

АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ (R)-S-5-(2'-МЕТОКСИФЕНИЛ)-4-
АЛЛИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛ-ЦИСТЕИНА И (R)-S-5-(2'-ХЛОРФЕНИЛ)-
4-АЛЛИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛ-ЦИСТЕИНАА. С. САГИЯН, А. В. ГЕОЛЧАНЯН, А. А. ГРИГОРЯН, Н. Р. МАРТИРОСЯН,
С. А. ДАДАЯН, В. И. ТАРАРОВ, Ю. Н. БЕЛОКОНЬ, Т. В. КОЧИКЯН,
В. С. АРУТЮНЯН и А. А. АВЕТИСЯННаучно-исследовательский институт «Биотехнология», Ереван
Ереванский государственный университет

Поступило 25 II 2002

Разработан высокоэффективный метод асимметрического синтеза (R)-S-5-(2'-метоксифенил)- и (R)-S-3-(2'-хлорфенил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеинов присоединением 3-(2'-метоксифенил)- и 3-(2'-хлорфенил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазолов к электрофильной двойной C=C связи дегидроаланина в Ni(II) комплексе оснований Шиффа с хиральным реагентом (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном, с последующим разложением смеси диастереоизомерных комплексов и выделением целевых оптически активных аминокислот. Стереоселективность нуклеофильного присоединения превышает 97%, а оптическая чистота выделенных целевых α-аминокислот – (R)-S-5-(2'-метоксифенил)- и (R)-S-5-(2'-хлорфенил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеинов превышает 98%.

Рис. 1, табл. 1, библиограф. ссылок 11.

Энантиомерно чистые S-замещенные производные цистеина являются важными компонентами многих физиологически активных пептидов, антибиотиков и других лекарственных препаратов [1-3] и успешно применяются в микробиологии для селекции высокоактивных штамм-продуцентов белковых аминокислот в качестве их аналогов [4,5]. Кроме этого, S-замещенные цистеины являются исходными соединениями для синтеза хиральных лигандов для получения селеновых комплексов с ионами Ti (VI) и Cu (II), применяемых в качестве хиральных катализаторов в реакциях триметилсилилдианирования альдегидов и асимметрического синтеза α-замещенных α-аминокислот [6,7].

Ранее нами были разработаны методы асимметрического синтеза S-алкил- и S-арилзамещенных (R)-цистеинов — (R)-S-фенил-, (R)-S-бен-

зил-, (R)-*S*-трет-бутил-, (R)-*S*-трет-амил-, (R)-*S*-бутилцистеинов, присоединением соответствующих тиолов к двойной C=C связи комплекса [(S)-BPB-Δ-Ala]Ni(II) с последующим разложением полученных комплексов и выделением целевых *S*-замещенных (R)-цистеинов [8,9].

В настоящей работе сообщается об асимметрическом присоединении гетероциклических тиолов 3-(2'-метоксифенил)- (2) и 3-(2'-хлорфенил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазолов (3) к активной электрофильной двойной C=C связи дегидроаланина в хиральном комплексе иона Ni(II) оснований Шиффа с (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном ((S)-BPB) (8)) (1).

Хиральный плоско-квадратный комплекс Ni(II) оснований Шиффа дегидроаланина и (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофенона ((S)-BPB-Δ-Ala]Ni(II) (1)) был синтезирован согласно [10].

Гетероциклические тиолы 3-(2'-метоксифенил)- (2) и 3-(2'-хлорфенил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазолы (3) были синтезированы на кафедре органической химии ЕГУ.

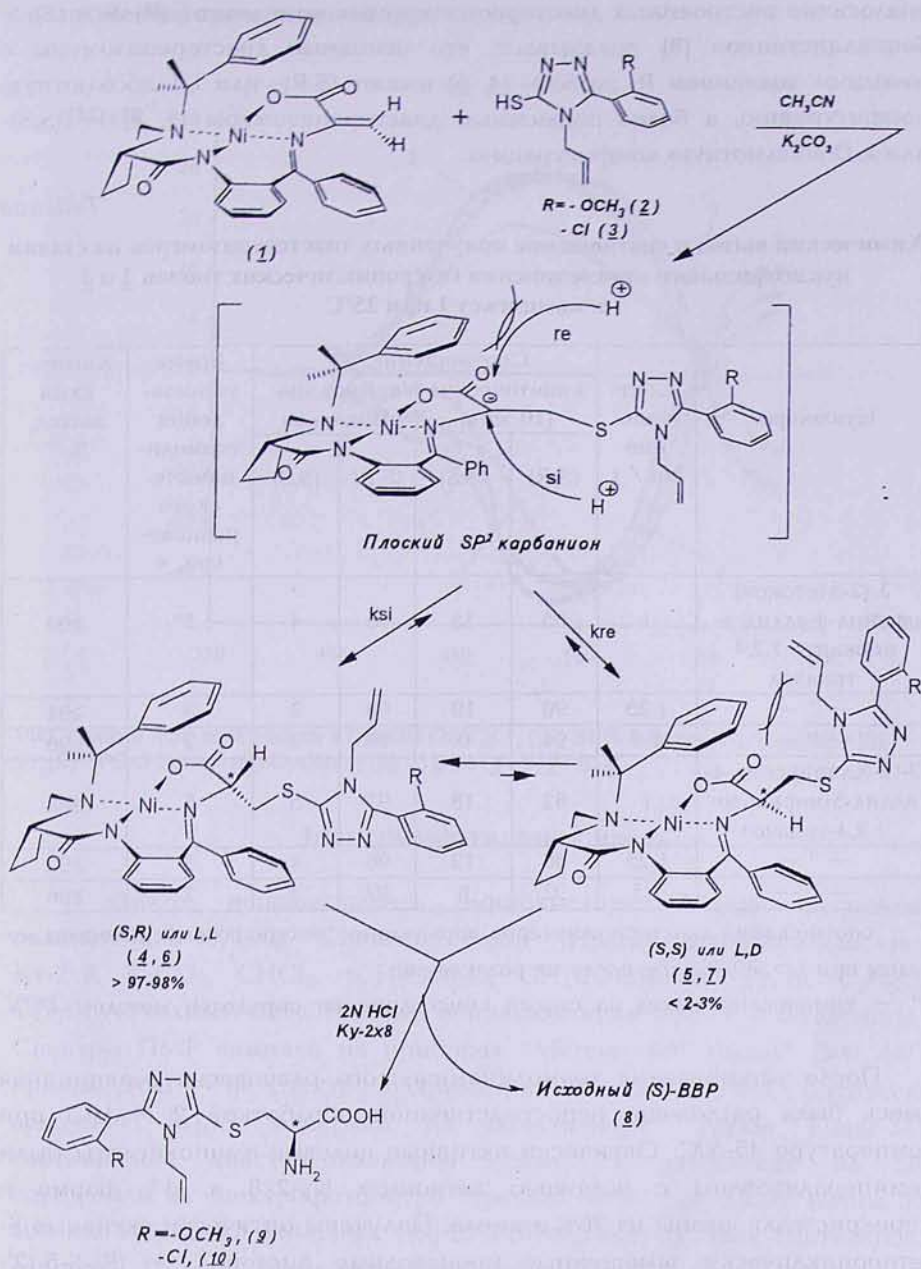
Асимметрическое нуклеофильное присоединение 2 и 3 к активной электрофильной двойной C=C связи дегидроаминокислотного фрагмента комплекса 1 происходит в среде ацетонитрила в присутствии безводного поташа при температуре 25°C (схема).

Присоединение нуклеофилов происходит в условиях основного катализа. При этом в начале реакции (через 5-10 мин) избыток основного диастереоизомера (S,R)- или L,L-абсолютной конфигураций (4, 6), с большим значением R_f на SiO₂ составляет 87-90%, что является следствием кинетической стереоселективности. Затем постепенно устанавливается термодинамическое равновесие, при котором избыток этого диастереоизомера достигает 97-98%. За ходом реакции присоединения гетероциклических тиолов следили методом ТСХ на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃:CH₃COCH₃ (2:1) по исчезновению пятна исходного комплекса 1 и установлению равновесия между диастереоизомерами 4, 6 и 5, 7. Соотношение диастереоизомеров и химические выходы на стадии нуклеофильного присоединения представлены в таблице.

Присоединение нуклеофилов к комплексу 1 и установление термодинамического равновесия между (S,R)- и (S,S)-диастереоизомерами происходит гораздо быстрее при нагревании (50°C). Однако при этом процесс сопровождается образованием побочных продуктов (~4-6%) с меньшим значением R_f на SiO₂.

С целью установления абсолютной конфигурации диастереоизомеров небольшую часть реакционной смеси (~2 л) после завершения реакции присоединения хроматографировали на колонке с SiO₂ (20×2 см) в системе растворителей CHCl₃:CH₃COCH₃ (2:1) и исследовали их абсолютную конфигурацию спектрополяриметрическим методом (рис.).

Схема



Сравнение кривых дисперсии оптического вращения (ДОВ) синтезированных диастереоизомеров с кривыми ДОВ ранее полученных аналогично построенных диастереоизомерных комплексов (R)-S- и (S)-S-бензилцистеинов [8] показывает, что основные диастереоизомеры с меньшим значением R_f на SiO_2 (4, 6) имеют (S,R)- или L,L-абсолютную конфигурацию, а более подвижные диастереоизомеры (5, 7) — (S,S)- или L,D-абсолютную конфигурацию.

Таблица

Химический выход и соотношение полученных диастереоизомеров на стадии нуклеофильного присоединения гетероциклических тиолов 2 и 3 к комплексу 1 при 25°C

Нуклеофил	Соотношение Nu / 1	Соотношение, % *				Время установ- ления термоди- намиче- ского равнове- сия, ч	Химиче- ский выход, % **
		кинетическое (10 мин)		термодина- мическое			
		(S,R)	(S,S)	(S,R)	(S,S)		
3-(2-Метокси) фенил-4-аллил-5- меркапто-1,2,4- триазол	1	85	15	96	4	5	≥90
— " —	1,25	90	10	98	2	3	≥94
— " —	1,5	94	6	98	2	2	≥96
3-(2-Хлор)фенил-4- аллил-5-меркапто- 1,2,4-триазол	1	82	18	95	5	5	≥88
— " —	1,25	88	12	96	4	3	≥92
— " —	1,5	92	8	97	3	2	≥96

* — соотношение диастереоизомеров определено спектрофотометрическим методом при $\lambda = 360-400$ нм, после их разделения;

** — химический выход на стадии присоединения определен методом ТСХ.

После установления термодинамического равновесия реакционная смесь была разложена непосредственной обработкой 2 N HCl при температуре 45-50°C. Оптически активные целевые аминокислоты были деминерализованы с помощью катионита Ку-2х8 в H^+ форме и перекристаллизованы из 70% этанола. Получены оптически активные S-гетероциклически замещенные производные цистеина — (R)-S-5-(2'-метоксифенил)- (9) и (R)-S-5-(2'-хлорфенил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеины (10). При этом исходный хиральный реагент (S)-BPВ (8) регенерируется с химическим выходом >96% и без потери исходной оптической чистоты.

Оптическая чистота синтезированных аминокислот **9** и **10**, по данным хирального жидкостного хроматографического анализа высокого разрешения, превышает 99,5 %.

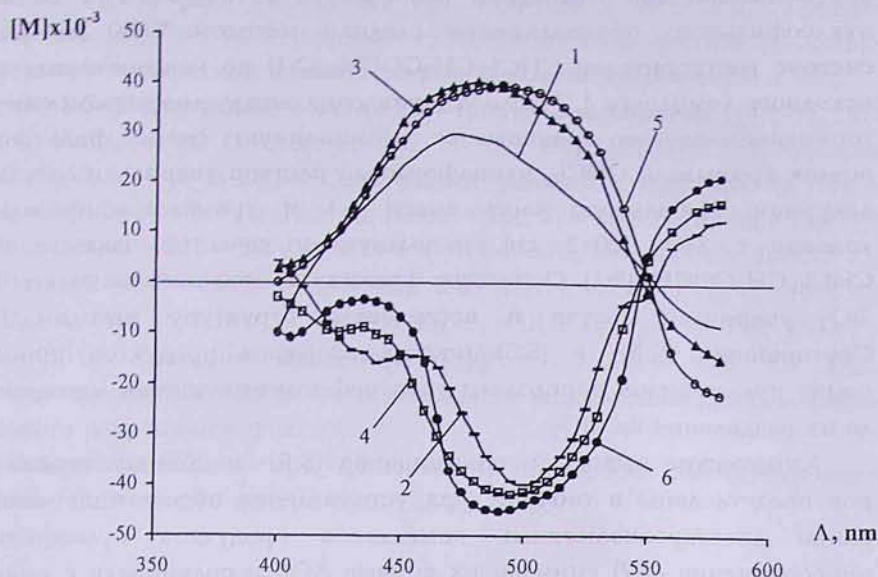


Рис. Кривые ДОВ комплексов в CH_3OH (25°C): 1) $[(S)\text{-BPB-S-Benzyl-(S)-Cys}]\text{Ni(II)}$ [8]; 2) $[(S)\text{-BPB-S-Benzyl-(R)-Cys}]\text{Ni(II)}$ [8]; 3) **5**; 4) **4**; 5) **7**; 6) **6**.

Экспериментальная часть

В работе использовались аминокислота "Reanal" (Будапешт), силикагель L-40/100 μ "Chemapol Praha" (Прага), ионообменная смола Ку-2 $\times$ 8, K_2CO_3 , CHCl_3 , $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$, CH_3COOH , $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, CH_3CN «Реахим». CH_3CN перед использованием очищали согласно [11]. Спектры ПМР снимали на приборах "Mercury-300 Varian" (300 МГц), кривые ДОВ — на спектрополяриметре "Jasco ORD/UV-5", оптическое вращение $[\alpha]_D^{20}$ измеряли на поляриметре "Perkin Elmer-341", соотношение диастереоизомеров после их разделения на SiO_2 определяли на спектрофотометре "Specord M-40" при длине волны 360–400 нм. Исходный комплекс $[(S)\text{-BPB-}\Delta\text{-Ala}]\text{Ni(II)}$ (**1**) был синтезирован согласно [10], а нуклеофильные реагенты **2** и **3** — на кафедре органической химии ЕГУ.

Оптическая чистота синтезированных аминокислот **9** и **10** была определена в Институте органического катализа при университете г. Росток (Германия) методом хиральной жидкостной хроматографии высокого разрешения: хиральная фаза — Crownpak CR (+), элюент — HClO_4 (pH=2), скорость элюции — 0,4 мл/мин, $T=20^\circ\text{C}$.

Общая методика асимметрического синтеза 9 и 10. 5,1 г (10 ммоль) комплекса 1 растворяли в 20 мл CH_3CN , при перемешивании добавляли 3 г (22 ммоль) K_2CO_3 . В токе аргона к реакционной смеси добавляли 3,71 г (15 ммоль) 2 или 3,77 г (15 ммоль) 3. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. За ходом нуклеофильного присоединения следили методом ТСХ на SiO_2 в системе растворителей $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{COCH}_3$ (2:1) по исчезновению пятна исходного комплекса 1. После установления между диастереоизомерами термодинамического равновесия реакционную смесь фильтровали, осадок промывали CHCl_3 , хлороформный раствор упаривали досуха под вакуумом. Небольшую часть смеси (~1 г) хроматографировали на колонке с SiO_2 (20×2 см), используя в качестве элюента смесь $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{COCH}_3$ (2:1). Основную фракцию с меньшим значением R_f на SiO_2 упаривали досуха и исследовали структуру методом ПМР. Соотношение (S,R)- и (S,S)-диастереоизомеров продуктов присоединения нуклеофилов определяли спектрофотометрическим методом после их разделения на SiO_2 .

Химические выходы и соотношения (S,R)- и (S,S)-диастереоизомеров представлены в таблице. Для установления абсолютной конфигурации диастереоизомерных комплексов продуктов нуклеофильного присоединения (4-7) снимали их кривые ДОВ и сравнивали с кривыми ДОВ ранее синтезированных аналогично построенных комплексов [(S)-BPB-*S*-Benzyl-(S)-Cys]Ni(II) и [(S)-BPB-*S*-Benzyl-(R)-Cys]Ni(II) (рис.).

Целевые аминокислоты 9 и 10 выделяли из реакционной смеси по следующей методике: сухой остаток смеси продуктов присоединения (7,2 г) растворяли в 50 мл CH_3OH и медленно добавляли к 50 мл нагретого до 50°C 2 N раствора HCl. После исчезновения характерной для комплекса красной окраски раствор концентрировали под вакуумом, добавляли 50 мл воды и фильтровали исходный хиральный реагент (S)-BPB (8). Для полного отделения (S)-BPB водный экстракт экстрагировали с CHCl_3 (2×20 мл). Из водного слоя выделяли оптически активную аминокислоту с помощью катионита Ку-2×8 в H^+ форме, используя в качестве элюента 5% водно-спиртовой раствор NH_4OH (вода-спирт, 5:1). Элюат концентрировали под вакуумом и кристаллизовали из водно-спиртового раствора (1:4). Получены 2,8 г (8,5 ммоль) (R)-S-5-(2'-метоксифенил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеина (9) или 2,7 г (8 ммоль) (R)-S-5-(2'-хлорфенил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеина (10), что соответствует 85 или 80% химическому выходу, соответственно.

Физико-химические константы и спектральные данные синтезированных аминокислот (9, 10):

(R)-S-5-(2'-метоксифенил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеин (9): $T_{\text{пл}}$ 210-212°C. Найдено, %: С 54,17; Н 5,41; N 16,47. $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$. Вычислено, %: С 53,89; Н 5,39; N 16,77. Спектр ПМР (DMSO , δ , м.д.): 3,96 2д

(1H, α -H, $J_1=10,2$ Гц, $J_2=3,9$ Гц); 4,36 2 А (1H, S-CH_A, $J_1=14,4$ Гц, $J_2=10,2$ Гц); 4,50 2А (2H, -CH₂-C=C-, $J=5,4$ Гц); 4,72 2 А (1H, S-CH_B, $J_1=14,4$ Гц, $J_2=3,9$ Гц); 4,89 2А (1H, -C-C=CH_A, $J_1=17,1$ Гц, $J_2=1,0$ Гц); 5,0 2А (1H, -C-C=CH_B, $J_1=10,5$ Гц, $J_2=1,0$ Гц); 5,68 2А, м, (1H, -C-CH=C, $J_1=17,1$ Гц, $J_2=10,5$ Гц, $J_3=5,4$ Гц); 7,06-7,54 м (4H, C₆H₄). Удельное вращение: $[\alpha]_D^{20} = -5,55^\circ$ (с=1; 1N HCl). Оптическая чистота, по данным хиральной жидкостной хроматографии высокого разрешения, $\geq 99\%$.

(R)-S-5-(2'-хлорфенил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеин (10): Т_{пл.} 215-217°C. Найдено, %: С 49,86; Н 4,45; N 16,3. C₁₄H₁₅N₄O₂SCl. Вычислено, %: С 49,63; Н 4,43; N 16,54. Спектр ПМР (DMSO, δ , м.д.): 4,00 2А (1H, α -H, $J_1=9,9$ Гц, $J_2=3,3$ Гц); 4,39 2А (1H, S-CH_A, $J_1=14,1$ Гц, $J_2=9,9$ Гц); 4,52 А (2H, -CH₂-C=C, $J=5,4$ Гц); 4,74 2 А (1H, S-CH_B, $J_1=14,1$ Гц, $J_2=3,3$ Гц); 4,90 А (1H, -C-C=CH_A, $J=17,1$ Гц); 5,03 А (1H, -C-C=CH_B, $J=10,5$ Гц); 5,7 2А, м, (1H, -C-CH=C, $J_1=17,1$ Гц, $J_2=10,5$ Гц, $J_3=5,4$ Гц); 7,4-7,7 м (4H, C₆H₄). Удельное вращение: $[\alpha]_D^{20} = -2^\circ$ (с= 0,5; 1N HCl). Оптическая чистота, по данным хиральной жидкостной хроматографии высокого разрешения, $\geq 99,5\%$.

Работа выполнена при финансовой поддержке Международного научно-технического центра (грант ISTC A-356).

(R)-S-5-(2'-մեթօքսիֆենիլ)-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-3-իլ-Ցիստեինի եվ (R)-S-5-(2'-բևռֆենիլ)-4-ալիլ-1,2,4- տրիազոլ-3-իլ-Ցիստեինի ԱՍԻՄԵՏՐԻԿ ՍԻՆԹԵԶԸ

Ա. Ս. ՍԱԳՅԱՆ, Ա. Վ. ԳԵՈՂԶԱՆՅԱՆ, Հ. Ա. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Ն. Ռ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ,
Ս. Ա. ԴԱԳԱՅԱՆ, Վ. Ի. ՏԱՐԱՐՈՎ, Յու. Ն. ԲԵԼՈՎՈՐ, Տ. Վ. ՂՈԶԻԿՅԱՆ,
Վ. Ս. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ և Ա. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ

Մշակված է (R)-S-5-(2'-մեթօքսիֆենիլ)- և (R)-S-5-(2'-բևռֆենիլ)-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-3-իլ-ցիստեինների ասիմետրիկ սինթեզի բարձր սելեկտիվ մեթոդ: Մեթոդը հիմնված է Ni(II) հետ դեհիդրոալանինի և (S)-2-N-(N-բենզիլպրոլիլ)ամինոբենզոֆենոն փրալային ռեագենտի Շիֆֆի հիմքի առաջացրած կոմպլեքսի դեհիդրոալանինի մնացորդի էլեկտրոֆիլ կրկնակի C=C կապին 3-(2'-մեթօքսիֆենիլ)- և 3-(2'-բևռֆենիլ)-4-ալիլ-5-մերկապտո-1,2,4-տրիազոլների նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաների վրա՝ առաջացած դիաստերիոզոմեր կոմպլեքսների խառնուրդի հետագա ազաթթվային ֆալքայմամբ և նպատակային օպտիկապես ակտիվ ամինաթթուների անջատմամբ: Նուկլեոֆիլ միացման ռեակցիայի ստերեոսեյեկտիվությունը կազմում է 97-98%, իսկ անջատված նպատակային ամինաթթուների՝ (R)-S-5-(2'-մեթօքսիֆենիլ)- և (R)-S-5-(2'-բևռֆենիլ)-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-3-իլ-ցիստեինների օպտիկական մաքրությունը գերազանցում է 99%:

ASYMMETRIC SYNTHESIS OF (R)-S-5-(2'-OXYMETHYLPHENYL)-4-ALLYL-1,2,4-TRIAZOL-3-YL-CYSTEINE AND (R)-S-5-(2'-CHLORPHENYL)-4-ALLYL-1,2,4-TRIAZOL-3-YL-CYSTEINE

A. S. SAGHIYAN, A. V. GEOLCHANYAN, A. A. GRIGORYAN, N. R. MARTIROSYAN,
S. A. DADAYAN, V. I. TARAROV, Yu. N. BELOKON', T. V. KOCHIKYAN,
V. S. HARUTYUNYAN and A. A. AVETISSYAN

An efficient method for asymmetric synthesis of (R)-S-5-(2'-oxymethylphenyl)-4-allyl-1,2,4-triazol-3-yl-cysteine and (R)-S-5-(2'-chlorophenyl)-4-allyl-1,2,4-triazol-3-yl-cysteine via asymmetric Michael addition of heterocyclic thiol's to the electrophile C=C bond of dehydroalanine in Ni(II) complex of Schiff's bases by a chiral reagent (S)-2-N-(N'-benzylpropyl)aminobenzophenone with following decomposition of the reaction mixtures and isolation of the resulting amino acids has been developed. 3-(2'-oxymethylphenyl)-4-allyl-5-mercapto-1,2,4-triazole (2) and 3-(2'-chlorophenyl)-4-allyl-5-mercapto-1,2,4-triazole (3) were used as nucleophilic reagents. Addition results in high stereoselectivity (up to 97%) and good chemical yields. The obtained diastereoisomeric complexes with (S,R)- and (S,S)-absolute configuration were separated on SiO₂ and determined by the usual chemical and physical methods. After the mixture of diastereoisomeric complexes had been decomposed in 2 N HCl, optically active S-substituted of heterocyclic α -cysteine with (R)-absolute configuration and initial chiral reagent with initial optical purity were isolated.

Thus (R)-S-5-(2'-oxymethylphenyl)-4-allyl-1,2,4-triazol-3-yl-cysteine and (R)-S-5-(2'-chlorophenyl)-4-allyl-1,2,4-triazol-3-yl-cysteine with (R)-absolute configuration in high optical purity (>99%) were synthesized.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Schmidt U., Oler E. // *Angew.Chem. Int. Ed. Engl.*, 1976, v.15, №1, p.42.
- [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] Belokon' Yu.N., North M., Kublitski V.S., Ikonnikov N.S., Krasik P.E., Maleev V.I. // *Tetrahedron Lett.*, 1999, v.40, p.6105.
- [7] Belokon' Yu.N., Kochetkov K.A., Churkina T.D., Ikonnikov N.S., Chesnokov A.A., Larionov O.V., Parmar V.S., Kumar R., Kagan H.B. // *Tetrahedron: Asymmetry*, 1988, v.9, p.851.
- [8] Белоконов Ю.Н., Джамгарян С.М., Сагиян А.С., Иванов А.С., Беликов В.М. // *Изв. АН СССР, сер.хим.*, 1988, №7, с.1616.
- [9] Сагиян А.С., Геолчянян А.В., Джамгарян С.М., Вардапетян С.М., Тараров В.И., Кузьмина А.Н., Иконников Н.С., Белоконов Ю.Н., Норт М. // *Изв. РАН, сер.хим.*, 2000, №8, с.1467.
- [10] Belokon' Yu.N., Saghyan A.S., Djamgaryan S.M., Bakmutov V.I., Belikov V.M. // *Tetrahedron*, 1988, v.44, №17, p.5507.
- [11] Walter M., Ramaley L. // *Analyt. Chem.*, 1973, v.45, p.307.