

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 56, №1–2, 2003 Химический журнал Армении

УДК 547.294.314.07

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ АСИММЕТРИЧЕСКОГО
ПРИСОЕДИНЕНИЯ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ТИОЛОВ К ХИРАЛЬНЫМ
КОМПЛЕКСАМ ДЕГИДРОАМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ.
АСИММЕТРИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ 2*L*,3*L*-*allo*- β -МЕТИЛ- *S*-5-(3'-
ГИДРОКСИПРОПИЛ)-4-АЛЛИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛ-ЦИСТЕИНА

А. С. САГИЯН, Л. Л. МАНАСЯН, А. В. ГЕОЛЧАНЫАН, С. А. ДАДАЯН,
Н. Р. МАРТИРОСЯН, С. М. ВАРДАПЕТЯН, Т. В. КОЧИКЯН, В. С. АРУТЮНЯН,
А. А. АВЕТИСЯН и Ю. Н. БЕЛОКОНЬ

Научно-исследовательский институт «Биотехнология», Ереван

Ереванский государственный университет

Поступило 6 IX 2002

Исследована реакция асимметрического присоединения 3-(3'-гидроксипропил)-4-аллил- и 3-(3'-гидроксипропил)-4-фенил-5-меркапто-1,2,4-триазолов к двойной С=С связи *E*- и *Z*-дегидроаминомасляной кислоты в хиральном Ni(II) комплексе оснований Шиффа с хиральным карбонильным соединением (*S*)-2-N-(N'-бензилпролил)-аминобензофеноном. Стереоселективность нуклеофильного присоединения превышает 96%. На основе полученных результатов разработан высокоселективный метод асимметрического синтеза (2*R*,3*S*)- или 2*L*,3*L*-*allo*- β -метил-*S*-5-(3'-гидроксипропил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеина, обеспечивающий высокую оптическую чистоту целевой гетероциклической α -аминокислоты небелкового происхождения.

Рис. 2, табл. 1, библиографических ссылок 10.

Энантиомерно чистые *S*-замещенные производные цистеина являются важными компонентами многих физиологически активных пептидов, антибиотиков и других лекарственных препаратов (1-3). Они успешно применяются также в микробиологии для селекции высокоактивных штамм-продуцентов белковых аминокислот в качестве их аналогов. В этом отношении особый интерес представляют гетероциклически замещенные производные цистеина (4,5).

Ранее нами были исследованы реакции асимметрического присоединения алифатических и ароматических тиолов к хиральным комплексам дегидроаминокислот (дегидроаланина и дегидроаминомасляной кислоты) и

разработаны методы асимметрического биомиметического синтеза *S*-замещенных производных цистеина (6-8). В случае присоединения тиолов к хиральному Ni(II) комплексу основания Шиффа дегидроаминомасляной кислоты с хиральным реагентом (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном была показана возможность высокоселективного асимметрического синтеза β-метил-*S*-арилзамещенных производных цистеинов *2L,3L-allo*-абсолютной конфигурации. Недавно сообщалось об асимметрическом присоединении гетероциклических тиолов 1,2,4-триазольного ряда, содержащих различные заместители в положениях 3 и 4, к двойной C=C связи дегидроаланина в хиральном Ni(II) комплексе оснований Шиффа с (S)-2-N-(N'-бензилпролил)амино-бензофеноном, приводящих к образованию соответствующих *S*-гетероциклически замещенных цистеинов (R)- или L-абсолютной конфигурации.

В настоящей работе сообщается об асимметрическом присоединении 3-(3'-гидроксипропил)-4-аллил- и 3-(3'-гидроксипропил)-4-фенил-5-меркапто-1,2,4-триазолов к электрофильной двойной C=C связи E- и Z-дегидроаминомасляной кислоты в хиральном Ni(II) комплексе оснований Шиффа с хиральным реагентом (S)-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном [(S) – BPB – (Z) – Δ – АВА]Ni(II) и [(S) – BPB – (E) – Δ – АВА]Ni(II) .

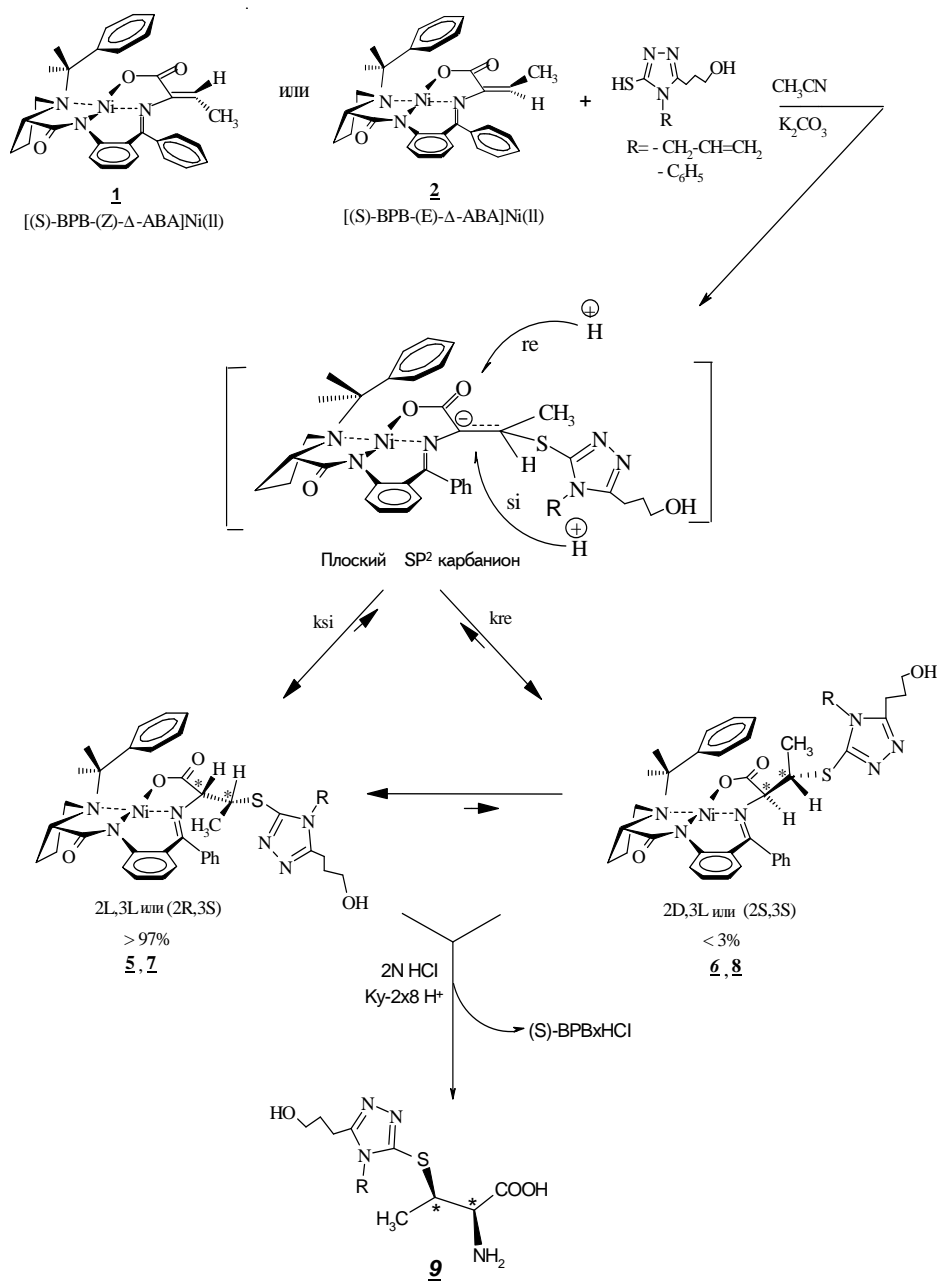
Хиральные плоско-квадратные комплексы [(S) – BPB – (Z) – Δ – АВА]Ni(II) (**1**) и [(S) – BPB – (E) – Δ – АВА]Ni(II) (**2**) были синтезированы согласно (9).

Асимметрическое нуклеофильное присоединение тиолов (**3**) и (**4**) к двойной C=C связи фрагмента дегидроаминомасляной кислоты хиральных комплексов **1** и **2** протекает в среде ацетонитрила в присутствии безводного поташа при 50-60°C (схема). За ходом реакции нуклеофильного присоединения следили методом ТСХ на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃:CH₃COCH₃ (3:1) по исчезновению следов исходных комплексов E- и Z-дегидроаминомасляной кислоты (**1**, **2**).

Присоединение гетероциклических тиолов **3** и **4** к комплексам **1** и **2** происходит в условиях основного катализа. На начальных участках реакции присоединения (~10 мин) стереоселективность контролируется кинетическими факторами; кинетическое соотношение диастереомерных комплексов составляет примерно (%) 95/5 в пользу диастереомера с меньшим значением R_f на SiO₂. По ходу установления термодинамического равновесия избыток этого диастереомера достигает 97-98%.

С целью установления структуры и абсолютной конфигурации основного диастереомера продукта присоединения небольшая часть реакционной смеси была хроматографирована на SiO₂ в системе растворителей CHCl₃:CH₃COCH₃ (3:1).

Схема 1



Основной диастереомерный комплекс был охарактеризован спектральными методами анализа. Для определения абсолютной конфигурации синтезированного основного диастереомерного комплекса были получены кривые дисперсии оптического вращения (ДОВ) и сравнены с кривыми ДОВ ранее синтезированных аналогично построенных комплексов (2R,3S)- или 2L,3L-allo-S-бензил- β -метилцистеина и (2S,3S)- или 2D,3L-allo-S-бензил- β -метилцистеина (9) (рис. 1).

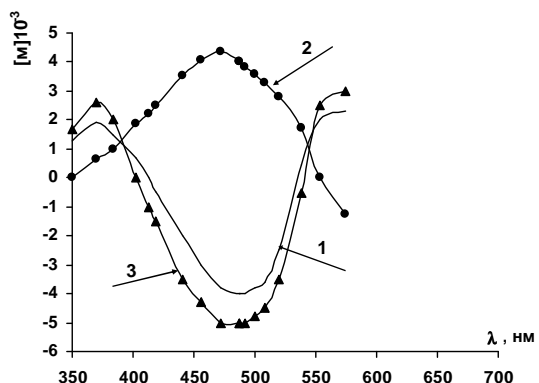
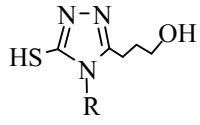


Рис. 1 Кривые ДОВ комплексов в CH_3OH (25°C): 1 – (2R,3S)- или 2L, 3L-allo-S-бензил- β -метилцистеина; 2 – (2S,3S)- или 2D,3L-allo-S-бензил- β -метилцистеина; 3 – диастереомерный комплекс 5.

Таблица

Результаты асимметрического присоединения гетероциклических тиолов 2 и 3 к двойной $\text{C}=\text{C}$ связи комплексов E- и Z-дегидроаминоасляной кислоты (1, 2) в среде $\text{CH}_3\text{CN}/\text{K}_2\text{CO}_3$ при 50°C .

	Исходные комплексы дегидроаминоасляной кислоты	Продолжительность, дни	Химический выход, %*
R = $-\text{C}_6\text{H}_5$	$[(\text{S})\text{-BPB-(Z)-}\Delta\text{-ABA}]\text{Ni(II)}$ (<u>1</u>)	40	~20
— —	$[(\text{S})\text{-BPB-(E)-}\Delta\text{-ABA}]\text{Ni(II)}$ (<u>2</u>)		~80
R = $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$	$[(\text{S})\text{-BPB-(Z)-}\Delta\text{-ABA}]\text{Ni(II)}$ (<u>1</u>)	1	~10
— —	— —	3	~20
— —	— —	5	~25
— —	— —	10	~40
R = $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$	$[(\text{S})\text{-BPB-(E)-}\Delta\text{-ABA}]\text{Ni(II)}$ (<u>2</u>)	1	~20
— —	— —	3	~70
— —	— —	5	~90
— —	— —	10	≥ 98

Примечание: * – химический выход на стадии нуклеофильного присоединения определен на основе данных ТСХ.

Кинетические исследования показали, что присоединение 5 – меркапто-1,2,4-триазола, содержащего аллильный заместитель в положении 4 триазольного ряда происходит примерно в 8 раз быстрее, чем такого же меркаптотриазола, содержащего фенильную группу в том же положении. Одновременно была исследована реакционная способность комплексов E- и Z-дегидроаминоасляной кислоты (1, 2) в реакциях нуклеофильного присоединения с использованием в качестве нуклеофила 3-(3'-гидроксипропил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазола (3) (табл.). Из полученных данных следует, что скорость нуклеофильного присоединения в случае использования в качестве дегидроаминокислотного синтона хирального комплекса E-дегидроаминоасляной кислоты (2) примерно в 5 раз больше, чем

при использовании комплекса Z-дегидроаминомасляной кислоты (**1**). Это обусловлено стерическими факторами, как было показано ранее [6-8], в подобных системах присоединения нуклеофилов предпочтительно происходит со *si* стороны плоскости основания Шиффа, т. к. *re* сторона экранирована фенильной группой N-бензилпропилового остатка хирального реагента (S)-BPB. В случае присоединения тиолов к комплексу Z-дегидроаминомасляной кислоты *si* сторона плоскости основания Шиффа дополнительно экранирована метильной группой дегидроаминомасляного фрагмента; такое экранирование отсутствует в случае присоединения тиолов к комплексу E-дегидроаминомасляной кислоты (рис 2).

После установления реакционной способности комплексов E- и Z-дегидроаминомасляной кислоты провели препаративный опыт по присоединению 3-(3'-гидроксипропил)-4-аллил-5-меркапто-1,2,4-триазола к смеси комплексов E- и Z- дегидроаминомасляной кислоты. После установления термодинамического равновесия реакционная смесь была разложена непосредственной обработкой 2N HCl при температуре 45-50°C. Целевая аминокислота (2R,3S)- или 2L,3L – allo – β -метил-S-5-(3'-гидроксипропил)-(4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеин (**2**) была деминерализована с помощью катионита Ку – 2 \times 8 в H⁺ форме и перекристаллизована из 70% этанола.

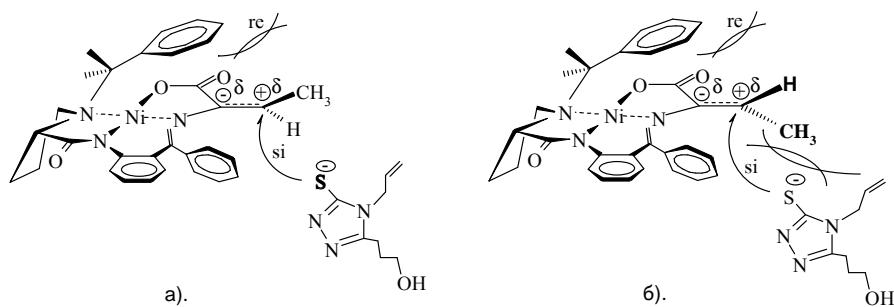


Рис. 2. Дополнительное пространственное затруднение при присоединении нуклеофила **3** к комплексу Z-дегидроаминомасляной кислоты (б) (такие экранирования отсутствуют в случае комплекса E-дегидроаминомасляной кислоты (а)).

При этом исходный хиральный реагент (S)-BPB регенерируется с химическим выходом ~96% и без потери оптической чистоты. Структура и абсолютная конфигурация полученной гетероциклической α -аминокислоты небелкового происхождения установлены спектральными методами анализа.

Экспериментальная часть

В работе использовалась аминокислота "Reanal" (Будапешт), силикагель L-40/100 μ "Chemapol Praha" (Прага), ионообменная смола Ку-2х8, K₂CO₃, CHCl₃, (CH₃CO)₂O, CH₃COOH, (CH₃)₂CO, C₂H₅OH, CH₃CN «Реахим». CH₃CN перед использованием очищали согласно [10]. Спектры ЯМР ¹H снимали на приборах "Mercury-300 Varian" (300 МГц), кривые ДОВ – на спектрополяриметре "Jasco ORD/UV-5", оптическое вращение $[\alpha]_D^{20}$ 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. Исходные дегидроаминокислотные комплексы [(S) – ВРВ – (Z) – Δ – АВА]Ni(II) (1) [(S) – ВРВ – (E) – Δ – АВА]Ni(II) (2) были синтезированы согласно (9), а нуклеофильные реагенты 3 и 4 – на кафедре органической химии ЕГУ.

Общая методика асимметрического синтеза 9. 4,71 г (0,0089 моля) смеси комплекса 1 и 2, 2,76 г (0,02 моля) K₂CO₃ и 2,7 г (0,014 моля) тиола 3 растворяли в 15 мл CH₃CN и перемешивали при 50-60°C. За ходом нуклеофильного присоединения следили методом ТСХ на пластинке SiO₂ в системе растворителей хлороформ:ацетон (3:1) по исчезновению следов исходных комплексов 1 и 2. По завершении реакции (~ через 5 дней) реакционную смесь фильтровали, осадок промывали хлороформом, хлороформный раствор упаривали досуха под вакуумом. Небольшую часть сухого остатка (~1 г) растворяли в минимальном количестве смеси хлороформ:ацетон (3:1) и хроматографировали на колонке с SiO₂ (30(3см), используя в качестве элюента смесь растворителей хлороформ:ацетон (3:1).

Целевую аминокислоту 9 выделяли из реакционной смеси следующим образом: сухой остаток смеси продуктов присоединения (6 г) растворяли в 35 мл метанола и медленно добавляли к 35 мл нагретого до 50°C раствора 2 (HCl. После исчезновения характерной для комплекса красной окраски раствор концентрировали под вакуумом, добавляли 25 мл воды и фильтровали исходный хиральный реагент (S)-ВРВ. Для полного отделения (S)-ВРВ водный фильтрат экстрагировали с CHCl₃ (2(20 мл). Из водного слоя выделяли целевую аминокислоту с помощью катионита Ку-2х8 в H⁺ форме, используя в качестве элюента 8% водный раствор NH₄OH. Элюент концентрировали под вакуумом и аминокислоту кристаллизовали из водно-спиртового раствора (1:1). Получено 1,5 г (0,005 моля) оптически чистой целевой аминокислоты (2R,3S)- или 2L,3L – allo – β -метил-S-5-(3'-гидроксипропил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеин (9), что соответствует 56 % выходу.

2L,3L-allo- β - метил-S-5-(3'-гидроксипропил)-4-аллил-1,2,4-триазол-3-ил-цистеин (9). Тпл. 141-142(С. Найдено, %: С 47,81; Н 7,27; N 20,4. C₁₁H₁₈N₄O₂S. Вычислено, %: С 48; Н 6,67; N 18,67. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃, (м.д.): 1,33 д (β -CH₃, J=7,2 Гц, 3H); 1,81кв (НО-CH₂-CH₂-, J=7 Гц, 2H); 2,66 дд (НО-CH₂-CH₂-, J₁=8,4 Гц, J₂=6,6 Гц); 3,47 т (НО-CH₂-, J=6,0 Гц, 2H); 3,70 д (β -H, J=3,9 Гц, 1H); 4,66

д (N-CH₂-CH=CH₂, J=5,1 Гц, 2H); 5,09 д(N-CH₂-CH=CH_a, J=17,1 Гц, 1H); 5,21 д (N-CH₂-CH=CH_b, J=10,5 Гц, 1H); 5,4 кв (β-H, 1H); 5,88_{ддт} (N-CH₂-CH=CH₂, J₁=17,1, J₂=10,5, J₃=5,1 Гц). Удельное вращение: [α]_D²⁰ = -30° (c = 0,1; 6N HCl).

**ԴԵՀԻԴՐՈԱՄԻՆԱԿԱՐՍԳԱԹՎԻ ՔԻՐԱԼԱՑԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍԻՆ
ՀԵՏԵՐՈՑԻԿԼԻԿ ԹԻՈԼՆԵՐԻ ԱՍԻՄԵՏՐԻԿ ՄԻԱՑՄԱՆ ՌԵԱԿՑԻԱՑԻ
ՀԵՏԱԶՈՏՈՒՄԸ: 2L,3L-*allo*-β-ՄԵԹԻԼ-Տ5-(3'-ՀԻԴՐՕՔՍԻՊՐՈՊԻԼ(-4-ԱԼԼԻԼ-
1,2,4-ՏՐԻԱԶՈԼ-3-ԻԼ-ՑԻՍՏԵԻՆԻ ԱՍԻՄԵՏՐԻԿ ՄԻՆԹԵԶԸ**

**Ա. Ս. ՍԱԴՅԱՆ, Լ. Լ. ՄԱՆԱՍՅԱՆ, Ա. Վ. ԳԵՈԼՉԱՆՅԱՆ, Ս. Ա. ԴԱԴԱՅԱՆ,
Ն. Ռ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ, Ս. Մ. ՎԱՐԴԱՊԵՏՅԱՆ, Տ. Վ. ԴՈՇԻԿՅԱՆ,
Վ. Ս. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Ա. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ և ՅՆԼ Ն. ԲԵԼՈԿՈՆ**

Հետազոտվել է Ni(II) իոնի հետ E- և Z-դեհիդրոամինոկարապաթթվի և (S)-2N-(N'-բենզիլպրոպիլ)ամինոբենզոֆենոն քիրալային ռեագենտի Շիֆֆի հիմքի առաջացրած կոմպլեքսների դեհիդրոամինաթթվային մնացորդի էլեկտրոֆիլ կրկնակի C=C կապին 3-(3'-հիդրօքսիպրոպիլ)-4-ալիլ- և 3-(3'-հիդրօքսիպրոպիլ)-4-ֆենիլ-5-մերկապտո-1,2,4-տրիազոլների հետերոցիկլիկ թիոլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաները: Ստացված արդյունքների հիման վրա մշակված է (2R,3S)- կամ 2L,3L-*allo*-(-մեթիլ-Տ5-(3'-հիդրօքսիպրոպիլ)-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-3-իլ-ցիստեինի բարձր սելեկտիվ ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդը (e.e.>96%): Արդյունքում բարձր օպտիկական մաքրությամբ և քիմիական էլքով սինթեզվել է 2L,3L-*allo*-β-մեթիլ-Տ5-(3'-հիդրօքսիպրոպիլ)-4-ալիլ-1,2,4-տրիազոլ-3-իլ-ցիստեին ոչ սպիրտակուցային ամինաթթու:

**INVESTIGATION OF ASYMMETRIC ADDITION OF HETEROCYCLE
THIOLS TO CHIRAL COMPLEXES OF DEHYDROAMINO BUTANOIC ACID.
ASYMMETRIC SYNTHESIS OF 2L,3L-*allo*-β-METHYL-S-5-(3'-
HYDROXYPROPYL)-4-ALLYL-1,2,4-TRIAZOL-3-YL-CYSTEINE**

**A. S. SAGHIYAN, L. L. MANASYAN, A. V. GEOLCHANYAN, S. A. DADAYAN,
N. R. MARTIROSYAN, S. M. VARDAPETYAN, T. V. GHOSHIKYAN,
V. S. HARUTYUNYAN, A. A. AVETISYAN and Yu. N. BELOKON'**

Reactions of asymmetric addition of 3-(3'-hydroxypropyl)-4-allyl-5-mercapto-1,2,4-triazol (**2**) and 3-(3'-hydroxypropyl)-4-phenyl-5-mercapto-1,2,4-triazol (**3**) to the electrophil C=C bond of E- and Z-dehydroaminobutanoic acid in Ni(II) complex of Schiff's bases with a chiral reagent (S)-2-N-(N'-benzylpropyl)aminobenzophenone have been investigated. It was shown that the addition rate of 5-mercapto-1,2,4-triazol containing allyl substitute in 4 triazol position is approximately 8 times higher than the addition rate of the similar triazol containing phenyl substitute in the same position. Also it was revealed that thiols addition to the E-dehydroaminobutanoic acid is 5 times higher in case of addition to the Z-dehydroaminobutanoic acid complex. As a result high stereoselectivity method of asymmetric synthesis of (2R,3S)- or 2L,3L-*allo*-β-methyl-S-5-(3'-hydroxypropyl)-4-allyl-1,2,4-triazol-3-yl-cysteine (e.e.>96%), which provides high optical purity of the final amino acid, has been elaborated.

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] *Сафонова Э.Н., Беликов В.М.* // *Успехи химии*, 1974, т. 43. №9, с.1575.
- [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] *Сагиян А.С., Геолчянян А.В., Вардапетян С.В., Аветисян А.А., Тараров В.И., Кузьмина Н.А., Белоконов Ю.Н., Норт М.* // *Хим.ж.Армении*, 2000, т.53, №3-4, с.37.
- [7] *Сагиян 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., Djamgaryan S.M., Bakhmutov V.I., Belikov V.M.* // *Tetrahedron*, 1988, v.44, №17, p.5507.
- [9] *Belokon' Yu.N., Bulychev A.G., Vitt S.V., Struchkov Yu.T., Batsanov A.S., Timofeeva T.V., Tsyryapkin V.A., Ryzhov M.G., Lysova L.A., Bakhmutov V.I., Belikov V.M.* // *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, v.107., p.4252.
- [10] *Walter M., Ramaley L.* // *Analyt.Chem.*, 1973, v.45, p.307.