

УДК 547.772.2; 539.26; 547.466

ПОЛУЧЕНИЕ ФЕНИЛГИДРАЗИДОВ ПРИРОДНЫХ α -АМИНОКИСЛОТ

Л.А. Свиридова, Г.К. Вертелов

(кафедра органической химии)

Предложен препаративно удобный метод синтеза фенилгидразидов защищенных природных α -аминокислот; модифицирован и расширен ранее известный метод синтеза незащищенных природных α -аминокислот.

Арилгидразиды аминокислот проявляют широкий спектр биологической активности [1], а также являются предшественниками в синтезе различных гетероциклических соединений [2]. Фенилгидразиды аминокислот используют одновременно для защиты и активации карбоксильной группы аминокислот [3].

Существуют разные методы синтеза арилгидразидов, однако основными являются методы замещения алкоксигруппы в сложном эфире аминокислоты соответствующим гидразином [4], а также взаимодействия арилгидразина с «активированной» аминокислотой [5, 6]. Гидразиды таких малоосновных гидразинов, как *n*-нитро- или 2,4-динитрофенилгидразиды, получают (с очень низким выходом) нуклеофильным замещением галогена в галогеннитробензолах незамещенными гидразидами кислот при сильном нагревании [7]. Некоторые гидразиды α -аминокислот получают из соответствующих гидразидов α -бромкарбоновых кислот и аминов [8]. Описан также ферментативный синтез фенилгидразидов аминокислот при помощи фермента папаина [9–11].

Сравнительно недавно был разработан достаточно простой и удобный метод трансформации алифатических кислот в соответствующие гидроксамовые кислоты [12], с использованием смешанных ангидридов карбоновых кислот. Подобный метод используется в химии аминокислот и для синтеза пептидов [13]. Однако для синтеза фенилгидразидов незащищенных по атому азота аминокислот он не подходит, поэтому в этих условиях в реакцию было решено вводить защищенные аминокислоты. В работе были использованы метоксикарбонильная и *трет*-бутоксикарбонильная защиты. Такие производные в условиях реакции не могут полимеризоваться, а кроме того, они растворимы в этиловом эфире (схема 1).

Защищенная *N*-ациламинокислота взаимодействует с хлорметилформиатом в присутствии основания

N-метилморфолина (NMM). Получающийся смешанный ангидрид аминокислоты используется (без очистки) на стадии взаимодействия с фенилгидразином. Условия проведения реакции, предложенные в [12], в нашем случае оказались не вполне пригодными. На всех стадиях синтеза фенилгидразидов **1a-c**, **1e** и **2a-c** оптимальным было использование в качестве растворителя этилового эфира. В этом случае гидразид кислоты после получасового перемешивания выпадает в осадок. Соединения **1d**, **2d**, а также **3** удобнее получать в ТГФ, так как исходная защищенная кислота плохо растворяется в диэтиловом эфире (табл. 1).

Для получения незащищенных по аминокислоте гидразидов аминокислот была модифицирована методика, предложенная в [14], по которой гидрохлорид метилового эфира аминокислоты реагирует с пятикратным избытком фенилгидразина (схема 2).

Шестнадцатичасовое перемешивание реагентов в среде аргона при нагревании было заменено на семичасовое нагревание смеси в запаянной ампуле. При этом выходы в реакции практически не менялись, оставаясь достаточно высокими, зато значительно упрощалось проведение эксперимента. Оказалось, что использование именно метилового эфира аминокислоты, как указано в [14], не обязательно, поскольку этиловый и метиловый эфиры глицина реагировали с фенилгидразином с одинаковыми выходами. Для идентификации полученного хлоргидрата фенилгидразида его переводили в свободный амин действием рассчитанного количества щелочи. Температура плавления и спектральные характеристики полученных оснований гидразидов соответствуют литературным данным [14] (табл. 2).

Следует отметить, что выпавший при охлаждении реакционной смеси продукт реакции сильно загрязнен фенилгидразином, поэтому необходима немедленная тщательная очистка полученного хлоргидрата гидразида.

Т а б л и ц а 1

Фенилгидразиды N-карбометокси- и N-карбо-трет-бутоксаминнокислот

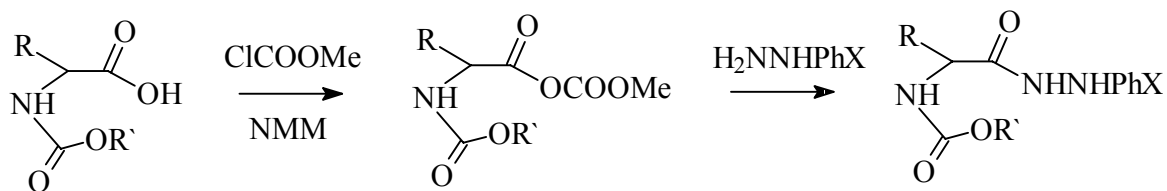
Аминокислота	Шифр	Брутто-формула	Выход, %	Растворитель для перекристаллизации	T _{пл} , °С	Найдено (вычислено)		
						С	Н	N
Глицин	1a	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₃	70	<i>i</i> -PrOH	116–117	53,8 (53,8)	5,8 (5,9)	18,7 (18,8)
D,L-Аланин	1b	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ O ₃	70	MeOH	131–132	56,0 (55,7)	6,5 (6,4)	18,0 (17,7)
D,L-Норвалин	1c	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₃	92	MeOH	168–169	59,5 (58,8)	7,1 (7,2)	16,0 (15,8)
L-Триптофан	1d	C ₁₉ H ₂₀ N ₄ O ₃	80	MeOH	198–199	64,9 (64,8)	5,6 (5,7)	16,0 (15,9)
D,L-Фенилаланин	1e	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₃	82	MeOH	186–187	65,4 (65,2)	5,9 (6,1)	13,3 (13,4)
Глицин	2a	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₃	70	MeOH	124–126	58,9 (58,8)	7,2 (7,2)	15,8 (15,7)
D,L-Аланин	2b	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O ₃	90	MeOH	144–145	59,9 (60,2)	7,7 (7,6)	14,9 (15,0)
D,L-Фенилаланин	2c	C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O ₃	61	MeOH	159–160	67,7 (67,6)	7,1 (7,1)	12,0 (11,8)
L-Триптофан	2d	C ₂₂ H ₂₆ N ₄ O ₃	90	MeOH	165–166	66,9 (67,0)	6,7 (6,6)	14,3 (14,2)
L-Аланин	3	C ₁₁ H ₁₄ N ₄ O ₅	50	<i>i</i> -PrOH	183–184	46,6 (46,8)	4,9 (5,0)	18,8 (19,8)

Экспериментальная часть

ИК-спектры измерены на приборах “UR-20” и “Specord IR-75” для пленок или для растворов в CH₂Cl₂. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C – на приборе

“Varian VXR-400” в ДМСО-d⁶ с ГМДС или ТМС в качестве внутреннего стандарта. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соедине-

Схема 1

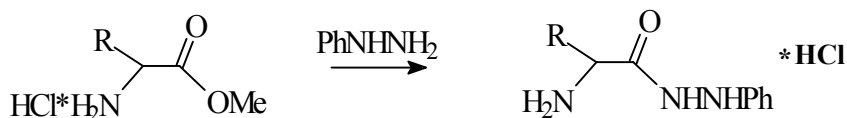


1a-e, 2a-c, 3

1 R = Me, X = H; 2 R = Bu, 3 R = Me, X = *p*-NO₂, R = Me

шифр	R	шифр	R
1a	H	2a	H
1b	Me	2b	Me
1c	Pr	2c	Bn
1d	IndCH ₂	2d	IndCH ₂
1e	Bn		

Схема 2



4a-d

шифр	R
4a	<i>i</i> -Bu
4b	Me
4c	Bn
4d	IndCH ₂

ний осуществляли методом ТСХ на пластинках *Silufol UV-254* в системе гексан–этилацетат (1:4) или хлороформ–метанол (15:1), проявление проводили парами йода. *N*-метоксикарбонильные производные аминокислот получали по упрощенному варианту метода Шоттен–Баумана [13]. *N*-трет-бутоксикарбонильные производные аминокислот и метиловые эфиры аминокислот получены по [16] и [17] соответственно.

Синтез фенилгидразидов *N*-метокси- и *N*-трет-бутоксикарбониламино кислот

Метод А. К раствору *N*-аминанокислоты (0,02 моль) в диэтиловом эфире (40 мл) при 0°C прибавляли метилхлорформиат (0,022 моль) и медленно по каплям *N*-метилморфолин (0,024 моль), при этом происходило быстрое выделение осадка. Смесь перемешивали еще 15–20 мин. Осадок быстро отфильтровывали, а маточный раствор медленно

Т а б л и ц а 2

Хлоргидраты фенилгидразидов аминокислот

Аминокислоты	Шифр	Выход, %	Растворитель для перекристаллизации	$T_{пл}$, °С	$T_{пл}$, °С [лит.]
L-Лейцин	4a	92	<i>i</i> -PrOH	147–148 ^a	148 [15]
L-Аланин	4b	98	<i>i</i> -PrOH	115–116 ^a	116 [14]
L-Фенилаланин	4c	92	<i>i</i> -PrOH	146–147 ^a	147 [15]
L-Триптофан	4d	95	MeOH	198–200(разл)	200(разл) [14]

*Приведена температура плавления оснований фенилгидразидов.

вливали в раствор фенилгидразина в этиловом эфире, охлаждаемый льдом. Осадок фенилгидразида аминокислоты выпадал либо сразу, либо после долгого перемешивания. В любом случае смесь перемешивали в течение 30–45 мин. Если фенилгидразид отделяли в виде масла, то добавляли небольшое количество хлороформа и перемешивали до кристаллизации масла. Осадок отфильтровывали и сразу перекристаллизовывали из метанола (методика использования другого растворителя указана ниже).

Метод Б. Аналогичен методу А, но исходную *N*-ациламино кислоту растворяли в ТГФ (40 мл).

Фенилгидразид *N*-метоксикарбонилглицина 1a.

Выход 70% (метод А), выход 83% (метод Б). $T_{пл} = 116,5–117 \equiv C$ (из *i*-PrOH). ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3315, 3245, 1695, 1660, 1600; 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 3,7 (с., 3H, OMe), 4,0 (с., 2H, CH_2), 9,4; 9,6 (2с., 2H, NH)

Фенилгидразид *N*-трет-бутоксикарбонилглицина 2a. Выход 70% (метод А). $T_{пл} = 124–126^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3360, 3285, 1665, 1710, 1600. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 1,4 (с., 9H, OBU¹); 4,0 (с., 2H, CH_2), 7,7; 8,6 (2с., 2H, NH)

Фенилгидразид (D,L) *N*-метоксикарбонилаланина 1b. Выход 70% (метод А). $T_{пл} = 131–132,5^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3335, 3265, 1670, 1702, 1600. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 3,5 (с., 3H, OMe); 4,0 (м., 1H, CH); 1,2 (д., 3H, Me), 7,6; 9,7 (2с., 2H, NH)

Фенилгидразид (D,L) *N*-трет-бутоксикарбонилаланина 2b. Выход 90% (метод А). $T_{пл} = 144–145^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3400, 3300, 1685, 1600. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 1,2 (д., 3H,

Me); 1,4 (с., 9H, OBU¹); 4,0 (м., 1H, CH), 7,6; 9,6 (2с., 2H, NH).

Фенилгидразид (D,L) *N*-метоксикарбонилнорвалина 1c. Выход 92% (метод А). $T_{пл} = 168–169^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3305, 3250, 1700, 1665, 1600. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 3,5 (с., 3H, OMe); 4,0 (м., 1H, CH), 1,5; 1,2; 0,81 (м., м., т., 7H, Pr), 9,7; 7,6 (2с., 2H, NH).

Фенилгидразид (D,L) *N*-метоксикарбонилфенилаланина 1e. Выход 82% (метод А). $T_{пл} = 186–187^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3320, 3285, 1710, 1670, 1600. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 3,5 (с., 3H, OMe); 4,3 (м., 1H, CH); 3,0; 3,1 (д.м., 2H, CH_2), 9,9; 7,7 (2с., 2H, NH).

Фенилгидразид (D,L) *N*-трет-бутоксикарбонилфенилаланина 2c. Выход 61% (метод А). $T_{пл} = 159–160^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3310, 3290, 1690, 1675, 1610. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 1,3 (с., 9H, OBU¹), 2,9; 2,8 (2м., 2H, CH_2); 4,2 (м., H, CH) 7,2; 9,7 (2с., 2H, NH).

Фенилгидразид (L) *N*-метоксикарбонилтриптофана 1d. Выход 80% (метод Б). $T_{пл} = 198–199^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3310, 3280, 1700, 1670, 1600. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 3,5 (с., 3H, OMe); 4,4 (м., 1H, CH), 3,0; 3,1 (д.м., 2H, CH_2), 9,9; 7,7 (2с., 2H, NH), 10,9 (NH-Ind).

Фенилгидразид (L) *N*-трет-бутоксикарбонилтриптофана 2d. Выход 90% (метод Б). $T_{пл} = 167–168^\circ C$. ИК (ваз. масло, cm^{-1}): 3340, 3315, 3250, 1690, 1670, 1600. 1H ЯМР, д, ДМСО- d^6 : 1,3 (с., 9H, OBU¹), 2,9; 3,0 (2м., 2H, CH_2); 4,3 (м., H, CH), 7,5; 9,6 (2с., 2H, NH); 10,7 (с., 1H, NH – Ind).

***n*-Нитрофенилгидразид (L) *N*-метоксикарбонилаланина 3.** Выход 50% (метод Б). $T_{пл} = 183–$

184°C (из *i*-PrOH). ИК (ваз. масло, см⁻¹): 3335, 3285, 1700, 1655, 1600. ¹H ЯМР, д, ДМСО-d⁶: 3,5 (с., 3H, OMe); 4,0 (м., 1H, CH); 1,2 (3H, Me); 8,9; 10,0; 3,2 (3с., 3H, NH).

Общий метод синтеза хлоргидратов фенилгидразидов аминокислот 4a-d. Запаивали в ампуле 0,02 моль хлоргидрата метилового (этилового) эфира аминокислоты и 0,07 моль свежеперегнанного фенилгидразина, выдерживали при 60°C в течение 6–7 ч. Ампулу охлаждали, вскрывали и перемещали содержимое в стакан с 30 мл диэтилового эфира.

Смесь перемешивали и отфильтровывали осадок. Промывали эфиром. Перекристаллизовывали из соответствующего растворителя (табл. 2).

Получение фенилгидразидов аминокислот 4a-d: К 0,015 моль хлоргидрата фенилгидраза аминокислоты добавляли 50 мл MeOH и при перемешивании всыпали в полученный раствор 0,017 моль NaOH. Перемешивали в течение 20 мин. Сушили над Na₂SO₄. Растворитель упаривали досуха, остаток перекристаллизовывали из того же растворителя, что и хлоргидрат соответствующего фенилгидраза (табл. 2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Miersch J., Grancharov K., Rajpanova T., Tabakova S., Stoev S., Krauss G.-J., Golovinsky E. // *Amino Acids*. 2000. **18**. P. 41.
2. Atherton F.R., Lambert R.W. // *Tetrahedron*. 1983. **39**. P. 2599.
3. Семенов А.Н., Ломоносова И.В., Березин В.И., Тутов М.И. // *Биоорганическая химия*. 1991. **17**. С. 1074.
4. *Общая органическая химия* / Под ред. Д. Бартона, У.Д. Уиллиса. М., 1982. С. 509.
5. Zhao H., Burke T.R. // *Tetrahedron*. 1997. **53(12)**, P. 4219.
6. El-Faham A., El-Massry A.M., Amer A., Gohar Y.M. // *Letters in Peptide Science*. 2002. **9**. P. 49.
7. Хворова Н.М., Пушкарёва З.В., Радина Л.Б. // *ЖОрХ*. 1964. **34**. С. 1409.
8. Габриэлян И.В. // *Хим.-фарм. журн.* 1995. **29**. С. 12.
9. Milne H.B., Halver Y.E., Ho D.S., Mason M.S. // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. **79**. P. 637.
10. Bergmann M., Fraenkel-Conrat H. // *J. Biol. Chem.* 1937. **119**. P. 707.
11. Mylne H.B., Kilday W. // *J. Org. Chem.* 1965. **30**. P. 64.
12. Reddy A.S., Kumar M.S., Reddy G.R. // *Tetrahedron. Lett.* 2000. **41**. P. 6285.
13. Гринштейн Дж., Виниц М. / *Химия аминокислот и пептидов*. М., 1965. С. 475.
14. Verardo G., Toniutti N., Gorassini A., Giumanini A.G. // *Eur. J. Org. Chem.* 1999. P. 2943.
15. Milne H.B., Most C.F. // *J. Org. Chem.* 1968. **33**. P. 169.
16. Keller O., Keller W.E., Vanlook G., Weisen G. // *Org. Synthesis*. 1984. **63**. P. 160.
17. Тутце Л., Айхер Т. // *Препаративная органическая химия*. М., 1999. С. 156.

Поступило в редакцию 20.11.03

SYNTHESIS OF NATURAL α -AMINO ACIDS PHENYLHYDRAZIDES

L.A. Sviridova, G.K. Vertelov

(Division of Organic Chemistry)

A new method for the synthesis of natural α -amino acids phenylhydrazides has been developed. Several phenylhydrazides of protected amino acids have been prepared by this method. Early known method for preparation of unprotected α -amino acids phenylhydrazides has been modified and extended.