ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 53, №3-4, 2000 Химический журнал Армении

УДК 547.294.314.07

АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ S-АЛКИЛЗАМЕЩЕННЫХ L-ЦИСТЕИНОВ ЧЕРЕЗ ХИРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЕГИДРОАЛАНИНА С ИОНОМ Ni^{2+}

А. С. САГИЯН, А. В. ГЕОЛЧАНЯН, С. В. ВАРДАПЕТЯН, А. А. АВЕТИСЯН, В. И. ТАРАРОВ, Н. А. КУЗЬМИНА, Ю. Н. БЕЛОКОНЬ и М. НОРТ

Ереванский государственный университет

Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук, Москва

Университет Северного Уэльса, LL57 2UW, г.Бангор, Великобритания

Поступило 4 X 1999

Разработан эффективный метод асимметрического синтеза s-алкилзамещенных производных L-цистеина нуклеофильным присоединением алкилмеркаптанов (n-BuSH, t-BuSH, t-AmSH) к двойной C=C связи дегидроаланина в хиральном комплексе иона Ni^{2+} оснований Шиффа с (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном. После разложения диастереомерно чистых (S,R) или L,L-комплексов были выделены оптически активные L-аминокислоты – s-бутил-, s-t-бутил- и s-t-амил-L-цистеины. Стереоселективность синтеза составляет 90-96%.

Рис. 1, табл. 1, библ. ссылок 12.

Оптически активные s-замещенные производные цистеинов являются важными компонентами многих физиологически активных пептидов, антибиотиков и других лекарственных препаратов[1-3]. S-алкилзамещенные производные цистеина успешно применяются также в микробиологии для селекции высокоактивных штамм-продуцентов белковых аминокислот в качестве их аналогов[4,5]. По аналогии с другой серусодержащей аминокислотой L-метионином, s-алкилзамещенные производные цистеина могут быть использованы в качестве исходных предшественников хиральных саленовых катализаторов иона Ti^{4+} для асимметрического синтеза энантиомерно чистых циангидринов[6].

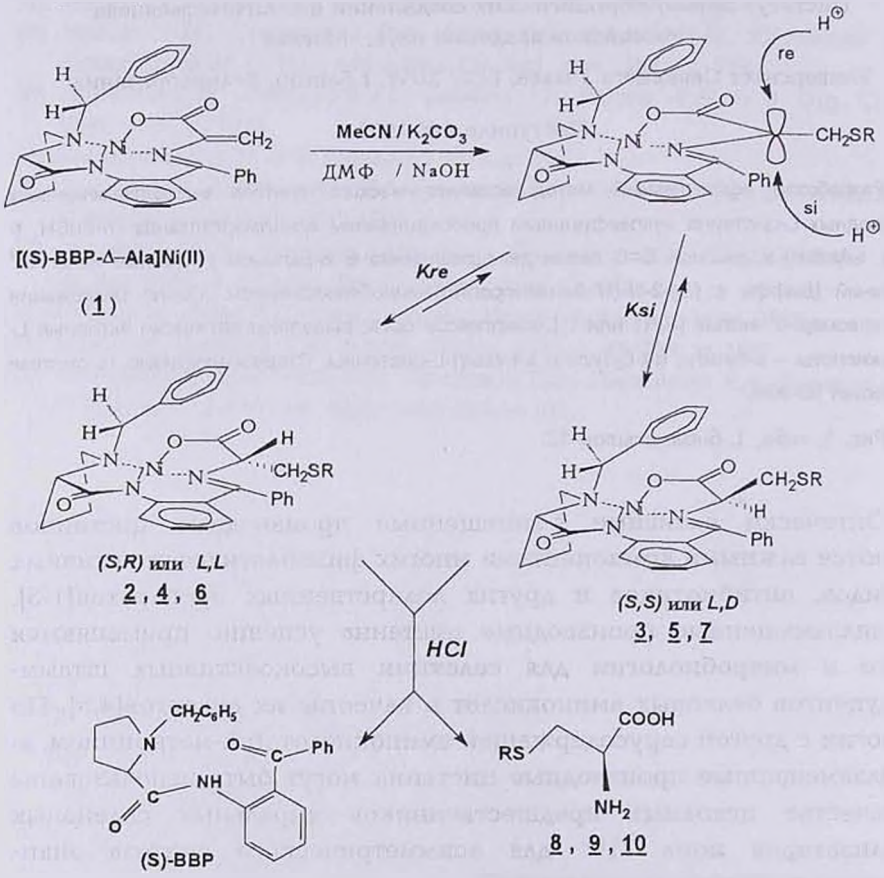
Ранее нами был разработан метод асимметрического синтеза s-арилзамещенных (фенил- и бензил-) производных цистеина присоединением соответствующих нуклеофилов к комплексу Ni(II) оснований Шиффа дегидроаланина с хиральными реагентами (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминоацетофеноном и (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном [7].

В настоящей работе сообщается об асимметрическом синтезе s-алкилзамещенных производных L-цистеина, а именно, s-бутил-, S-t-бутил- и s-t-амил-L-цистеинов.

Хиральный плоскоквадратный комплекс иона Ni^{2+} с основанием Шиффа дегидроаланина и (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофенона ((S)-BBP) (I) с активной электрофильной двойной C=C связью был синтезирован согласно [8].

Комплекс I вступает в реакцию асимметрического нуклеофильного присоединения с алкилмеркаптанами в среде CH_3CN в присутствии K_2CO_3 или ДМФА в присутствии NaOH (схема).

Схема



где R= $CH_3(CH_2)_3$-, 2, 3, 8; $(CH_3)_3C$-, 4, 5, 9; $CH_3CH_2(CH_3)_2C$-, 6, 7, 10.

Присоединение нуклеофилов происходит в условиях общеосновного катализа. При этом в начале реакции (через 10 *мин* после добавления нуклеофилов) избыток основного (S,R) или L,L-диастереомера, имеющего больший R_f на силикагели, составляет 70%, что является следствием кинетической энантиоселективности. Затем постепенно количество этого диастереомера увеличивается вследствие установления термодинамического равновесия. Равновесные соотношения диастереомеров представлены в таблице. За ходом реакции присоединения нуклеофилов удобно следить методом ТСХ на SiO_2 в системе растворителей $CHCl_3$ -CH_3COCH_3 (3:1) или ПМР по исчезновению сигналов винильных протонов дегидроаланинового фрагмента исходного комплекса 1 при 4,1 и 5,8 м.д.

Таблица

Химический выход и соотношение диастереомеров, полученных при присоединении RSH к C=C связи дегидроаланина в комплексе 1

№	RSH	Растворитель/ Основание	Соотношение, %		Химический выход, % *
			L,L(S,R)	L,D(S,S)	
1	n-BuSH	CH_3CN/K_2CO_3	94	6	86
2	t -BuSH	CH_3CN/K_2CO_3	97	3	94
3	t -AmSH	CH_3CN/K_2CO_3	98	2	92
4	t -BuSH	ДМФА/NaOH	97	3	76
5	t -AmSH	ДМФА/NaOH	96	4	70

* — Химический выход на стадии присоединения RSH к комплексу 1.

Присоединение нуклеофилов и установление термодинамического равновесия между диастереомерами происходит гораздо быстрее (0,5-1 *ч*) в ДМФА под действием NaOH при 45-50°С. Однако этот процесс сопровождается образованием до 15% побочных комплексов с меньшим значением R_f. Без образования побочных продуктов происходит присоединение алкилтиолов к комплексу 1 в среде CH_3CN под действием безводного поташа; термодинамическое равновесие устанавливается в течение 6-8 *ч*.

Небольшая часть смеси диастереомеров (0,5 *г*) была разделена на SiO_2 в системе растворителей $CHCl_3$-CH_3COCH_3 (3:1) и охарактеризована спектральными методами анализа (ПМР, UV-VIS, элементный анализ). Для определения абсолютной конфигурации диастереомеров снимали их кривые дисперсии оптического вращения (ДОВ) (рис.) и сравнивали с кривыми ДОВ ранее полученных аналогично построенных комплексов s-бензил-L-цистеина[7]. Сравнение показыает, что все основные фракции с большим значением R_f на SiO_2 имеют L-абсолютную конфигурацию

аминокислотного фрагмента (L,L или (S,R)), а менее подвижный диастереомер — D-абсолютную конфигурацию аминокислотного фрагмента (L,D или (S,S)).

После разложения диастереомерно чистых (S,R)-комплексов действием HCl были выделены оптически активные s-алкилзамещенные производные цистеина — s-бутил-, s-t-бутил- и s-t-амил-L-цистеины с химическим выходом >80 %. Исходный хиральный реагент (S)-BBP при этом регенерируется с выходом >96% без потери оптической чистоты.

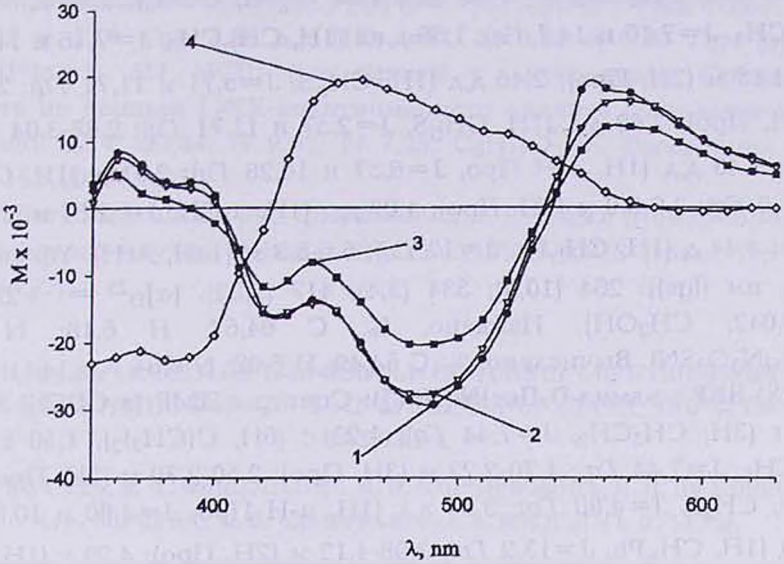
Экспериментальная часть

В работе использовались аминокислоты «Reanal»(Будапешт), $CH_3(CH_2)_3SH$, t-BuSH, t-AmSH, K_2CO_3, NaOH, $(CH_3)_2CO$, $CHCl_3$, CH_3CN, ДМФА «Реахим». CH_3CN и ДМФА перед употреблением очищали по [9] и [10], соответственно. Спектры ПМР снимали на приборе « Mercury 300BB» (300 *МГц*), кривые ДОВ — на приборе «Jasco ORD/UV-5», $[\alpha]_D^{25}$ определяли на поляриметре «Perkin-Elmer-241». Исходный комплекс [(S)-BBP-Δ-Ала]Ni(II) (1) синтезировали согласно [8].

Общая методика присоединения алкилмеркаптанов к комплексу 1. 14,6 г ($2{,}86\cdot10^{-2}$ *моля*) комплекса 1 растворяли в 50 *мл* CH_3CN (или ДМФА) и в токе Ar добавляли 7,87г ($5{,}72\cdot10^{-2}$ *моля*) K_2CO_3 (или 2,28 *г* ($5{,}72\cdot10^{-2}$ *моля*) NaOH) и $3{,}4\cdot10^{-2}$ *моля* RSH. Реакционную смесь перемешивали при 40-45°C. За ходом присоединения можно следить по исчезновению сигналов протонов при связи C=C в спектрах ПМР (5,85 *с* и 4,1 *с*), спектрофотометрически (400-430 *нм*), а также ТСХ на силикагеле в системе $CHCl_3$-CH_3COCH_3 (5:1). Через 1 *ч* после добавления тиолов брали небольшую порцию реакционной смеси (~5 *мл*), разбавляли 20 *мл* $CHCl_3$, промывали последовательно 0,2N HCl (3×10 *мл*), 1M Na_2CO_3 (3×10 *мл*) и водой. Хлороформный экстракт упаривали досуха, диастереомеры [(S)-BBP-s-Алкил-L-Цис]Ni(II) (2, 4, 6) и [(S)-BBP-s-Алкил-D-Цис]Ni(II) (3, 5, 7) хроматографировали на SiO_2 (3,5×30 *см*), используя в качестве элюента $CHCl_3$ -CH_3COCH_3 (2:1) и охарактеризовали спектральными методами. Выход продуктов и соотношение диастереомеров представлены в таблице. Кривые ДОВ основных диастереомеров синтезированных комплексов представлены на рисунке.

После установления термодинамического равновесия реакционную смесь фильтровали, промывали хлороформом и упаривали досуха. Осадок растворяли в 50 *мл* CH_3OH и при перемешивании добавляли к нагретому до 45-50°C раствору 2N HCl. После исчезновения характерной для комплексов окраски смесь

упаривали досуха, добавляли 50 *мл* H_2O и фильтровали исходный хиральный реагент (S)-BBP. Из водных фильтратов выделяли целевые аминокислоты ионообменными методами [8]. Получали s-бутил-, s-t-бутил- и s-t-амил-L-цистеины соответственно с 64, 78 и 70% химическими выходами.



Кривые ДОВ комплексов в CH_3OH (25°C).
1) [(S)-BBP-s-t-бутил-L-Цис]Ni(II) (4);
2) [(S)-BBP-s-t-амил-L-Цис]Ni(II) (6);
3) [(S)-BBP-s-бутил-L-Цис]NI(II) (2);
4) [(S)-BBP-s-t-амил-D-Цис]Ni(II) (7).

[(S)-BBP-s-Бутил-L-Цис]Ni(II) (2): Спектры ПМР (в $CDCl_3$, δ, м.д.): 0,88 т (3H, CH_3CH_2, J=7,24 *Гц*); 1,3-1,46 м (2H, $CH_3CH_2CH_2$, J=7,24 *Гц*); 1,46-1,64 м(2H, $CH_3CH_2CH_2$, J=7,24 *Гц*); 2,0-2,2 м(2H, Про); 2,42-2,70 м (4H, Про+$CHCH_aS$+SCH_2CH_2); 2,74-2,96 м (2H, Про+$CHCH_bS$); 3,46 д.д (1H, α-H Про, J=6,34 и 10,87 *Гц*); 3,60 д (1H, CH_aPh, J=12,5 *Гц*); 3,58-3,82 м (2H, Про); 4,22 д.д (1H, α-H, J=2,72 и 4,98 *Гц*); 4,44 д (1H, CH_bPh, J=12,5 *Гц*); 6,5-8,3 м (14H, ArH). Уф спектры (λ_{max}, *нм* (lgε)): 265 (15,0); 334 (3,4); 418 (2,1). $[\alpha]_D^{25}$ = +1880,0° (c=0,4; CH_3OH). Найдено, %: C 64,22; H 6,04; N 6,72. $C_{32}H_{35}N_3O_3SNi$. Вычислено, %: C 64,01; H 5,87; N 6,99.

[(S)-BBP-s-t-Бутил-L-Цис]Ni(II) (4): Спектры ПМР (в $CDCl_3$, δ, м.д.): 1,32 с (9H, CH_3); 1,96-2,16 м (2H, Про); 2,42-2,60 м (1H, Про); 2,55 д.д (1H, CH_aS, J=5,77 и 11,82 *Гц*); 2,77 д.д (1H, CH_bS, J=2,60 и 11,82 *Гц*); 2,90-3,05 м (1H, Про); 3,44 д.д (1H, α-H Про, J=6,05 и 9,66 *Гц*); 3,62 д (1H, CH_aPh, J=11,54 *Гц*); 3,6-3,9 м (2H, Про); 4,29 д.д (1H, α-H,

J=2,60 и 5,77 *Гц*); 4,44 д (1H, CH_bPh, J=11,54 *Гц*); 6,5-8,3 м (14H, ArH). Уф спектры (λ_{max}, нм (lgε)): 265 (11,6); 336 (3,6); 418 (2,2). $[\alpha]_D^{25}$ =-2615,0° (c=0,038; CH_3OH). Найдено, %: C 64,14; H 5,98; N 6,82. $C_{32}H_{35}N_3O_3SNi$. Вычислено, %: C 64,01; H 5,87; N 6,99.

[(S)-BBP-s-t-амил-L-Цис]Ni(II) (6): Спектры ПМР (в $CDCl_3$, δ, м.д.): 0,96 т (3H, CH_3CH_2, J=7,16 *Гц*); 1,26 с (6H, CCH_3); 1,50 д, кв (1H, CH_aCH_3, J=7,16 и 14,7 *Гц*); 1,56 д,кв (1H, CH_bCH_3, J=7,16 и 14,7 *Гц*); 1,95-2,15 м (2H, Про); 2,46 д,д (1H, CH_aS, J=5,71 и 11,71 *Гц*); 2,4-2,57 м (1H, Про); 2,69 д,д (1H, CH_bS, J=2,57 и 11,71 *Гц*); 2,88-3,04 м (1H, Про); 3,43 д,д (1H, α-H Про, J=6,57 и 10,28 *Гц*); 3,61 д (1H, CH_aPh, J=12,0 *Гц*); 3,6-3,9 м (2H, Про); 4,27 д,д (1H, α-CH, J= 2,57 и 5,71 *Гц*); 4,43 и 4,44 д (1H, CH_bPh, J=12 *Гц*); 6,5-8,3 м (14H, ArH). Уф спектры (λ_{max}, нм (lgε)): 264 (10,9); 334 (3,4); 417 (2,02). $[\alpha]_D^{25}$ = +2238,12° (c=0,042; CH_3OH). Найдено, %: C 64,67; H 6,18; N 6,62. $C_{33}H_{37}N_3O_3SNi$. Вычислено, %: C 64,49; H 6,02; N 6,84.

[(S)-BBP-s-t-амил-D-Цис]Ni(II) (7): Спектры ПМР (в $CDCl_3$, δ, м.д.): 0,93 т (3H, CH_3CH_2, J=7,44 *Гц*); 1,23 с (6H, $C(CH_3)_2$); 1,50 кв (2H, CH_2CH_3, J=7,44 *Гц* ; 1,70-2,27 м (3H, Про); 2,50-2,70 м (2H, Про); 2,67 д (2H, CH_2S, J=4,80 *Гц*); 3,60 д,д (1H, α-H Про, J=4,80 и 10,80 *Гц*); 3,92 д (1H, CH_aPh, J=13,2 *Гц*); 3,98-4,12 м (2H, Про); 4,22 т (1H, -CH, J=4,80 *Гц*); 4,99 д (1H, CH_bPh, J=13,2 *Гц*); 6,6-8,8 м (14H, ArH). Уф спектры (λ_{max}, нм (lgε)): 265 (9,8); 335 (3,1); 420 (1,90). $[\alpha]_D^{25}$ = -450,0° (c=0,04; CH_3OH). Найдено, %: C 64,72; H 6,21; N 6,56. $C_{33}H_{37}N_3O_3SNi$. Вычислено, %: C 64,49; H 6,02; N 6,84.

Количества комплексов [(S)-BBP-s-бутил-D-Цис]Ni(II) (3) и [(S)-BBP-s-t-бутил-D-Цис]Ni(II) (5) оказались недостаточными для спектрального анализа

S-Бутил-L-цистеин (8). $T_{пл}$= 218-220°C. Спектры ПМР (в D_2O, δ, м.д.): 0,81 т (3H, CH_3-, J=7,50 *Гц*); 1,31 м (2H, C-CH_2-C-C-S, J=7,50 *Гц*); 1,50 м (2H, C-C-CH_2-C-S, J=7,50 *Гц*); 2,55 т (2H, C-C-C-CH_2-S, J=7,50 *Гц*); 3,04 д,д (1H, CH_aS, J=6,36 и 14,0 *Гц*); 3,35 д,д (1H, CH_bS, J=3,81 и 14,0 *Гц*); 4,24 д,д (1H, α-H, J=3,81 и 6,36 *Гц*). $[\alpha]_D^{25}$= +9,52° (c=1; 0,1 N NaOH); (лит. [11], $[\alpha]_D^{20}$ = +9,7° (c=1; водный NaOH)). Оптическая чистота по данным ГЖХ-энантиомерного анализа составляет 97%. Найдено, %: C 48,94; H 8,62; N 7,75. $C_7H_{15}O_2NS$. Вычислено,%: C 48,83; H 8,47; N 7,91.

S-t-Бутил-L-цистеин (9). $T_{пл}$= 214-215°C. Спектры ПМР (в D_2O, δ, м.д.): 1,2 с (9H, 3·CH_3); 3,10 д,д (1H, CH_aS, J=6,44 и 13,6 *Гц*); 3,24 д,д (1H, CH_bS, J=3,80 и 13,8 *Гц*); 4,0 д,д (1H, α-H, J=3,80 и 6,42 *Гц*). $[\alpha]_D^{25}$= + 8,13°(c=1; 6N HCl); (лит. [12], $[\alpha]_D^{20}$ = +6,35° (c=2;

водный HCl)). Оптическая чистота по данным ГЖХ-энантиомерного анализа составляет 97,7%. Найдено,%: C 48,78; H 8,52; N 7,87. $C_7H_{15}O_2NS$. Вычислено, %: C 48,83; H 8,47; N 7,91.

S-t-Амил-L-цистеин (10). $T_{пл}$ = 206-207°C. Спектры ПМР (в D_2O, δ, м.д.): 0,98 т (3H, CH_3); 1,36 с (6H, $C(CH_3)_2$); 1,62 кв (2H, C-CH_2-C); 3,02 д,д (1H, CH_aS, J=6,4 и 14,0 *Гц*); 3,18 д,д (1H, CH_bS, J=3,82 и 13,8 *Гц*); 3,88 д,д (1H, α-H, J=3,81 и 6,30 *Гц*). $[\alpha]_D^{25}$= +11,31°(c=1; 6N HCl); (не описан в литературе). Оптическая чистота по данным ГЖХ-энантиомерного анализа составляет 99,5%. Найдено, %: C 50,44; H 9,02; N 7,28. $C_8H_{17}O_2NS$. Вычислено, %: C 50,26; H 8,90; N 7,33.

Работа выполнена при финансовой поддержке Международного Европейского научного фонда INCO-COPERNICUS (грант No ICIS-CT96-0722).

s-ԱԼԿԻԼՏԵՂԱԿԱԼՎԱԾ L-ՑԻՍՏԵԻՆԻ ԱԾԱՆՑՅԱԼՆԵՐԻ ԱՍԻՄԵՏՐԻԿ ՍԻՆԹԵԶԸ Ni(II) ԻՈՆԻ ՀԵՏ ԴԵՀԻԴՐՈԱԼԱՆԻՆԻ ՔԻՐԱԼ ԿՈՄՊԼԵՔՍԻ ՄԻՋՈՑՈՎ

Ա. Ս. ՍԱՂՅԱՆ, Ա. Վ. ԳԵՈԼՉԱՆՅԱՆ, Ս. Մ. ՎԱՐԴԱՊԵՏՅԱՆ, Ա. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ, Վ. Ի. ՏԱՐԱՐՈՎ, Ն. Ա. ԿՈՒԶՄԻՆԱ, Յու. Ն. ԲԵԼՈԿՈՆ և Մ. ՆՈՐԹ

Մշակված է L-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով s-ալկիլտեղակալված L-ցիստեինների ասիմետրիկ սինթեզի էֆեկտիվ մեթոդ Ni(II) իոնի հետ դեհիդրոալանինի և L-2-N-(N'-բենզիլպրոլիլ)ամինոբենզոֆենոն քիրալային ռեագենտի Շիֆֆի հիմքի առաջացրած կոմպլեքսի դեհիդրոալանինի մնացորդի C=C կապին տարբեր ալկիլ թիոլների ասիմետրիկ միացմամբ և առաջացած կոմպլեքսների հետագա քայքայմամբ և նպատակային ամինոթթուների անջատմամբ: Որպես նուկլեոֆիլային ռեագենտներ օգտագործվել են ալկիլթիոլներ n-BuSH, t-BuSH and t-AmSH: Աշխատանքի արդյունքում սինթեզվել են բարձր օպտիկական մաքրությամբ (>98%) L-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով s-բուտիլցիստեին, s-t-բուտիլցիստեին և s-t-ամիլցիստեին: Ասիմետրիկ միացման ռեակցիայի ստերեոսելեկտիվությունը հասնում է մինչև 98%-ի, իսկ ելային քիրալային ռեագենտը սինթեզից հետո վերականգնվում է քանակական քիմիական ելքերով և ելային քիրալության լրիվ պահպանմամբ:

ASYMMETRIC SYNTHESIS OF s-ALYLSUBSTITUTED L-CYSTEINE'S VIA A CHIRAL Ni(II) COMPLEX OF DEHYDROALANINE

A. S. SAGHIYAN, A. V. GEOLCHANYAN, S. M. VARDAPETYAN, A. A. AVETISYAN, V. I. TARAROV, N. A. KUZ'MINA, Yu. N. BELOKON' and M. NORTH

An efficient method for asymmetric synthesis of s-alkylsubstituted L-cysteine with L-absolute configuration via asymmetric nucleophilic addition of dehydroalanine by alkylthiol's in Ni^{2+} complex of Schiff's bases by a chiral reagent L-2-2-N-(N'-benzylprolyl)aminobenzophenone with following decomposition of the reaction mixtures and isolation of the resulting amino acids has been developed. n-BuSH, *t*-BuSH and *t*-AmSH were used as nucleophiling reagents. Addition results in high

stereoselectivity (up to 98%) and good chemical yields. The obtained diastereoisomeric complexes with L,L- and L,D-absolute configuration were separated on SiO_2 and determined by the usual chemical and physical methods. After the main diastereoisomeric pure complexes had been decomposed in 1N HCl, optically active s-substituted L-amino acids with L-absolute configuration and initial chiral reagent with initial optical purity were isolated.

Thus s-butylcysteine, s-*t*-butylcysteine and s-*t*-amylcysteine with L-absolute configuration in high optical purity (>98%) were synthesized.

ЛИТЕРАТУРА

[1] *Schmidt U., Oler E.* // Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1976. P. 15.

[2] *Bovarnik M.R.* // J.Biol.Chem., 1943, v. 148, p. 151.

[3] *Brewster J.H., Ciotti C.J.* // J. Amer. Chem, Soc., 1955, v. 7, p. 6214.

[4] *Sano K., Sii O.I.* // J. Chem. Appl. Microbiol., 1971, v. 16, p. 94.

[5] *Ikeeda S., Fujita I., Hirose J.* // Agr. Biol. Chem., 1976, v. 40. p. 517.

[6] *Белоконь Ю.Н., Яшкина Л.В., Москаленко М.А., Чесноков А.А., Кублицкий В.С., Иконников Н.С., Орлова С.А., Тараров В.И., Норт М.* // Изв. РАН, сер. хим., 1997, №11, с. 2040.

[7] *Белоконь Ю.Н., Джамгарян С.М., Сагиян А.С., Иванов А.С., Беликов В.М.* // Изв. АН СССР, сер. хим., 1988, №7, с. 1616.

[8] *Belokon' Yu.N., Sagyan A.S., Djamgaryan S.M., Bakhmutov V.I., Belikov V.M.* // Tetrahedron, 1988, v. 44, №17, p. 5507.

[9] *Walter M., Ramaley L.* // Analyt. Chem., 1973, v. 45, p. 307.

[10] *Гордон А., Форд Р.* Спутник химика. М., Мир, 1976.

[11] *Armstrong L.* // J. Org. Chem., 1951, v. 16, p. 750.

[12] *Pastuszak J.J., Chimiak A.* // J. Org. Chem., 1981, v. 46, p. 1868.