

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 62, №3-4, 2009 Химический журнал Армении

ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 547.294.31.10.1

АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИ
ЗАМЕЩЕННЫХ α -АМИНОКИСЛОТ (*S*)- β -[4-АЛЛИЛ-3-(ПИРИДИН-3 ИЛИ 4-ИЛ)-5-
ТИОКСО-1,2,4-ТРИАЗОЛ-1-ИЛ]- α -АЛАНИНОВ

А. С. САГИЯН, А. М. СИМОНЯН, К. В. АКОПЯН, А. Г. ТОВМАСЯН,
А. В. ГЕОЛЧАНЯН և В. Т. КОЧИКЯН

Ереванский государственный университет
Армения, 0025, Ереван, ул. А. Манукяна, 1
Факс: (374-10)559355 E-mail: sagysu@netsys.am

Поступило 11 VI 2009

Разработан эффективный метод асимметрического синтеза гетероциклически замещенных аминокислот (*S*)- β -[4-аллил-3-(пиридин-3-ил)- и (*S*)- β -[4-аллил-3-(пиридин-4-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланинов присоединением соответствующих гетероциклических нуклеофилов триазольного ряда к С=C связи дегидроаланина в Ni^{II}-комплексе его основания Шиффа с хиральным вспомогательным реагентом (*S*)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном. Последующим разложением смеси диастереомерных комплексов продуктов присоединения были выделены целевые оптически активные гетероциклически замещенные аминокислоты. Стереоселективность синтеза превышает 96%, а оптическая чистота выделенных аминокислот – 99%.

Рис. 1, табл. 1, библиографических ссылок 14.

α -Аминокислоты небелкового происхождения как необратимые ингибиторы ферментов с повышенной специфичностью и продолжительностью действия успешно применяются в медицине и фармакологии, синтезе физиологически активных пептидов, микробиологии и др. областях науки и техники [1-6] . Особенно актуальны небелковые α -аминокислоты в виде гетероциклически замещенных аналогов, которые являются чужеродными для организма как по структуре, так и по природе гетероатомов. Следует отметить, что количество описанных в литературе гетероциклических аминокислот очень ограничено. Известно лишь несколько гетероциклически замещенных α -аминокислот, и то в виде оптически неактивных рацематов В частности, тиазолилаланин и триазолилаланин, полученные в виде рацематов, применяются в мик-

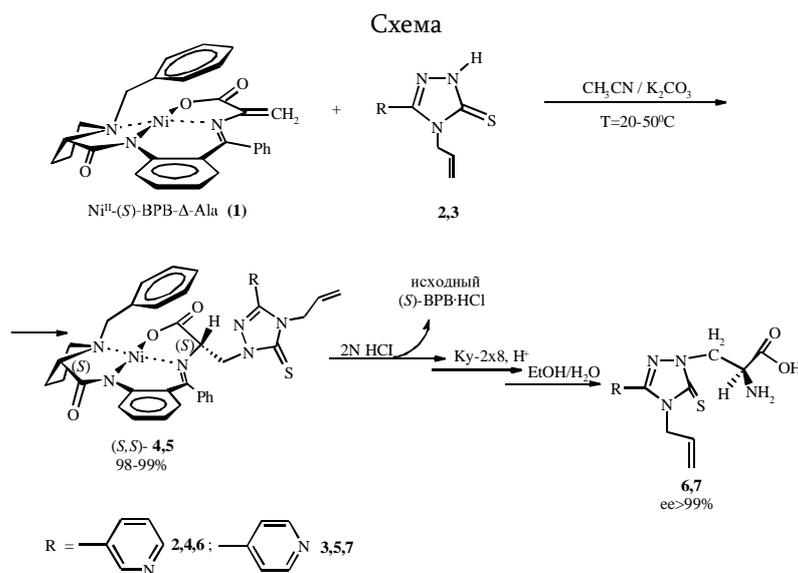
робиологии для селекции активных штамм-продуцентов ряда белковых α -аминокислот (аланина, пролина и др.) в качестве их аналогов [7].

Ранее были разработаны методы асимметрического синтеза β -гетероциклически замещенных аналогов (*S*)-аланина и (*S*)-аминоасляной кислоты, содержащих в боковом радикале остатки 1,2,4-триазола с различными алифатическими и ароматическими заместителями в положениях 3 и 4 триазольного цикла. Для этого было осуществлено асимметрическое нуклеофильное присоединение соответствующих замещенных триазолов к Ni^{II} -комплексам шиффовых оснований дегидроаминокислот и хирального вспомогательного реагента (*S*)-2-N-(*N'*-бензилпролил)аминобензофенона [(*S*)-BPB]. [8-10].

В настоящей работе сообщается о высокоселективном асимметрическом синтезе новых гетероциклически замещенных производных (*S*)-аланина, содержащих в боковом триазольном радикале остатки пиридина – (*S*)-(-[4-аллил-3-(пиридин-3-ил)- и (*S*)-(-[4-аллил-3-(пиридин-4-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланинов.

Плоскоквадратный комплекс иона Ni^{II} с основанием Шиффа дегидроаланина и (*S*)-2-N-(*N'*-бензилпролил)аминобензофенона [Ni^{II} -(*S*)-BPB- Δ -Ala (**1**)] был синтезирован согласно ранее разработанной методике [11], а гетероциклические нуклеофилы – 4-аллил-5-(пиридин-3-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиол (**2**) и 4-аллил-5-(пиридин-4-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиол (**3**), синтезированы на кафедре органической химии ЕГУ.

Асимметрическое нуклеофильное присоединение гетероциклических тиолов **2** и **3** к активной электрофильной $\text{C}=\text{C}$ связи дегидроаминокислотного фрагмента комплекса **1** происходит в ацетонитриле в условиях основного катализа (безводный поташ) при температуре 25°C (схема).



За ходом реакции нуклеофильного присоединения следили методом ТСХ на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃:CH₃COCH₃ (3:1) по исчезновению пятна исходного комплекса **1** и установлению равновесия между (*S,S*)- и (*S,R*)-диастереоизомерами продуктов присоединения (**4,5**). Основные диастереоизомеры продуктов нуклеофильного присоединения (с меньшим значением R_f) (комплексы **4,5**) были хроматографированы [SiO₂, 30×40 см, CHCl₃:CH₃COCH₃ (3:1)], и их строения и абсолютные конфигурации исследованы современными методами спектрального анализа – ЯМР ¹H и ЯМР ¹³C, элементным анализом, поляриметрическими измерениями.

Абсолютная конфигурация (-углеродного атома аминокислотного остатка комплексов определялась по знаку оптического вращения при длине волны 589 нм, как это было сделано ранее для других аналогично построенных комплексов алифатических и гетероциклических аминокислот [12]. Положительное значение оптического вращения основных диастереомерных комплексов **4** и **5** в этой области свидетельствует об (*S*)-абсолютной конфигурации α-углеродного атома их аминокислотных остатков [(*S,S*)-диастереомеры]. Это дополнительно было подтверждено методом высокоэффективной хиральной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) после разложения комплексов **4** и **5** и выделения целевых аминокислот ионообменными методами.

Соотношение (*S,S*)- и (*S,R*)- диастереоизомеров продуктов нуклеофильного присоединения было определено методом хирального ВЭЖХ анализа аминокислот, выделенных из смеси диастереомерных комплексов (до хроматографирования). Результаты приведены в таблице.

Таблица

Результаты нуклеофильного присоединения замещенных триазолов (2,3) к хиральному комплексу 1 в среде CH₃CN/K₂CO₃

№	Нуклеофил	Соотношение, % *		Время, мин		Химический выход, %**
		(<i>S,S</i>)	(<i>S,R</i>)	20°C	50°C	
1	4-аллил-5-(пиридин-3-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиол (2)	98,6	1,4	180	40	62
2	4-аллил-5-(пиридин-4-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиол (3)	98,1	1,9	200	45	58

* – соотношение диастереомеров на основании данных хирального ВЭЖХ анализа аминокислот, полученных после разложения смеси диастереомерных комплексов и ионообменной деминерализации аминокислот.

** – химический выход смеси диастереомерных комплексов на стадии нуклеофильного присоединения.

Как видно из данных таблицы, присоединение гетероциклических нуклеофилов к комплексу **1** и установление термодинамического равновесия между (*S,S*)- и (*S,R*)-диастереомерами продуктов присоединения ускоряются при нагревании до 50°C.

Выделение целевых аминокислот из смеси диастереомерных комплексов проводилось по стандартной методике [13]. Для этого реакционная смесь была разложена непосредственной обработкой 2*N* HCl при 45-50°C (схема). Оптически активные целевые аминокислоты были деминерализированы с использованием катионита Ку-2х8 в H⁺-форме (элюент – 5% NH₄OH) и перекристаллизованы из раствора C₂H₅OH:H₂O (1:1). Получены оптически активные гетероциклически замещенные производные (*S*)-аланина – (*S*)-β-[4-аллил-3-(пиридин-3-ил)- (6) и (*S*)-β-[4-аллил-3-(пиридин-4-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-)аланины (7) с химическими выходами 64,2 и 60,27%, соответственно, в расчете на исходное количество комплекса 1. При этом исходный хиральный реагент (*S*)-BPB регенерируется с химическим выходом >90% и полным сохранением исходной оптической чистоты, что позволяет его использовать повторно в реакциях асимметрического синтеза аминокислот.

Энантиомерная чистота (*ee*) выделенных гетероциклически замещенных аминокислот 6 и 7, по данным хирального ВЭЖХ анализа, превышает 99% (рис.).

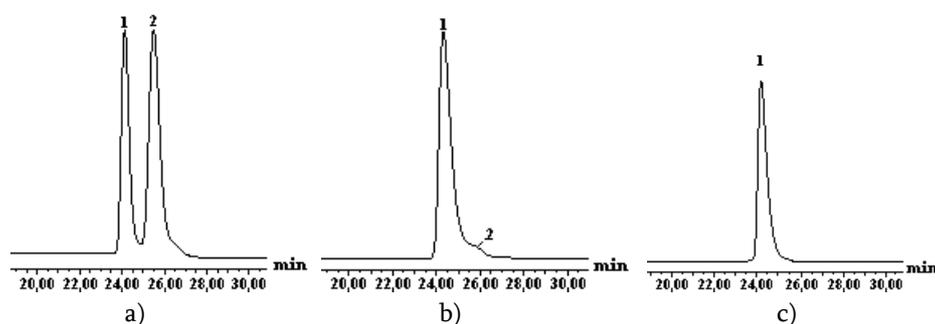


Рис. Высокоэффективная хиральная жидкостная хроматограмма аминокислоты 6: а) рацемическая смесь, б) синтезированный образец (до кристаллизации), в) энантиомерно чистый (*S*)-изомер (после перекристаллизации).

Экспериментальная часть

В работе использовались аминокислота “Reanal” (Будапешт), силикагель L-40/100μ “Chemapol Praha” (Прага), ионообменная смола Ку-2(8, K₂CO₃, CHCl₃, (CH₃)₂CO, C₂H₅OH, CH₃CN «Реахим». Все использованные растворители очищали согласно [14]. Спектры ЯМР ¹H снимали на приборе “Mercury-300 Varian” (300 МГц), оптическое вращение [α]_D²⁰ измеряли на поляриметре “Perkin Elmer-341”. Хиральный анализ аминокислот проводили с помощью ВЭЖХ на приборе «Waters separations module 2690», на колонке «Диасфер-110-Chirasil-E» (6,0 мкм, 4,0(250 мм). Использовали метод градиента в течение 40 мин, применяли подвижную фазу – метанол и воду, с pH 3,0 (хлорная кислота). В качестве детектора использовали УФ-детектор при 254 нм.

Исходный комплекс Ni^{II}-(*S*)-BPB-Δ-Ala (1) был синтезирован согласно [11], а нуклеофильные реагенты 2 и 3 – на кафедре органической химии ЕГУ.

Асимметрическое присоединение 2 и 3 к двойной связи комплекса 1. 7,54 г (14,8 ммоль) комплекса 1 и 6,16 г (44,6 ммоль) K₂CO₃ помещали в 25 мл CH₃CN. Затем при переме-

шивании к реакционной смеси добавляли 6,5 г (29,8 ммоль) нуклеофила **2** или **3**. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре соответственно в течение 3 и 3,5 ч. За ходом нуклеофильного присоединения следили методом ТСХ на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃:CH₃COCH₃ (3:1) по исчезновению пятна исходного комплекса **1**. Затем реакционную смесь отфильтровывали, осадок промывали ацетонитрилом и фильтрат упаривали досуха под вакуумом. Основные диастереомеры продуктов присоединения нуклеофилов выделяли методом препаративной ТСХ [SiO₂, 20(20 см, CHCl₃:(CH₃)₂CO (3:1)], соотношение диастереомеров [(*S,S*)/(*S,R*)] определяли методом хирального ВЭЖХ анализа. Получили комплексы **4** и **5** соответственно с 62 и 58% химическими выходами.

Комплекс 4. Т.пл. 165-167°C. Найдено, %: С 62.25; Н 4.66; N 13.01. C₃₈H₃₅O₃N₇SNi. Вычислено, %: С 62.64; Н 4.81; N 13.46. $[\alpha]_D^{20} = +1801.4^\circ$ (с 0.07, CH₃OH).

Комплекс 5. Т.пл. 168-170°C. Найдено, %: С 62.25; Н 4.66; N 13.01. C₃₈H₃₅O₃N₇SNi. Вычислено, %: С 62.64; Н 4.81; N 13.46. $[\alpha]_D^{20} = +1892.25^\circ$ (с 0.07, CH₃OH).

Спектры ЯМР ¹H сложные и трудноинтерпретируемые, но набор необходимых сигналов и их количественная характеристика (значения интегралов) свидетельствуют о получении ожидаемых структур.

Разложение комплексов и выделение целевых аминокислот. Целевые аминокислоты **6** и **7** были выделены из реакционной смеси по следующей методике. Для этого сухой остаток смеси продуктов присоединения (**4** или **5**) растворяли в 100 мл CH₃OH и медленно добавляли к 100 мл 2N раствору HCl, нагретого до 50°C. После исчезновения характерной для комплексов красной окраски гидролизат концентрировали под вакуумом, добавляли 100 мл воды и отфильтровывали исходный хиральный реагент (*S*)-BPB в виде гидрохлорида. Для отделения остатков (*S*)-BPB водный раствор экстрагировали CHCl₃ (2x100 мл). Из водного раствора выделяли оптически активную аминокислоту с применением катионита Ку-2x8 в H⁺ форме, используя в качестве элюента 5% водный раствор NH₄OH. Аммиачный элюат концентрировали под вакуумом и кристаллизовали аминокислоту из водно-спиртового раствора (1:1). Получено 2,9 г (9,51 ммоль) (*S*)-β-[4-аллил-3-(пиридин-3-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-)-аланина (**6**) и 2,72 г (8,92 ммоль) (*S*)-β-[4-аллил-3-(пиридин-4-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина (**7**), что соответствует химическим выходам 64,2 и 60,27%, соответственно, рассчитанным на количество исходного комплекса **1**.

Аминокислота 6. Т.пл. 218-219°C. Найдено, %: С 50.89%; Н 4.91%; N 22.83%. C₁₃H₁₅N₅O₂S. Вычислено, %: С 51.15%; Н 4.92%; N 22.95%. Спектр ЯМР ¹H (DMSO + CF₃COOD, δ, м.д., Гц): 4.48 м (1H, α-Н аланин); 4.62 м (1H, β-Н аланин); 4.73 м (1H, -CH₂-CH=CH₂); 4.80 м (1H, β-Н аланин); 4.84 д (1H, -CH₂-CH=CH₂, J=10.5); 5.04 д (1H, -CH₂-CH=CH₂, J=17.2); 5.19 д (1H, -CH₂-CH=CH₂, J=10.5); 5.88 м (1H, -CH₂-CH=CH₂); 7.42-8.96 м (4H, Ar). $[\alpha]_D^{20} = +4.5^\circ$ (с=1; 4.9N HCl).

Аминокислота 7. Т.пл. 220-222°C. Найдено, %: С 50.87%; Н 4.60%; N 22.81%. C₁₃H₁₅N₅O₂S. Вычислено, %: С 51.15%; Н 4.92%; N 22.95%. Спектр ЯМР ¹H (DMSO + CF₃COOD, δ, м.д., Åö): 4.42 м (1H, α-Н аланин); 4.64 м (1H, β-Н аланин); 4.78 м (1H, -CH₂-CH=CH₂); 4.82 м (1H, β-Н аланин); 4.86 д (1H, -CH₂-CH=CH₂, J=10.5); 5.18 д (1H, -CH₂-CH=CH₂, J=17.2); 5.21 д (1H, -CH₂-CH=CH₂, J=10.5); 5.88 м (1H, -CH₂-CH=CH₂); 7.62-8.84 м (4H, Ar). $[\alpha]_D^{20} = +9.4^\circ$ (с=1; 4.9N HCl).

ՀԵՏԵՐՈՑԻԿԼԻԿ ՏԵՂԱԿԱԼՎԱԾ (S)-β-[4-ԱԼԻԼ-3-(ՊԻՐԻԴԻՆ-3 ԿԱՄ 4-ԻԼ)-5-ԹԻՕՔՍՈ-1,2,4-ՏՐԻԱԶՈԼ-1-ԻԼ]-α-ԱԼԱՆԻՆՆԵՐԻ ԱՍԻՄԵՏՐԻԿ ՄԻՆԹԵԶԸ

**Ա. Ս. ՍԱԴԻՅԱՆ, Հ. Մ. ՄԻՄՈՆՅԱՆ, Կ. Վ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ, Ա. Գ. ԹՈՎՄԱՅԱՆ,
Ա. Վ. ԳԵՈԼՉԱՆՅԱՆ և Վ. Տ. ՂՈՉԻԿՅԱՆ**

Մշակվել է (S)-β-[4-ալիլ-3-(պիրիդին-3-իլ)- և (S)-β-[4-ալիլ-3-(պիրիդին-4-իլ)-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանինների հետերոցիկլիկ տեղակալված ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի արդյունավետ եղանակ: Մինթեզն իրականացվել է Ni^{II}-ի հետ դեհիդրոալանինի և (S)-2-N-(N'-բենզիլպրոլիլ)ամինաբենզոֆենոն քիրալային օժանդակ ռեագենտի Շիֆի հիմքի առաջացրած կոմպլեքսի դեհիդրոալանինի մնացորդի էլեկտրոֆիլ C=C կապին 4-ալիլ-5-(պիրիդին-3-իլ)-4H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոլ և 4-ալիլ-5-(պիրիդին-4-իլ)-4H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոլ նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացմամբ: Առաջացած դիաստերեոիզոմեր կոմպլեքսների խառնուրդների հետագա աղաթթվային քայքայմամբ անջատվել են նպատակային օպտիկապես ակտիվ ամինաթթուները: Նուկլեոֆիլ միացման ռեակցիաների ստերեոսելեկտիվությունը գերազանցել է 96, իսկ անջատված նպատակային ամինաթթուների օպտիկական մաքրությունը՝ 99%:

ASYMMETRIC SYNTHESIS OF HETEROCYCLIC SUBSTITUTED (S)- β-[4-ALLYL-3-(PYRIDIN-3 OR 4-YL)-5-THIOXO-1,2,4-TRIAZOL-1-YL]-α-ALANINES

**A. S. SAGHIYAN, H. M. SIMONYAN, K. V. HAKOBYAN, A. G. TOVMASYAN,
A. V. GEOLCHANYAN and V. T. GHOCHIKYAN**

Yerevan State University
1 Alex Manoogian st., 0025, Yerevan, Armenia
Fax: (374 – 10)559355 E – mail: sagyus@netsys.am

Efficient method for asymmetric synthesis of (S)-β-[4-allyl-3-(pyridin-3-yl)-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine and (S)-β-[4-allyl-3-(pyridin-4-yl)-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine via asymmetric addition of heterocyclic thiols to the electrophilic C=C bond of dehydroalanine in Ni^{II} complex of Schiff's base by a chiral reagent (S)-2-N-(N'-benzylprolyl)aminobenzophenone followed by decomposition of the reaction mixtures and isolation of the resulting amino acids have been developed. 4-allyl-5-(pyridin-3-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol and 4-allyl-5-(pyridin-3-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol were used as nucleophilic reagents. The stereoselectivity of synthesis was up to 96%. The obtained diastereoisomeric complexes with (S,S)- and (S,R)-absolute configurations were separated on SiO₂ and their structures and absolute configurations were determined by the modern chemical and physical methods. After the mixture of diastereoisomeric complexes had been decomposed by 2*N* HCl, optically active β-substituted heterocyclic α-alanines were isolated.

Thus (S)-β-[4-allyl-3-(pyridin-3-yl)-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine and (S)-β-[4-allyl-3-(pyridin-4-yl)-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine with (S)-absolute configuration were synthesized in high optical purity (>99%).

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Yoshioka H., Aoki T., Goko H., Nakatsu K., Noda T., Sakakibara H., Take T., Nagata A., Abe J., Wakamiya T., Shiba T., Kaneko T.* // *Tetrahedron Letters*, 1971, p. 2043.
- [2] *Takita T., Muraoka Y., Yoshioka T., Fuji A., Naeda K., Umezawa H.* // *J. Antibiot.*, 1972, v. 25, p. 755;
- [3] *Jakubke H-D., Jeschkeit H.* *Aminosuren, Peptide, Proteine, Akademie-Verlag, Berlin*, 1982.
- [4] *Radahhisman A.N.* // *J. Biochem.*, 1970, p.117.
- [5] *Lambertine J.B., Coulier A.W., Talalay P.* // *Mol. Pharmacol.*, 1970, v. 6, p. 481.
- [6] *Mori Y., Truboi M., Fukushima K., Aroi T.* // *Jour. Soc. Chem. Comm.*, 1982, p. 94.
- [7] *Lambardine J.B., Coulter A.W., Talalay P.* // *Mol. Pharmacol.*, 1970, v. 6, p. 481.
- [8] *Сагиян А.С., Геолчанян А.В., Мартиросян Н.Р., Дадаян С.А., Тараров В.И., Белоконь Ю.Н., Кочикян Т.В., Арутюнян В.С., Аветисян А.А.* // *Хим. ж. Армении*, 2002, т.55, №4, с.84.
- [9] *Сагиян А.С., Геолчанян А.В., Манасян Л.Л., Мкртчян Г.М., Мартиросян Н.Р., Дадаян С.А., Кочикян Т.В., Арутюнян В.С., Аветисян А.А., Тараров В.И., Малеев В.И., Белоконь Ю.Н.* // *Изв. РАН., сер. хим.*, 2004, №4, с.894.
- [10] *Сагиян А.С., Геолчанян А.В., Григорян А.А., Мартиросян Н.Р., Дадаян С.А., Тараров В.И., Белоконь Ю.Н., Кочикян Т.В., Арутюнян В.С., Аветисян А.А.* // *Хим. ж. Армении*, 2004, т.57, №1-2, с.85.
- [11] *Belokon' Yu.N., Saghayan A.S., Djamgaryan S.M., Bakhmutov V.I., Belikov V.M.* // *Tetrahedron*, 1988, v. 44, 117, p. 5507.
- [12] *Belokon' Yu.N., Saghayan A.S., Djamgaryan S.M., Bakhmutov V.I., Struchkov Yu.T., Belikov V.M.* // *J. Chem Soc. Pekin Trans. 1*, 1990, p.2301.
- [13] *Belokon' Yu.N., Tararov V.I., Maleev V.I., Savel'eva T.F., Ryzhov M.G.* // *Tetrahedron: Asymmetry*, 1998, v. 9, p. 4249.
- [14] *Гордон А., Форд Р.* *Спутник химика. М., Мир*, 1976.