

АСИММЕТРИЧЕСКОЕ С-АЛКИЛИРОВАНИЕ АЛАНИНА В
ХИРАЛЬНОМ КОМПЛЕКСЕ С ИОНОМ Ni^{2+} .
СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ НЕБЕЛКОВЫХ
D- α -АМИНОКИСЛОТ.

САГИЯН А. С., ОГАНЕСЯН Ц. К., САГЯН С. З., БЕЛОКОНЬ Ю. Н.

Разработан универсальный метод асимметрического синтеза небелковых α -замещенных аминокислот D-абсолютной конфигурации путем С-алкилирования аланина в его Ni^{2+} комплексе оснований Шиффа с хиральным реагентом D-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном с последующим разложением комплексов и выделением целевых аминокислот. Синтезированы α -метил- β -фенил- α -аланин, α -метилнорлейцин, α -метил-O-бензилтирозин и α -аллилаланин D-абсолютной конфигурации. Стереоселективность синтеза составляет 90-94%, оптическая чистота синтезированных аминокислот превышает 98%.

Аминокислоты и их производные - важный класс природных соединений, находящие широкое применение в пищевой промышленности [1,2], животноводстве и птицеводстве [3,4], медицине [5] и в других областях науки и техники.

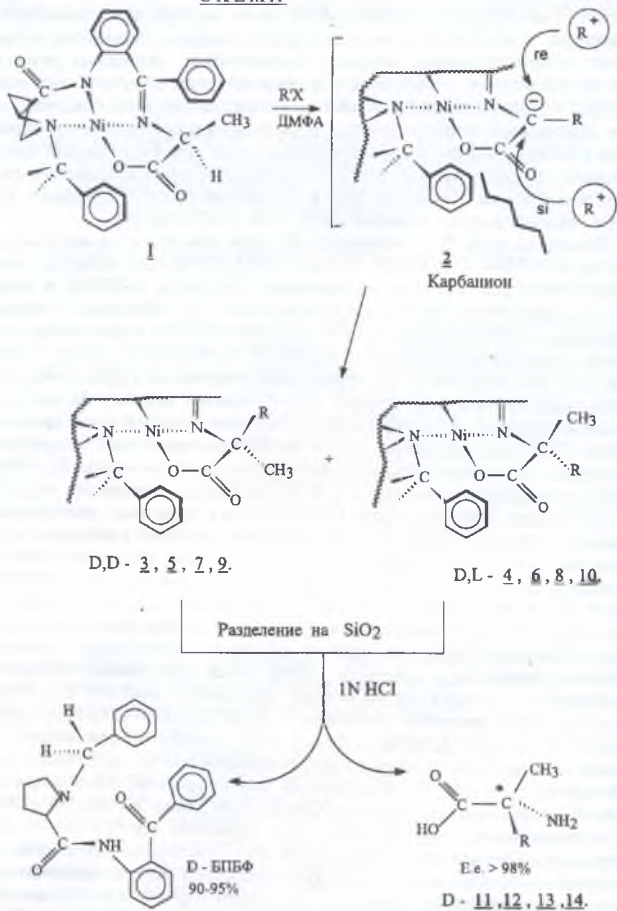
В последнее время внимание исследователей все больше привлекают небелковые оптически активные аминокислоты D-абсолютной конфигурации, которые как необратимые ингибиторы ферментов с повышенной специфичностью и продолжительностью действия успешно применяются в медицине и фармакологии для получения различных лекарственных препаратов противоракового, антигипертензивного, антианаркологического и другого действия. К числу таких соединений относятся также α -замещенные производные D- α -аминокислот, которые являются неприродными как по структуре, так и по абсолютной конфигурации. Например, D- α -метилфенилаланин [6], D- α -метилтирозин [7], α -метилтриптофан [8] и т. д.

Следует отметить, что α -замещенные α -аминокислоты физиологически активны и пригодны для синтеза физиологически активных пептидов и лекарственных препаратов только в энантиомерно чистых формах, и именно в таких формах они должны быть синтезированы. К сожалению использование традиционных методов синтеза аминокислот (микробио-

логический синтез, энзиматическая трансформация и обычный химический синтез с последующим разделением рацематов на оптически активные антиподы) не эффективно для получения α -замещенных α -аминокислот D-абсолютной конфигурации из-за неприродного характера их структуры. В этой связи в последнее время успешно развивается направление асимметрического синтеза с применением хиральных реагентов или катализаторов, позволяющих непосредственно получить оптически активную аминокислоту природного и неприродного происхождения, минуя стадию разделения рацематов. В настоящей работе в качестве хирального синтона аланина нами использован ранее синтезированный плоскокватратный комплекс иона $Ni(II)$ основания Шиффа аланина с хиральным реагентом на основе циклической иминокислоты D-пролина - D-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном (D-БПБФ) [9].

Комплекс иона Ni^{2+} оснований Шиффа аланина с хиральным реагентом D-БПБФ ($[D\text{-БПБФ-D-Ала}]Ni(II)$) (1) был синтезирован взаимодействием D,L-аланина с хиральным реагентом D-БПБФ и ионом Ni^{2+} в среде метанола в присутствии КОН [9]. Фрагмент аланина комплекса 1 обладает высокой СН-кислотностью и в присутствии оснований через промежуточный плоский SP^2 карбанион (2) легко C-алкилируется под действием различных электрофильных групп с образованием комплексов α -замещенных α -аминокислот (схема). За ходом реакции алкилирования удобно следить методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках SiO_2 в системе растворителей хлороформ-ацетон (5:1), так как продукты алкилирования по значению R_f отличаются от исходного комплекса 1. В результате алкилирования образуется смесь двух диастереомерных комплексов с избытком диастереомера с наименьшим значением R_f на силикагеле, который увеличивается по ходу реакции. Диастереомерные комплексы были разделены препаративной хроматографией на SiO_2 и охарактеризованы физико-химическими методами анализа - 1H -ЯМР, элементный анализ, электронная спектроскопия. Для определения абсолютной конфигурации диастереомеров были получены их кривые дисперсии оптического вращения (ДОВ) и сравнены с кривыми ДОВ ранее полученных аналогично построенных комплексов на основе хирального реагента L-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном - $[L\text{-БПБФ-L-}\alpha\text{-CH}_3\text{-Phe}]Ni(II)$ и $[L\text{-БПБФ-L-}\alpha\text{-allyl-Ала}]Ni(II)$ (рис.) [10]. Сравнение показывает, что основные фракции с наименьшей подвижностью на силикагеле являются диастереомеры D,D-абсолютной конфигурацией, о чем свидетельствуют положительные эффекты Коттона при длине волны 430 - 520 нм и отрицательные эффекты Коттона в диапазоне 520-620 нм, а также зеркальное изображение кривых ДОВ этих диастереомеров и ранее полученных соответствующих L,L-диастереомеров. Как и следовало ожидать, диастереомерные комплексы отличаются друг от друга химическими сдвигами α -H аминокислотного фрагмента и видами кривых ДОВ и имеют практически идентичные данные элементного анализа и электронных спектров. Равновесные соотношения D,D и D,L-диастереомеров алкилированных комплексов после их разделения на SiO_2 определялось спектрофотометрическим методом и представлены в таблице.

СХЕМА



Где $R = C_6H_5CH_2-$, D,D- **3**, D,L- **4**, D- **11**; $CH_2=CH-CH_2-$, D,D- **5**, D,L- **6**, D- **12**;
 $CH_3CH_2CH_2CH_2-$, D,D- **7**, D,L- **8**, D- **14**; $p-C_6H_5CH_2OC_6H_4CH_2-$, D,D- **9**,
 D,L- **10**, D- **13**.

Результаты С-алкилирования аланина в комплексе [D-БПБФ-D-Ала]Ni(II) (1)

№ п/п	Исходный комплекс аланина	Алкилирующий реагент	Соотношение D,D / D,L	О. Ч. % *	Химический выход (%) **
1.	[D-БПБФ-D-Ала]Ni(II)	$C_6H_5CH_2Br$	95 / 5	> 98	93
2.	" "	$CH_2=CH-CH_2Br$	92 / 8	> 98	91
3.	" "	$CH_3(CH_2)_3Br$	89/11	>98	92
4.	" "	p- $C_6H_5CH_2O$ - - $C_6H_4CH_2Cl$	98 / 2	~ 98	88
5.	[D-БПБФ-D,L-Ала]Ni(II)	$C_6H_5CH_2Br$	96 / 4	~ 98	91
6.	[D-БПБФ-L-Ала]Ni(II)	" "	95 / 5	~ 98	92

Примечания * Оптическая чистота (О.Ч.) определена методом ГЖХ-хирального энантиомерного анализа;

** Химический выход определен исходя из исходного количества исходного комплекса 1.

Как видно из таблицы, избыток D,D-диастереомера алкилированных комплексов в смеси составляет 95-98%, вне зависимости от абсолютной конфигурации исходного комплекса.

Наличие высоких энантиоселективных эффектов при алкилировании является следствием стерического несвязывающего взаимодействия между фенильной группой N-бензилпролинового остатка и объемистым алкилирующим радикалом на si стороне прохирального карбаниона, что экранирует атаку алкилирующего агента на прохиральный карбанион с этой стороны плоскости основания Шиффа.

Это приводит к замедлению скорости реакции С-алкилирования со стороны si прохирального карбаниона относительно скорости реакции со стороны re с образованием D,D-диастереомера в большом избытке. Особенно сильно наблюдается это в случае использования в качестве алкилирующего реагента более объемистого p- $C_6H_5CH_2OC_6H_4CH_2Cl$.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. В работе использовались аминокислоты "Reanal" (Будапешт) и НИИБиотехнология (Ереван), силикагель L-40/100 μ "Chemapol Praha" (Прага), ионообменная смола Ky-2x8, NaOH, ДМФА, CH_3COCH_3 , $CHCl_3$, CH_3CN , $C_6H_5CH_2Br$, $CH_2=CH-CH_2Cl$, $CH_3CH_2CH_2CH_2Br$, p- $C_6H_4CH_2OC_6H_4CH_2Cl$ и другие "Рехим" (СССР).

Исходный комплекс 1 был синтезирован согласно [9]. ДМФА и CH_3CN перед использованием очищали согласно [11,12].

Спектры 1H -ЯМР снимали на приборах "Tesla NMR-BS-467" (60 МГц) и "Brucker WP-200" (200 МГц), электронные спектры - на приборе "Specord M-40". Оптическое вращение измеряли на поляриметре "Perkin Elmer-241", Кривые ДОВ снимали на спектрополяриметре "Jasco ORD/UV-5". Энантиомерный количественный анализ аминокислот осуществляли методом ГЖХ-энантиомерного хирального анализа в виде изопропиловых эфиров X-трифторацетильных производных на хиральной

фазе "Херасиль-Валин" [13].

Общая методика алкилирования комплекса 1. 20 ммоль комплекса растворяют в 15 мл ДМФА, добавляют 100 ммоль галоидного алкила и 50 ммоль мелко растертой NaOH. Перемешивают в токе аргона при температуре 2-3 часа. За ходом реакции следят методом ТСХ (SiO_2 , CHCl_3 - CH_3COCH_3 (5:1)) по исчезновению исходного комплекса. По окончании реакции в реакционную смесь добавляют 10% CH_3COOH до значения pH=6-7, экстрагируют продукт реакции хлороформом, хлороформенный экстракт концентрируют под вакуумом и хроматографируют на колонках с SiO_2 , используя в качестве элюента смесь хлороформ-ацетон (2:1). Диастереомерно чистые основные фракции алкилированных комплексов дополнительно очищали на сефадексе Sephadex LH-20 в системе растворителей бензол-этанол (3:1) и охарактеризовали спектральными методами анализа. Соотношения диастереомеров и химические выходы при алкилировании в таблице.

Спектральные данные алкилированных комплексов:

[D-БПБФ-D- α - CH_3 -Phe]Ni(II) (3): Тпл. 120-124°C. Найдено - C 69,60, H 5,38, N 7,02%. Вычислено для формулы $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3\text{Ni}$ - C 69,78; H 5,52; N 6,96%. Электронный спектр (CH_3OH), λ_{max} , нм (log E): 262 (4,23); 335 (3,68); 421 (3,49); 524 (2,37). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 1,10 с (3H, α - CH_3); 1,68-3,22 м (7H, α -, β -, γ - и δ -H (Pro)); 3,11 м (2H, CH_2 -(Phe)); 3,46 и 4,25 д (AB, 2H, CH_2 -Bzl, J=12,5 Гц); 6,51-8,2 м (19 H, Ar). Молекулярное вращение $[\text{M}]^{25}$ в CH_3OH (λ_{nm}): - 16018 (578); - 6796 (546); + 9221 (436); - 5338 (365).

[D-БПБФ-D- α -Allyl-Ala]Ni(II) (5): Тпл. 219-222°C. Найдено - C 66,99; H 5,63; N 7,54%. Вычислено для формулы $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_3\text{Ni}$ - C 67,40; H 5,65; N 7,60%. Электронный спектр (CH_3OH), λ_{max} , нм (log E): 264 (4,21); 332 (3,74); 413 (3,48); 531 (2,27). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 1,13 с (3H, α - CH_3); 1,86-3,52 м (7H, α -, β -, γ - и δ -H (Pro)); 2,43 д (2H, $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$); 3,66 и 4,42 д (AB, 2H, CH_2 -Bzl, J=12,5 Гц); 5,35 м (2H, $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$, J_{транс} = 14 Гц, J_{цис} = 9 Гц, J_{гем} = 1 Гц); 6,64 м (1H, $\text{HC}=\text{CH}_2$); 6,44-8,2 м (14 H, Ar). Молекулярное вращение $[\text{M}]^{25}$ в CH_3OH (λ_{nm}): - 14179 (578); - 9326 (546); + 1866 (436); - 9703 (365).

[D-БПБФ-D- α - CH_3 -Nle]Ni(II) (7): Тпл. 215-217°C. Найдено - C 67,63; H 6,38; N 7,42%. Вычислено для формулы $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3\text{Ni}$ - C 67,62; H 6,21; N 7,39%. Электронный спектр (CH_3OH), λ_{max} , нм (log E): 266 (4,11); 332 (3,67); 419 (3,48); 533 (2,07). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 0,98 тр (3H, CH_3 -(Nle)); 1,20 с (3H, α - CH_3); 1,31 м (2H, CH_2 -(Nle)); 1,63 м (2H, CH_2 -(Nle)); 2,00-3,23 м (8H, β -, γ - и δ - CH_2 -(Pro) и CH_2 -(Nle)); 3,40 м (1H, α -CH-(Pro)); 3,65 и 4,45 д (AB, 2H, CH_2 -Bzl, J=12,5 Гц); 6,58-8,1 м (14 H, Ar). Молекулярное вращение $[\text{M}]^{25}$ в CH_3OH (λ_{nm}): - 13793 (578); - 9483 (546); + 865 (436); + 16810 (365).

[D-БПБФ-D- α - CH_3 -O-Bzl-Tyr]Ni(II) (9): Тпл. 99-104°C. Найдено - C 71,01; H 5,34; N 5,89%. Вычислено для формулы $\text{C}_{42}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_4\text{Ni}$ - C 71,20; H 5,54; N 5,92%. Электронный спектр (CH_3OH), λ_{max} , нм (log E): 267 (4,10); 337 (3,60); 421 (3,40). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3 , δ , м.д.): 1,15 с (3H,

α -CH₃); 1,72-3,36 м (7H, α -, β -, γ - и δ -H (Pro)); 3,13 с (2H, CH₂-(Tyr)); 3,55 и 4,20 д (AB, 2H, CH₂-Bzl, J=12,5 Гц); 5,08 с (2H, -CH₂-O); 6,66-8,14 м (23 H, Ar). Молекулярное вращение $[M]^{25}$ в CH₃OH ($\lambda_{\text{нм}}$): - 16064 (578); - 7023 (546); + 9237 (436); - 7228 (365).

Разложение комплексов и выделение целевых аминокислот. Индивидуальные диастереомерные алкилированные комплексы D,D-абсолютной конфигурации (основные фракции) были разложены по общей методике. К 10 мл нагретого до 50°C 2N раствора HCl добавляют по каплям раствор 0,5 ммоль комплекса в 10 мл CH₃OH. После исчезновения окраски комплекс раствор упаривают под вакуумом досуха, добавляют 20 мл воды и фильтруют исходный хиральный реагент D-БПБФ. Из фильтра выделяют оптически активную аминокислоту на катионите Ку-2х8 в H⁺-форме, используя в качестве элюента 5% водного раствора NH₄OH. Элюат концентрируют под вакуумом и кристаллизуют из водно-спиртовых (1:1) растворов.

Спектральные параметры синтезированных D- α -замещенных- α - аминокислот.

D- α -метилфенилаланин (11): Тпл. 298-299°C. Найдено - C 66,31; H 6,94; N 7,96%. Вычислено для C₁₀H₁₃NO₂ - C 67,02; H 7,21; N 7,78%. Спектры ¹H-ЯМР (0,1 N DCl, δ , м.д.): 1,68 с (3H, α -CH₃); 3,03 и 3,49 д (AB, 2H, CH₂, J=14 Гц); 7,45 м (5H, Ar). $[\alpha]^{25}_D = + 4,51^\circ$ (C=1,04; 1N HCl).

D- α -аллиаланин (12): Тпл. 308-310°C. Найдено - C 55,44; H 8,62; N 10,56%. Вычислено для C₆H₁₁NO₂ - C 55,80; H 8,59; N 10,62%. Спектры ¹H-ЯМР (D₂O, δ , м.д.): 1,60 с (3H, α -CH₃); 2,74 м (2H, -CH₂-); 5,35 м (2H, H₂O =); 5,76 м (1H, HC=). $[\alpha]^{25}_D = + 14,34^\circ$ (C=1,3; 1N HCl).

D- α -метил-О-бензилтирозин (13): Тпл. 270-272°C. Найдено - C 71,72; H 6,92; N 4,9%. Вычислено для C₁₇H₁₉NO₃ - C 71,56; H 6,71; N 4,91%. Спектры ¹H-ЯМР (CF₃COOH, δ , м.д.): 1,46 с (3H, α -CH₃); 2,85 и 3,13 д (AB, 2H, CH₂, J=14 Гц); 4,73 с (2H, -CH₂-O-); 6,45-6,96 м (9H, Ar). $[\alpha]^{25}_D = + 3,39^\circ$ (C=2,1; CF₃COOH:H₂O (2:1)).

D- α -метилнорлейцин (14): Тпл. 310-312°C. Найдено - C 57,82; H 10,43; N 9,46%. Вычислено для C₇H₁₅NO₂ - C 57,90; H 10,41; N 9,64%. Спектры ¹H-ЯМР (D₂O, δ , м.д.): 0,90 тр (3H, CH₃); 1,34 м (4H, 2CH₂-); 1,47 с (3H, α -CH₃); 1,79 м (2H, -CH₂). $[\alpha]^{25}_D = - 15,51^\circ$ (C=1,2; H₂O).

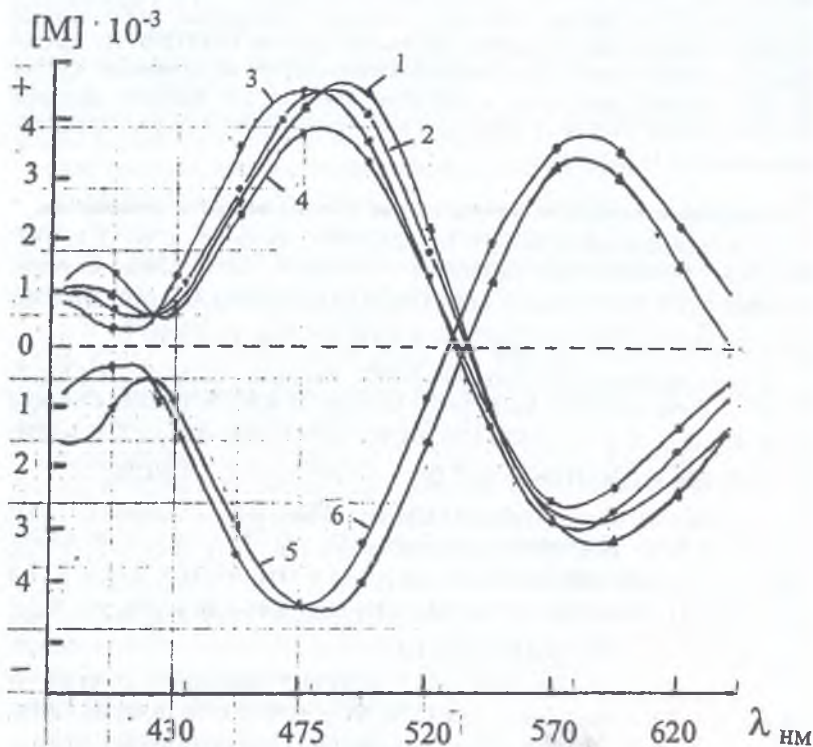
Кафедра химии

Поступила 11.01.1997

Литература

- 1) Беликов В. М. Аминокислоты, их химический синтез и применение - Вестник АН СССР, 1973, с. 33.
- 2) Котова Г. А., Волкова М. В. - Тезисы докладов III Всесоюзного совещания по аминокислотам, Ереван, 1984, с. 3-4.
- 3) Ottenheim J. H. - Eur. Int. Conf Of amino acid fortification of prefein foods., - 1969, pp. 446-449.
- 4) Химический состав пищевых продуктов./ Под. ред. Покровского А. А. - М.: Пищевая промышленность, 1977.
- 5) Сафонова Э. А., Беликов В. М. - Успехи химии, 1974, т. 43, No 9, с. 1575 - 1603.
- 6) Чипенс Г. И., Славинская В. А., Силе Д. Е., Крейле Д. П., Корчагова Э. Х., Страунина К. И. - Изв. АН Латв.ССР, сер. хим., 1985, с. 259-277.

- 7) Grootson L. H., Honigberg J. L., Lehman J. J., Burton W. H. - J. Org. Chem., 1960, v. 25, pp. 1920-1931.
- 8) Radahhisman A.N. - J. Biochem., 1970, p. 117.
- 9) Сагян А. С., Джамгарян С. М., Григорян Г. Л., Григорян С. К., Белоконов Ю. Н. - Ученые записки ЕГУ, 1995, с. 42-48.
- 10) Belokon' Yu. N., Chernoglazova N. I., Kochetkov K. A., Garbalinskaya N. S., Belikov V. M. - J.Chem. Soc.Comm., 1985, pp. 171-172.
- 11) Гордон А., Форд Р. Спутник химика. - Издательство Мир, М., 1976.
- 12) Walter M., Ramaley E. - Analyt. Chem., 1973, v. 45, No 1, p. 165-168.
- 13) Сапоровская М. Б., Витт С. В., Никитина С. Б., Пасконова Е. А., Беликов В.М. - Изв. АН. СССР, сер. хим., 1974, No 3, с. 676-682.



Кривые ДОВ диастереомеров, CH_3OH , 25°C .

1. D,D-5; 2. D,D-3; 3. D,D-7; 4. D,D-1;
5. [L-БПБФ-L- α -CH₃-Phe]Ni(II) [10];
6. [L-БПБФ-L- α -Allyl-Ala]Ni(II) [10].

Ա. Ս. Սահյան, Կ. Կ. Հովհաննիսյան, Ս. Չ. Սաղյան, Յու. Ն. Բելոկոն

Ալանինի ապիմետրիկ C-ալկիլացում Ni(II) իոնի հետ խիթալ համակարգում:

Ոչ սպիտակուցային D-α-ամինաթթվի արերիոսեկետիվ սինթեզը

Ամփոփում

Մշակված է ունիվերսալ մեթոդ ապիմետրիկ սինթեզի ոչ սպիտակուցային D-բացարձակ կազմաբա-
նությամբ α-փոխարինված α-ամինաթթվի ձևավորման համար, ալանինի C ալկիլացման ճանապարհով
Ni²⁺ Շիֆի հիմնային համակարգում, D-2- N (N'-բենզիլմալոլիլ) ամինոբենզոֆենոն ռեագենտի հետ, ո-
րին հաջորդում է համակարգերի մասնատումը և մալատակային ամինաթթուների անջատումը: