

Химия

УДК 547.294.314.07

А.С. САГИЯН, А.В. ГЕОЛЧАНЯН, Н.Р. МАРТИРОСЯН, В.И. ТАРАРОВ, Ю.Н. БЕЛОКОНЬ,
Т.В. КОЧИКЯН, В.С. АРУТЮНЯН, А.А. АВETИСЯН

АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ (R)-S-5-(3'-ГИДРОКСИ-4'-
ИЗОАМИЛОКСИБУТИЛ)-4-АЛЛИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛ-ЦИСТЕИНА

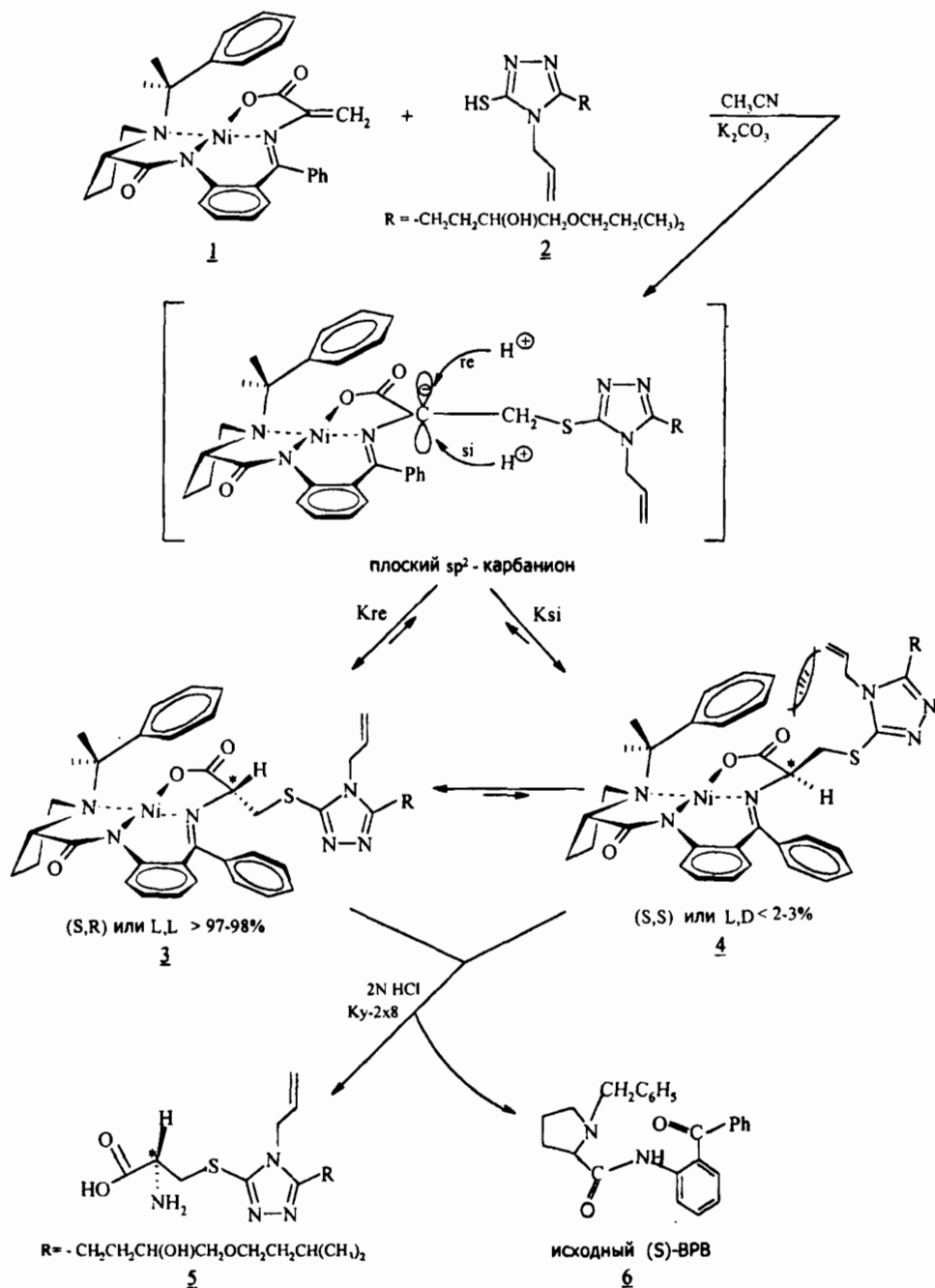
Разработан высокоэффективный метод асимметрического синтеза (R)-S-5-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеина присоединением 3-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазола к электрофильной двойной C=C связи дегидроаланина в его хиральном Ni(II) комплексе оснований Шиффа с хиральным реагентом (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном с последующим разложением смеси диастереомерных комплексов и выделением целевой оптически активной аминокислоты. Стереоселективность нуклеофильного присоединения превышает 97%, а оптическая чистота выделенной целевой α-аминокислоты (R)-S-5-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеина – 99%.

Энантимерно чистые S-замещенные производные цистеина являются важными компонентами многих физиологически активных пептидов, антибиотиков и других лекарственных препаратов [1–3], а также применяются в микробиологии для селекции высокоактивных штамм-продуцентов белковых аминокислот в качестве их аналогов [4, 5].

Ранее нами был разработан универсальный метод асимметрического синтеза S-алкил- и S-арилзамещенных (R)-цистеинов ((R)-S-фенилцистеина, (R)-S-бензилцистеина, (R)-S-трет-бутилцистеина, (R)-S-трет-амилцистеина, (R)-S-бутилцистеина) путем присоединения соответствующих тиолов к двойной C=C связи дегидроаланина в хиральном комплексе Ni(II) оснований Шиффа с (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном ((S)-BPB)) с последующим разложением полученных комплексов и выделением целевых S-замещенных (R)-цистеинов [6, 7].

В настоящей работе нами осуществлен асимметрический синтез гетероциклической аминокислоты (R)-S-5-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеина через присоединение 3-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазола (**2**) к активной электрофильной двойной C=C связи дегидроаланина в хиральном комплексе [(S)-BPB-Δ-Ala]Ni(II) (**1**). Комплекс **1** синтезирован нами согласно [8], а **2** – на кафедре органической химии ЕГУ.

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



Присоединение нуклеофилов протекает в условиях основного катализа. При этом в начале реакции (через 5–10 мин) избыток основного диастереомера (S,R)- или L,L-абсолютной конфигурации (3) с большим значением R_f на SiO_2 составляет 87–90%, что является следствием кинетической стереоселективности. Затем постепенно устанавливается термодинамическое равновесие, при котором избыток этого диастереомера достигает 97–98%. За ходом реакции 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 и установлению равновесия между диастереомерами 3 и 4. Избыток основного диастереомера с меньшим значением R_f на SiO_2 превышает 97–98%. Соотношение диастереомеров и химические выходы на стадии нуклеофильного присоединения представлены в таблице.

Химический выход и соотношение полученных диастереомеров на стадии нуклеофильного присоединения гетероциклического тиола 2 к комплексу 1

Нуклеофил	Т, °С	Соотношение, % *		Время установления термодинамического равновесия, ψ	Химический выход, % **
		(S,R)	(S,S)		
3-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазол	25	97	3	~ 5	≥ 95
	50	97	3	1,5	≥ 89

* Соотношение диастереомеров определено спектрофотометрическим методом при $\lambda=360\text{--}400\text{nm}$ после их разделения на SiO_2 препаративной хроматографией.

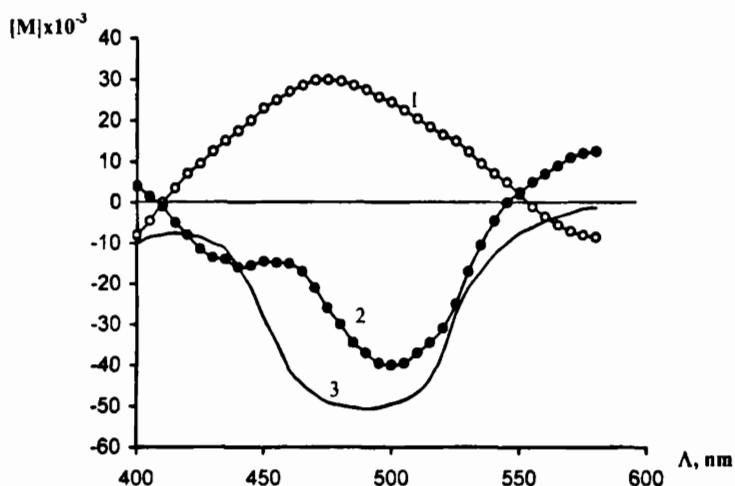
** Химический выход смеси диастереомерных комплексов на стадии присоединения гетероциклического тиола 2 к комплексу 1 определен методом ТСХ.

Присоединение нуклеофила 2 к комплексу 1 и установление термодинамического равновесия между диастереомерами происходит гораздо быстрее (~ в 5 раз) при нагревании (40–50°С). Однако при этом процесс сопровождается образованием побочных продуктов (~ 4–6%) с меньшим значением R_f на SiO_2 .

С целью установления абсолютной конфигурации диастереомеров небольшую часть реакционной смеси (~ 2г) после завершения реакции присоединения хроматографировали на колонке с SiO_2 (20см × 2см) в системе растворителей $\text{CHCl}_3\text{--CH}_3\text{COCH}_3$ (2:1) и исследовали их абсолютную конфигурацию спектрополяриметрическим методом (см. рис.). Сравнение кривых дисперсии оптического вращения (ДОВ) синтезированных диастереомеров с кривыми ДОВ ранее полученных аналогично построенным диастереомерным комплексам (R)-S-бензилцистеина и (S)-S-бензилцистеина [7] показывает, что основной диастереомер (3) с меньшим значением R_f на SiO_2 имеет (S,R)- или L,L-абсолютную конфигурацию, а более подвижный диастереомер (4) – (S,S)- или L,D-абсолютную конфигурацию.

После установления термодинамического равновесия реакционная смесь была разложена непосредственной обработкой 2N HCl при температуре 45–50°С. Оптически активная целевая аминокислота была деминерализо-

вана с помощью катионита Ку-2×8 в H⁺-форме и перекристаллизована из 70%-го этанола. Получена оптически активная S-гетероциклически замещенная производная цистеина (R)-S-5-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеин (5) с 89%-ым химическим выходом. При этом исходный хиральный реагент (S)-BPB (6) регенерируется с химическим выходом >96% и без потери исходной оптической чистоты.



Кривые ДОВ комплексов в CH₃OH (25°С): 1) [(S)-BPB-S-Benzyl-(S)-Cys]Ni(II) [8]; 2) [(S)-BPB-S-Benzyl-(R)-Cys]Ni(II) [8]; 3) 3.

Оптическая чистота синтезированной аминокислоты 5, по данным хирального жидкостного хроматографического анализа высокого разрешения, превышает 99,5 %.

Экспериментальная часть. В работе использовались аминокислота "Reanal" (Будапешт), силикагель L-40/100μ «Chemapol Praha» (Прага), ионообменная смола Ку-2×8, K₂CO₃, CHCl₃, (CH₃CO)₂O, CH₃COOH, (CH₃)₂CO, C₂H₅OH, CH₃CN «Реахим». CH₃CN перед использованием очищали согласно [9]. Спектры ¹H-ЯМР снимали на приборах «Mercury-300 Varian» (300 МГц), кривые ДОВ – на спектрополяриметре «Jasco ORD/UV-5», оптическое вращение [α]_D²⁰ измеряли на поляриметре «Perkin Elmer-341», соотношение диастереомеров после их разделения на SiO₂ определяли на спектрофотометре «Specord M-40» при длине волны 360–400 нм. Исходный комплекс 1 синтезировали согласно [8], а нуклеофильный реагент 2 – на кафедре органической химии ЕГУ.

Оптическая чистота синтезированной аминокислоты 5 была определена в Институте органического катализа при университете г. Ростока (Германия) методом хиральной жидкостной хроматографии высокого разрешения: хиральная фаза – Crownpak CR (+), элюент – HClO₄ (pH=2), скорость элюции – 0,4 мл/мин, T=20°С.

Асимметрический синтез **5**. 5,38г (18ммоль) нуклеофила **2** и 3,31г (24ммоль) K_2CO_3 растворяли в 20мл CH_3CN . Затем 6,12г (12ммоль) комплекса **1** растворяли в 30мл CH_3CN и в токе аргона при перемешивании медленно добавляли к реакционной смеси. Реакционную смесь перемешивали при температуре 40–50°C в течение 2–3ч. За ходом нуклеофильного присоединения следили методом ТСХ на SiO_2 в системе растворителей $CHCl_3-CH_3COCH_3$ (2:1) по исчезновению пятна исходного комплекса **1**. Через 5 часов реакционную смесь фильтровали, осадок промывали $CHCl_3$, хлороформный раствор упаривали досуха под вакуумом. Небольшую часть смеси (~1г) хроматографировали на колонке с SiO_2 (20см × 2см), используя в качестве элюента смесь $CHCl_3-CH_3COCH_3$ (2:1). Основную фракцию с меньшим значением R_f на SiO_2 упаривали досуха и исследовали структуру методом 1H -ЯМР. Соотношение (S,R)- и (S,S)-диастереомеров продуктов присоединения нуклеофила определяли спектрофотометрическим методом после их разделения на SiO_2 .

Химические выходы и соотношения (S,R)- и (S,S)-диастереомеров представлены в таблице. Для установления абсолютной конфигурации диастереомерных комплексов продуктов нулеофильного присоединения **3** и **4** снимали их кривые ДОВ и сравнивали с кривыми ДОВ ранее синтезированных аналогично построенным комплексам [(S)-BPB-S-Benzyl-(S)-Cys]Ni(II) и [(S)-BPB-S-Benzyl-(R)-Cys]Ni(II) (см. рис.).

Целевую аминокислоту **5** выделяли из реакционной смеси по следующей методике: сухой остаток смеси продуктов присоединения (6,9г) растворяли в 50мл CH_3OH и медленно добавляли к 50мл 2N раствора HCl , нагретого до 50°C. После исчезновения характерной для комплекса красной окраски раствор концентрировали под вакуумом, добавляли 50мл воды и фильтровали исходный хиральный реагент (S)-BPB (**6**). Для отделения остатков (S)-BPB водный экстракт экстрагировали с $CHCl_3$ (20см × 2см). Из водного слоя выделяли оптически активную аминокислоту с помощью катионита Ку-2 × 8 в H^+ -форме, используя в качестве элюента 5%-ый водно-спиртовой раствор NH_4OH (вода-спирт, 5:1). Элюат концентрировали под вакуумом и кристаллизовали из водно-спиртового раствора (1:4). Получено 3,44г (8,91ммоль) (R)-S-5-(3'-гидрокси-4'-изоамилоксибутил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеина (**5**), что соответствует 89 % химического выхода.

*Спектральные данные синтезированного комплекса **3** и целевой аминокислоты **5**.*

*Комплекс **3**.* $T_{пл.} = 86-88^\circ C$. Найдено, %: С 62,29; Н 6,20; N 10,42. $C_{42}H_{50}N_6O_5Sn$. Вычислено, %: С 62,32; Н 6,18; N 10,39. Спектр 1H -ЯМР сложный и трудноинтерпретируемый из-за присутствия в нем нескольких АВХ и АВ систем. Однако набор необходимых сигналов и их количественная характеристика (значение интегралов) свидетельствуют о правильности ожидаемой структуры. Удельное вращение: $[\alpha]_D^{20} = 1821,71^\circ$ ($c = 0,05$; $CHCl_3$).

*Аминокислота **5**.* $T_{пл.} = 183-184^\circ C$. Найдено, %: С 56,64; Н 7,16; N 13,36. $C_{17}H_{30}N_4O_4S$. Вычислено, %: С 56,67; Н 7,14; N 13,33. Спектр 1H -ЯМР (D_2O , δ , м.д.): 0,93 т (6H, $(CH_3)_2$ -, $J = 6,3 Hz$); 1,52 м (2H, $-CH_2CH_2CH-$); 1,7 м (1H, $(CH_3)_2CH-$); 1,8–1,2 м (2H, CH_2-Het); 3,45–3,70 м (4H, $-CH_2OCH_2-$); 3,9–3,98 м (1H, $-CH(OH)-$); 4,71–4,79 м (3H, $\alpha-CH + -CH_2=C-$); 4,81–5,0 м (2H, $-CH_2S-$);

5,08 д (1H, -CH_{cis}=C-, J=17,2Hz); 5,35 д (1H, -CH_{trans}=C-, J=10,5Hz); 5,93-6,1 м (1H, -CCH=C-). Удельное вращение: $[\alpha]_D^{20} = -2,19^\circ$ (c=1 ;6N HCl).

Работа выполнена при финансовой поддержке Международного научно-технического центра (Грант ISTC № А-356).

Кафедра фармацевтической химии

Поступила 25.02.2002

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. Сагян А.С., Геолчянян А.В., Вардапетян С.В., Аветисян А.А., Тараров В.И., Кузьмина Н.А., Белоконов Ю.Н., Норт М. – Хим. жур. Армении, 2000, т. 53, № 3–4, с. 37.
7. Сагян 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.
8. Belokon' Yu.N., Saghyan A.S., Djambgaryan S.M., Bakhmutov V.I., Belikov V.M. Tetrahedron., 1988, v. 44, № 17, p. 5507.
9. Walter M., Ramaley L. – Analyt. Chem., 1973, v. 45, p. 307.

Ա.Ս. ՍԱՂՅԱՆ, Ա.Վ. ԳԵՈՂՉԱՆՅԱՆ, Ն.Ռ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ, Վ.Ի. ՏԱՐԱՐՈՎ,
Յու.Ն. ԲԵԼՈՎՈՆ, Տ.Վ. ՂՈՉԻԿՅԱՆ, Վ.Ս. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Ա.Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ

(R)-S-5-(3'-ՀԻԴՐՕՔՍԻ-4'-ԻԶՈԱՄԻՆՈՔՍԻԲՈՒԹԻԼ)-4-ԱԼԻԼ-1,2,4-
ՏՐԻԱԶՈՂ-3-ԻԼ-ՑԻՍՏԵԻՆԻ ԱՄԻՍԵՏՐԻԿ ՍԻՆԹԵԶԸ

Ամփոփում

Մշակված է (R)-S-5-(3'-հիդրօքսի-4'-իզոամիոքսիբուքիլ)-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-3-իլ-ցիստեինի ասիմետրիկ սինթեզի բարձր սելեկտիվ մեթոդ:

Մեթոդը հիմնված է Ni(II)-ի հետ դեհիդրոալանինի և (S)-2N-(N'-բենզիլպրոլիլ)ամինաբենզոֆենոն քիրալային ռեագենտի Շիֆֆի հիմքի առաջացրած կոմպլեքսի դեհիդրոալանինի մնացորդի էլեկտրաֆիլ կրկնակի C=C կապին 3-(3'-հիդրօքսի-4'-իզոամիոքսիբուքիլ)-4-ալիլ-5-մերկապտո-1,2,4-տրիազոլ մուկլեոֆիլի ասիմետրիկ միացման ռեակցիայի վրա՝ առաջացած դիաստերեոիզոմեր կոմպլեքսների խառնուրդի հետագա աղաթթվային քայքայմամբ և նպատակային օպտիկապես ակտիվ ամինաթթվի անջատմամբ: Նուկլեոֆիլ միացման ռեակցիայի ստերեոսելեկտիվությունը կազմում է 97–98%, իսկ անջատված նպատակային ամինաթթվի՝ (R)-S-5-(3'-հիդրօքսի-4'-իզոամիոքսիբուքիլ)-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-3-իլ-ցիստեինի օպտիկական մաքրությունը գերազանցում է 99%-ը:

ASYMMETRIC SYNTHESIS OF (R)-S-5-(3'-HYDROXY-4'-
IZOAMILOXYBUTYL)-4-ALLYL-1,2,4-TRIAZOL-3-YL-CYSTEINE

Summary

An efficient method for asymmetric synthesis of (R)-S-5-(3'-hydroxy-4'-izoamiloxy-butyl)-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 L-2-N-(N'-benzylpropyl)aminobenzophenone with following decomposition of the reaction mixtures and isolation of the resulting amino acids has been developed. 3-(3'-hydroxy-4'-izoamiloxybutyl)-4-allyl-5-mercapto-1,2,4-triazole (**2**) were used as nucleophilic reagent. 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-(3'-hydroxy-4'-izoamiloxybutyl)-4-allyl-1,2,4-triazol-3-yl-cysteine with (R)-absolute configuration in high optical purity (>99%) were synthesized.