

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 55, №3, 2002 Химический журнал Армении

УДК 547.294.314.07

АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ (R)-S-3-(3-ГИДРОКСИ)ПРОПИЛ-4-АЛЛИЛ-
1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ИЛ-ЦИСТЕИНА И (R)-S-3-ПРОПИЛ-4-АЛЛИЛ-1,2,4-
ТРИАЗОЛ-5-ИЛ-ЦИСТЕИНА ЧЕРЕЗ ХИРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС Ni(II)
ОСНОВАНИЙ ШИФФА ДЕГИДРОАЛАНИНА

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

Научно-исследовательский институт «Биотехнология», Ереван
Ереванский государственный университет

Поступило 25 II 2001

Исследовалась реакция асимметрического нуклеофильного присоединения по Михаэлю гетероциклических меркаптанов 3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазола и 3-пропил-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазола к электрофильной двойной С=C связи комплекса Ni(II) оснований Шиффа дегидроаланина с хиральным карбонильным соединением (S)-2-N(N'-бензилпролил)аминобензофеноном. После установления термодинамического равновесия (e.e. ≥ 97%) реакционную смесь подвергали кислотному гидролизу и выделяли целевые s-гетероциклически замещенные цистеины (R)-абсолютной конфигурации. Разработан высокоселективный метод асимметрического стехиометрического синтеза (R)-s-3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеина и (R)-s-3-пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеина, обеспечи-вающий высокий выход и оптическую чистоту (o.ч. ≥ 99%) целевых продуктов.

Рис. 2, табл. 1, библиографические ссылки 9.

Оптически активные производные цистеина являются важными компонентами многих лекарственных препаратов [1,2], а также успешно применяются в микробиологии для селекции высокоактивных штамм-продуцентов белковых аминокислот в качестве их аналогов [3,4].

Ранее нами были разработаны методы асимметрического синтеза ряда производных цистеина — s-фенил-, s-бензил-, s-t-бутил-, s-t-амил-, s-бутилцистеинов путем присоединения соответствующих меркаптанов к хиральному

комплексу дегидроаланина и последующего разложения полученных комплексов и выделения целевых аминокислот [5-7].

В настоящей работе сообщается об асимметрическом синтезе других гетероциклически замещенных производных (R)-цистеина — (R)-s-3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил- (2) и (R)-s-3-пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеинов (10). Для этого был синтезирован исходный хиральный плоско-квадратный комплекс Ni(II) оснований Шиффа дегидроаланина и (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофенона $[(S)\text{-BPB-}\Delta\text{-Ala}]\text{Ni(II)}$ (1) по ранее разработанному методу [7].

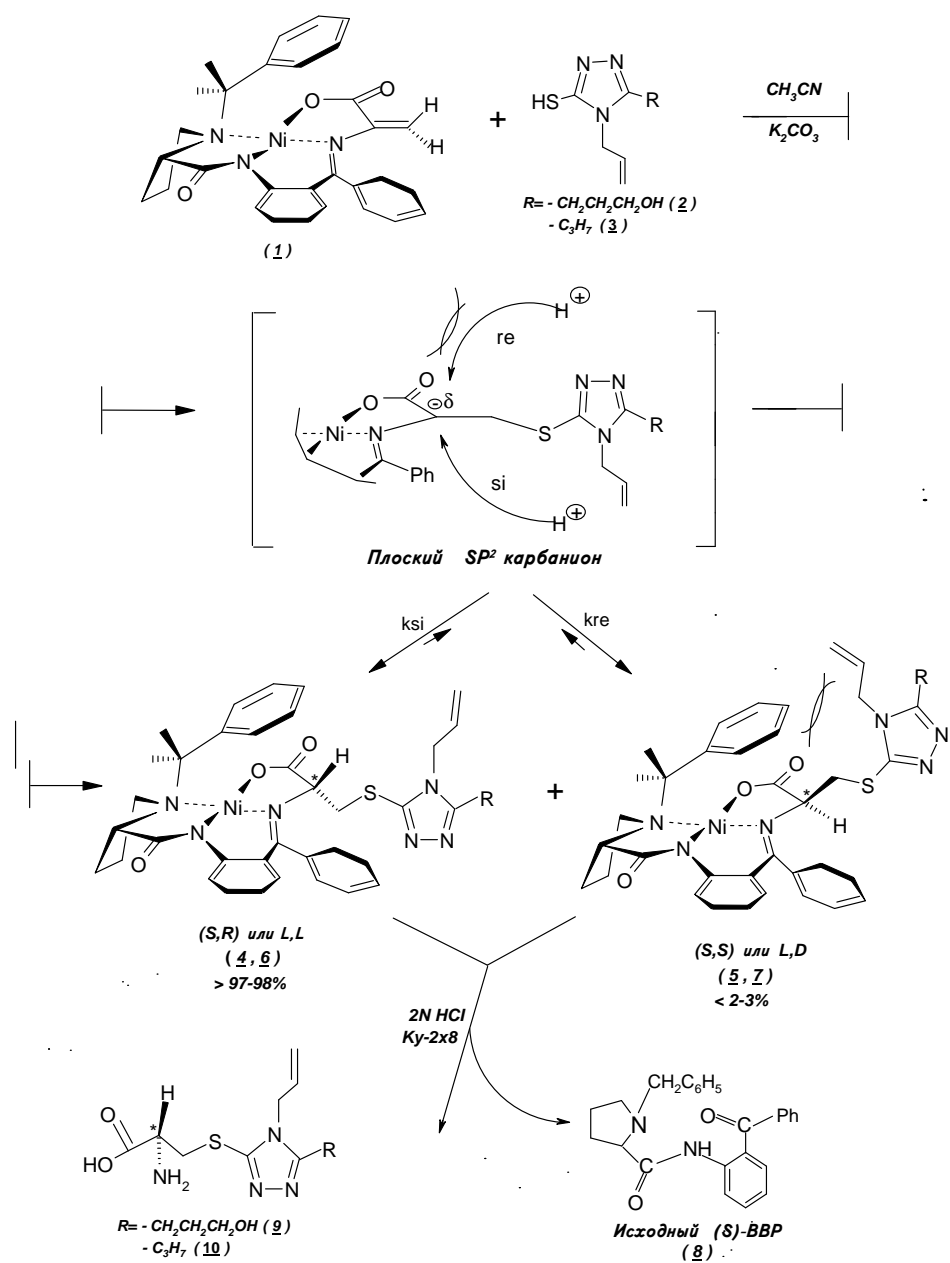
Гетероциклические меркаптаны — (3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазол (2) и 3-пропил-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазол (3)) были синтезированы на кафедре органической химии ЕГУ.

Асимметрическое нуклеофильное присоединение 2 и 3 к активной электрофильной двойной C=C связи дегидроаланинового фрагмента комплекса 1 проводили в среде ацетонитрила в присутствии безводного поташа при температуре 25 °C (схема).

Стереоселективность синтеза контролируется термодинамическими факторами; по ходу установления равновесия между диастереоизомерными комплексами термодинамически менее стабильный диастереоизомер постепенно превращается в более стабильный (S,R)-абсолютной конфигурации. Термодинамическая нестабильность диастереоизомера (S,S)-абсолютной конфигурации обусловлена расположением объемистого гетероциклического радикала аминокислотного фрагмента в сторону фенильной группы N-бензилпролинового фрагмента хирального реагента. Такое расположение является термодинамически невыгодным из-за стерического несвязывающего взаимодействия между этими фрагментами, что приводит к увеличению стерического напряжения и энергии этого диастереоизомера. Термодинамически более выгодным является противоположное расположение этой группы в плоскости основания Шиффа, что наблюдается в случае диастереоизомера (S,R)-абсолютной конфигурации. За ходом реакции присоединения гетероциклических тиолов следили методом ТСХ на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃-CH₃COCH₃ (2:1) по исчезновению пятна исходного комплекса 1 и установлению равновесия между диастереоизомерами 4, 6 и 5, 7. Соотношения диастереоизомеров и химические выходы на стадии нуклеофильного присоединения представлены в таблице.

Присоединение нуклеофилов к комплексу 1 и установление термодинамического равновесия между (S,R)- и (S,S)-диастереоизомерами происходят гораздо быстрее при нагревании до 50 °C. Однако при этом процесс сопровождается образованием побочных продуктов (~10 %) с меньшим значением R_f на SiO₂.

Схема



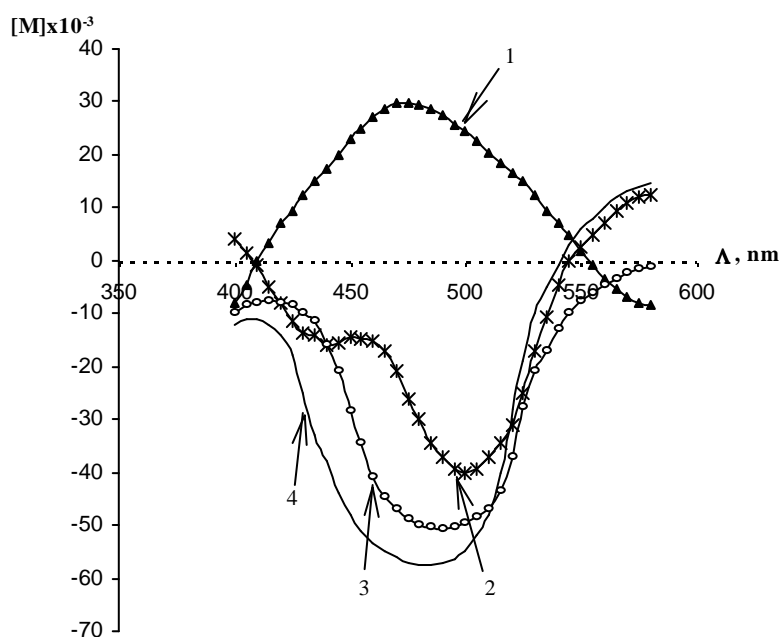


Рис.1 Кривые ДОВ комплексов в CH_3OH (25°C): 1) [(S)-BPB-s-Benzyl-(S)-Cys]Ni(II) [8]; 2) [(S)-BPB-s-Benzyl-(R)-Cys]Ni(II) [8]; 3) 3; 4) 4.

Таблица

Химический выход и соотношение полученных диастереоизомеров на стадии нуклеофильного присоединения гетероциклических тиолов 2 и 3 к комплексу 1

	Нуклеофил	Т, °С	Соотношение, %*		Продолжительность установления термодинамического равновесия (ч)	Химический выход, %**
			97	3		
1	3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазол	25	97	3	7	≥ 94
2	— " —	50	98	2	2	≥ 82
3	3-пропил-4-фенил-5-меркапто-1,2,4-триазол	25	97	3	5	≥ 96
4	— " —	50	97	3	1	≥ 90

Примечания: * – соотношение диастереоизомеров определено спектрофотометрическим методом при $\lambda=360-400 \text{ нм}$, после их разделения; ** – химический выход на стадии присоединения определен методом ТСХ

С целью установления абсолютной конфигурации диастереоизомеров небольшую часть реакционной смеси (~2 г) после завершения реакции присоединения хроматографировали на колонке с SiO_2 (20(2 см) в системе

растворителей $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{COCH}_3$ (2:1) и исследовали спектрополяриметрическим методом (рис.1). Сравнение кривых дисперсии оптического вращения (ДОВ) синтезированных основных диастереоизомеров (4, 6) с кривыми ДОВ ранее полученных комплексов *s*-бензил-(R)- и *s*-бензил-(S)-цистеинов [7] показывает, что эти диастереоизомеры с меньшим значением R_f на SiO_2 (4, 6) имеют (S,R)- или L,L-, а более подвижные диастереоизомеры (5, 7) — (S,S)- или L,D-абсолютные конфигурации.

После установления термодинамического равновесия реакционная смесь была разложена непосредственной обработкой 2 N HCl при 45-50°C. Оптически активные целевые аминокислоты были деминерализованы с помощью катионита Ку-2х8 в H^+ форме и перекристаллизованы из 50% этанола. Получены оптически активные *s*-гетероциклически замещенные производные цистеина — (R)-*s*-3-(3-гидрокси)пропил- (9) и (R)-*s*-3-пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеины (10). При этом исходный хиральный реагент (S)-BPВ регенерируется с химическим выходом >96% и без потери исходной оптической чистоты.

Оптическая чистота синтезированных аминокислот 9 и 10, по данным хирального жидкостного хроматографического анализа высокого разрешения, превышает 99,5 % (рис.2).

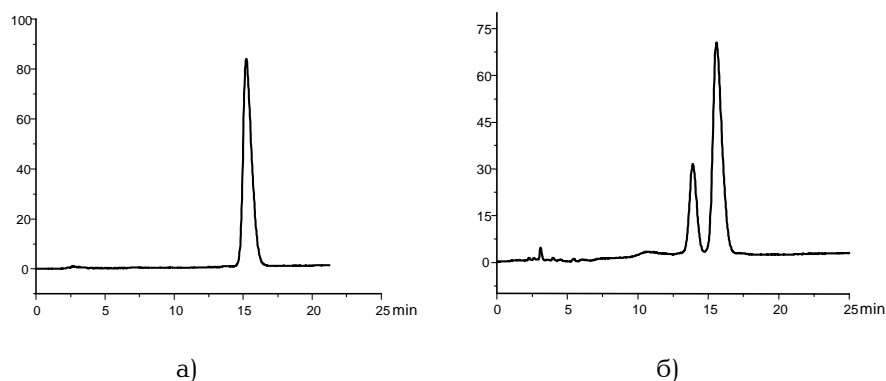


Рис.2. Хиральная жидкостная хроматограмма аминокислоты 9 (хиральная фаза – Crownpak CR (+), элюент – HClO_4 , скорость элюции – 0,4 мл/мин, $T=20^\circ\text{C}$): а) Синтезированный образец L-абсолютной конфигурации; б) Рацемическая смесь.

Экспериментальная часть

В работе использовались аминокислота “Reanal” (Будапешт), силикагель L-40/100μ “Chemapol Praha” (Прага), ионообменная смола Ку-2х8, K_2CO_3 , CHCl_3 , $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$, CH_3COOH , $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, CH_3CN «Реахим». CH_3CN перед использованием очищали согласно [8]. Спектры ПМР снимали на приборах “Mercury-300 Varian” (300 МГц), кривые ДОВ — на спектрополяриметре “Jasco ORD/UV-5”, оптическое вращение $[\alpha]_D^{25}$ измеряли на поляриметре “Perkin Elmer-341”, соотношение диастереоизомеров, после их разделения на SiO_2 определяли на 118

спектрофотометре "Specord M-40" при длине волны 360-400 нм. Исходный комплекс [(S)-BPB-Δ-Ala]Ni(II) (**1**) был синтезирован согласно [7], а нуклеофильные реагенты **2** и **3** — на кафедре органической химии ЕГУ.

Оптическая чистота синтезированных аминокислот **9** и **10** была определена в Институте органического катализа при университете г.Ростока (Германия) методом хиральной жидкостной хроматографии высокого разрешения : хиральная фаза — Stowpack CR (+), элюент — HClO₄ (pH=2), скорость элюции — 0,4 мл/мин, T=20°C.

Общая методика асимметрического синтеза 9 и 10. 5,61 г (11 ммоль) комплекса **1** и 2,76 г (20 ммоль) K₂CO₃ растворяли в 40 мл CH₃CN, а затем в токе аргона при перемешивании к реакционной смеси добавляли 3,29 г (16,5 ммоль) **2** или 3,02 г (16,5 ммоль) **3**. Реакционную смесь перемешивали при 40-50°C в течение 2-3 ч. За ходом нуклеофильного присоединения следили методом ТСХ на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃-CH₃COCH₃ (2:1) по исчезновению пятна исходного комплекса **1**. После установления между диастереоизомерами термодинамического равновесия реакционную смесь фильтровали, осадок промывали CHCl₃, хлороформный раствор упаривали досуха под вакуумом. Небольшую часть смеси ((1 г) хроматографировали на колонке с SiO₂ (20(2 см), используя в качестве элюента смесь CHCl₃-CH₃COCH₃ (2:1). Основную фракцию с меньшим значением R_f на SiO₂ упаривали досуха и исследовали структуру методом ПМР. Соотношение (S,R)- и (S,S)-диастереоизомеров продуктов присоединения нуклеофилов определяли спектрофотометрическим методом после их разделения на SiO₂.

Химические выходы и соотношения (S,R)- и (S,S)-диастереоизомеров представлены в таблице. Для установления абсолютной конфигурации диастереоизомерных комплексов продуктов нуклеофильного присоединения (**4**, **5**, **6**, **7**) снимали их кривые ДОВ и сравнивали с кривыми ДОВ ранее синтезированных аналогично построенных комплексов [(S)-BPB-s-Benzyl-(S)-Cys]Ni(II) и ((S)-BPB-s-Benzyl-(R)-Cys)Ni(II) (рис.).

Целевые аминокислоты **9** и **10** выделяли из реакционной смеси по следующей методике: сухой остаток смеси продуктов присоединения (7 г) растворяли в 50 мл CH₃OH и медленно добавляли к 50 мл нагретому до 50°C 2 N раствору HCl. После исчезновения характерной для комплекса красной окраски раствор концентрировали под вакуумом, добавляли 50 мл воды и фильтровали исходный хиральный реагент (S)-BPB (**8**). Для полного отделения (S)-BPB водный экстракт экстрагировали с CHCl₃ (2x20 мл). Из водного слоя выделяли оптически активную аминокислоту с помощью катионита Ку-2x8 в H⁺ форме, используя в качестве элюента 5% водно-спиртовой раствор NH₄OH (вода-спирт, 5:1). Элюат концентрировали под вакуумом и кристаллизовали из водно-спиртового раствора (1:1). Получены следующие оптически чистые целевые аминокислоты: 2,49 г (8,7 ммоль) (R)-s-3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеина (**9**) и 2,27 г (8,4 ммоль) (R)-s-3-пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеина (**10**).

Физико-химические константы и спектральные данные синтезированных комплексов (4, 6) и целевых аминокислот (9, 10):

[(S)-BPB-(R)-s-3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеин(Ni(II) (4): Т_{пл.} 144-146(С. Найдено, %: С 60,85; Н 5,28; N 11,96. С₃₆Н₃₈Н₆О₄SNi. Вычислено, %: С 60,96; Н 5,36; N 11,85. Спектр ЯМР ¹Н (CDCl₃, δ, м.д.) сложный и трудно интерпретируемый 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: $[\alpha]_{D}^{25} = 1610,00^{\circ}$ (с=0,04; СН₃ОН).

[(S)-BPB-(R)-s-3-пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеин(Ni(II) (6): Т_{пл.} 95-97(С. Найдено, %: С 60,88; Н 5,46; N 10,03. С₃₆Н₃₈Н₆О₃SNi. Вычислено, %: С 60,76; Н 5,27; N 10,74. Спектр ЯМР ¹Н (CDCl₃, δ, м.д.) достаточно сложный и трудно интерпретируемый. Удельное вращение: $[\alpha]_{D}^{25} = 1961,90^{\circ}$ (с= 0,05; СНCl₃).

(R)-s-3-(3-гидрокси)пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеин (9): Т_{пл.} 195-196(С. Найдено, %: С 46,32; Н 6,33; N 19,44. С₁₁Н₁₈Н₄О₃S. Вычислено, %: С 46,15; Н 6,29; N 19,58. Спектр ЯМР ¹Н (D₂O, δ, м.д.): 1,61-1,73 м (2Н, -C-CH₂-C-); 2,48-2,54 т (2Н, -C-C-CH₂-); 3,35-3,41 т (2Н, НОСН₂-); 3,94-4,00 м (1Н, α-СН); 4,39-4,43 (4Н, -CH₂ S + СН₂-C=(allyl)); 4,98 д (1Н, =СН, J=10,58 Hz); 4,74 д (1Н, =СН); 5,58 м (1Н, -СН=). Удельное вращение: $[\alpha]_{D}^{25} = -5,47^{\circ}$ (с=1 ;6N HCl).

(R)-s-3-пропил-4-аллил-1,2,4-триазол-5-ил-цистеин (10): Т_{пл.} 190-192(С. Найдено, %: С 42,54; Н 7,8; N 12,76. С₁₁Н₁₈Н₄О₂S. Вычислено, %: С 42,73; Н 7,2; N 11,03. Спектр ЯМР ¹Н (D₂O, (,м.д.): 1,02 т (3Н, СН₃, J=7,4 Hz); 1,77 м (2Н, С-СН₂, J=7,4 Hz); 2,76 т (2Н, СН₂-Het, J=7,4 Hz); 4,71-4,78 м (3Н, СН₂-C=C + α-СН); 4,81-5,00 м (2Н, СН₂-S); 5,06 д (1Н, СН=C (cis), J=17,2 Hz); 5,33 д (1Н, СН=C (trans), J=10,5 Hz); 5,92-6,04 м (1Н, С-СН=C). Удельное вращение: $[\alpha]_{D}^{25} = -5,0$ (с=1; 6N HCl).

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

(R)-S-3-(3-ՀԻԴՐՕՔՍԻ)ՊՐՈՊԻԼ-4-ԱԼԻԼ-1,2,4-ՏՐԻԱԶՈԼ-5-ԻԼ-ՑԻՍՏԵԻՆԻ ԵՎ (R)-S-3-ՊՐՈՊԻԼ-4-ԱԼԻԼ-1,2,4-ՏՐԻԱԶՈԼ-5-ԻԼ-ՑԻՍՏԵԻՆԻ ԱՍԻՄԵՏՐԻԿ ՄԻՆԹԵԶԸ ԴԵՅԻԴՐՈԱԼԱՆԻՆԻ ՇԻՖՖԻ ՀԻՍՔԻ Ni(II) ՔԻՐԱԼԱՅԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍԻ ՄԻՋՈՑՈՎ

Ա. Ս. ՍԱԴՅԱՆ, Ա. Վ. ԳԵՈԼՉԱՆՅԱՆ, Ն. Ռ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ, Ս. Ա. ԴԱԴԱՅԱՆ, Վ. Ի. ՏԱՐԱՐՈՎ, Յու. Ն. ԲԵԼՈՎՈՆ, Տ. Վ. ԴՈՉԻԿՅԱՆ, Վ. Ս. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ և Ա. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ

Մշակված է (R)-s-3-(3-հիդրօքսի)պրոպիլ-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-5-իլ-ցիսթեինի և (R)-s-3-պրոպիլ-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-5-իլ-ցիսթեինի ասիմետրիկ սինթեզի բարձր սելեկտիվ մեթոդ:

Մեթոդը հիմնված է Ni(II) հետ դեհիդրոալանինի և (S)-2N-(N'-բենզիլպրոպիլ)ամինոբենզոֆենոն քիրալային ռեագենտի Շիֆֆի հիմքի առաջացրած կոմպլեքսի դեհիդրոալանինի մնացորդի էլեկտրոֆիլ կրկնակի C=C կապին 3-(3-հիդրօքսի)պրոպիլ-4-ալիլ-5-մերկապտո-1,2,4-տրիազոլ և 3-պրոպիլ-4-ալիլ-5-մերկապտո-1,2,4-տրիազոլ նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաների վրա՝ առաջացած դիաստերիոիզոմեր կոմպլեքսների խառնուրդի հետագա աղաթօվային քայքայմամբ և նպատակային օպտիկապես ակտիվ ամինաթթուների անջատմամբ: Նուկլեոֆիլ միացման ռեակցիայի ստերիոսելեկտիվությունը կազմում է 97-98%, իսկ անջատված նպատակային ամինաթթուների՝ (R)-s-3-(3-հիդրօքսի)պրոպիլ-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-5-իլ-ցիսթեինի և (R)-s-3-պրոպիլ-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-5-իլ-ցիսթեինի, օպտիկական մաքրությունը գերազանցում է 98%:

ASYMMETRIC SYNTHESIS OF (R)-S-3-(3-HYDROXY)PROPYL-4-ALLYL-1,2,4-TRIAZOL-5-YL-CYSTEINE AND (R)-S-3-PROPYL-4-ALLYL-1,2,4-TRIAZOL-5-YL-CYSTEINE VIA CHIRAL COMPLEX OF Ni(II) WITH SCHIFF'S BASE OF DEHIDROALANINE

A. S. SAGHIYAN, A. V. GEOLCHANYAN, N. R. MARTIROSYAN, S. A. DADAYAN, V. I. TARAROV, Yu. N. BELOKON', T. V. KOCHIKYAN, V. S. HARUTYUNYAN and A. A. AVETISYAN

An efficient method for asymmetric synthesis of (R)-s-3-(3-hydroxy)propyl-4-allyl-1,2,4-triazol-5-yl-cysteine and (R)-s-3-propyl-4-allyl-1,2,4-triazol-5-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)propyl-4-allyl-5-mercapto-1,2,4-triazole (2) and 3-propyl-4-allyl-5-mercapto-1,2,4-triazole (3) were used as nucleophilic reagents. 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-3-(3-hydroxy)propyl-4-allyl-1,2,4-triazol-5-yl-cysteine and (R)-s-3-propyl-4-allyl-1,2,4-triazol-5-yl-cysteine with (R)-absolute configuration in high optical purity (>98%) were synthesized.

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] *Sano K., Sii O.I.* // *J.Chem. Appl. Microbiol.*, 1971, v. 16, p. 94.
- [4] *Ikeeda S., Fujita I., Hirose J.* // *Agr. Biol. Chem.*, 1976, v. 40, p. 517.
- [5] *Сагиян А.С., Геолчяян А.В., Вардапетян С.В., Аветисян А.А., Тараров В.И., Кузьмина Н.А., Белоконь Ю.Н., Норт М.* // *Хим. ж. Армении*, 2000, т. 53, №3-4, с. 37.
- [6] *Сагиян А.С., Геолчяян А.В., Джамгарян С.М., Вардапетян С.М., Тараров В.И., Кузьмина А.Н., Иконников Н.С., Белоконь Ю.Н., Норт М.* // *Изв. РАН, сер.хим.*, 2000, №8, с. 1467.
- [7] *Belokon' Yu.N., Saghyan A.S., Djamgaryan S.M., Bakhmutov V.I., Belikov V.M.* // *Tetrahedron.*, 1988, v. 44, №17, p. 5507.
- [8] *Walter M., Ramaley L.* // *Analyt.Chem.*, 1973, v. 45, p. 307.