

АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ L-β-АМИНОЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ ЧЕРЕЗ АХИРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЕГИДРОАЛАНИНА С ИОНОМ Ni(II).

А. С. САГИЯН, А. Э. АВETИСЯН, С. М. ДЖАМГАРЯН, Л. Р. ДЖИЛАВЯН,
Э. А. ГЮЛУМЯН, В. И. ТАРАРОВ, С. К. ГРИГОРЯН : Ю. Н. БЕЛОКОНЬ

Научно-исследовательский институт «Биотехнология», Ереван
Ереванский государственный университет

Поступило 15 I 1995

В последние годы большой интерес вызывают оптически чистые небелковые аминокислоты, широко распространенные в природе [1, 2]. Они успешно применяются в синтезе пептидов, антибиотиков и других лекарственных препаратов [3—5], а также в микробиологии для селекции штаммов-продуцентов белковых аминокислот в качестве их аналогов. К числу таких соединений относятся также β-аминозамещенные производные аминокислот.

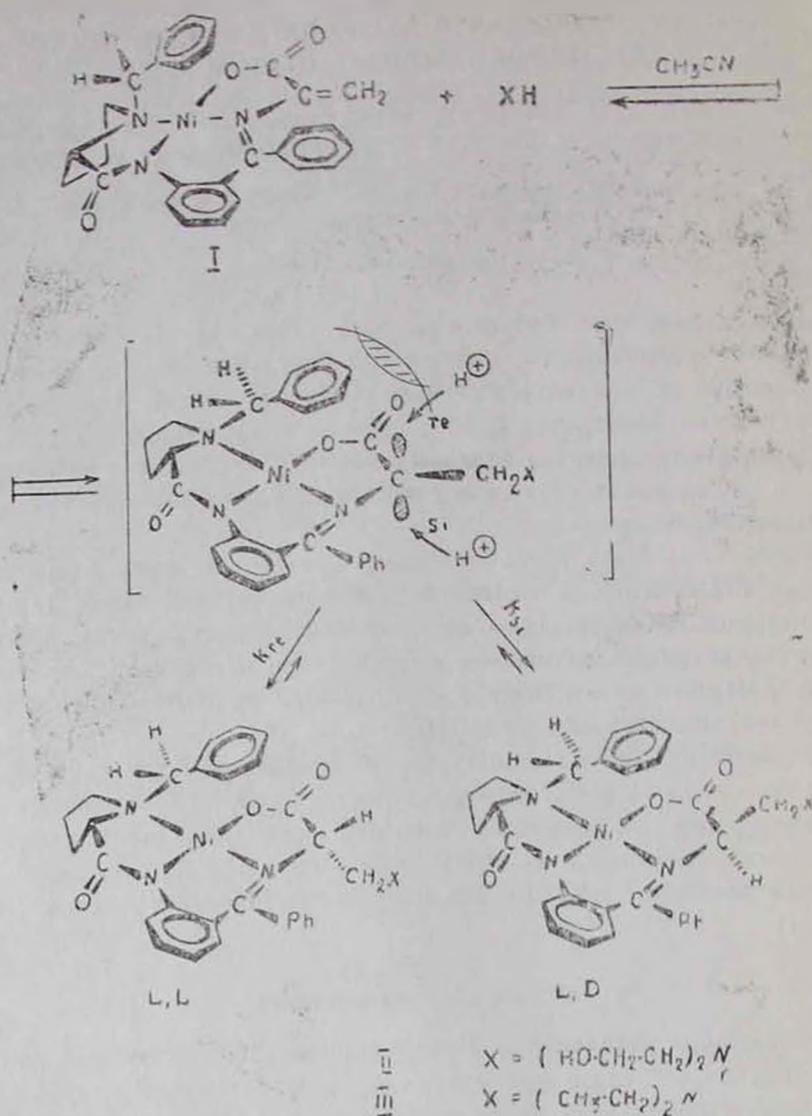
Ранее нами были разработаны методы синтеза ряда β-аминозамещенных аминокислот, в частности L-β-имидазолаланина, L-β-(N,N-диметиламино)аланина, L-β-(N-бензиламино)аланина, путем присоединения соответствующих аминов к C=C связи дегидроаланина в комплексе Ni(II) основания Шиффа с хиральным реагентом L-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном [6].

В настоящей работе сообщается об асимметрическом синтезе оптически активных—L-β-(N,N-диэтаноламино)- и L-β-(N,N-диэтиламино)-аланинов путем присоединения диэтаноламина и диэтиламина к C=C связи дегидроаланина в их Ni(II) комплексах основания Шиффа с хиральным реагентом L-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном (комплекс I).

Обсуждение результатов

Обсуждение результатов. Присоединение диэтаноламина или диэтиламина к C=C связи фрагмента дегидроаланина комплекса I в ацетонитриле в присутствии K₂CO₃ приводит к образованию смеси двух диастереомерных комплексов (L,L- и L,D), содержащих β-(N,N-диэтаноламино)аланин (II) или β-(N,N-диэтиламино)аланин (III) (схема 1). За ходом реакции присоединения следили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃:(CH₃)₂CO (3:1) по исчезновению исходного комплекса I. Соотношение диастереомеров определяли спектрофотометрическим методом после их разделения на силикагеле препаративной хроматографией, а также в реакционной среде методом ¹H-ЯМР высокого разрешения. Выявлено,

что в избытке образуется диастереомер с меньшим значением R_f , их соотношение составляет —L,L:L,D=97:3 в случае присоединения диэтиламина и 96:4, диэтиламина.

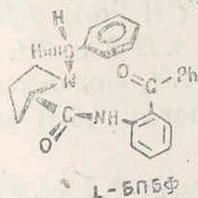
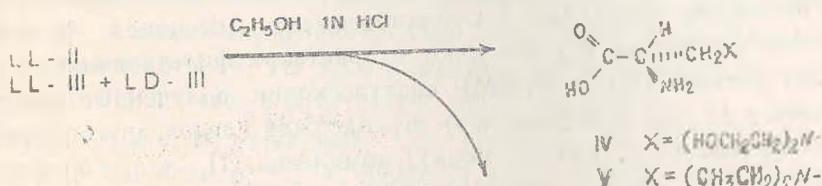


Для определения абсолютной конфигурации диастереомеров сравнивали их оптические свойства (кривые DOB, молекулярное вращение) с известными в литературе аналогично построенными комплексами — L- β - (N,N-диметиламино)аланина и L- β -имидазолилаланина [5]. Сравнение показало, что основная фракция с меньшим значением R_f имеет L,L-абсолютную конфигурацию.

Образование диастереомеров с L,L-абсолютной конфигурацией в избытке обусловлено наличием высоких энантиоселективных эффектов

в этих комплексах, что связано с экранированием аминокислотного фрагмента только с одной стороны прохирального карбаниона (со стороны Re). При этом вначале (через 20 мин после добавления аминов) избыток L,L-диастереомера из-за кинетических факторов составляет примерно 25%, а затем его количество постепенно увеличивается вследствие установления термодинамического равновесия между диастереомерами и через 70—90 ч после начала реакции соотношение L,L- и L,D- достигает 97:3 и 96:4, соответственно для комплексов II и III.

После разложения комплексов II и III под действием 2 н HCl в среде метилового или этилового спирта выделяли исходный хиральный реагент L-2-N-(N-бензилпролил)аминобензофенон (L-БПБФ) и целевые аминокислоты L-β-(N,N-диэтиламино)аланин (IV) и L-β-(N,N-диэтил-амино)аланин (V) (схема 2). При этом исходный хиральный реагент L-БПБФ регенерируется с полным сохранением исходной хиральности и его можно использовать повторно без дополнительной очистки.



Строение и абсолютная конфигурация комплексов II и III и аминокислот IV и V установлены физико-химическими методами анализа.

Экспериментальная часть

В работе использованы хирсактивы: аминокислоты «Reanal» (Будапешт); силикагель 40/100 «Chemapol» (Прага); пластинки ТСХ «Silufol UV-254» (Chemapol), ионообменная смола Ку-2-8, (C₂H₅)₂NH, (НОСН₂СН₂)₂NH, СН₃CN, К₂СО₃, NH₄ОН, СН₃СООН, СНСl₃, СН₃ОН— «Реахим» (СССР).

Ацетонитрил перед использованием очищали согласно [7].

Спектры ¹H-ЯМР снимали на спектрометре «Вгикер WP 200 SY» (200 МГц) и «Вгикер WP» (400 МГц).

Удельное оптическое вращение измеряли на поляриметре „Perkin-Elmer—241“, кривые ДОВ снимали на спектр поляриметре „Jasco ORD UV-5“.

ТСХ—хроматографический анализ проводили на пластинках SiO₂ марки „Silufol UV-254“.

Комплексы Ni(II) основания Шиффа дегидроаланина с хиральным реагентом L-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном (I) синтезируют согласно [5].

Синтез комплекса II. 5 г (0,0098 моля) комплекса I растворяют в 12 мл CH₃CN и при перемешивании добавляют 2,83 мл (0,029 моля) диэтанолamina. За ходом реакции присоединения следят методом ТСХ на пластинках SiO₂ в системе растворителей CHCl₃:(CH₃)₂CO (3:1). Соотношение диастереоизомеров в смеси установлено методом ТСХ и ¹H-ЯМР высокого разрешения: оно составляет L:L,D=97:3. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре 90—96 ч. Смесь концентрируют под вакуумом, добавляют ацетон и примерно через 20 мин выпавшие кристаллы L,L-диастереомера (основная фракция с меньшим значением R_f) отделяют от раствора фильтрованием.

По данным ТСХ и ¹H-ЯМР спектроскопии, полученные кристаллы комплекса II (L,L-диастереомер) не содержат следов другого изомера.

Получено 4,8 г (0,0078 моля) комплекса II, что соответствует 79,5% выходу на стадии присоединения.

Комплекс II. Найдено, %: С 62,29; Н 6,05; N 8,94. С₁₂H₂₀N₄O₂Ni. Вычислено, %: С 62,45; Н 5,9; N 9,10. Спектр ПМР (CDCl₃), δ, м. д.: 1,87—2,22 м (4H, β- и γ-H Pro); 2,35—2,65 м (6H, δ-H Pro, 2 (δ-CH₂ аминокислоты)); 3,46 и 4,29 2 д (2H, АВ, CH₂-Bz-Pro, J_{AB} = 12,6 Гц); 3,31—3,67 м (4H, 2 (ω-CH₂ аминокислоты)); 3,74—3,97 2 м (2H, α-H Pro и α-H аминокислоты); 6,51—8,1 м (14H, Ar). [α]₅₈₀²⁵ = +2845 (c = 0,004, CH₂OH).

Разложение комплекса II и выделение аминокислоты IV. 4,5 г (0,0073 моля) комплекса II растворяют в 20 мл CH₃OH и при перемешивании добавляют к нагретому до 45—50° 1 н раствору HCl. После исчезновения характерной для комплексов окраски реакционную смесь упаривают досуха, добавляют 40 мл воды и экстрагируют исходный хиральный реагент L-БПБФ хлороформом при pH=5. Из водного слоя выделяют аминокислоту пропусканием раствора через колонку со смолой Ку 28 в H⁺ форме, элюируют с помощью 5% раствора аммиака, упаривают досуха и кристаллизуют из растворов в HCl/вода-этанол. Получено 1,39 г (0,0061 моля) аминокислоты IV·HCl, что соответствует 84% выходу.

Аминокислота IV. Найдено, %: С 36,24; Н 7,30; N 11,93. С₇H₁₁N₂O₄Cl. Вычислено, %: С 36,74; Н 7,49; N 12,25. Спектр ПМР (D₂O), δ, м. д.: 3,48 и 3,53 2г (2H, β-H_A, J = 8,4 Гц); 3,6 д (1H, β-H_A, J = 14 Гц); 3,61 т (2H, δ-H_B, J = 8,4 Гц); 3,98 м (4H, ε-CH₂); 4,25 и 4,29 2д (1H, α-H, J = 14 Гц). [α]₅₈₀²⁵ = +28,8 (c = 1,6 HCl).

Синтез комплекса III. 5 г (0,0098 моля) комплекса I растворяют в 12 мл CH_2CN и при перемешивании прибавляют 4 мл (0,038 моля) диэтиламина. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре 70—75 ч. Обработку реакционной среды проводят аналогично получению комплекса II.

Получено 4,9 г комплекса III, что соответствует 85% выходу.

Соотношение диастереоизомеров в смеси, по данным ТСХ и ^1H -ЯМР спектроскопии, составляет L,L:L,D=96:4.

Комплекс III. Найдено, %: С 65,53; Н 6,48; N 9,39. $\text{C}_{32}\text{H}_{106}\text{N}_4\text{O}_3\text{Ni}$. Вычислено, %: С 65,53; Н 6,23; N 9,6. Спектр ПМР (CDCl_3), δ , м. д.: 0,87 т (6H, 2 (CH_3 -аминокислоты)); 1,9—2,18 м (4H, β - и γ -H PrO); 2,35—2,7 м (2H, δ -H PrO); 2,51 кв (4H, 2 (δ - CH_2 -аминокислоты)); 3,44 4,39 2 д (2H, АВ, CH_2 -Бз- PrO , $J_{\text{AB}} = 12,6$ Гц); 2,97—3,05 м (2H, β - CH_2 -аминокислоты); 3,7—3,87 м (1H, α -H PrO); 3,87—3,96 2 м (2H, α -H PrO и α -H-аминокислоты); 6,52—8,14 м (14H, Ar). $[\alpha]_{589}^{25} = +2785,7^\circ$ ($c = 0,004$, CH_3OH).

Разложение комплекса III и выделение аминокислоты V: Разложение комплекса III и выделение аминокислоты V проводят по методике выделения аминокислоты IV. Из 4,5 г комплекса III получают 1,75 г аминокислоты V·2HCl, что соответствует 88% выходу.

Аминокислота V. Найдено, %: С 32,47; Н 10,71; N 7,65. $\text{C}_7\text{H}_{18}\text{N}_2\text{Cl}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С 32,50; Н 10,71; N 8,06. Спектр ПМР (D_2O), δ , м. д.: 1,27 т (6H, ϵ -H(CH_3), $J=7,3$ Гц); 3,32 кв (4H, δ -H($-\text{CH}_2-$), $J=7,3$ Гц); 3,43 2д (1H, β -H_A, $J=13,9$ и 4,9 Гц); 3,7. 2д (1H, β -H_B, $J=13,9$ и 8,2 Гц); 4,43 2д (1H, α -H, $J=4,9$ и 8,9 Гц). $[\alpha]_{589}^{25} = +9,83^\circ$ ($c = 0,6$, 6 н HCl).

ЛИТЕРАТУРА

1. L. Fowden, P. Lea — Adv. Enzymol., 1979, v. 50, p. 117.
2. I. Wagner, N. Musso — Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1983, v. 22, p. 816.
3. H. Yoshioka, T. Aoki, H. Goko, K. Naha sa — Tetrah. Lett., 1971, p. 2043.
4. T. Takita, Y. Muraoka, T. Yoshioka, A. Fuji — J. Antibiot., 1972, v. 25, p. 775.
5. A. Spatola ed, B. Weinstein — Marcel Dekker in „Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins“, New York and Basel, 1983, v. 7, p. 267.
6. Yu. N. Belokon', A. S. Sazyran, S. M. Djamgaryan, V. I. Bakmutov, V. M. Belikov — Tetrah. Lett., 1988, v. 44, № 17, p. 5507.
7. H. Walter, L. Ramaley — Analyl. Chem., 1973, v. 45, № 1, p. 165.