

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 61, № 3-4, 2008 Химический журнал Армении

УДК 547.294.314.07

АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ГАЛОГЕНЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ (S)-β-ФЕНИЛ-α-АЛАНИНА

А. С. САГИЯН, С. Г. ПЕТРОСЯН, А. С. ДАДАЯН,
С. М. ДЖАМГАРЯН и С. А. ДАДАЯН

Научно-исследовательский институт биотехнологии
Армения, 0056, Ереван, ул. Гюрджяна, 14
Факс: (374-10) 654183 E-mail: sagysu@netsys.am

Поступило 30 I 2008

Исследованы реакции асимметрического C-алкилирования Ni^{II}-комплекса основания Шиффа глицина и модифицированного хирального вспомогательного реагента (S)-2-N-[N'-(2-хлорбензилпролил)амино]бензофенона 2-хлорбензилхлоридом и 3-бром-4-метоксibenзилхлоридом. В результате разработаны методы асимметрического синтеза (S)-2-амино-3-(2'-хлорфенил)пропионовой (*ee*>93%) и (S)-2-амино-3-(3'-бром-4'-метоксифенил)пропионовой кислот (*ee*>91%).

Табл. 1, библиографических ссылок 15.

Важными компонентами многих физиологически активных пептидов, антибиотиков и других лекарственных препаратов являются оптически активные α- и β-замещенные небелковые (S)- и (R)-α-аминокислоты [1-5]. В ряду небелковых α-аминокислот особый интерес представляют производные β-фенил-α-аланина, обладающие сильной антигипертензивной, антисептической и противоопухолевой активностью [6-8]. Следует отметить, что, по данным медико-биологических исследований, физиологически и фармакологически активными являются отдельные оптически активные энантиомеры аминокислот, и, как правило, примесь оптического антипода фармакологически активного препарата оказывает негативное фармакологическое действие [9]. В связи с этим синтез новых оптически активных аналогов фенилаланина, включая галогензамещенные производные по ароматическому кольцу, является актуальной задачей.

Контроль за ходом реакции осуществляли методом ТСХ [SiO₂, CHCl₃:CH₃COCH₃ (3:1)] по исчезновению следов исходного комплекса **1** и установлению термодинамического равновесия между (*S,S*)- и (*S,R*)-диастереоизомерами продуктов алкилирования.

В результате алкилирования комплекса **1** образуется смесь (*S,S*)- и (*S,R*)-диастереоизомерных комплексов с высоким избытком (*S,S*)-диастереоизомера, содержащего аминокислоту (*S*)-абсолютной конфигурации. Образование комплексов **2** и **3** является кинетически и термодинамически контролируемым процессом, и стереоселективность синтеза определяется как относительной скоростью атаки алкилирующего агента на прохиральный карбанион с *re*- или *si*-стороны плоскости основания Шиффа (кинетическая стереоселективность), так и термодинамической устойчивостью образовавшихся диастереоизомеров (термодинамическая стереоселективность). В процессе алкилирования модифицированного комплекса **1** установление термодинамического равновесия между (*S,S*)- и (*S,R*)-диастереоизомерами происходит достаточно быстро (иногда мгновенно), и методами ТСХ и ЯМР¹H невозможно проследить за трансформацией (*S,R*)-диастереоизомера в (*S,S*)-диастереоизомер. Это, по-видимому, является следствием высоких термодинамических факторов, присутствующих в комплексах на основе модифицированного хирального реагента 2-СВРВ. Результаты приведены в таблице.

Основные диастереоизомеры продуктов алкилирования были выделены методом колоночной хроматографии [SiO₂, CHCl₃:CH₃COCH₃ (3:1)] и охарактеризованы физико-химическими методами анализа.

Абсолютная конфигурация α-углеродного атома аминокислотного остатка диастереоизомерных комплексов была установлена методом поляриметрических измерений при длине волны 589 нм (Na-линия). Ранее было показано, что аналогично построенные комплексы (*S*)-α-аминокислот при длине волны 589 нм имеют положительный знак вращения, а комплексы (*R*)-α-аминокислот – отрицательный [0]. Положительное значение оптического вращения синтезированных основных диастереоизомерных комплексов **2** и **3** свидетельствует об их (*S,S*)-абсолютной конфигурации.

Соотношение (*S,S*)- и (*S,R*)-диастереоизомеров продуктов алкилирования было определено методом ЯМР ¹H спектрометрического анализа смеси диастереомерных комплексов (до хроматографирования) по соотношению значений интегралов сигналов метиленовых протонов N-бензилпролинового остатка в интервале 2,55-4,40 м.д. Это соотношение дополнительно определялось методом хирального ГЖХ-анализа смеси аминокислот, полученной после кислотного разложения смеси диастереомерных комплексов и ионообменного выделения (табл.).

Как следует из данных таблицы, наилучшие результаты по стереоселективности получаются при проведении реакций С-алкилирования в среде ДМФА в присутствии NaOH при 20-25°C (опыты 1 и 7).

Таблица

Результаты асимметрического С-алкилирования модифицированного комплекса Ni^{II}-(S)-2-СВРВ-Gly

№	Алкилирующий агент	Среда / основание	Т, °С	(S,S)/(S,R), % ^a	Выход, % ^b
1	2-Cl-C ₆ H ₄ CH ₂ Cl	ДМФА/NaOH	20-25	96,70/3,30 (98,5/1,5)	97,3
2	-“-	-“-	45-50	90,12/ 8,88	85,5
3	-“-	ДМФА/КОН	20-25	–	64,2
4	-“-	-“-	45-50	–	56,7
5	-“-	CH ₃ CN/NaOH	20-25	–	54,6
6	-“-	-“-	45-50	–	52,3
7	3-Br-4-OCH ₃ -C ₆ H ₃ CH ₂ Cl	ДМФА/NaOH	20-25	95,75/4,5 (97,10/2,90)	91,2
8	-“-	-“-	45-50	92,4/7,6	65,2
9	-“-	ДМФА /КОН	20-25	–	51,3
10	-“-	-“-	45-50	–	48,6
11	-“-	CH ₃ CN/NaOH	20-25	–	50,8
12	-“-	-“-	45-50	–	51,6

^a – соотношение диастереомеров по данным ЯМР ¹H (в скобках) и хирального ГЖХ анализа;

^b – общий химический выход диастереомерных комплексов на стадии алкилирования.

После разложения диастереомерно чистых комплексов **2** и **3** в СН₃ОН раствором 2N HCl целевые аминокислоты были выделены из гидролизатов по стандартной методике [10-15] с применением катионообменных смол и кристаллизацией из водно-спиртовых растворов. В результате получены (S)-2-амино-3-(2'-хлорфенил)- и (S)-2-амино-3-(3'-бром-4'-метоксифенил)пропионовые кислоты с оптической чистотой ee>99,5% (по данным хирального ГЖХ-анализа). При этом исходный хиральный вспомогательный реагент (S)-2-СВРВ регенерируется в виде гидрохлорида с количественным химическим выходом (>95%) и полным сохранением исходной оптической чистоты, что позволяет его использовать многократно без дополнительной регенерации.

Таким образом, в настоящей работе разработаны высокоселективные и скоротечные методы асимметрического синтеза новых галогензамещенных производных (S)-(-фенил-α-аланина – (S)-2-

амино-3-(2'-хлорфенил)пропионовой кислоты ($ee > 93\%$) и (*S*)-2-амино-3-(3'-бром-4'-метокс, фен, л)проп, оновой к, слоты ($ee > 91\%$).

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H регистрировались на приборе «Varian Mercury 300VX». Оптическое вращение измеряли на поляриметре «Perkin-Elmer 341». В работе использовались аминокислоты, галоидные алкилы и другие реагенты фирмы «Aldrich».

Энантиомерный анализ аминокислот проводили методом хирального ГЖХ анализа с использованием высокотемпературной хиральной полисилоксановой диаמידной неподвижной фазы типа "ChirasilVal". Аминокислоты анализировали в виде *N*-трифторацетильных производных *n*-пропиловых эфиров на кварцевой капиллярной колонке длиной 40 м (внутренний диаметр 0,28 мм) и толщиной пленки 0,12 мкм, при температуре колонок 125°C, детектор – пламенно-ионизационный (Carlo Erba), газ-носитель – гелий.

Исходный комплекс $\text{Ni}^{\text{II}}-(S)$ -2-СВРВ-Gly (**1**) был синтезирован по известной методике [14].

Общая методика алкилирования комплекса 1. К 5 г (0.00938 моля) комплекса **1** в 15 мл ДМФА при комнатной температуре добавляли 1.76 г (0.044 моля) NaOH и 0.00938 моля замещенного бензилхлорида (1.18 мл 2-Cl-C₆H₄CH₂Cl или 2.3 мл 3-Br-4-CH₃O-C₆H₃CH₂Cl). За ходом реакции следили методом ТСХ [SiO_2 , CHCl_3 : CH_3COCH_3 (3:1)] по исчезновению следов исходного комплекса **1**. После завершения реакции смесь нейтрализовали CH_3COOH , разбавляли водой и экстрагировали продукты алкилирования хлороформом (3(50 мл)). Хлороформный раствор концентрировали под вакуумом. Основные диастереомерные комплексы **2** и **3** выделяли методом колоночной хроматографии [SiO_2 , 3x20 см, CHCl_3 : CH_3COCH_3 (3:1)], упаривали и сушили под вакуумом.

Химические выходы и соотношения (*S,R*)- и (*S,S*)-диастереоизомеров представлены в таблице.

$\text{Ni}^{\text{II}}-(S)$ -2-СВРВ-(*S*)-2-Cl-Phe (2**).** Т.пл. 120-122°C. Найдено, %: С 62.14; Н 4.45; N 6.39. $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{NiO}_3$. Вычислено, %: С 63.73; Н 4.56; N 6.56. Спектр ЯМР ^1H (DMSO, δ , м.д.): 1.95-2.05 м (2H, β , γ -H Pro); 2.60 - 2.75 м (2H, β , γ -H Pro); 2.85-2.95 м (1H, δ -H Pro); 3.11-3.16 м (1H, δ -H Pro); 3.19 и 3.40 дд (2H, АВ $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}$, $^2\text{J}=13.5$ Гц, $^3\text{J}=6.2$ Гц); 3.46 дд (1H, α -H Pro, $^2\text{J}=10.5$ Гц, $^3\text{J}=6.8$ Гц); 3.98 т (1H, NCH-аминокислоты, $^3\text{J}=6.2$ Гц); 3.8 и 4.21 дд (2H, -AB $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}$, $^2\text{J}=12.7$ Гц, $^2\text{J}=12.7$ Гц); 6.54 - 6.63 м (2H, Ar); 6.75 дт (1H, Ar, $^3\text{J} = 7.6$ Гц, $^4\text{J} = 1.4$ Гц); 7.00-7.63 м (12H, Ar); 8.07 дд (1H, Ar, $^3\text{J}=8.7$ Гц, $^4\text{J}=0.7$ Гц); 8.16 дд (1H, Ar, $^3\text{J} = 7.7$ Гц, $^4\text{J} = 1.7$ Гц). $[\alpha]_D^{20} = +1478.0^\circ$ (с 0.05; CH_3OH).

Ni^{II}-(S)-2-СВРВ-(S)-3-Br-4-OMe-Phe (3). Т.пл. 118-120°C. Найдено, %: С 57.39; Н 4.29; N 5.72. C₃₅H₃₁BrClN₃NiO₄. Вычислено, %: С 57.45; Н 4.27; N 5.74. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, м.д.): 1.83 м (1H, β-Н Pro); 1.98 м (1H, γ-Н Pro); 2.41-2.60 м (3H, β-, γ-, δ-Н Pro); 2.79 и 3.00 (2H, АВ часть АВХ системы, СНСН₂Ph, J_{AB}=13.4 Гц, J_{AX}=5.6 Гц, J_{BX}=4.2 Гц); 3.21 ддд (1H, δ-Н Pro, ²J = 11.3 Гц, ³J = 6.6 Гц, ³J = 4.4 Гц); 3.42 дд (1H, α-Н Pro, ³J = 9.1 Гц, ³J = 4.4 Гц); 3.76 и 4.36 (2H, АВ, NСН₂Ar, J_{AB}=12.6 Гц); 3.91 с (3H, OMe); 4.21 (1H, X часть АВХ системы, α-Н Phe); 6.61 м (2H, Ar); 6.84 м (3H, Ar); 7.18 м (2H, Ar); 7.39 м (4H, Ar); 7.42-7.58 м (3H, Ar); 8.12 д (1H, Ar, ³J = 8.8 Гц); 8.22 д (1H, Ar, ⁴J = 1.6 Гц). [α]_D²⁰ = +1718° (с 0.03; MeOH).

Разложение комплексов и выделение целевых аминокислот. Сухой остаток комплекса **2** или **3** растворяли в 50 мл СН₃ОН и медленно добавляли к 50 мл нагретого до 50°C раствора 2N HCl. После исчезновения характерной для комплекса красной окраски раствор концентрировали под вакуумом, добавляли 50 мл воды и фильтровали исходный (S)-2-СВРВхНCl. Из водного слоя оптически активную аминокислоту выделяли ионообменной сорбцией и десорбцией с применением катионита Ку-2(8 в Н⁺-форме и использованием в качестве элюента 5% водного раствора NH₄OH. Элюат концентрировали под вакуумом и кристаллизовали аминокислоту из водно-спиртового раствора (1:4). Получено 1.48 г (0.0069 моля) 73.8% (S)-2-амино-3-(2'-хлорфенил)пропионовой кислоты (**4**) и 1.68 г (0.0061 моля) 65.3% (S)-2-амино-3-(3'-бром-4'-метоксифенил)пропионовой кислоты (**5**). Энантиомерная чистота выделенных аминокислот **4** и **5** превышает 99.5% по данным хирального ГЖХ-анализа.

(S)-2-Cl-Phe [(S)-2-амино-3-(2'-хлорфенил)пропионовая кислота] (**4**). Т.пл. 237-239°C. Найдено, %: С 54.75; Н 4.89; N 7.28. C₉H₁₀NO₂Cl. Вычислено, %: С 54.14; Н 5.01; N 7.02. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃ + CF₃COOD, δ, м.д.): 3.25-3.40 м (1H, СН₂Ar); 3.68-3.82 м (1H, СН₂Ar); 4.75 м (1H, α-Н Phe); 7.30-7.40 м (3H, Ar), 7.48 д (1H, Ar, ³J=8.6 Гц). [α]_D²⁰ = -1.13° (с = 0.5; 1N HCl).

(S)-3-Br-4-OMe-Phe [(S)-2-амино-3-(3'-бром-4'-метоксифенил)пропионовая кислота] (**5**). Т.пл. 247-249°C. Найдено, %: С 43.11; Н 4.52; N 5.47. C₁₀H₁₂NO₃Br. Вычислено, %: С 43.82; Н 4.41; N 5.11. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, δ, м.д.): 2.68 м (1H, СН₂Ar); 3.18 м (1H, СН₂Ar); 3.73 м (1H, α-Н Phe); 3.89 с (3H, OMe); 7.41-7.56 м (3H, Ar). [α]_D²⁵ = +34.3° (с 0.03; H₂O).

**(S)-β-ՖԵՆԻԼ-α-ԱԼԱՆԻՆԻ ՀԱԼՈԳԵՆՏԵՂԱԿԱԼՎԱԾ ԱԾԱՆՑՑԱԼՆԵՐԻ
ԱՍԻՄԵՏՐԻԿ ՄԻՆԹԵԶԸ**

**Ա. Ս. ՍԱԴԻՅԱՆ, Ս. Դ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Ա. Ս. ԴԱԴԱՅԱՆ,
Ս. Մ. ՋԱՄՉԱՐՅԱՆ և Ս. Ա. ԴԱԴԱՅԱՆ**

Ուսումնասիրվել են (*S*)-2-*N*-[*N*'-(2-քլորբենզիլպրոլիլ)ամինա]բենզոֆենոն քիրալային օժանդակ ռեագենտի և գլիցինի Շիֆի հիմքի հետ Ni^{II}-իոնի առաջացրած հարթ-քառակուսային կոմպլեքսի ամինաթթվային մնացորդի ասիմետրիկ C-ակիլման ռեակցիաները: Որպես ակիլոլող ագենտներ կիրառվել են 2-Cl-C₆H₄CH₂Cl և 3-Br-4-CH₃O-C₆H₃CH₂Cl: Արդյունքում մշակվել է (*S*)-2-ամինո-3-(2'-քլորֆենիլ)պրոպիոնաթթվի (*ee*>93%) և (*S*)-2-ամինո-3-(3'-բրոմ-4'-մեթօքսիֆենիլ)պրոպիոնաթթվի (*ee* >91%) ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդ: Նպատակային ամինաթթուները անջատվել են 99,5 % օպտիկական մաքրությամբ:

**ASYMMETRIC SYNTHESIS OF HALOGEN-SUBSTITUTED
(S)-(-)-PHENYL-(α)-ALANINE DERIVATIVES**

**A. S. SAGHIYAN, S. G. PETROSYAN, A. S. DADAYAN,
S. M. DJAMGARYAN and S. A. DADAYAN**

Scientific Research Institute of Biotechnology
Armenia, 0056, Yerevan, Gyurjyan str., 14
Fax: (374-10) 654183 E-mail: sagysu@netsys.am

The reactions of asymmetric C-alkylation of Ni^{II}-complex of Schiff base of glycine and modified chiral auxiliary (*S*)-2-*N*-[*N*'-(2-chlorobenzyl)propyl]amino]benzophenone with 2-chlorobenzylchloride and 3-bromo-4-methoxybenzylchloride have been investigated. Alkylation was carried out in DMF in the presence of fine-grained NaOH at room temperature in argon atmosphere.

Alkylation of initial complexes resulted in formation of a mixture of (*S,S*)- and (*S,R*)-diastereoisomeric complexes with high excess of (*S,S*)-diastereoisomer containing amino acid of (*S*)-absolute configuration. The ratio of (*S,S*)- and (*S,R*)-diastereoisomers of alkylation products was determined by the method of chiral GLC analysis of amino acids mixture obtained after acidic decomposition of a mixture of diastereomeric complexes and ion-exchange demineralization.

After decomposition of the mixture of diastereomeric complexes in CH₃OH with 2N HCl, target amino acids were isolated from hydrolysates by ion-exchange method and crystallized from aqueous-alcoholic solutions. (*S*)-β-(2-chlorophenyl)-α-alanine and (*S*)-3-bromo-4-methoxy-phenyl)-α-alanine were obtained with *ee* > 99,5%.

As a result, methods of asymmetric synthesis of two halogen-substituted (*S*)-β-phenyl-α-alanine derivatives have been developed, i.e. - of (*S*)-β-(2-chlorophenyl)-α-alanine (or (*S*)-2-amino-3-(2'-chlorophenyl)propionic acid) with *ee*>93% and of (*S*)-(3-bromo-4-methoxy-phenyl)-α-alanine (or (*S*)-2-amino-3-(3'-bromo-4'-methoxyphenyl)propionic acid) with *ee*>91%.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Chida N., Takeoka J., Ando K., Tsutsumi N., Ogawa S.* // *Tetrahedron*, 1997, v. 53, p.1628
- [2] *Cativela C., Diaz-de Villegas M.D., Galvez J.A., Lapena Y.* // *Tetrahedron*, 1997, v. 53, p. 5891.
- [3] *Mori Y., Truboi M., Fukushima K., Aroi T.* // *Jour. Soc. Chem. Comm.*, 1982, p. 94.
- [4] *Barrio J.R., Huang S.-C., Phelps M.E.* // *Biochem. Pharmacol.*, 1997, v. 54, p. 341.
- [5] *Couturier O., Luxen A., Chatal J.F.* // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag*, 2004, v. 31 p. 1182.
- [6] *Jung G., Beck-Sickinger G.* // *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1992, v. 31, p. 367.
- [7] *Stinson J.C., Parkinsonizm* // *Chem. Eng. News*, 1992, v. 70(39), p. 46.
- [8] *Janecka A., Janecki T, Bowers C., Janecka K. Reduced-Size* // *A. J. Med. Chem.*, 1995, v. 38, p. 2922.
- [9] *Лоуренс Д.П., Бенетт П.Н. Клиническая фармакология.* М., Медицина, 1993.
- [10] *Belokon' Yu.N., Saghyan A.S., Djamgaryan S.M., Bakhmutov V.I., Struchkov Yu.T., Belikov V.M.* // *J. Chem Soc. Pekin Trans.* 1, 1990, p.2301.
- [11] *Saghyan A.S., Geolchanyan A.V., Manasyan L.L., Mkrtchyan G.M., Martirosyan N.R., Dadayan S.A., Khochikyan T.V., Harutyunyan V.S., Avetisyan A.A., Tararov V.I., Maleev V.I., Belokon Yu.N.* // *Russian Chemical Bulletin, International Edition*, 2004, v.3, №4, p.932.
- [12] *Saghyan A.S., Geolchanyan A.V., Petrosyan S.G., Chochikyan T.V., Haroutyunyan V.S., Avetisyan A.A., Belokon' Yu.N., Fisher K.* // *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, v.15, p.705.
- [13] *Saghyan A.S., Manasyan L.L., Dadayan S.A., Petrosyan S.G., Petrosyan A.A., Maleev V.I., Khrustalev V.N.* // *Russian Chemical Bulletin, International Edition*, 2006, v. 55, №3, p. 442.
- [14] *Saghyan A.S., Dadayan S.A., Petrosyan S.G., Manasyan L.L., Geolchanyan A.V., Djamgaryan S.M., Andreasyan S.A., Maleev V.I., Khrustalev V.N.* // *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, v. 17, p. 455.
- [15] *Saghyan A.S., Manasyan L.L., Geolchanyan A.V., Hovhannisyan A.M., Ghochikyan T.V., Haroutyunyan V.S., Avetisyan A.A., Mirzoyan K.S., Maleev V.I., Khrustalev V.N.* // *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, v. 17, p. 2743.