

УДК 547.294.314.07.

А.В. ГЕОЛЧАНЫН, А.С. САГИЯН, С.М. ВАРДАПЕТЯН, А.А. АВЕТИСЯН

СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ S-ТРЕТ-БУТИЛ-D-ЦИСТЕИНА ЧЕРЕЗ ХИРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЕГИДРОАЛАНИНА С ИОНОМ Ni^{2+}

Разработан эффективный метод асимметрического стехиометрического синтеза s-трет-бутил-D-цистеина присоединением трет-бутилмеркаптана к активированной двойной $C=C$ связи дегидроаланина в его хиральном комплексе иона Ni^{2+} оснований Шиффа с хиральным индуцирующим реагентом – D-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном. После кислотного разложения реакционной смеси была выделена оптически активная аминокислота – s-трет-бутил-D-цистеин с высокой оптической чистотой ($>98\%$). Стереоселективность нуклеофильного присоединения составляет 92%.

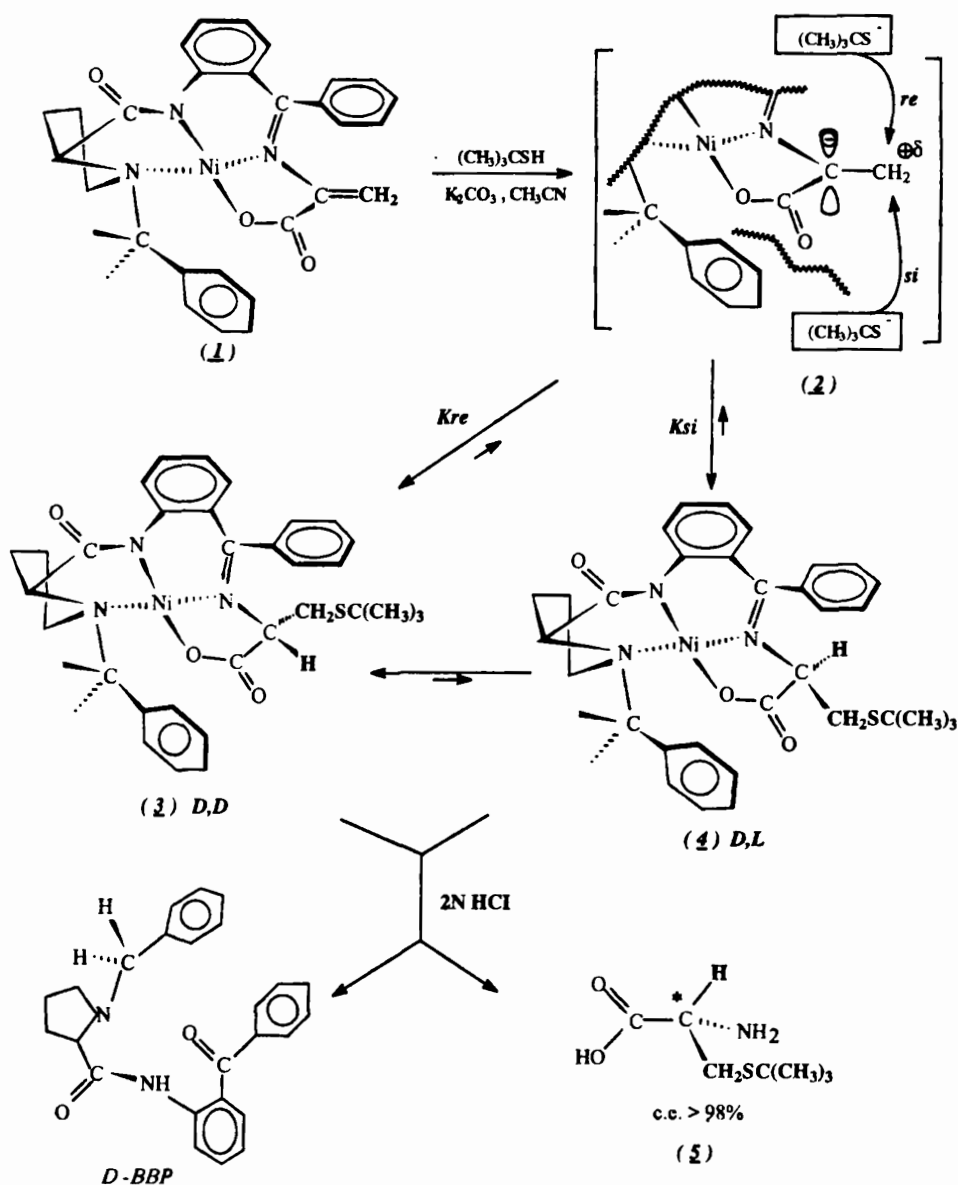
Оптически активные s-замещенные производные цистеинов являются важными компонентами многих физиологически активных пептидов, антибиотиков и других лекарственных препаратов [1–3]. В этом отношении особый интерес представляют s-замещенные производные цистеина D-абсолютной конфигурации, которые являются чужеродными для ферментов как по структуре, так и по абсолютной конфигурации.

Ранее нами был разработан метод асимметрического синтеза s-алкил- и s-арилзамещенных производных L-цистеинов присоединением тиолов к активированной двойной $C=C$ связи хирального плоско-квадратного комплекса иона Ni^{2+} оснований Шиффа дегидроаланина с хиральным карбонильным реагентом – L-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофеноном (L-BBP) [4]. Была показана также принципиальная возможность асимметрического синтеза β -замещенных α -аминокислот D-абсолютной конфигурации путем нуклеофильного присоединения аминов к фрагменту дегидроаланина в хиральном комплексе иона Ni^{2+} при использовании в качестве хирального карбонильного соединения производного D-пролина – D-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофенона (D-BBP) [5].

В настоящей работе сообщается об асимметрическом стехиометрическом синтезе D-трет-бутилцистеина присоединением трет-бутилмеркаптана к активированной $C=C$ связи дегидроаланина в хиральном плоско-квадратном комплексе иона Ni^{2+} оснований Шиффа дегидроаланина с D-BBP.

Хиральный плоско-квадратный комплекс иона- Ni^{2+} оснований Шиффа хирального реагента D-BBP и дегидроаланина – $[D-BBP-\Delta-Ala]Ni(II)$ (**1**) с активной электрофильной двойной $C=C$ связью был синтезирован согласно ранее разработанной методике [5].

Комплекс **1** вступает в реакцию асимметрического нуклеофильного присоединения с трет-бутилмеркаптаном в среде CH_3CN в присутствии K_2CO_3 в качестве основания (см. схему).



За ходом реакции присоединения нуклеофила удобно следить методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на SiO_2 в системе растворителей ацетон – хлороформ (1:2), так как продукты реакции присоединения отличаются от исходного комплекса **1** значением R_f .

Небольшая часть смеси диастереомеров была разделена на SiO_2 в системе растворителей $\text{CHCl}_3 - \text{CH}_3\text{COCH}_3$ (3:1) и охарактеризована спектральными методами анализа (см. экспериментальную часть). Для определения абсолютной конфигурации полученных диастереомеров снимали их кривые дисперсии оптического вращения (ДОВ) и сравнивали с кривыми ДОВ ранее полученного аналогично построенному диастереомерному комплексу L,L-абсолютной конфигурации на основе хирального реагента – L-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофенона (L-BBP) [6] (см. рис.1). Сравнение кривых показывает, что основной фракцией продукта нуклеофильного присоединения с большим значением R_f на SiO_2 является диастереомер D,D-абсолютной конфигурации, содержащий s-трет-бутилцистеин D-абсолютной конфигурации, о чем свидетельствует зеркальное изображение кривых ДОВ.

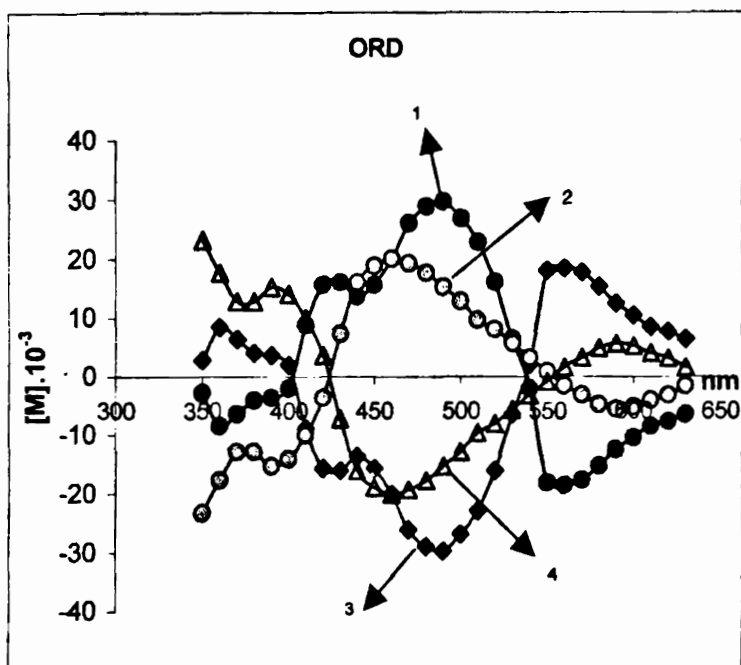


Рис. 1. Кривые ДОВ комплексов в CH_3OH (25°C): 1) [D-BBP-s-*t*-бутил-D-Цис]Ni(II) (3); 2) [L-BBP-s-*t*-бутил-D-Цис]Ni(II); 3) [L-BBP-s-*t*-бутил-L-Цис]Ni(II); 4) [D-BBP-s-*t*-бутил-L-Цис]Ni(II) (4).

Присоединение нуклеофила к комплексу 1 происходит в условиях основного катализа. При этом в начале реакции (примерно через 10–15 мин. после добавления нуклеофила) избыток наиболее подвижного на SiO_2 основного диастереомера D,D-абсолютной конфигурации составляет 75–80%, что является следствием кинетической стереоселективности. Затем постепенно увеличивается количество этого диастереомера вследствие установления термодинамического равновесия. Равновесное соотношение диастереомеров 3 и 4 составляет 96 : 4.

Термодинамическая стабильность диастереомера D,D-абсолютной конфигурации (3) обусловлена расположением объемистого трет-бутилового радикала аминокислотного остатка на противоположной стороне фенольного заместителя N-бензилпролинового фрагмента в этом диастерео-

мере. В диастереомере D,L-абсолютной конфигурации (4) эти объемистые группы расположены на одной стороне плоскости основания Шиффа, что создает дополнительное стерическое напряжение в системе и термодинамически дестабилизирует этот диастереоизомер. Разница в энергиях между диастереоизомерами оказывается достаточной для установления высокой стереоселективности при нуклеофильном присоединении к активированной C=C связи дегидроаминокислотного остатка этих комплексов (рис. 2). Разница в энергии для аналогично построенных комплексов была определена согласно [7] ($\Delta G \geq 1$).

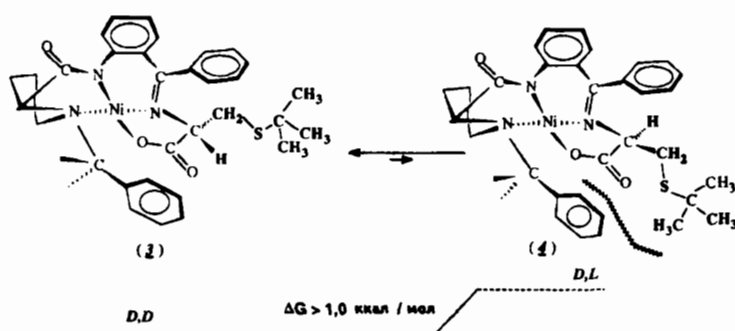


Рис. 2. Термодинамическое равновесие между D,D- и D,L-диастереоизомерами.

После разложения реакционной смеси действием 2N HCl были выделены целевой продукт – оптически активная аминокислота – D-s-трет-бутилцистеин и исходный хиральный индуцирующий реагент D-BBP. При этом хиральный реагент D-BBP регенерируется с химическим выходом > 95% и полным сохранением исходной оптической чистоты, что позволяет использовать его многократно в реакциях комплексообразования без дополнительной очистки.

Из смеси выделяют аминокислоту s-трет-бутил-D-цистеин ионообменными методами с использованием катионообменных смол Ку-2х8 или Dowex 50х8 в H⁺-форме и кристаллизацией из водного этанола. Выход целевого продукта – s-t-бутил-D-цистеина (5) – составляет 75 %, а его оптическая чистота > 98%.

Экспериментальная часть. В работе использовались аминокислоты "Reanal" (Будапешт), (CH₃)₃CSH, K₂CO₃, NaOH, (CH₃)₂CO, CHCl₃, CH₃CN "Реахим". CH₃CN перед употреблением очищали согласно [6]. Спектры ¹H-ЯМР снимали на приборе "Mercury 300BB" (300 МГц), кривые ДОВ (дисперсия оптического вращения) – на приборе "Jasco ORD / UV-5", [α]_D²⁵ измеряли на приборе "Perkin-Elmer-241". Хиральный реагент D-2-N-(N'-бензилпролил)аминобензофенон (D-BBP) синтезировали согласно [8], используя D-пролин взамен L-пролина. Исходный комплекс [D-BBP-Δ-Ala]Ni(II) (I) синтезировали согласно [5].

Присоединение трет-бутилмеркаптана к комплексу I. 14,4 г (2,86 · 10⁻² моля) комплекса I растворяют в 50 мл CH₃CN и в токе инертного газа Ar к смеси добавляют 7,87 г (5,72 · 10⁻² моля) K₂CO₃ и 3,06 г (3,4 · 10⁻² моля) трет-бутилмеркаптана. Реакционную смесь перемешивают при темпера-

туре 40–45°C в течение 3 часов. За ходом реакции присоединения можно следить по исчезновению двух синглетных сигналов винильных протонов де-гидроаланинового фрагмента в спектрах ¹H-ЯМР (5,84 и 4,0 м. д.), спектро-фотометрически – по сдвигу полос поглощения 330 → 300 нм, а также ТСХ на пластинках SiO₂ в системе растворителей CHCl₃-CH₃COCH₃ (3:1). Через 3 ч. после добавления тиола небольшую порцию реакционной смеси (~ 5 мл), разбавляли 30 мл CHCl₃, промывали последовательно 0,2N HCl (2x10 мл), 0,2M Na₂CO₃ (3x10 мл) и H₂O. Хлороформный экстракт упаривали досуха, диастереомеры [D-BBP-*t*-Bu-D-Cys]Ni(II) (3) и [D-BBP-*t*-Bu-L-Cys]Ni(II) (4) хроматографировали на колонке с SiO₂ (3x20 см), используя в качестве элюента CHCl₃-CH₃COCH₃ (2:1), и охарактеризовали спектральными мето-дами. Кривые ДОВ диастереомеров синтезированных комплексов представ-лены на рис. 1.

После установления термодинамического равновесия между диасте-реомерами реакционную смесь фильтруют, промывают хлороформом и упаривают досуха. Осадок растворяют в 50 мл CH₃OH и при перемешивании добавляют к нагретому до 45–50°C раствору 2N HCl . После исчезновения характерной для комплексов окраски смесь упаривают досуха, добавляют 50 мл H₂O и фильтруют исходный хиральный реагент D-BBP. Из водного фильтрата выделяют целевую аминокислоту ионообменным методом с ис-пользованием катионообменной смолы Ку 2x8 в H⁺-форме. Аминокислоту элюируют со смолы 8% водным раствором NH₄OH, концентрируют под ва-куумом и кристаллизуют из раствора этанол – вода (1:1).

Получают 1,99 г (2,14·10⁻² моля) *s*-трет-бутил-L-цистеина, что соот-ветствует 75 % химическому выходу.

[D-BBP-*s*-*t*-Bu-D -Cys]Ni(II) (3). Спектр ¹H-ЯМР (в CDCl₃, δ, м.д.): 1,30 (с., 9H, CH₃); 1,96–2,12 (м., 2H, Про); 2,40–2,61 (м., 1H, Про); 2,53 (д.д., 1H, CH₂S, J=5,8 и 12,0 Гц); 2,80 (д.д., 1H, CH₂S, J=2,64 и 11,80 Гц); 2,92–3,1 (м., 1H, Про); 3,46 (д.д., α-H Про, J=6,2 и 9,64 Гц); 3,60 (д., 1H, CH₂Ph, J=12,0 Гц); 3,6–3,9 (м., 2H, Про); 4,29 (д.д., 1H, α-H, J=2,62 и 5,8 Гц); 4,48 (д., 1H, CH₂Ph, J=12,0 Гц); 6,6–8,8 (м., 14H, ArH). УФ спектр (λ_{max}, нм (lg ε)): 266 (12,2); 335 (3,5); 420 (2,2). [α]_D²⁵ = – 2615,0° (с = 0,038; CH₃OH).

Найдено, %: С 64,14; Н 5,98; N 6,82. C₃₂H₃₅N₃O₃SNi. Вычислено, %: С 64,01; Н 5,87; N 6,99.

Количество комплекса [D-BBP-*s*-*t*-Bu-L-Cys]Ni(II) (4) оказалось не-достаточным для спектрального анализа.

S-*t*-бутил-D-цистеин (5). Т_{пл}=214–215°C. Спектр ¹H-ЯМР (в D₂O, δ, м.д.): 1,2 (с., 9H, 3CH₃); 3,11 (д.д., 1H, CH₂S, J=6,44 и 13,6 Гц); 3,22 (д.д., 1H, CH₂S, J=3,80 и 13,8 Гц); 4,0 (д.д., 1H, α-H, J=3,82 и 6,40 Гц). Найдено, %: : С 48,78; Н 8,52; N 7,87. C₇H₁₅O₂NS. Вычислено, % : С 48,83; Н 8,47; N 7,91. [α]_D²⁵ = + 8,13° (с=1; 6N HCl). Оптическая чистота по данным ГЖХ-энантио-мерного анализа в виде изопропиловых эфиров N-трифторацетильных производных на хиральной фазе "Херасил-Валин" [9] составляет 98 %.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Международного Европей-ского научного фонда INCO-COPERNICUS (грант No ICTS-СТ96-0722).

ЛИТЕРАТУРА

1. Schmidt U., Oler E. – *Angew.Chem. Int. Ed. Engl.*, 1976, p.15. 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. Белоконов Ю.Н., Джемгарян С.М., Сагиян А.С., Иванов А.С., Беликов В.М. – *Изв. АН СССР, сер. хим.*, 1988, No 7, с.1616.
5. Сагиян А.С., Аветисян А.Э., Джемгарян С.М., Гюлумян Э.А., Григорян С.К., Белоконов Ю.Н. – *Хим. ж. Армении*, 1996, т.49, No1-3, с.146–152.
6. Walter M., Ramaley L. – *Analyt. Chem.*, 1973, v.45, p.307.
7. Belokon' Yu.N., Belychev A.G., Vitt S.V., Struchkov Yu.T., Batsanov A.S., Timofeeva T.V., Tsygarkin V.A., Ryzhov M.G., Lysova L.A., Bakmutov V.I. and Belikov V.M. – *J.Am. Chem. Soc.*, 1985, v.107, p.4252–4259.
8. Belokon' Yu.N., Tararov V.I., Maleev V.I., Savel'eva T.F. and Ryzhov M.G. – *Tetrahedron: Asymmetry* 9, 1998, p.4249–4252.
9. Сапоровская М.Б., Витт С.В., Никитина С.Б., Пасконова Е.А., Беликов В.М. – *Изв. АН СССР, сер. хим.*, 1974, №3, с.676–682.

Ա.Վ.ԳԵՈՂՇԱՆՅԱՆ, Ա.Ս.ՍԱԳԻՅԱՆ, Ս.Մ.ՎԱՐԴԱՊԵՏՅԱՆ, Ա.Ա.ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ

S-ՏՐԵՏ-ԲՈՒՏԻԼ-D-ՑԻՍՏԵԻՆԻ ՍՏԵՐԵՈՍԵԼԵԿՏԻՎ ՄԻՆԹԵԶԸ
 Ni^{2+} ԻՈՆԻ ՀԵՏ ԴԵՀԻԴՐՈԱԼԱՆԻՆԻ ԱՌԱՋԱՅՐԱԾ
 ՔԻՐԱԼԱՅԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍՆԵՐԻ ՄԻՋՈՑՈՎ

Ամփոփում

Մշակվել է s-տրետ-բուտիլ-D-ցիստեինի ստերեոսելեկտիվ սինթեզի էֆեկտիվ մեթոդ: Այն հիմնված է Ni^{2+} իոնի հետ դեհիդրոալանինի և D-2-N-(N'-բենզիլպրոլիլ)-ամինաբենզոֆենոն քիրալային ինդուցող ռեագենտի Շիֆֆի հիմքի առաջացրած հարթ քառակուսային կոմպլեքսում դեհիդրոալանինի մնացորդի կրկնակի C=C կապին տրետ-բուտիլմերկապտանի ասիմետրիկ միացման ռեակցիայի վրա: Ռեակցիոն խառնուրդի թթվային քայքայումից հետո անջատվում է օպտիկապես ակտիվ s-տրետ-բուտիլ-D-ցիստեին ամինաթթուն բարձր օպտիկական մաքրությամբ: Նուկլեոֆիլային միացման ռեակցիայի ստերեոսելեկտիվությունը կազմում է 92 %.

A.V.GEOLCHANYAN, A.S.SAGHIYAN, S.M.VARDAPETYAN, A.A.AVETISYAN

STEREOSELECTIVE SYNTHESIS
 OF S-TRET-BUTYL-D-CYSTEINE VIA A CHIRAL
 Ni^{2+} COMPLEX OF DEHYDROALANINE

Summary

An efficient method of asymmetric stoichiometric synthesis of s-t-butyl-D-cysteine via addition of $t-(CH_3)CSH$ to the double $C=C$ bond of dehydroalanine in its chiral Ni^{2+} complex of Schiff's base with the chiral auxiliary D-2-N-(N'-benzylprolyl)aminobenzophenone was elaborated. The optical active amino acid s-t-butyl-D-cysteine with high optical purity (e.e. > 98%) was separated after decomposition of the reaction mixture by HCl.

The stereoselectivity of nucleophilic addition amounts 92%.