

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СН-КИСЛОТНОСТИ КОМПЛЕКСОВ
ОСНОВАНИЙ ШИФФА АЛАНИНА С ИОНОМ $Ni(II)$ ДЛЯ
СИНТЕЗА L- и D- β -3,4-ДИХЛОРФЕНИЛ- α -МЕТИЛАЛАНИНА

А. С. САГИЯН, С. З. САГЯН, Г. А. ГРИГОРЯН, Т. Ф. САВЕЛЬЕВА,
Ю. Н. БЕЛОКОНЬ и С. К. ГРИГОРЯН

Научно-исследовательский институт "Биотехнология", Ереван
Ереванский государственный университет

Поступило 19 II 1995

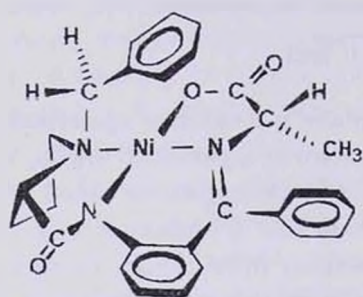
Шиффовые основания аминокислот в качестве промежуточных соединений постулируются во многих реакциях пиридоксалевого катализа. Благодаря высокой СН-кислотности через образование оснований Шиффа аминокислот в природе под действием пиридоксалзависимых ферментов происходит синтез серина, треонина, гомосерина, цистеина и других аминокислот [1-4].

В последние годы синтезированы и исследованы комплексы шиффовых оснований аминокислот с ионами переходных металлов — $Cu(II)$, $Co(III)$, $Ni(II)$, в качестве простых модельных систем ферментов [5,6]. Показано, что в таких комплексах аминокислота обладает высокой СН-кислотностью и в присутствии оснований ее можно легко С-алкилировать с образованием α - и β -замещенных аминокислот; в комплексах иона $Ni(II)$ с хиральными реагентами С-алкилирование аминокислот (аланина и глицина) протекает стереоселективно с образованием оптически активных α - и β -замещенных аминокислот. Таким образом были получены фенилаланин, α -метилфенилаланин, α -тирозин и т.д. [7].

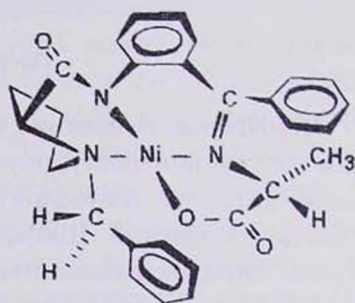
В настоящей работе нами использована СН-кислотность аланина в его $Ni(II)$ комплексах оснований Шиффа с хиральными

реагентами L- и D- 2-N-(N'-бензилпролил) аминобензофеноном (L-БПБФ и D-БПБФ) для асимметрического синтеза L- и D-3,4-дихлорфенил- α -метилаланина путем их C-алкилирования 3,4-дихлорбензилбромидом.

Исходные комплексы Ni(II) оснований Шиффа аланина с хиральными реагентами L-БПБФ и D-БПБФ получены согласно ранее разработанной для комплексов с L-БПБФ методике [7] (для синтеза комплексов с D-БПБФ в качестве хирального реагента используется D-БПБФ взамен L-БПБФ). Строения L,L- и D,D-диастереомеров этих комплексов (комплексов L-аланина с L-БПБФ (I) и D-аланина с D-БПБФ (II), соответственно) представлены на рис.1. Как видно из рис.1, комплексы являются зеркальными изображениями друг друга, подтверждением чего служат идентичные данные спектров ЯМР и элементного анализа, а также одинаковые в абсолютном значении кривые дисперсии оптического вращения (ДОВ).



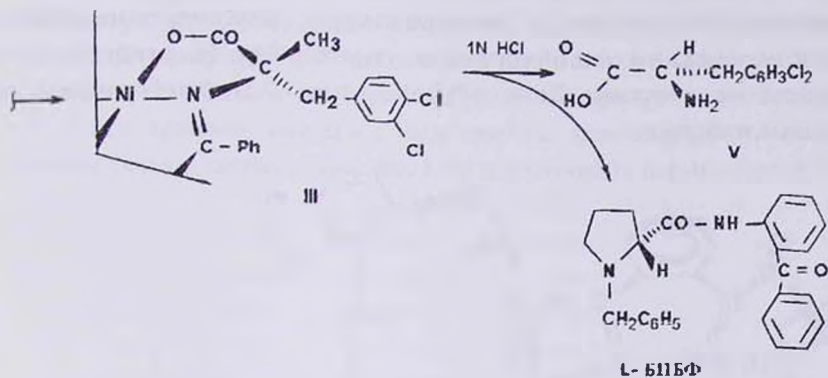
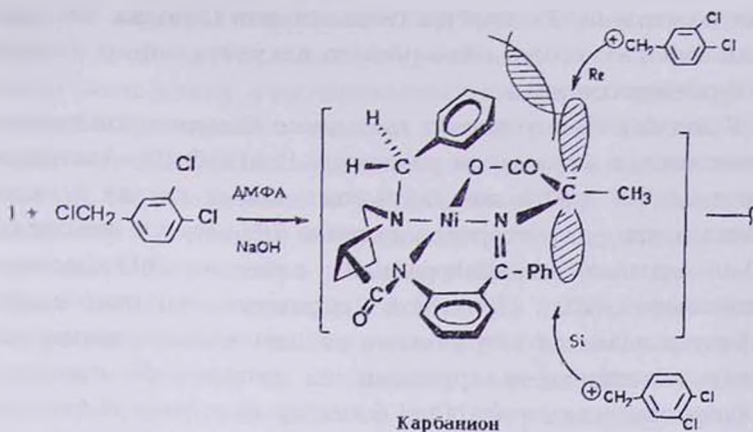
1



2

Рис.1. Структура диастереомерных комплексов Ni(II). 1. Оснований Шиффа L – аланина с хиральным реагентом L-БПБФ (L,L-диастереомер); 2. Оснований Шиффа D – аланина с хиральным реагентом D-БПБФ (D,D-диастереомер).

C-алкилирование фрагмента аланина комплексов I (L,L-диастереомер) и II (D,D-диастереомер) 3,4-дихлорбензилхлоридом осуществлялось в среде диметилформамида (ДМФА) под действием NaOH. На схеме представлена реакция C-алкилирования аланина в комплексе I, приводящая к образованию продукта алкилирования в основном в виде L,L-диастереомера (>98%). В реакционной среде методом ТСХ на SiO₂ наличие другого диастереомера (L,D) не обнаружено.



Наличие высоких энантиоселективных эффектов при алкилировании является следствием стерического несвязывающего взаимодействия между бензильной группой макроциклического лиганда и объемистым 3,4-дихлорбензильным радикалом на Re-стороне прохирального карбаниона, что приводит к сильному экранированию атаки алкилирующего агента на прохиральный карбанион с этой стороны. Это приводит к замедлению скорости реакции C-алкилирования со стороны Re прохирального карбаниона относительно скорости со стороны Si. Ранее при алкилировании глицина, аланина и фенилаланина метилиодидом в аналогичных комплексах избыток L,L-диастереомера в продукте не превышал 95% [7]. Причиной столь высокой стереоселективности алкилирования в нашем случае является более сильное экранирование атаки алкилирующего агента на прохиральный карба-

нион со стороны Re плоскости основания Шиффа, что связано с большими размерами объемистого алкилирующего реагента-3,4-дихлорбензилхлорида.

В аналогичных условиях проведено C-алкилирование аланина в комплексе с хиральным реагентом D-БПБФ (II). Алкилирование происходит с такой же скоростью, как в случае комплекса I, однако в продукте стереоселективно образуется диастереомер с D,D-абсолютной конфигурацией; избыток D,D-диастереомера превышает 98%. Причиной обратных энантиоселективных эффектов является стерическое несвязывающее взаимодействие между объемистыми группами на стороне Si прохирального карбаниона, вследствие чего бензильная группа N-бензилпролинового фрагмента экранирует приближение алкилирующего агента к прохиральному карбаниону со стороны Si плоскости основания Шиффа (рис.2). Это приводит к сильному замедлению скорости реакции алкилирования со стороны Si относительно скорости со стороны Re с образованием D,D-диастереомера в большом избытке.

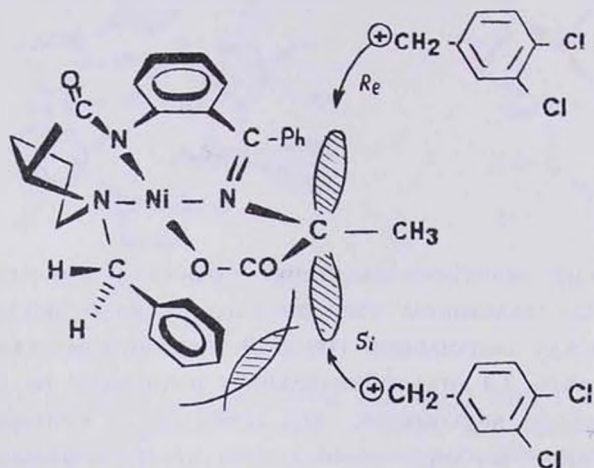


Рис.2. Стерическое экранирование со стороны Si прохирального карбаниона при алкировании фрагмента аланина в комплексе II (D,D-диастереомер) 3,4-дихлорбензилхлоридом.

Для установления абсолютной конфигурации полученных алкилированных комплексов снимали их кривые ДОВ и сравнивали с кривой ДОВ исходного комплекса I. Сравнение показало, что комплекс III имеет L,L-абсолютную конфигурацию, а

комплекс IV является зеркальным изображением комплекса III, т.е. имеет D,D-абсолютную конфигурацию.

После разложения алкилированных комплексов III и IV под действием HCl исходные хиральные реагенты L-БПБФ и D-БПБФ выделены осаждением из водных растворов, а целевые аминокислоты L-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланин (V) и D-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланина (VI) в виде гидрохлоридов выкристаллизованы из концентрированных растворов соляной кислоты.

Общий выход аминокислот V и VI после их перекристаллизации из растворов 3 н HCl составляет 67-69% от теоретически ожидаемого из расчета на исходное количество комплексов I и II. Хиральные реагенты L-БПБФ и D-БПБФ регенерируются с 93-95% выходом и полным сохранением исходной хиральности.

Строение и абсолютная конфигурация полученных аминокислот установлены спектральными методами — ^1H -ЯМР, элементный анализ, ГЖХ-энантиомерный анализ. На рис.3 представлен ^1H -ЯМР спектр D-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланина (VI). Все данные анализов однозначно подтверждают высокую химическую и оптическую чистоту полученных аминокислот.

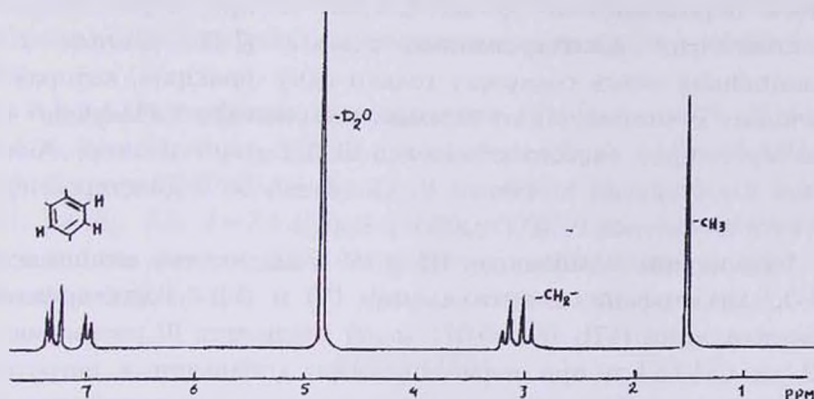


Рис.3. ^1H -ЯМР спектр D-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланина (VI) в D_2O (200 MHz).

Экспериментальная часть

В работе использовались: аланин ("х.ч."), пролин ("х.ч.") — ("Reanal", Будапешт), 3,4-дихлорбензилхлорид — ("Fluka", Швейцария), бензилхлорид, 2-аминобензофенон, диметилформамид

(ДМФА), метилен хлористый, ацетон, метанол, NaOH, HCl, CH₃OH, Ni(NO₃)₂·6H₂O — ("Реахим", СССР). Спектры ¹H-ЯМР получили на спектрометре "Bruker WP-200" (200 МГц). ГЖХ-энантиомерный анализ аминокислот в виде N-ТФА-О-изопропиловых эфиров проводили на хроматографе "Карло Эрба" с применением хиральной фазы "Хирасил-валин"[8]. Кривые дисперсии оптического вращения (ДОВ) получили на спектрополяриметре "Jasco J-5".

Комплексы I и II синтезированы согласно методике [7].

Алкилирование аланина в комплексах I и II. 50 г (0,1 моля) комплекса I растворяют в 50 мл ДМФА, смесь охлаждают до -50°, добавляют 18 г (0,45 моля) мелко раздробленного NaOH и 14,5 мл (0,1 моля) 3,4-дихлорбензилхлорида. Из системы откачивают воздух под вакуумом (3 раза), пропускают в систему аргон и постепенно убирают охлаждение. Смесь перемешивают в атмосфере аргона 1-1,5 ч. За ходом алкилирования следят методом ТСХ на силикагеле в системе растворителей CHCl₃-CH₃COCH₃ (3:1). При охлаждении и перемешивании реакционную смесь нейтрализуют медленным добавлением 40 мл уксусной кислоты. Смесь переливают в 50 мл CH₃OH и при перемешивании кристаллизуют алкилированный комплекс. По данным ТСХ, реакционная смесь содержит только одну фракцию, которая по значению R_f отличается от исходного комплекса I. Получено 48 г диастереомерно чистого комплекса III (L,L-диастереомер). Аналогично алкилирован комплекс II. Получено 50 г диастереомерно чистого комплекса IV (D,D-диастереомер).

Разложение комплексов III и IV и выделение аминокислот L-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланин (V) и D-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланин (VI). 48 г (0,071 моля) комплекса III растворяют в 120 мл CH₃OH и при перемешивании добавляют к нагретому раствору 1,5 н HCl. После исчезновения характерной окраски комплексов смесь в горячем состоянии фильтруют через стеклянный фильтр и упаривают досуха. К сухому остатку добавляют 100 мл воды, осадок исходного L-БПБФ отделяют от раствора фильтрованием, промывают водой (3 раза по 20 мл H₂O). Для извлечения остатков лиганда фильтрат 2 раза экстрагируют хлороформом (по 20 мл каждый раз). Водную фракцию упаривают досуха, к сухому остатку добавляют 20 мл конц. (6 н) HCl и аминокислоту отделяют от раствора NiCl₂ фильтрованием через

стеклянный фильтр. Осадок на фильтре промывают конц. HCl до полного исчезновения характерного для Ni^{2+} иона зеленого цвета. Полученный осадок при нагревании растворяют в 300 мл 3 н HCl и фильтруют в горячем состоянии через стеклянный фильтр. При охлаждении кристаллизуется аминокислота L-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланин (V) в виде гидрохлорида. После сушки получено 19,1 г гидрохлорида L-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланина (V), что соответствует химическому выходу 94%.

Аналогично разложен комплекс IV и выделена аминокислота D-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланин (VI) в виде гидрохлорида; из 50 г комплекса IV получено 19,25 г гидрохлорида аминокислоты VI, что соответствует 92% выходу.

Строение и абсолютная конфигурация полученных аминокислот установлены с помощью 1H -ЯМР спектроскопии, элементного анализа и ГЖХ-энантиомерного анализа. На рис.3 представлен 1H -ЯМР спектр аминокислоты VI.

L-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланин (V). Найдено, %: C 42,17; H 4,05; N 4,76. $C_{10}H_{11}NO_2Cl_3$. Вычислено, %: C 42,34; H 3,91; N 4,76. Спектр ПМР (D_2O), δ , м.д.: 1,5 с (3H, CH_3); 2,46 д и 3,2 д (2H, β - CH_2 , АВ, $J=7,5$ Гц); 6,92-7,98 м (3H, Аг). Энантиомерная чистота, по данным ГЖХ-хирального энантиомерного анализа, превышает 98%.

D-β-3,4-дихлорфенил-α-метилаланин (V). Найдено, %: C 42,01; H 4,06; N 4,72. $C_{10}H_{11}NO_2Cl_3$. Вычислено, %: C 42,34; H 3,91; N 4,76. Спектр ПМР (D_2O), δ , м.д.: 1,5 с (3H, CH_3); 2,44 д и 3,18 д (2H, β - CH_2 , АВ, $J=7,5$ Гц); 6,9-7,98 м (3H, Аг). Энантиомерная чистота, по данным ГЖХ-хирального энантиомерного анализа, превышает 98%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ivanov V.A., Karpeisky M.Ya. — *Advances in enzymology* /Ed. F.F. Nord. — New-York, London, Sydney, Toronto: Interscience Publisher, 1969, v.32, p.21.
2. Braunstein A.E.-*The Enzymes* /Ed. P.D.Boyer. — New-York, London: Acad. Press, 3-nd Ed., 1973, v.9, p.379.
3. Braunstein A.E.-*The Enzymes* /Ed. P.D.Boyer. H.Lardy, K.Murback. — New-York: Acad. Press, 2-nd Ed., 1960, v.2, p.113.
4. Davis L., Metzler D.E.-*The Enzymes* /Ed. P.D.Boyer. — New-York, London: Acad. Press, 3-nd Ed., 1972, v.7, p.33.

5. Белоконь Ю.Н., Савельева Т.Ф., Каргинов В.А., Сапоровская М.Б., Бахмутов В.И., Беликов В.М. — Изв. АН СССР, сер. хим., 1977, №5, с.1081.
6. Белоконь Ю.Н., Черноглазова Н.И., Гарбалинская Н.С., Сапоровская М.Б., Кочетков К.А., Беликов В.М. — Изв. АН СССР, сер. хим., 1986, №10, с.2340.
7. Белоконь Ю.Н., Черноглазова Н.И., Гарбалинская Н.С., Кочетков К.А., Беликов В.М. — Изв. АН СССР, сер. хим., 1986, №4, с.905.
8. Bruker H., Bosh I., Craser T., Furst P. — J.Chromatography, 1987, v.395, p.569.