₂), 84.5 д (²J_{POC} 10.7 Гц), 85.1* д (POC_{Ad}, ²J_{POC} 10.7 Гц), 156.5* д (³J_{PC} 4.2 Гц), 157.0 (³J_{PC} 4.2 Гц), 157.3* [NC(O), ³J_{PC} 4.6 Гц], 176.6, 176.7, 177.5, 178.2 (C=O). Спектр ЯМР ³¹P (CDCl₃), δ_P, м. д.: 48.7*, 49.1, 49.5*, 49.9, 50.2*, 50.5. Найдено, %: C 52.86, 53.04; H 7.45, 7.54; P 6.03, 6.15. C₂₃H₃₈NO₈PS. Вычислено, %: C 53.17; H 7.37; P 5.96.

Ангидрид Р-адамантилового эфира 1-(N-этилоксикарбонил)амино-3-метилтиопропил-2,4-бис(гидроксикарбонил)бутилфосфиновой кислоты {Met-[POAd]-Glu(O)} (1). Раствор дикарбоновой кислоты **7** (0.52 г, 1 ммоль) в 3 мл уксусного ангидрида кипятили 2 ч, затем упаривали в вакууме. Остаток, хорошо растворимый в хлороформе, без дополнительной очистки использовали для дальнейших превращений. Выход

0.50 г (~100%), $R_f \sim 0.40$ (хлороформ–ацетон = 5:1). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д.: 1.24 уш. т (3H, CH₃), 1.60 уш. с (6H, CH₂, Ad), 1.65–2.25 м (18H, PCCH₂ + 3CH_{2Ad} + 3CH_{Ad} + SCH₃ + 2CH₂, Met), 2.25–3.30 м (5H, 2CH₂ + CH, Glu), 3.67 уш. с, 3.90–4.20 м (3H, CH₂O + PCNH), 4.91* д (NH, ³J_{PH} 10.6 Гц), 5.78 д (NH, ³J_{PH} 10.0 Гц). Спектр ЯМР ³¹P (CDCl₃), δ_P, м. д.: 47.0*, 47.1*, 47.6, 47.8, 48.4, 49.2.

EtOC(O)-Met-[P]-Glu-γ-His-OMe (9). Раствор 150 мг фосфинового производного глутаминового ангидрида **1** в 4.5 мл хлороформа обрабатывали 100 мг солянокислого метилового эфира гистидина в присутствии 0.2 мл Et₃N. Через сутки раствор упаривали, избыток метилового эфира гистидина удаляли на патроне Sep-Pack C18, который после нанесения реакционной смеси промывали 30%-ным водным метанолом. Фракцию, содержащую искомое соединение, смывали метанолом. При этом вес реакционной массы уменьшался со 410 до 180 мг. Очистку проводили на колонке Reprosil pur C18aq [20×150 мм, размер частиц 10 мкм, элюент А: метанол–вода–уксусная кислота (50:50:0.1), элюент В: метанол, градиент В от 0 до 100% за 15 мин, скорость потока – 20 мл/мин]. Дальнейшую очистку проводили с заменой в элюенте уксусной кислоты на трифторуксусную. В результате очистки продукт реакции **9** выделен с чистотой 95–97% (табл. 1) в виде белого порошкообразного вещества с нечеткой температурой плавления, 67–74°C. Выход ~110 мг (73%). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д.: 1.10–1.30 м (5H, CH₃ + CH₂), 1.35–1.80 м (11H, PCCH₂ + 3CH_{2Ad} + 3CH_{Ad}), 1.85–2.55 м (18H, SCH₃ + 2CH₂, Met) + 2CH₂ + CH_{Glu} + 3CH_{2Ad}), 3.10–3.35 м (2H, CH₂, His), 3.71 уш. с (3H, OCH₃, His), 3.90–4.25 м (3H, CH₂O + PCNH), 4.70–5.05 м (1H, PCNH), 6.90–7.10 м (1H, CH, His), 8.10–8.35 м (1H, NCHN, His). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ_C, м. д.: 14.6 (CH₃), 15.4 (CH₃S), 28.4 д (¹J_{PC} 93.6 Гц), 29.7, 30.7 (3CH, Ad), 31.2* (3CH₂, Ad), 35.6, 36.0, 44.3 (3CH₂, Ad), 45.3, 50.6* д (¹J_{PC} 97.3 Гц), 50.9 д (¹J_{PC} 96.9 Гц), 52.6, 61.2*, 61.5 (OCH₂), 68.2 (OCH₃, His), 83.9 д (²J_{POC} 14.0 Гц), 84.3* д (²J_{POC} 12.5 Гц) (POC, Ad), 117.2 (His), 129.9 (His), 134.4 (His), 156.7 (NC=O, ³J_{PC} 18.4 Гц), 170.6* (α-COOH, Glu, ³J_{PC} 14.8 Гц), 171.0 (α-COOH, Glu, ³J_{PC} 18.4 Гц), 174.0 (γ-Glu, C=O), 174.9 (His, C=O). Спектр ЯМР ³¹P (CDCl₃), δ_P, м. д.: 49.1, 49.8*, 50.4*, 50.5*. Найдено, %: C 53.63,

53.23; Н 7.25, 7.33; N 8.57, 8.44. $C_{30}H_{47}N_4O_9PS$. Вычислено, %: С 53.72; Н 7.06; N 8.35.

EtOC(O)-Met-[P]-Glu- γ -His-OH 9*. Раствор 4 мг фосфинового глутаминового ангидрида **1** в 3 мл этанола добавляли к 0.3 мл водного раствора 9 мг гистидина в присутствии 0.1 мл Et_3N (табл. 1). Через сутки растворитель упаривали при пониженном давлении, затем избыток гистидина удаляли на патроне Sep-Pack C18. Дальнейшую очистку проводили, как описано выше. Масс-спектральные данные соединений **1**, **9** и **9***, приведены в табл. 1.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Дмитриев Максим Эдуардович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8870-195X>

Нагаев Игорь Юлианович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9301-103X>

Рагулин Валерий Владимирович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3967-1034>

Мясоедов Николай Федорович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1294-102X>

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-23-00158).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шевченко К.В., Нагаев И.Ю., Андреева Л.А., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2013. Т. 449. № 6. С. 733; *Shevchenko K.V., Nagaev I.Yu., Andreeva L.A., Shevchenko V.P., Myasoedov N.F. // Doklady Biol. Sci.* 2013. Vol. 449. N 1. P. 110. doi 10.1134/S0012496613020166
2. *Vinyukov A.V., Dmitriev M.E., Andreeva L.A., Ustyugov A.A., Shevchenko V.P., Sidoruk K.N., Lednev B.V., Freyman V.M., Dobrovolskiy Y.A., Ragulin V.V., Myasoedov N.F. // Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021. Vol. 539. P. 15. doi 10.1016/j.bbrc.2020.12.087
3. *Collinsova M., Jiracek J. // Curr. Med. Chem.* 2000. Vol. 7. N 6. P. 629. doi 10.2174/0929867003374831
4. *Dive V., Georgiadis D., Matziari M., Makaritis A., Beau F., Cuniasse P., Yiotakis A. // Cell. Mol. Life Sci.* 2004. Vol. 61. P. 2010. doi 10.1007/s00018-004-4050-y
5. *Mucha A. // Molecules.* 2012. Vol. 17. N 11. P. 13530. doi 10.3390/molecules171113530
6. *Georgiadis D., Dive V. // Top. Curr. Chem.* 2015. Vol. 360. P. 1. doi 10.1007/128_2014_571
7. *Zinc Metalloproteases in Health and Disease / Ed. N.M. Hooper. London: Taylor and Francis, 1996. P. 153.*
8. *Hori M., Nishida K. // Cardiovasc. Res.* 2009. Vol. 81. N 3. P. 457. doi 10.1093/cvr/cvn335
9. *Whittaker M., Ayscough A. // Celltransmissions.* 2001. Vol. 17. N 1. P. 3.
10. *Pirad B., Matter H. // J. Med. Chem.* 2006. Vol. 49. N 1. P. 51. doi 10.1021/jm050363f
11. *Dmitriev M.E., Ragulin V.V. // Tetrahedron Lett.* 2010. Vol. 51. N. 19. P. 2613. doi 10.1016/j.tetlet.2010.03.020
12. *Dmitriev M.E., Ragulin V.V. // Tetrahedron Lett.* 2012. Vol. 53. N. 13. P. 1634. doi 10.1016/j.tetlet.2012.01.094
13. *Dmitriev M.E., Golovash S.R., Borodachev A.V., Ragulin V.V. // J. Org. Chem.* 2021. Vol. 86. N 1. P. 593. doi 10.1021/acs.joc.0c02259
14. *Дмитриев М.Э., Винюков А.В., Рагулин В.В., Мясоедов Н.Ф. // ЖОХ.* 2015. Т. 85. Вып. 9. С. 1576; *Dmitriev M.E., Vinyukov A.V., Ragulin V.V., Myasoedov N.F. // Russ. J. Gen. Chem.* 2015. Vol. 85. N 9. P. 2215. doi 10.1134/S1070363215090315
15. *Yiotakis A., Vassiliou S., Jiracek J., Dive V. // J. Org. Chem.* 1996. Vol. 61. N 19. P. 6601. doi 10.1021/jo9603439
16. *Georgiadis D., Dive V., Yiotakis A. // J. Org. Chem.* 2001. Vol. 66. N 20. P. 6604. doi 10.1021/jo0156363
17. *Kalyanam N., Majeed M. // Chim. Oggi.* 2008. Vol. 26. N 3. P. 44.
18. *Amino Y., Nakazawa M., Kaneko M., Miyaki T., Miyamura N., Maruyama Y., Eto Y. // Chem. Pharm. Bull.* 2016. Vol. 64. N 8. P. 1181. doi 10.1248/cpb.c16-00293

Synthesis of Phosphinic Pseudomethionyl-Glutamyl-Histidine

M. E. Dmitriev^a, K. V. Shevchenko^b, V. P. Shevchenko^b, I. Yu. Nagaev^b, I. P. Kalashnikova^a,
V. V. Ragulin^{a,*}, and N. F. Myasoedov^b

^a *Institute of Physiologically Active Compounds at Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, 142432 Russia*

^b *National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, 123182 Russia*

*e-mail: rvalery@dio.ru

Received June 2, 2023; revised July 6, 2023; accepted July 6, 2023

The amidoalkylation reaction of a phosphonous acid containing a structural isostere of diethyl glutamate using ethyl carbamate and 3-(methylthio)propionaldehyde was proposed for the synthesis of phosphinic pseudo-NC(O) OEt-protected Met-Glu-peptide. Subsequent adamantyl protection of the phosphorylic function and hydrolysis of carboxylic groups made it possible to obtain phosphinic pseudo-Met-[P]-Glu in the form of cyclic glutamate anhydride. It was found that the latter reacts with the third amino acid component histidine to form the phosphinic Met-[P]-Glu- γ -His tripeptide.

Keywords: amidoalkylation, phosphinic peptides, cyclic anhydride, pseudomethionyl-glutamyl-histidine