

# СИНТЕЗ ФОСФОИЗОСТЕРОВ ДИПЕПТИДНЫХ КОМПОНЕНТ АМИЛОИДА

© 2024 г. С. Р. Головаш<sup>1</sup>, Д. Е. Иванов<sup>1</sup>, А. В. Бородачев<sup>1</sup>, В. И. Шестов<sup>1</sup>,  
М. Э. Дмитриев<sup>1</sup>, В. В. Рагулин<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологически активных веществ Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук, Черноголовка, 142432 Россия

\*e-mail: rvalery@dio.ru

Поступило в редакцию 21 октября 2023 г.

После доработки 17 ноября 2023 г.

Принято к печати 20 ноября 2023 г.

Предложен простой и эффективный метод синтеза новых свободных фосфиновых кислых пептидов, структурных изомеров дипептидных составляющих бета-амилоида (A $\beta$ 42), потенциальных ингибиторов цинк-металлопротеиназ.

**Ключевые слова:** карбаматная версия реакции Кабачника–Филдса, амилоид, ацетилхлорид, уксусный ангидрид, амидоалкилирование, фосфиновые кислые пептиды

**DOI:** 10.31857/S0044460X24010081, **EDN:** HKVRCB

## ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее плодотворных подходов к поиску физиологически активных веществ является фосфорная модификация природных аминокислот и пептидов. Замена пептидной ННС (O) связи в молекуле дипептида метиленфосфорильным CH<sub>2</sub>P (O) (OH) фрагментом приводит к образованию  $\alpha$ -аминофосфиновых кислот – фосфиновых пептидов, связывающих в молекуле две аминокислотные компоненты с помощью Zn-хелатирующей кислой фосфиновой функции, которая имитирует природную пептидную связь с тетракоординированным атомом углерода в переходном состоянии пептидного гидролиза [1–4]. Поэтому образующиеся фосфиновые пептиды, структурные изомеры пептидов, являются мощными ингибиторами Zn-металлопротеиназ, вовлеченных в разнообразные биологические процессы [5–8]. В этой связи развитие синтетических методов модификации природной пептидной молекулы является актуальным.

В настоящей работе в качестве объекта для фосфиновой модификации предложен бета-амилоид A $\beta$ 42,

который считают ключевым пептидом в патогенезе болезни Альцгеймера, усиливающим олигомеризацию и образование так называемых амилоидных бляшек, состоящих из скоплений пептида, свернутых в виде бета-складки [9–15]. В данной работе предложен метод синтеза новых фосфоизомеров N- и C-терминальных дипептидных компонент амилоида, аспартилаланина (A $\beta$ 1-2) и изолейцилаланина (A $\beta$ 41-42) соответственно. Интересно отметить, что амилоид A $\beta$ 42 отличается от амилоида A $\beta$ 40 наличием этой последней дипептидной составляющей (A $\beta$ 41-42), при этом в литературе отсутствуют данные об участии A $\beta$ 40 в процессах олигомеризации и образовании амилоидных бляшек. В работе также осуществлен синтез фосфоизомеров некоторых дипептидных компонент середины полипептидной цепочки амилоида A $\beta$ 42: валилфенилаланина (A $\beta$ 18-19) фенилаланилфенилаланина (A $\beta$ 19-20), фенилаланилаланина (A $\beta$ 20-21) валилглицина (A $\beta$ 24-25 и A $\beta$ 36-37) и глицилглицина (A $\beta$ 37-38). Необходимо отметить, что ранее нами были синтезированы фосфиновые изомеры дипептидных

компонент амилоида: изолейцилглицина (Аβ32-33) и глициллейцина (Аβ33-34) [16].

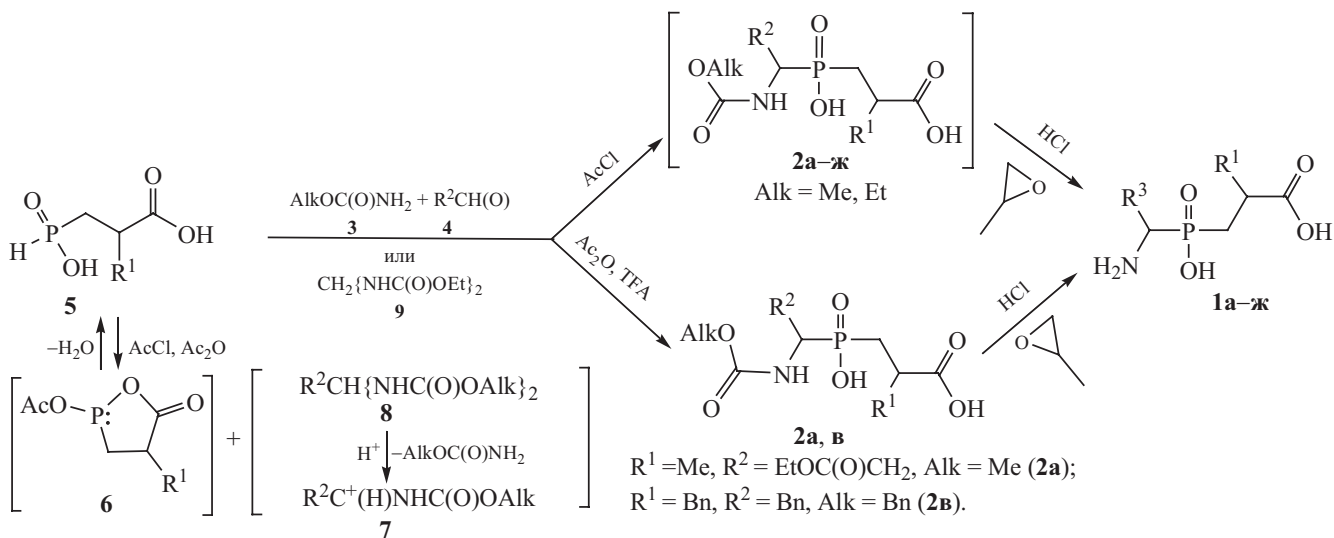
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе предложен простой и эффективный метод синтеза свободных α-аминофосфиновых кислот – пептидов **1а-ж** (схема 1). Использована трехкомпонентная карбаматная версия реакции Кабачника–Филдса в среде ацетилхлорида без выделения образующихся N-защищенных фосфиновых пептидов **2** в индивидуальном виде (схема 1). В этом случае в качестве N-компоненты синтеза использовали водорастворимые метил- и этилкарбаматы **3**, которые вводили в реакционную сферу в небольшом избытке с целью наиболее полного расходования альдегида **4** и фосфонистой кислоты **5** в процессе реакции, а также с целью удаления непрореагировавших соединений в процессе обработки реакционной смеси. В предложенной N+PC процедуре использованы фосфонистые карбоновые кислоты **5**, использование которых более эффективно в сравнении с фосфонистыми карбоновыми эфирами

по причине генерирования *in situ* в условиях реакции высоко реакционного нуклеофильного интермедиата, смешанного фосфокарбонного ангидрида – фосфолактона **6** (схема 1) [17]. В свою очередь, электрофильной компонентой, непосредственно участвующей в образовании фосфор-углеродной связи, является ацилиминиевый катион **7**, генерируемый *in situ* в условиях кислого катализа из соответствующего диалкил алкилиденбискарбамата **8**, как было нами показано ранее [18–20]. Последний является относительно стабильным интермедиатом реакции, легко образующимся из соответствующих алкилкарбамата **3** и карбонильного соединения **4** в условиях реакции (схема 1) [18–20].

Синтез фосфинового изостера глицилглицина **1е** (Аβ37-38) осуществлен путем двухкомпонентной версии реакции с использованием в качестве электрофильной компоненты предварительно синтезированного диэтилметилденбискарбамата **9** (схема 1), совмещающего в молекуле amino- и карбонильную (формальдегид) компоненты.

Схема 1.



Abeta 1-2,  $R^1 = \text{Me}, R^3 = \text{HO(O)CCH}_2$  (**1a**); Abeta 18-19,  $R^1 = \text{Bn}, R^3 = i\text{-Pr}$  (**1б**); Abeta 19-20,  $R^1 = \text{Bn}, R^3 = \text{Bn}$  (**1в**); Abeta 20-21,  $R^1 = \text{Me}, R^3 = \text{Bn}$  (**1г**); Abeta 24-25 и 36-37,  $R^1 = \text{H}, R^3 = i\text{-Pr}$  (**1д**); Abeta 37-38,  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}$  (**1е**); Abeta 41-42,  $R^1 = \text{Me}, R^3 = s\text{-Bu}$  (**1ж**).

Образующиеся N-метилоксикарбонил- и N-этилоксикарбонилзащищенные пептиды **2a–ж** (Alk = Me, Et) без выделения подвергали кислотному гидролизу и получали искомые пептиды **1a–ж** в свободной форме (схема 1). Контроль за ходом реакции проводили с помощью ЯМР  $^{31}\text{P}$  спектроскопии. Предложенный подход достаточно эффективен для получения свободных фосфиновых пептидов в укрупненных масштабах, которые могут быть использованы для дальнейших пептидных построений.

Кроме того, синтез N-защищенных фосфиновых пептидов **2a** [изостер дипептидной компоненты AspAla (A $\beta$ 1-2)] и **2в** [изостер дипептидной компоненты PhePhe (A $\beta$ 19-20)] осуществлен в более мягких условиях в соответствии с N+PC процедурой амидоалкилирования фосфонистых кислот **5** (R = Me и Bn) с участием соответствующих алкилкарбаматов **3** (Alk = Me и Bn) и альдегидов **4** [R $^2$  = EtOC(O)CH $_2$  и Bn] в среде уксусного ангидрида в условиях кислого катализа, осуществляемого трифторуксусной кислотой (TFA) (схема 1) [17–20]. Последующий кислотный гидролиз N-защищенных пептидов **2a** и **2в** также позволил получить фосфиновые пептиды **1a** и **1в** в свободной форме, физико-химические и спектральные данные которых значительно не отличались от данных для пептидов **1a** и **1в**, полученных более простым методом, описанным выше.

Строение целевых N-защищенных фосфиновых пептидов **2a**, **в** и пептидов в свободной форме аминокислотных фосфиновых кислот **1a–ж** определяется природой заместителей R $^1$  и R $^2$  (R $^3$ ) в соответствующих C- и N-компонентах образующегося фосфинового дипептида. В работе использованы фосфонистые карбоновые кислоты **5**, содержащие структурный изостер глицина (R $^1$  = H) (**5a**), аланина (R $^1$  = Me) (**5б**) и фенилаланина (R $^1$  = Bn) (**5в**).

## ВЫВОДЫ

Таким образом, предложена простая и эффективная методика синтеза новых аминокислотных фосфиновых кислот в свободной форме – фосфоизостеров дипептидных компонент бета-амилоида A $\beta$ 42.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  и  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  снимали на Фурье-спектрометре Bruker DPX-200 и Bruker Avance III 500, при необходимости проводили

DEPT  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  ЯМР эксперимент. Ход реакций контролировали с помощью спектроскопии ЯМР  $^{31}\text{P}$  и (или) ТСХ. Все соединения, для которых приведены спектральные и аналитические данные, гомогенны по данным ТСХ. Аналитическую тонкослойную хроматографию проводили на покрытых диоксидом кремния алюминиевых пластинах (силикагель Силуфол-254) с использованием УФ света в качестве визуализирующего агента (254 нм) и пламени для контроля визуализации, а также на пластинках Alufol с использованием раствора нингидрина для анализа аминокислот. Для ионообменной хроматографии использовали катиониты Purolite C100E (H $^+$ ) или Dowex 50WX8-200 (H $^+$ ). Температуру плавления определяли на приборе Boetius PNMK или в блоке в открытом стеклянном капилляре. Для фосфиновых пептидов **1a–ж** в свободной форме и N-защищенных фосфиновых пептидов **2a** и **2в** получены масс-спектры высокого разрешения (HRMS) в отрицательной форме с использованием масс-спектрометра Orbitrap Exactive (ThermoFisher Scientific).

Получение фосфонистых карбоновых кислот **5** осуществляли в соответствии с ранее опубликованными методиками [18–20].

**Диэтилметиленбискарбамат (9).** Смесь диэтоксиметана (0.05 моль), 2 экв. этилкарбамата (0.10 моль) и 2 экв. трифторуксусной кислоты (0.10 моль) в растворе уксусного ангидрида (15–17 мл) перемешивали при комнатной температуре, затем реакционную смесь упаривали, остаток распределяли между хлороформом (30 мл) и водой (10 мл). Органическую фазу дополнительно промывали водой (10 мл), сушили сульфатом натрия и упаривали в вакууме. Остаток кристаллизовали из диэтилового эфира. Выход 5.3 г (56%), белые кристаллы, т. пл. 122–123°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (CDCl $_3$ ),  $\delta$ , м. д.: 1.22 т (6H, CH $_3$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  7.1 Гц), 4.10 к (4H, CH $_2$ O,  $^3J_{\text{HH}}$  7.1 Гц), 4.47 т (2H, NCH $_2$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  6.6 Гц), 5.40–5.95 м (2H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (CDCl $_3$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 14.4 (CH $_3$ ), 47.9 (NCH $_2$ ), 61.0 (OCH $_2$ ), 156.9 (C=O). Найдено, %: C 43.92, 43.83; H 7.56, 7.70; N 14.66, 14.53. C $_7$ H $_{14}$ N $_2$ O $_4$ . Вычислено, %: C 44.20; H 7.42; N 14.73.

**Общая методика синтеза свободных фосфиновых пептидов 1a–ж.** К перемешиваемому раствору 5 ммоль соответствующей фосфонистой кислоты **5** и 6.0 ммоль метил- или этилкарбамата в растворе 20 мл

охлажденного до  $\sim 5^\circ\text{C}$  ацетилхлорида добавляли по каплям 5.2–5.5 ммоль соответствующего альдегида **4**. Образовавшуюся смесь перемешивали при постепенном самонагревании до комнатной температуры. По завершении реакции смесь разбавляли 10 мл хлористого метилена и упаривали в вакууме. Маслообразный остаток распределяли между этилацетатом и водой (25 и 10 мл), органический слой дополнительно промывали водой ( $2 \times 10$  мл) и упаривали в вакууме. Остаток, согласно данным ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$ , представлял собой N-метилоксикарбонил- или N-этилоксикарбонилзащищенную фосфиновую кислоту **2a–ж** ( $\delta_{\text{P}}$  51–55 м. д.). Его кипятили в 25–30 мл 6 н. HCl в течение  $\sim 10$  ч. Если органический остаток содержал исходную фосфонистую кислоту **5** ( $\delta_{\text{P}}$  25–35 м. д., обычно не более 10%), реакционную массу после кислотного гидролиза подвергали ионообменной хроматографии на катионите ( $\text{H}^+$ ) (элюент –  $\text{H}_2\text{O}$ –1 н. HCl). Элюат с положительной реакцией на нингидрин упаривали в вакууме. Образующиеся в результате гидролиза или хроматографии гидрохлориды аминокислот **1a–ж** растворяли в водном спирте и обрабатывали избытком окиси пропилена. Свободные аминокислоты **1a–ж** кристаллизовали из спирта или из смеси спирт–диэтиловый эфир. Фосфиновые пептиды **1a–ж** представляли собой белые кристаллические вещества.

В случае синтеза фосфинового пептида **1a** (изомер AspAla, дипептидной компоненты A $\beta$ 1–2) этоксикарбонилуксусный альдегид вводили в реакцию в виде раствора 5.5 ммоль диэтилацетата этоксикарбонилуксусного альдегида в смеси 1 мл уксусного ангидрида и 1 мл TFA после перемешивания этого раствора в течение 10–15 мин. Далее синтез проводили согласно общей процедуре.

В случае синтеза фосфинового пептида **1e** (изомера GlyGly, дипептидной компоненты A $\beta$ 37–38) к перемешиваемому раствору 5 ммоль соответствующей фосфонистой кислоты **5** ( $\text{R}^1 = \text{H}$ ) в растворе 20 мл охлажденного до  $\sim 5^\circ\text{C}$  ацетилхлорида порциями добавляли 5.5–6.0 ммоль предварительно синтезированного диэтилметиленискарамата **9**. Затем синтез проводили в соответствии с общей процедурой.

**1-Амино-2-гидроксикарбонилэтил-2'-(гидроксикарбонил) пропилфосфиновая кислота (1a).** Выход 47%, т. пл. 125–128 $^\circ\text{C}$ ,  $R_f \sim 0.1$  (*i*-BuOH:AcOH:H $_2$ O = 20:5:3). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$  +

DCl),  $\delta$ , м. д.: 1.21 д (3H, CH $_3$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  7.0 Гц), 1.52–1.80 м (1H, PCH $_2$ ), 1.95–2.20 м (1H, PCH $_2$ ), 2.50–2.93 м (3H, CH $_2$ COOH + CHCOOH), 3.40–3.68 м (1H, PCHN). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  { $^1\text{H}$ } ( $\text{D}_2\text{O}$  + DCl),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 18.2\* д (CH $_3$ ,  $^3J_{\text{PC}}$  5.1 Гц), 18.8 д (CH $_3$ ,  $^3J_{\text{PC}}$  7.3 Гц), 29.5\* д (PCH $_2$ ,  $^1J_{\text{PC}}$  91.1 Гц), 31.7 д (PCH $_2$ ,  $^1J_{\text{PC}}$  95.9 Гц), 32.0 д [CHC (O),  $^2J_{\text{PC}}$  6.2 Гц], 33.2\* [CH $_2$ C (O)], 34.3 [CH $_2$ C (O)], 46.9 д (PCHN,  $^1J_{\text{PC}}$  92.6 Гц), 173.9 д [CH $_2$ C (O),  $^3J_{\text{PC}}$  11.7 Гц], 180.4 д [CHC (O),  $^3J_{\text{PC}}$  8.1 Гц]. Здесь и далее звездочкой отмечены соответствующие сигналы минорной формы, диастереомера или конформера. Спектр ЯМР  $^{31}\text{P}$  { $^1\text{H}$ } ( $\text{D}_2\text{O}$  + DCl):  $\delta_{\text{P}}$  32.9 м. д. Масс-спектр (HRMS ESI/Q-TOF), *m/z*: 238.0490 [*M* – H] $^-$  (вычислено для C $_7$ H $_{13}$ NO $_6$ P $^-$ : 238.0481). Найдено, %: C 34.88; H 6.21; N 6.07. C $_7$ H $_{14}$ NO $_6$ P. Вычислено, %: C 35.15; H 5.90; N 5.86.

**1-Амино-2-метилпропил-2'-гидроксикарбонил-2'-бензилэтилфосфиновая кислота (16).** Выход 63%, т. пл. 115–117 $^\circ\text{C}$ ,  $R_f \sim 0.2$  (*i*-BuOH:AcOH:H $_2$ O = 20:4:3). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta$ , м. д.: 0.82 д (3H, CH $_3$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  6.2 Гц), 0.88 д (3H, CH $_3$ ,  $^3J_{\text{HH}}$  6.6 Гц), 1.44–1.70 м (1H, CHCH $_3$ ), 1.72–2.10 м (2H, PCH $_2$ ), 2.27–2.60 м (1H, CHCOOH), 2.65–2.77 м (2H, CH $_2$ Ph), 2.75–2.98 м (1H, PCHN), 7.02–7.90 м (5H, Ph). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  { $^1\text{H}$ } ( $\text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 16.6 д (CH $_3$ ,  $^3J_{\text{PC}}$  3.3 Гц), 16.8\* д (CH $_3$ ,  $^3J_{\text{PC}}$  3.3 Гц), 21.0 д (CH $_3$ ,  $^3J_{\text{PC}}$  11.1 Гц), 21.1\* д (CH $_3$ ,  $^3J_{\text{PC}}$  10.7 Гц), 27.2\* и 27.5 (CHCH $_3$ ), 31.1 д (PCH $_2$ ,  $^1J_{\text{PC}}$  85.9 Гц), 39.9 д (CH $_2$ Ph,  $^3J_{\text{PC}}$  6.6 Гц), 40.1\* д (CH $_2$ Ph,  $^3J_{\text{PC}}$  8.8 Гц), 45.3 д (CHCOOH,  $^3J_{\text{PC}}$  1.8 Гц), 45.5\* д (CHCOOH,  $^3J_{\text{PC}}$  2.2 Гц), 54.9\* д (PCHN,  $^1J_{\text{PC}}$  96.2 Гц), 55.6 д (PCHN,  $^1J_{\text{PC}}$  95.8 Гц), 126.2, 128.4, 129.0, 140.3 (Ar), 183.4\* д (C=O,  $^3J_{\text{PC}}$  7.4 Гц), 183.5 д (C=O,  $^3J_{\text{PC}}$  8.5 Гц). Спектр ЯМР  $^{31}\text{P}$  { $^1\text{H}$ } ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta_{\text{P}}$  35.9 м. д. Найдено, %: C 55.88; H 7.67; N 4.57. C $_{14}$ H $_{22}$ NO $_4$ P. Вычислено, %: C 56.18; H 7.41; N 4.68.

**1-Амино-2-фенилэтил-2'-гидроксикарбонил-2'-бензилэтилфосфиновая кислота (1v).** Выход 57%, т. пл. 148–150 $^\circ\text{C}$ ,  $R_f \sim 0.25$  (*i*-BuOH:AcOH:H $_2$ O = 4:1:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$  + NaOD, pH  $\sim 10$ ),  $\delta$ , м. д.: 1.43–1.77 м (1H, PCH $_2$ ), 1.80–2.10 м (1H, PCH $_2$ ), 2.24–2.51 м (1H, CHCOOH), 2.58–2.95 м (4H, PhCH $_2$ ), 2.95–3.17 м (1H, PCHN). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  { $^1\text{H}$ } ( $\text{D}_2\text{O}$  + NaOD, pH  $\sim 10$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 30.0\* д (PCH $_2$ ,  $^1J_{\text{PC}}$  88.7 Гц), 30.1 д (PCH $_2$ ,  $^1J_{\text{PC}}$  88.2 Гц), 35.4\* и 36.1 (PhCH $_2$ ), 40.0\*, 40.1, 40.2\* (CHCOOH), 45.2 д (PhCH $_2$ ,  $^2J_{\text{PC}}$  3.3 Гц), 45.3 д (PhCH $_2$ ,  $^2J_{\text{PC}}$  2.9 Гц), 52.3\* д (PCHN,  $^1J_{\text{PC}}$  95.8 Гц), 52.7 д (PCHN,  $^1J_{\text{PC}}$  95.8 Гц), 126.2\*,



126.3\*, 126.4, 126.8\*, 128.4\*, 128.5\*, 128.6, 128.8, 128.9, 129.1\*, 129.2, 129.4, 129.5, 138.8, 138.9, 139.0 (CH-Ar), 140.3 д (C-Ar,  $^3J_{PC}$  10.0 Гц), 183.4 д (C=O,  $^3J_{PC}$  8.1 Гц). Спектр ЯМР  $^{31}P\{^1H\}$  ( $D_2O + NaOD$ , pH ~ 10),  $\delta_p$ , м. д.: 41.1\*, 43.4, 43.9\*. Масс-спектр (HRMS ESI/Q-TOF),  $m/z$ : 346.1216 [ $M - H$ ] $^-$  (вычислено для  $C_{18}H_{21}NO_4P^-$ : 346.1208). Найдено, %: C 61.90; H 6.53; P 9.07.  $C_{18}H_{22}NO_4P$ . Вычислено, %: C 62.24; H 6.38; P 8.92.

**1-Амино-2-фенилэтил-2'-гидроксикарбонилпропилфосфиновая кислота (1г).** Выход 60%, т. пл. 165–166°C,  $R_f \sim 0.15$  (BuOH:AcOH:H<sub>2</sub>O = 20:5:3). Спектр ЯМР  $^1H$  ( $D_2O$ ),  $\delta$ , м. д.: 0.97 д (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{HH}$  7.0 Гц), 1.40–1.65 м (1H, PCH<sub>2</sub>), 1.75–2.00 м (1H, PCH<sub>2</sub>), 2.40–2.85 м (2H, PhCH<sub>2</sub>), 2.92–3.13 м (1H, CHCOOH), 3.37–3.69 м (1H, PCHN), 6.95–7.25 м (5H, Ph). Спектр ЯМР  $^{13}C\{^1H\}$  ( $D_2O$ ),  $\delta_c$ , м. д.: 18.5\* д (CH<sub>3</sub>,  $^3J_{PC}$  6.2 Гц), 18.7 д (CH<sub>3</sub>,  $^3J_{PC}$  6.6 Гц), 30.8 д (PCH<sub>2</sub>,  $^1J_{PC}$  92.9 Гц), 33.2\* и 33.3 (PhCH<sub>2</sub>), 33.8 (CHCOOH), 51.2 (PCHN,  $^1J_{PC}$  94.0 Гц), 128.1, 129.4, 129.5 (CH-Ar), 134.7 д (C-Ar,  $^3J_{PC}$  8.4 Гц), 179.5 д (C=O,  $^3J_{PC}$  7.3 Гц). Спектр ЯМР  $^{31}P\{^1H\}$  ( $D_2O$ ):  $\delta_p$  41.8 м. д. Масс-спектр (HRMS ESI/Q-TOF),  $m/z$ : 270.0900 [ $M - H$ ] $^-$  (вычислено для  $C_{12}H_{17}NO_4P^-$ : 270.0901). Найдено, %: C 52.87; H 6.80; N 5.07.  $C_{12}H_{18}NO_4P$ . Вычислено, %: C 53.14; H 6.69; N 5.16.

**1-Амино-2-метилпропил-2'-гидроксикарбонилэтилфосфиновая кислота (1д).** Выход 52%, т. пл. 184–186°C,  $R_f \sim 0.1$  (*i*-BuOH:AcOH:H<sub>2</sub>O = 4:1:1). Спектр ЯМР  $^1H$  ( $D_2O$ ),  $\delta$ , м. д.: 0.99 д (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{HH}$  7.9 Гц), 1.03 д (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{HH}$  7.3 Гц), 1.75–2.00 м (2H, PCH<sub>2</sub>), 2.10–2.30 м (1H, CH), 2.40–2.65 м (2H, CH<sub>2</sub>), 2.80–3.20 м (1H, CHN). Спектр ЯМР  $^{13}C\{^1H\}$  ( $D_2O$ ),  $\delta_c$ , м. д.: 17.9 д (CH<sub>3</sub>,  $^3J_{PC}$  5.1 Гц), 20.1 д ( $^3J_{PC}$  6.2 Гц), 24.4 д ( $^1J_{PC}$  95.9 Гц), 26.8, 26.9, 55.7 д ( $^1J_{PC}$  91.5 Гц), 177.5 д (C=O,  $^3J_{PC}$  15.0 Гц). Спектр ЯМР  $^{31}P\{^1H\}$  ( $D_2O$ ):  $\delta_p$  34.7 м. д. Масс-спектр (HRMS ESI/Q-TOF),  $m/z$ : 208.0730 [ $M - H$ ] $^-$  (вычислено для  $C_7H_{15}NO_4P^-$ : 208.0733). Найдено, %: C 39.90; H 7.88; P 6.48.  $C_7H_{16}NO_4P$ . Вычислено, %: C 40.19; H 7.71; N 6.70.

**Аминометил-2'-гидроксикарбонилэтилфосфиновая кислота (1е).** Выход 59%, т. пл. 137–138°C,  $R_f \sim 0.1$  (BuOH:AcOH:H<sub>2</sub>O = 4:2:1). Спектр ЯМР  $^1H$  ( $D_2O$ ),  $\delta$ , м. д.: 1.75–2.00 м (2H, PCH<sub>2</sub>), 2.42–2.63 [2H, CH<sub>2</sub>C(O)], 3.02 д (2H, NCH<sub>2</sub>,  $^2J_{PH}$  9.8 Гц). Спектр ЯМР  $^{13}C\{^1H\}$  ( $D_2O$ ),  $\delta_c$ , м. д.: 24.1 д (PCH<sub>2</sub>C,  $^1J_{PC}$  97.3 Гц), 26.9 д (PCH<sub>2</sub>C,  $^2J_{PC}$  3.3 Гц), 37.4 д

(PCH<sub>2</sub>N,  $^1J_{PC}$  93.7 Гц), 177.1 д (C=O,  $^3J_{PC}$  13.5 Гц). Спектр ЯМР  $^{31}P\{^1H\}$  ( $D_2O$ ):  $\delta_p$  35.6 м. д. Масс-спектр (HRMS ESI),  $m/z$ : 166.0275 [ $M - H$ ] $^-$  (вычислено для  $C_4H_9NO_4P^-$ : 166.0269).

**1-Амино-2-метилбутил-2'-гидроксикарбонилпропилфосфиновая кислота (1ж).** Выход 56%, т. пл. 135–137°C,  $R_f \sim 0.20$  (BuOH:AcOH:H<sub>2</sub>O = 4:2:1). Спектр ЯМР  $^1H$  ( $D_2O$ ),  $\delta$ , м. д.: 0.84 т (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{HH}$  7.0 Гц), 0.97 д (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{HH}$  7.1 Гц), 1.02\* д (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{HH}$  7.1 Гц), 1.21 д (3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J_{HH}$  7.1 Гц), 1.28–1.45 м (1H, PCH<sub>2</sub>), 1.45–1.80 м (2H, PCH<sub>2</sub> + CHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.83–2.18 м (2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.68–2.88 м (1H, CHCOOH), 2.95–3.20 (1H, CHN). Спектр ЯМР  $^{13}C\{^1H\}$  ( $D_2O$ ),  $\delta_c$ , м. д.: 10.4\* и 10.7 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 14.0 д (CH<sub>3</sub>CH,  $^3J_{PC}$  3.3 Гц), 14.1 д (CH<sub>3</sub>CH,  $^3J_{PC}$  3.3 Гц), 15.7\* д (CH<sub>3</sub>CH,  $^3J_{PC}$  3.6 Гц), 15.8\* д (CH<sub>3</sub>CH,  $^3J_{PC}$  3.7 Гц), 18.4\* д (CH<sub>3</sub>CHCOOH,  $^3J_{PC}$  3.7 Гц) и 18.6 д (CH<sub>3</sub>CHCOOH,  $^3J_{PC}$  3.7 Гц), 24.5\* д (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,  $^3J_{PC}$  4.8 Гц), 24.6\* д (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,  $^3J_{PC}$  4.8 Гц), 26.7 д (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,  $^3J_{PC}$  8.5 Гц), 32.1 д (PCH<sub>2</sub>,  $^1J_{PC}$  94.0 Гц) и 32.4\* д (PCH<sub>2</sub>,  $^1J_{PC}$  93.6 Гц) и 32.6\* д (PCH<sub>2</sub>,  $^1J_{PC} \sim 95$  Гц, часть дублета перекрывается интенсивным сигналом CH<sub>3</sub>CHCH), 32.8\* и 33.5 (CH<sub>3</sub>CHCH), 33.9 д (CH<sub>3</sub>CHCOOH,  $^2J_{PC}$  4.1 Гц), 53.5\* д (PCHN,  $^1J_{PC}$  93.2 Гц), 53.7 д (PCHN,  $^1J_{PC}$  92.5 Гц), 55.1\* д (PCHN,  $^1J_{PC}$  92.1 Гц), 55.2 д (PCHN,  $^1J_{PC}$  91.4 Гц), 180.4 д (C=O,  $^3J_{PC}$  8.5 Гц). Спектр ЯМР  $^{31}P\{^1H\}$  ( $D_2O$ ):  $\delta_p$  34.9 м. д. Масс-спектр (HRMS ESI/Q-TOF),  $m/z$ : 236.1057 [ $M - H$ ] $^-$  (вычислено для  $C_9H_{19}NO_4P^-$ : 236.1057). Найдено, %: C 45.27; H 8.78; N 6.08.  $C_9H_{20}NO_4P$ . Вычислено, %: C 45.57; H 8.50; N 5.90.

**Общая методика синтеза N-защищенных фосфиновых пептидов 2а и 2в.** К перемешиваемой смеси 5 ммоль метил- или бензилкарбамата **3** и 5 ммоль соответствующей фосфонистой кислоты **5б** ( $R^1 = Me$ ) или **5в** ( $R^1 = Bn$ ) в растворе 15 мл уксусного ангидрида при комнатной температуре добавляли по каплям раствор 5.5 ммоль диэтилацетата этоксикарбонилуксусного альдегида в смеси 1 мл уксусного ангидрида и 1 мл трифторуксусной кислоты после перемешивания этого раствора в течение 10–15 мин в случае синтеза фосфинового пептида **2а** или 5.5 ммоль фенилуксусного альдегида в случае синтеза N-бензилоксикарбонил-защищенного фосфинового пептида **2в**. По завершении реакции смесь упаривали в вакууме, остаток растворяли в 4–5 мл хлористого метилена и промывали водой

(3×1 мл). Органическую фазу упаривали и остаток кристаллизовали из диэтилового эфира или смеси диэтиловый эфир–петролейный эфир (40–70). N-Защищенные пептиды **2a** и **2b** представляли собой белые кристаллические вещества.

Гидролиз N-защищенных фосфиновых пептидов **2a** и **2b** в 6 н. HCl позволил получить фосфиновые пептиды **1a** и **1b** в свободной форме, константы и спектральные данные которых значительно не отличались от данных для этих пептидов, полученных в соответствии с более простой процедурой без выделения пептидов **2**.

**1-(N-Метилзоксикарбонил) аминокислота-2-этилокси-карбонилэтил-2'-гидроксикарбонилпропил-фосфиновая кислота (2a)**. Выход 45%, т. пл. 97–99°C,  $R_f \sim 0.25$  (CHCl<sub>3</sub>–i-PrOH–AcOH, 10:1:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + 1–2 капли TFA), δ, м. д.: 1.25 т (3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> 7.1 Гц), 1.40 д (3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> 7.1 Гц), 1.80–2.20 м (1H, PCH<sub>2</sub>), 2.25–2.63 м (1H, PCH<sub>2</sub>), 2.55–3.40 м [3H, CH<sub>2</sub>C(O) + CHC(O)], 3.76 с и 3.84\*с (3H, CH<sub>3</sub>O), 4.22 к (2H, CH<sub>2</sub>O), 4.45–4.70 м (PCHN), 6.11 уш. д и 6.67\* уш. д (1H, NH, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> 8.8, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> 9.3\* Гц). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} (CDCl<sub>3</sub> + 1–2 капли TFA), δ<sub>C</sub>, м. д.: 13.5 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 18.6\* д (CH<sub>3</sub>CH, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> 12.2 Гц), 18.9 д (CH<sub>3</sub>CH, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> 12.5 Гц), 29.0\* д (PCH<sub>2</sub>, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 94.7 Гц), 29.3 д (PCH<sub>2</sub>, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 91.8 Гц), 33.8 (CH<sub>2</sub>COO), 34.0 (CHCOO), 47.1 д (PCHN, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 103.9 Гц), 47.7\* д (PCHN, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 102.8 Гц), 53.8 и 54.4\* (CH<sub>3</sub>O), 63.2 (CH<sub>2</sub>O), 158.2 (NC=O), 172.9 (CH<sub>2</sub>O=C=O), 181.6 (COOH). Спектр ЯМР <sup>31</sup>P {<sup>1</sup>H} (CDCl<sub>3</sub> + 1–2 капли TFA), δ<sub>P</sub>, м. д.: 55.2\*, 56.0. Масс-спектр (HRMS ESI/Q-TOF), *m/z*: 324.0856 [M – H]<sup>–</sup> (вычислено для C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>8</sub>P<sup>–</sup>: 324.0854). Найдено, %: C 40.33; H 6.38; P 9.68. C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>8</sub>P. Вычислено, %: C 40.62; H 6.20; P 9.52.

**1-(N-Бензилоксикарбонил) аминокислота-2-фенилэтил-2'-гидроксикарбонил-2'-бензилэтилфосфиновая кислота (2b)**. Выход 53%, т. пл. 147–150°C,  $R_f \sim 0.20$  (CHCl<sub>3</sub>–i-PrOH–AcOH, 8:1:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (DMCO-*d*<sub>6</sub> + 1–2 капли TFA), δ, м. д.: 1.00–1.25 м (1H, PCH<sub>2</sub>), 1.65–2.00 м (1H, PCH<sub>2</sub>), 2.60–3.15 м (4H, PhCH<sub>2</sub>), 3.35–3.70 м (1H, CHCOOH), 3.75–4.10 (1H, PCHN), 4.76–5.17 м (CH<sub>2</sub>O), 6.82–7.77 м (16H, 3Ph + NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H} (DMCO-*d*<sub>6</sub> + 1–2 капли TFA), δ<sub>C</sub>, м. д.: 24.5 (PhCH<sub>2</sub>), 24.8\* д (PCH<sub>2</sub>, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 88.9 Гц), 28.2 д (PCH<sub>2</sub>, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 88.6 Гц), 33.1 (PhCH<sub>2</sub>), 41.7 42.0\* (PCH<sub>2</sub>CH), 52.2\* д (PCHN, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 104.7 Гц), 52.8 д (PCHN, <sup>1</sup>J<sub>PC</sub> 104.7 Гц), 65.3\*, 65.5 (PhCH<sub>2</sub>O), 126.6, 127.4, 128.0, 128.5, 129.3, 137.5,

138.5, 139.0 (Ar), 156.3 (NCO), 157.0\* (NCO), 175.1\* д (COO, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> 9.2 Гц), 175.5 д (COO, <sup>3</sup>J<sub>PC</sub> 7.3 Гц). Спектр ЯМР <sup>31</sup>P {<sup>1</sup>H} (DMCO-*d*<sub>6</sub>), δ<sub>P</sub>, м. д.: 45.8, 51.7\*, 52.5\*. Масс-спектр (HRMS ESI/Q-TOF), *m/z*: 480.1580 [M – H]<sup>–</sup> (вычислено для C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub>P<sup>–</sup>: 480.1581). Найдено, %: C 64.33; H 6.08; P 6.65. C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>6</sub>P. Вычислено, %: C 64.86; H 5.86; P 6.43.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Бородачев Алексей Владимирович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3458-5129>

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

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

## ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-23-00158). ЯМР спектральные исследования проводили с использованием оборудования многопользовательского аналитического отдела Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Collinsova M., Jiracek J.* // Curr. Med. Chem. 2000. Vol. 7. N 6. P. 629. doi 10.2174/0929867003374831
2. *Dive V., Georgiadis D., Matziari M., Makaritis A., Beau F., Cuniassse P., Yiotakis A.* // Cell. Mol. Life Sci. 2004. Vol. 61. P. 2010. doi 10.1007/s00018-004-4050-y
3. *Mucha A.* // Molecules. 2012. Vol. 17. P. 13530. doi 10.3390/molecules171113530
4. *Georgiadis D., Dive V.* // Top. Curr. Chem. 2015. Vol. 360. P. 1. doi 10.1007/128\_2014\_571
5. *Zinc Metalloproteases in Health and Disease* // Ed. N.M. Hooper. London: Taylor and Francis, 1996. P. 153.
6. *Hori M., Nishida K.* // Cardiovasc. Res. 2009. Vol. 81. N 3. P. 457. doi 10.1093/cvr/cvn335
7. *Whittaker M., Ayscough A.* // Celltransmissions. 2001. Vol. 17. N 1. P. 3.
8. *Pirad B., Matter H.* // J. Med. Chem. 2006. Vol. 49. N 1. P. 51. doi 10.1021/jm050363f

9. Dafnis I., Argyri L., Chroni A. // *Neuroscience*. 2018. Vol. 394. P. 144. doi 10.1016/j.neuroscience.2018.10.026
10. Sun X., Chen W.-D., Wang Y.-D. // *Front. Pharmacol.* 2015. Vol. 6. P. 1. doi 10.3389/fphar.2015.00221
11. Xiong Z.M., Kitagawa K., Nishiuchi Y., Kimura T., Nakamura T., Inagaki C. // *Life Sci.* 2009. Vol. 84. P. 132. doi 10.1016/j.lfs.2008.11.011
12. Xiong Z.M., Kitagawa K., Nishiuchi Y., Kimura T., Inagaki C. // *Neurosci. Lett.* 2007. Vol. 419. N 3. P. 247. doi 10.1016/j.neulet.2007.04.022
13. Musiek E.S., Holtzman D.M. // *Neuroscience*. 2015. Vol. 18. P. 800. doi 10.1038/nn.4018
14. Dafnis I., Argyri L., Sagnou M., Tzinia A., Tsilibary E.C., Stratikos E., Chroni A. // *Sci Rep.* 2016. Vol. 6. P. 30654. doi 10.1038/srep30654
15. Argyri L., Dafnis I., Theodossiou T.A., Gantz D., Stratikos E., Chroni A. // *J. Biol. Chem.* 2014. Vol. 289. P.12931. doi 10.1074/jbc.M113.538124
16. Дмитриев М.Э., Рагулин В.В. // *ЖОХ*. 2015. Т. 85. Вып. 9. С. 1511; Dmitriev M.E., Ragulin V.V. // *Russ. J. Gen. Chem.* 2015. Vol. 85. N 9. P. 2091. doi 10.1134/S1070363215090121
17. 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
18. Rozhko L.F., Ragulin V.V. // *Amino Acids*. 2005. Vol. 29. P.139. doi 10.1007/s00726-005-0194-9
19. Dmitriev M.E., Ragulin V.V. // *Tetrahedron Lett.* 2010. Vol. 51. N 19. P. 2613. doi 10.1016/j.tetlet.2010.03.020
20. Dmitriev M.E., Ragulin V.V. // *Tetrahedron Lett.* 2012. Vol. 53. N 13. P. 1634. doi 10.1016/j.tetlet.2012.01.094

## Synthesis of Phosphoisosteres of Amyloid Dipeptide Components

S. R. Golovash<sup>a</sup>, D. E. Ivanov<sup>a</sup>, A. V. Borodachev<sup>a</sup>, V. I. Shestov<sup>a</sup>, M. E. Dmitriev<sup>a</sup>,  
and V. V. Ragulin<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *Institute of Physiologically Active Compounds, Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, 142432 Russia*  
\*e-mail: rvalery@dio.ru

Received October 21, 2023; revised November 17, 2023; accepted November 20, 2023

A simple and effective method was proposed for the synthesis of new phosphinic peptides in free form, structural isosteres of the dipeptide components of beta-amyloid (A $\beta$ 42), potential inhibitors of zinc-metalloproteinases.

**Keywords:** carbamate version of Kabachnik–Fields reaction, amyloid, acetyl chloride, acetic anhydride, amidoalkylation, phosphinic acid peptides