

СИНТЕЗ НА АМИДИ НА C – ЗАЩИТЕНИ ДИПЕПТИДИ С 2,3-ДИХИДРО-1,3-ДИОКСО-2-АРИЛ-1Н-ИНДЕН-2 – ОЦЕТНИ КИСЕЛИНИ

Недялко Софрониев¹, Стоян Минчев²

¹Минно – геоложки университет "Св. Иван Рилски", 1700 София

²Икономически университет, ул. "Княз Борис" 77, 9002 Варна

РЕЗЮМЕ. Установено е, че естерите на дипептидите ацилирани с 2,3-дихидро-1,3-диоксо-2-арил-1Н-инден-2-оцетни киселини се получават по-удобно и с по-високи добиви по дициклохексилкарбодимидния метод. Структурата на тези съединения е потвърдена чрез елементарен анализ, инфрачервени спектри и в някои случаи чрез успоредни синтези. За някои от дипептидите е предложено обяснение за наличието на пик 1800 /cm при инфрачервените им спектри.

Ключови думи: 2,3-дихидро-1,3-диоксо-2-арил-1Н-инден-2 – оцетни киселини (2-карбоксиметил-2-арил-1,3-индандиони), дипептиди, методи за синтез на пептиди – хидразиден метод, дициклохексилкарбодимиден метод и метод на киселинните хлориди.

SYNTHESIS OF AMIDES OF C-BLOCKED DIPEPTIDES WITH 2,3-DIHYDRO-1,3-DIOXO-2-ARYL-1H-INDENE-2- ACETIC ACIDS

Nenyalko Sofroniev¹, Stoian Minchev²

¹University of Mining and Geology "St. Ivan Rilski", 1700 Sofia, Bulgaria

²University of Economics, 77 "Knyaz Boris" St., 9002 Varna, Bulgaria

ABSTRACT. It is established that the esters of dipeptides, acylated with 2,3 -dihydro -1,3 - dioxo - 2- aryl - 1H - indene--2 -acetic acids are obtained most conveniently and with higher yields by dicyclohexylcarbodiimide method. The structure of these compounds is confirmed by element analyses, IR – spectra and in some occasions by parallel syntheses. A supposition for explaining of the peaks of IR - spectra of some dipeptides by 1800 /cm is made.

Keywords: 2,3-dihydro-1,3-dioxo-2-aryl-1H-indene-2 - acetic acids (2-carboxymethyl-2-aryl-1,3-indandiones), dipeptides, methods of synthesis of peptides-hydrazide method, dicyclohexylcarbodiimide method and method of acid chlorides.

Въведение

Известно е, че хидрохлоридите на някои N, N - диалкиламиноалкилови естери на 2,3-дихидро-1,3- диоксо-2-фенил-1Н-инден-2 - оцетна киселина (2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион) притежават значително местно анестезиращо действие (Валтер, 1966; Валтер и др., 1966; Цируле и др., 1975). С оглед синтеза на нови анестетици от този ред са описани и N - алкиламиди на същата киселина (a Валтер и др., 1968; б Валтер и др., 1968). Описана е и синтезата на голям брой заместени в ариловия и фталоилов остатък 2-карбоксиметил-2-арил-1,3-индандиони (Minchev and Sofroniev, 1982). Както на незаместените (Minchev and Aleksiev, 1976), така и на различно субституираните киселини (Minchev et al., 1982) са получени амиди с естери на природни аминокиселини. Добре известно е, че под действието на алкални основи естерите и амидите на 2-карбоксиметил-2-заместените 1,3-индандиони търпят изомеризация. При естерите петатомният цикъл се разширява до шестатомен (Radulescu and Gheorgiu, 1927; Gheorgiu, 1939; Koelsch and Byers, 1940; Залукаев и др., 1976; Щербань и др., 1978), а амидите в зависимост от структурата им и от условията на взаимодействие, претърпяват допълнителна циклизация,

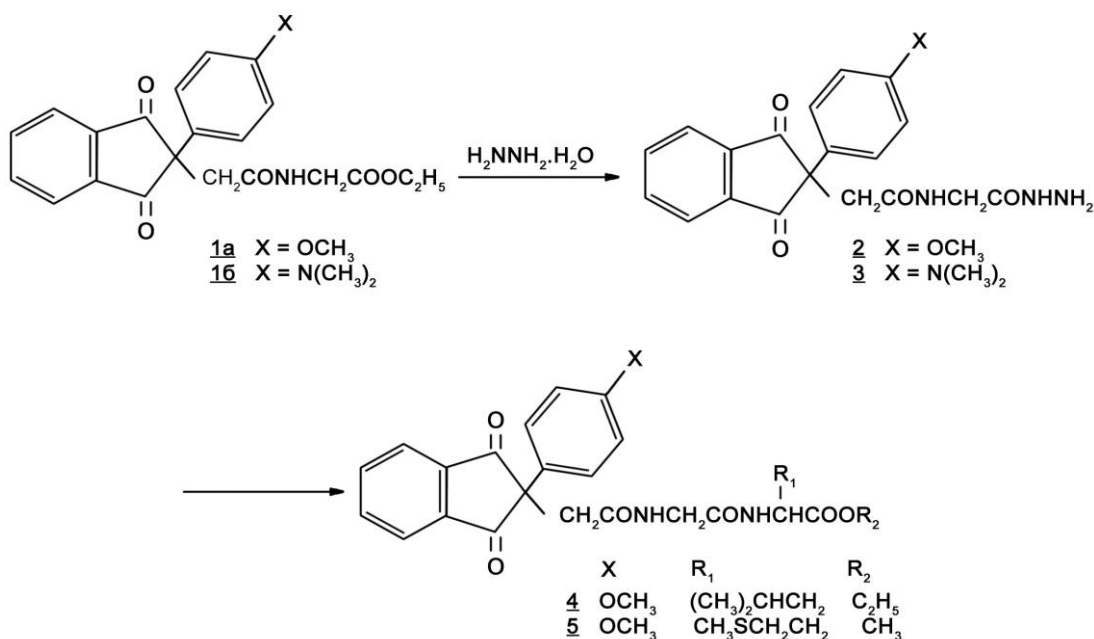
като се присъединява N–H от амидната връзка към цикличната карбонилна група, или пък се отваря петатомния цикъл от индандионовата система (б Валтер и др., 1968; а Валтер, 1969; б Валтер, 1969). Ето защо алкални основи не могат да се използват за осапунване на посочените естери. Напротив, под действието на хидразинхидрат, 2-карбетокси-2-фенил-1,3-индандион (Минчев, 1973), а също и естери на природни аминокиселини, ацилирани с 2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион се превръщат до съответните хидразида. Опитът обаче показва, че в първия случай хидразидът по всяка вероятност лесно се циклизира, както е посочено в литературата за аналогични производни (Валтер, 1970; Ванаг и Дрегерис, и др., 1964; Дрегерис и др., 1965; Данилова и Перекалин, 1965), до продукт който по - нататък не се превръща в азид. За разлика от него хидразидите на ацилираните с 2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион естери на природни аминокиселини, се превръщат в азиди и с ниски добиви се получават съответните дипептиди (Minchev and Aleksiev, 1976).

Целта на настоящата работа е да се получат амиди на дипептиди с 2,3-дихидро-1,3-диоксо-2-арил-1Н-инден- 2 - оцетни киселини. Наличието на пептидни остатъци в

молекулата на този тип съединения е предпоставка за поява на депоефект, който води до по-ясно изразено и по-дълготрайно анестезиращо действие на получените съединения.

Обсъждане

Използувахме естери на аминокиселини ацилирани с 2-карбоксиметил-2-арил-1,3-индандиони 1, от които по азидния метод получихме хидразидите 2 и 3, като хидразидът 2 се получава с висок добив. Въпреки това азидният метод се оказва неподходящ, тъй-като по този метод изолирахме дипептидите 4 и 5 с твърде ниски добиви (таблица).



Тези резултати ни накараха да изоставим азидния метод и да потърсим друга възможност за синтез на естери на дипептиди, ацилирани със субституирани 2-карбоксиметил-2-арил-1,3- индандиони. Добра перспектива за тази цел разкриват киселините 6, които се получават успешно от съответните естери чрез солно-кисела хидролиза във водно-ацетонова среда (Minchev and Sofroniev, 1983). Киселините 6 се разтварят добре в повечето органични разтворители. Това тяхно отнасяне ни позволи да приложим карбодиимидния метод за синтез на пептиди. По този начин успяхме да синтезираме дипептидите 7-25 с добри добиви (таблица). В инфрачервените спектри на дипептидите 7-25 се наблюдава сложна система от ивици за поглъщане на карбонилните групи в областта 1800 - 1660/см. При съединенията 11-14 са налице две ивици на поглъщане в областта 1740 и 1710/см, дължащи се на симетрични и асиметрични валентни трептения от β -дикарбонилната система от индандионови остатък. За същите съединения има и ивица на поглъщане при 1740-1720/см, дължаща се на валентните трептения на естерна карбонилна група, която се препокрива с ивицата на симетричните валентни трептения на β -дикарбонилната система (1740/см), в резултат на което се наблюдава една обща широка ивица.

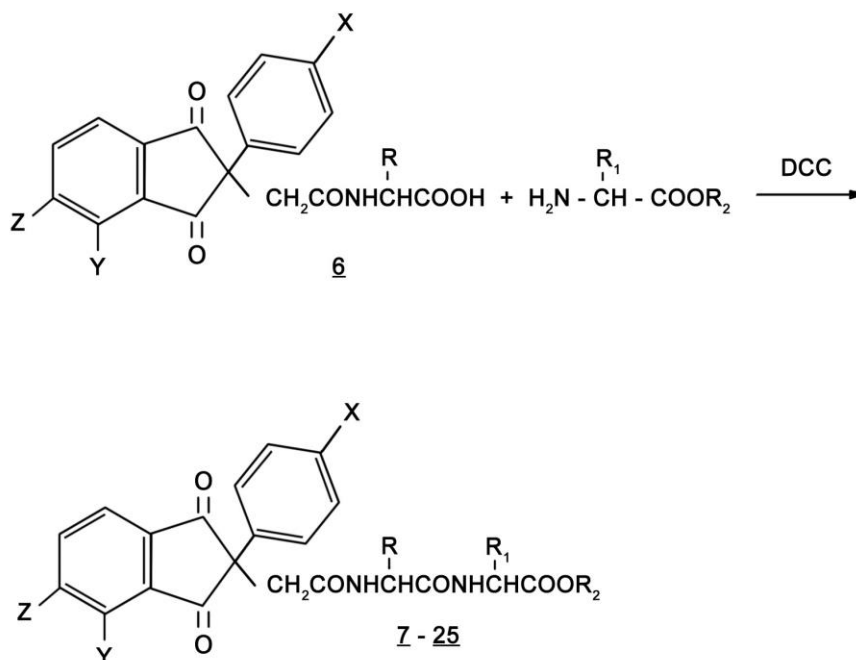
Освен това е налице и ивица за валентните трептения на амидната карбонилна група около 1660/см. При

дипептидите 7-10 и 15-25 в областта 1760-1660/см се наблюдава една интензивна широка ивица, а също така прави впечатление появяването на една интензивна ивица на поглъщане в областта 1800/см. Тази ивица при 1800/см се наблюдава, когато непосредствено свързаната с 2-карбоксиметил-2-арил-1,3-индандиона аминокиселина е глицин или D,L-аланин, като при аланина (съединения 11-13) тя е значително по-слабо интензивна и наред с нея се появяват две неособено интензивни ивици на поглъщане при 1740 и 1710/см. Постава ли се фенилаланин на мястото на аланина (дипептид 14), ивицата около 1800/см изчезва напълно, като остават само ивиците на поглъщане при 1740 и 1710/см, което е характерно за 2,2-дизаместени 1,3-индандиони. Освен това се наблюдава ивица за всички дипептиди 7-25 в областта 1570-1510/см, обусловена от взаимодействието на деформационните трептения на връзката N-H и валентните трептения на връзката C-N от групата C-N-H. При съединения 11-14 в областта 3300-3100/см има група от ивици, дължащи се на валентните трептения на връзката N-H. В спектрите на пептидите 7-23 са налице характерните ивици за асиметрични и симетрични трептения на N=O връзката от нитрогрупата в областта 1550 и 1350/см.

С оглед изясняването характера на ивицата при 1800/см, осъществихме синтезата на дипептида 15 от етиловия естер на глицилглицина и 5-нитро-2-карбоксиметил-2-

фенил-1,3-индандион, както по метода на киселинните хлориди, така и по карбодиимидния метод. Установихме, че по всички методи се получава едно и също съединение 15. По карбодиимидния метод осъществихме синтезата на дипептида 14 от 4-нитро-2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион и етиловият естер на фенилаланилглицина, а

също така и на дипептида 24 от 2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион и етиловия естер на глицилглицина. И тук се наблюдава пълно съвпадение на характеристиките на дипептидите 14 и 24, независимо от това по кой метод са получени.



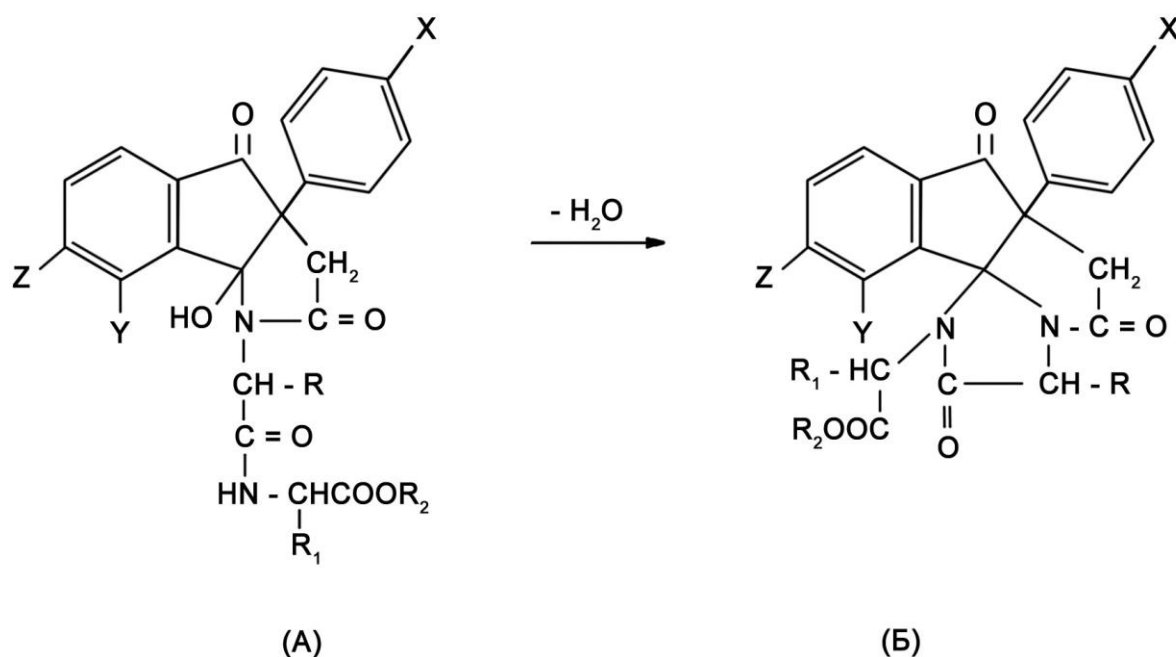
	X	Y	Z	R	R ₁	R ₂
<u>7</u>	H	NO ₂	H	H	D,L-CH ₃	C ₂ H ₅
<u>8</u>	H	NO ₂	H	H	C ₆ H ₅ CH ₂	CH ₃
<u>9</u>	H	NO ₂	H	H	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	C ₂ H ₅
<u>10</u>	H	NO ₂	H	H	C ₂ H ₅ OCO(CH ₂) ₂	C ₂ H ₅
<u>11</u>	H	NO ₂	H	D,L-CH ₃	H	C ₂ H ₅
<u>12</u>	H	NO ₂	H	D,L-CH ₃	C ₆ H ₅ CH ₂	CH ₃
<u>13</u>	H	NO ₂	H	D,L-CH ₃	C ₂ H ₅ OCO(CH ₂) ₂	C ₂ H ₅
<u>14</u>	H	NO ₂	H	C ₆ H ₅ CH ₂	H	C ₂ H ₅
<u>15</u>	H	H	NO ₂	H	H	C ₂ H ₅
<u>16</u>	H	H	NO ₂	H	D,L-CH ₃	C ₂ H ₅
<u>17</u>	H	H	NO ₂	H	C ₆ H ₅ CH ₂	CH ₃
<u>18</u>	H	H	NO ₂	H	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	C ₂ H ₅
<u>19</u>	H	H	NO ₂	H	C ₂ H ₅ OCO(CH ₂) ₂	C ₂ H ₅
<u>20</u>	OCH ₃	H	NO ₂	H	D,L-CH ₃	C ₂ H ₅
<u>21</u>	OCH ₃	H	NO ₂	H	C ₆ H ₅ CH ₂	CH ₃
<u>22</u>	CH ₃	H	NO ₂	H	D,L-CH ₃	C ₂ H ₅
<u>23</u>	CH ₃	H	NO ₂	H	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	C ₂ H ₅
<u>24</u>	H	H	H	H	H	C ₂ H ₅
<u>25</u>	OCH ₃	H	H	H	H	C ₂ H ₅

Появата на широка ивица на поглъщане за дипептидите 7-10 и 15-25 около 1800/см вероятно се дължи на стерични причини. При тези дипептиди е възможна вътрешномолекулна циклизация (А), подобна на вече споменатите циклизации на амиди (Валтер, 1970; Ванга и

Дрегерис, 1964; Дрегерис и др., 1965; Данилова и Перекалин, 1965). По-нататък вероятно настъпва обезводняване и сключване на нов петатомен пръстен (Б). В случая, когато R съответствува на остатъка на фенилаланина, не настъпват циклизации от типа (А) и (Б).

По всяка вероятност голямото отместване в поглъщането на цикличните карбонилни групи се дължи на голямото

напрежение в полицикличната система (Б).



Съставът на новополучените дипептиди 4, 5 и 7-25 се потвърждава от хроматографския анализ на тоталните хидролизати. С помощта на свидетели се установява наличието на съответните аминокиселини, а из киселите хидролизати кристализират добре изходните 2-карбоксиметил-2-арил-1,3-индандиони, които идентифицирахме по смесена температура на топене. В полза на предлаганите структури на новосинтезираните - дипептиди са и резултатите от елементния анализ за азот.

Материали и методи

Температурите на топене са определяни в открита капилара без корекция. Инфракчервените спектри са снети в суспензия от нуйол на спектрофотометър ИКС-22. Специфичните ъгли на въртене $[\alpha]_D^{25}$ на оптически активните съединения са определяни с Carl Zeiss Polarimeter. Органичните разтворители са изпарявани при остатъчно налягане 14 мм живачен стълб. Чистотата на новополучените съединения контролирахме чрез тънкослойна хроматография на плочи SILUFOL. Използвани са следните хроматографски системи: А, етилацетат – петролев етер (1:2); Б, бензол – метанол – оцетна киселина (15:2:1); В, хлороформ – метанол (95:5); Г, н-бутанол – оцетна киселина – вода (4:1:1).

Изходните съединения синтезирахме по познати методи. Метилите и етилови естери на природните аминокиселини и пептиди получихме по Гринштейн и Вино (1965), 4-нитро- и 5-нитро-2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандионите по Minchev and Sofroniev (1982), 2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион по Radulescu and Gheorgiu (1927), етиловият естер на 2-(глицилацетил)-2-(4-метоксифенил)-1,3-индандион 1a и

етиловият естер на 2-(глицилацетил)-2-(4-диметиламинофенил)-1,3-индандион 1b по Minchev et al. (1982) и киселините 6 по Minchev and Sofroniev (1983).

Резултати

1. Получаване на хидразидите 2 и 3.

0,003 М от 1a (1,19 г) или 0,003 М от 1b (1,23 г) се разтварят на горещо в 60 мл абс. етанол. След охлаждане на разтвора до 40°C, се прибавя 5,6 мл хидразинхидрат, при което цветът на разтвора постепенно се углъбява до розов. След 72 часово престояване при стайна температура, разтворът се концентрира под вакуум, прибавя се вода до замътване и след охлаждане се получава жълтооцветена кристална утайка от хидразида 2 (добив 0,80 г/70,0 %; т.т.. 215°C; изчисл. N 11,02, намерен N 11,35) и бяла кристална маса от хидразида 3 – добив 0,05 г (4,2 %); т.т. 230°C.

2. Получаване на дипептидите 4 и 5 по азидния метод.

0,003 М (1,14 г) хидразид 2 се разтваря в 13 мл 2н солна киселина, 32 мл оцетна киселина и 20 мл диметилформамид. След охлаждане до -5°C, се прибавя 0,22 г натриев нитрит, разтворен в 3 мл вода. Разтворът се разбърква 5 мин на магнитна бъркалка, след което получената смес се екстрахира с етер. Екстрактът се промива с вода и смесен воден разтвор на натриев хлорид (18 %) и натриев бикарбонат (3 %), суши се бързо над безводен натриев сулфат и се филтрува върху съответните естери на аминокиселините метионин и левцин, разтворени в 13 мл сух етилацетат и 45 мл етер. След 24 часа разтворът се екстрахира с вода, 2н солна киселина, 8 %-ен воден разтвор на натриев бикарбонат и вода, суши се над безводен натриев сулфат и се изпарява

до сухо под вакуум. Маслообразните остатъци след прекристализиране из етанол-вода, водят до получаването на кристални дипептиди 4 и 5. Данни за получените съединения са посочени в таблицата.

3. Получаване на модифицираните дипептиди 7-25.

0,0015 М от съответната киселина 6 се разтваря в 20 мл сух етилацетат. Разтворът се охлажда до -5°C и към него се прибавя 0,0015 М от етиловия или метилов естер на съответната аминокиселина (глицин, фенилаланин, левцин, глутаминова киселина и D,L-аланин) разтворен в 10 мл етилацетат и също охладен до -5°C. Към получения разтвор се прибавя 0,0015 М (0,31г) дициклохексилкарбодиимид, разтворен в 10 мл сух етилацетат. Реакционната смес се държи 24 часа при 0°C. Прибавя се 0,5 мл 50 %-на оцетна киселина, след 1 час се филтрува отделения дициклохексилкарбамид, а филтратът се промива последователно с 2н солна киселина, вода, 10 % разтвор на натриев бикарбонат и вода. Суши се над безводен натриев сулфат и се изпарява до сухо под намалено налягане. Съединенията 7-23 се прекристализират из хлороформ- петролев етер, а 24 и 25 из 96 %-ен етанол. Данните за новополучените съединения са посочени в таблицата.

4. Получаване на дипептиди 14, 15 и 24 по карбодиимидния метод.

0,0015 М 5-нитро- или 4-нитро-2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион (0,49 г) или 0,0015 М 2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион (0,42 г) се разтварят в 20 мл сух етилацетат. Разтворът се охлажда до -5°C и към него се прибавят също охладени до -5°C, етилацетатните разтвори на 0,0015 М етилов естер на фенилаланилглицина (10мл) или етилов естер на глицилглицина (10мл) и 0,0015 М (0,31 г) дициклохексилкарбодиимид разтворен в 15 мл сух етилацетат. По нататък разработването на реакционната смес следва описанието дадено в т. 3. Получените дипептиди 14 и 15 се кристализират из хлороформ-петролев етер, а 24 из етанол. Температурата на топене за дипептида 14 е 157-158°C, за 15 е 205-206°C, а за 24 230-231°C. Добивът за съединение 14 е 51,4 %, за 15 67,2 % и за 24 61,4 %. Специфичният ъгъл на въртене за 14 е -37,5°(c=1, EtOAc).

5. Получаване на дипептида 15 по метода на киселинните хлориди.

0,0015 М (0,49 г) 5-нитро-2-карбоксиметил-2-фенил-1,3-индандион се разтваря в 15 мл хлороформ. Прибавя се 0,22 мл тионилхлорид и се кипи на обратен хладник в продължение на два часа. Разтворителят се изпарява до сухо под намалено налягане. Остатъкът се разтваря в 20 мл хлороформ, охлажда се до 0°C, след което към него се прикапва при разбъркване 0,003 М от етиловия естер на глицилглицина, разтворен в 15 мл сух хлороформ.. След престояване 12 часа при стайна температура, се отфилтрува отделения хидрохлорид на глицилглициновия естер, а филтратът се промива с 2н солна киселина, вода, 10 %-ен разтвор на натриев бикарбонат и вода и се суши над безводен натриев сулфат. Полученият дипептид 15 е безцветно кристално вещество с т.т. 206-207°C. Добив след прекристализация из хлороформ-петролев етер 72,1 %.

Таблица

№	Т.т.°C	Добив %	Анализ N, % изч. намер.	R _f	[α] _D при t°C C=1, разтворител
<u>4</u>	170	17,3	5,51 5,62	-	-
<u>5</u>	125-127	20,1	5,46 5,52	-	-
<u>7</u>	196-197	71,4	8,72 8,91	0,72 ^A 0,76 ^B	-
<u>8</u>	205-206	57,7	7,73 7,68	0,72 ^A 0,73 ^B	-43,2 ,19 C=1, EtOAc
<u>9</u>	207-209	63,2	8,02 7,98	0,58 ^A 0,68 ^B	-17,4 ,20 C=1, EtOAc
<u>10</u>	202-204	56,7	7,41 7,40	0,56 ^A 0,69 ^B	-19,1 ,20 C=1, ацетон
<u>11</u>	183-184	69,3	8,72 8,87	0,52 ^A 0,62 ^B	-
<u>12</u>	190-192	54,2	7,53 7,50	0,80 ^A 0,87 ^B	-
<u>13</u>	180-182	56,6	7,22 7,30	0,50 ^A 0,64 ^B	-
<u>14</u>	158-159	50,0	7,53 7,77	0,49 ^A 0,54 ^B	-37,3 ,20 C=1, EtOAc
<u>15</u>	206-207	68,8	8,99 8,78	0,87 ^A 0,94 ^B	-
<u>16</u>	112-114	63,5	8,72 8,61	0,67 ^A 0,76 ^B	-
<u>17</u>	212-214	47,9	7,73 7,83	0,66 ^A 0,78 ^B	-53,3 ,2 C=1, EtOAc
<u>18</u>	207-209	63,2	8,02 8,14	0,71 ^A 0,86 ^B	-13,9 ,17 C=1, ацетон
<u>19</u>	199-201	54,0	7,41 7,33	0,86 ^A 0,93 ^B	-17,1 ,19 C=1, ацетон
<u>20</u>	213-215	62,1	8,21 8,25	0,67 ^A 0,81 ^B	-
<u>21</u>	204-206	68,9	7,33 7,22	0,80 ^A 0,87 ^B	-37,0 ,19 C=1, EtOAc
<u>22</u>	206-208	70,3	8,48 8,35	0,68 ^A 0,79 ^B	-
<u>23</u>	201-203	60,0	7,82 7,54	0,77 ^A 0,89 ^B	-9,8 ,20 C=1, ацетон
<u>24</u>	230-231	73,8	6,63 6,56	0,85 ^B 0,62 ^Г	-
<u>25</u>	158-160	82,2	6,19 6,37	0,85 ^B 0,56 ^Г	-

Литература

- Валтер, Р. 1966. ЖОрХ, 2, 2201.
Валтер, Р., Артюх, М., Фреймане, З., Кипиня, А. 1966. "Химия дикарб. соед. ", Тез. докл., Рига, 16 с.
Цируле, Д., Фреймане, З., Артюх, М. 1975. Изв. Ан Латв.ССР, фармакология, (11), 96.
а Валтер, Р., Валтер, С., Кипиня, А. 1968. ЖОрХ, 4, 445.

б Валтер, Р., Валтер, С., Кипиня, А. 1968. сб. "Биолог. акт. соед. ", 213 с.
 Minchev, S., Sofroniev, N. 1982. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 35(3), 343.
 Minchev, S., Aleksiev, B. 1976. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 29(3), 363.
 Minchev, S., Sofroniev, N., Aleksiev, B., Ljapova, A., Nedev, H. 1982. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 35(3), 347.
 Radulescu, D., Gheorgiu, Gh. 1927. Ber. Deut. Chem. Ges., 60, 186.
 Gheorgiu, Gh. 1939. Bull. Soc. Chim., 6, 493.
 Koelsch, C., Byers, D. 1940. J. Am. Chem. Soc., 62, 560.
 Залукаев, Л., Щербань, А., Свиридов, О. 1972. ВИНТИ, № 5680-73, по С.А. 1976. 85, 32677 х.
 Щербань, А., Алексюк, М., Харитонов, Г. 1978. Изв. высш. учебн. завед., Хим., хим. технол., 21(3), 342.

а Валтер, Р. 1969. Изв. АН Латв. ССР, с.х., (1), 91.
б Валтер, Р. 1969. Изв. АН Латв. ССР, с.х., (6), 699.
 Минчев, С. 1973. Кандид. дисертация, ВХТИ – София.
 Валтер, Р. 1970. Изв. АН Латв. ССР, с.х., (2), 223.
 Ванаг, Г., Дрегерис, Я. 1964. Изв. АН Латв. ССР, с.х., (5), 559.
 Дрегерис, Я., Германе, С., Ванаг, Г. 1965. Изв. АН Латв. ССР, с.х., (6), 742.
 Данилова, Е., Перекалин, Б. 1965. ЖОрХ, 1, 1708.
 Minchev, S., Aleksiev, B. 1976. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 29(4), 527.
 Minchev, S., Sofroniev, N. 1983. Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 136(2), 217.
 Гринштейн, Д., Вениц, М. 1965. "Химия аминокислот и пептидов", Мир, Москва.

Препоръчана за публикуване от
 Катедра "Химия", МТФ