

Методы синтеза и технология производства лекарственных средств

© Коллектив авторов, 2014

А. Н. Балаев, Е. В. Решетников, В. Е. Фёдоров

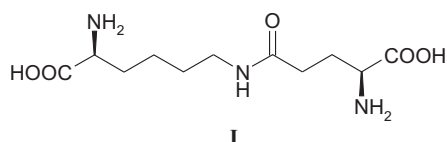
ОДНОСТАДИЙНЫЙ СИНТЕЗ НОРМОФТАЛА

ЗАО "Фарм-Синтез", Москва, Россия

Разработан новый одностадийный метод синтеза нормофтал термической конденсацией (137 – 140 °С) кристаллического лизина глутамата в вакууме (3 – 5 мм рт. ст.), позволяющий получать целевой продукт с чистотой > 95 %.

Ключевые слова: нормофтал; получение; твердофазная конденсация.

N^ε-(γ-L-Глутамил)-L-лизин (нормофтал, **I**) — биологически активный дипептид.

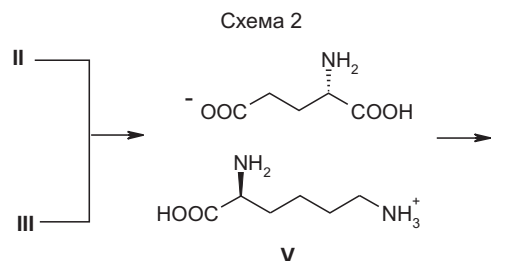


Традиционная схема синтеза **I** (схема 1) включает 4 стадии:

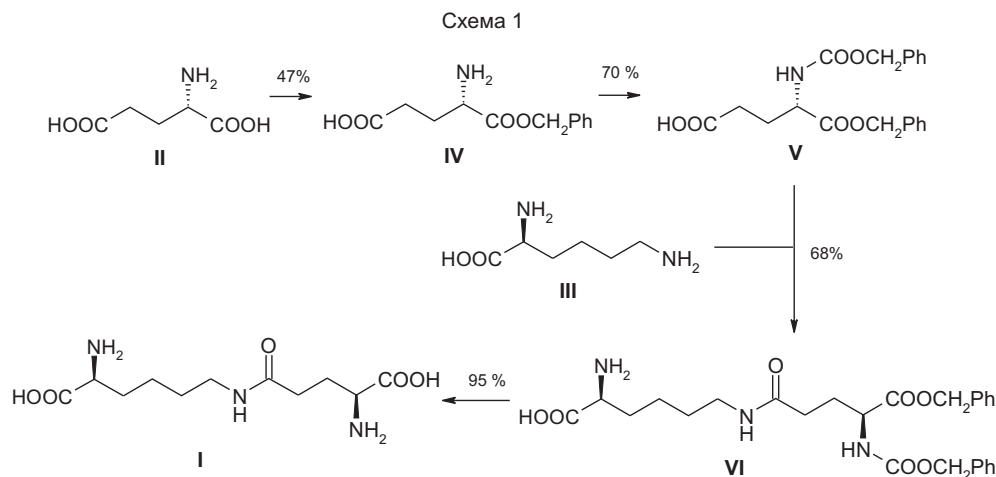
Этерификация L-глутаминовой кислоты (**II**) бензиловым спиртом в присутствии полифосфорной кислоты (92 °С, 8 ч) даёт бензиловый эфир L-глутаминовой кислоты (**IV**) [1]. Взаимодействие **IV** с бензилхлорформиадом приводит к бензиловому эфиру N-бензилоксикарбонил-L-глутаминовой кислоты (**V**) [2]. Защищённый бензиловый эфир дипептида (**VI**) получают конденсацией **V** и L-лизина (**III**) с использованием стандартного метода смешанных ангидридов (этилхлорформиад, триэтиламин). Последующее дебензилирование и снятие защиты (Pd, H₂) приводит к целевому дипептиду **I** [3]. Для селективной конденсации только по ε-NH₂ положению **III** используется в виде медной соли. Общий выход **I** по схеме 1 составляет 21,2 %. Альтернативные возможные варианты проведения реакции так же должны предусматривать поста-

новку защиты в ε-NH₂ положение **III** и последующее деблокирование синтезированного защищённого целевого дипептида.

Разработанный новый метод получения **I** (схема 2) позволяет проводить процесс без использования традиционных методов пептидного синтеза — термической конденсацией кристаллической соли **II** и **III** (**V**) в вакууме.



Исходная соль **V** получена известным способом из **II** и **III** [4]. Термическую конденсацию проводят выдерживанием **V** в вакуумном сушильном шкафу в течение 24 ч при температуре 137 – 140 °С и остаточном давлении 3 – 5 мм рт. ст. В результате исследования с применением ВЭЖХ показано, что именно такой температурный режим является оптимальным. При пони-



жении температуры ниже 128 – 130 °С образования **I** не происходит. При температуре выше 145 – 150 °С выход **I** незначительно увеличивается, однако появляющиеся продукты деградации существенно затрудняют очистку целевого дипептида. Содержание **I** в реакционной массе после проведения конденсации составляет 36 – 38 % (ВЭЖХ). После растворения в воде и осаждении метиловым спиртом чистота **I** увеличивается до 91 – 92 %, повторное проведение очистки позволяет получить продукт с чистотой > 95 %. Сравнение **I** и стандартного образца нормофтала, выполненное с использованием методов ВЭЖХ и LC/MS, показало их полную идентичность.

Таким образом, в результате проделанной работы разработан эффективный одностадийный метод получения **I** с чистотой > 95 % (по ВЭЖХ). При сопоставимых выходах по традиционному пути синтеза (21,2 %) и предложенному методу (18 – 29,9 % в зависимости от чистоты **I**), разработанный процесс существенно более экономичен, как с точки зрения отсутствия реагентов и растворителей, необходимых для постановки и снятия защитных групп (схема 1), так и сложности проведения синтеза.

Экспериментальная часть

Аналитическую ВЭЖХ проводили на хроматографе фирмы Shimadzu. Колонка: Grom-Sil 12J ODS-4HE, 5 μm , 250 \times 4,6 mm. Условия: элюент — фосфатный буфер pH 3 (20,4 г $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ растворяли в 3 л дистиллированной воды и доводили pH до 3 добавлением концентрированной фосфорной кислоты). Спектры ESI-MS регистрировали на приборе “Agilent LC/MS 1200” при ионизации пробы электрораспылением в режиме регистрации положительных ионов. Пробы готовили в системе ацетонитрил — вода, 1:1; концен-

трация — 2 мг/мл. Условия анализа: поток 1 мл/мин, давление на нибулайзере 23 psi, температура 360 °С, скорость потока осушающего газа 9 л/мин, напряжение 3500 В, целевая масса от 100 до 2000. Вещество **V** [4] получено известным ранее способом.

N^ε-(γ -L-Глутамил)-L-лизин (I). В вакуумный сушильный шкаф помещают на стеклянном поддоне 100 г L-лизин L-глутамата. Создают вакуум 3 – 5 мм рт. ст. и выставляют температуру 138 °С. После достижения заданной температуры выдерживают 24 ч. Охлаждают до комнатной температуры и выравнивают давление до атмосферного. Содержание основного вещества в продукте реакции 36,9 % (ВЭЖХ). Растворяют полученный продукт в 500 мл воды при 60 °С, отфильтровывают нерастворимый остаток и приливают 125 мл метилового спирта. Раствор охлаждают до комнатной температуры. Оставляют на 18 – 20 ч. Фильтруют выпавший **I**, промывают 30 мл 20 % водного метилового спирта и сушат в вакууме до постоянной массы (50 °С, 2 мм рт. ст.). Получают 28,1 г **I** (29,9 %). Содержание основного вещества 91,7 %. При повторной аналогичной очистке из 260 мл воды и 80 мл метилового спирта получают 16,9 г (18 %) белого аморфного порошка **I** с содержанием основного вещества 96,1 %. ESMS, *m/z* (1 %): 276,2 [$\text{M} + \text{H}$]⁺ (100), 551,2 [$2\text{M} + \text{H}$]⁺ (0,6).

ЛИТЕРАТУРА

1. M. Zhao, L. Bi, W. Wang, et al., *Bioorgan. Med. Chem.*, **14**(20), 6998 – 7010 (2006).
2. H. Sachs, E. Brand, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**(18), 4610 – 4611 (1953).
3. H. Zahn, W. Patzold, *Chem. Ber.*, **96**(10), 2566 – 2576 (1963).
4. Патент US 4415590; *Chem. Abstr.*, **100**, 56871 (1984).

Поступила 13.11.12

ONE-STEP SYNTHESIS OF NORMOFTAL

A. N. Balaev, E. V. Reshetnikov, and V. E. Fedorov

Pharm-Sintez Co., Moscow, 111024 Russia

A one step synthesis of normoftal was developed based on the thermal condensation (137 – 140°C) of crystalline lysine glutamate under low pressure (3 – 5 Torr). This synthetic process yields the target product with purity above 95%.

Keywords: normoftal, synthesis, solid state condensation