

ХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОТРЕБЛЕНИЯ ТАБАКА. ЧАСТЬ 22. СИЛИЛИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ ТАБАКА

Ранее при обсуждении возможных подходов к синтезу N-никотиноил-α-аминокислот на основе табачного сырья, нами была рассмотрена реакция хлорангирида никотиновой кислоты с N,O-бис(триметилсилильными) производными аминокислот¹.



А.Б. Урюпин, к.х.н.
О.А. Китаева, студент 4 курса
А.А. Ходак, к.х.н.

Министерство высшего образования и науки, ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, РХТУ им. Д.И. Менделеева

Получение чистого хлорангирида никотиновой кислоты требует тщательного подбора условий эксперимента².

Не менее важен выбор метода силилирования аминокислот, в особенности содержащих функциональные группы в боковой цепи. ВЭЖХ-анализ смеси аминокислот, образующейся при ферментативном гидролизе белков табачного растения (на **Рис. 1** приведено относитель-

Hydrolysis time	14 h
Amino acid (µg/200 mL)	
Aspartic acid	305.4
Glutamic acid	479.0
Asparagine	225.6
Serine	230.6
Histidine	349.3
Theonine	ND
Glycine	165.6
Arginine	548.6
Alanine	347.1
Tyrosine	547.1
Lysine	316.9
Valine	664.7
Tryptophan	296.8
Phenylalanine	285.8
Isoleucine	381.0
Leucine	533.6
Total weight of amino acids (mg/200 mL)	5676.8

Рис. 1.

ное содержание свободных аминокислот в гидролизате табачного белка) показал наличие аминокислот разного типа³, что приводит к необходимости использовать различные силилирующие реагенты. Их применение основано на представлениях о механизме замещения подвижного атома водорода у атомов азота и кислорода на силильную группу. Не останавливаясь на экспериментальных данных в пользу того или иного механизма, следует учитывать вероятность обратимости реакции (**Рис. 2**), как это, например, имеет место в случае силилирования таких производных аминокислот, как лактамы^{4а}.

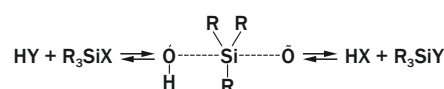


Рис. 2.

Более 40 лет назад (1976 г.) был опубликован отечественный обзор, посвященный методам силилирования органических соединений, включая аминокислоты^{4б}, поэтому авторы, за некоторым исключением, старались использовать более поздние данные.

Для силилирования аминокислот в течение более полувека используют реагенты, различающиеся по своей реакционной способности: триме-

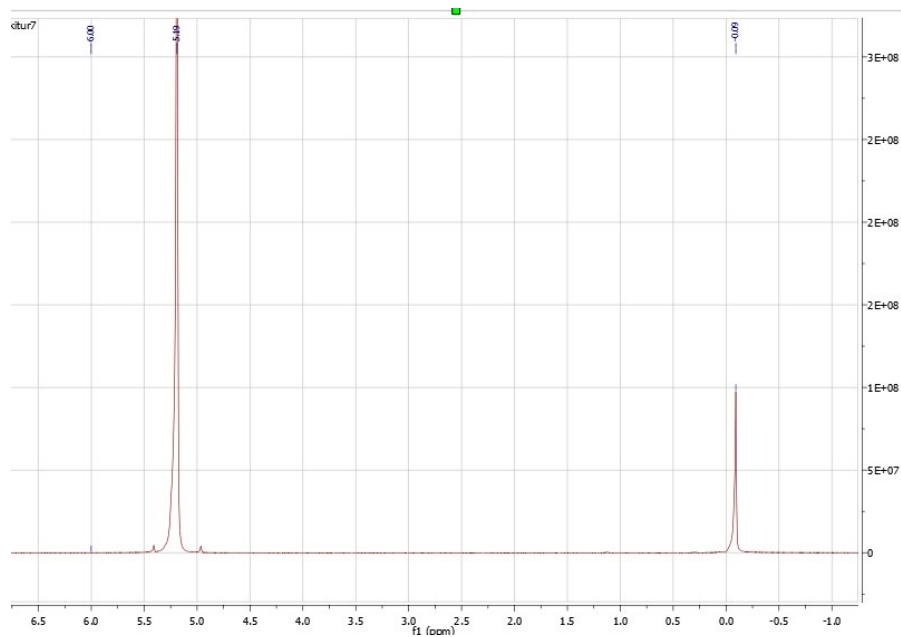
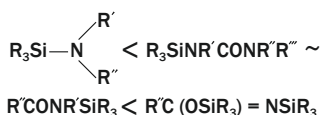


Рис. 3.

тилхлорсилан (ТМХС), силиламы (например, гексаметилдисилазан, диэтил-триметилсилиламин⁵), силиламиды (N-метил-N-триметилсилилтрифторацетамид, N,N-бис(триметилсилил)ацетамид⁶, N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид и т.п.). На **Рис. 3** приведен ЯМР¹H спектр гексаметилдисилазана в хлористом метиле (CH₂Cl₂/CDCl₃), на **Рис. 4** – ЯМР¹H спектр N,O-бис(триметилсилил)-трифторацетамида в ДМСО-d₆ (CD₃S(O)CD₃). Отметим, что силилирующая способность реагентов увеличивается в ряду, включающем и силилированные мочевины:



Поэтому в спектре на **Рис. 4** сигнал, соответствующий O-триметилсилильной группе (δ 0,05 м.д.), меньше сигнала N-триметилсилильной группы (δ 0,01 м.д.) за счет процесса частичного гидролиза реагента остаточной водой, содержащейся в гигроскопичном ДМСО-d₆ (на **Рис. 5** – сигналы остаточных протонов недеитерированного ДМСО и воды при δ 3.46 и 2.51 м.д. соответственно). Таких растворителей в процессах силилирования следу-

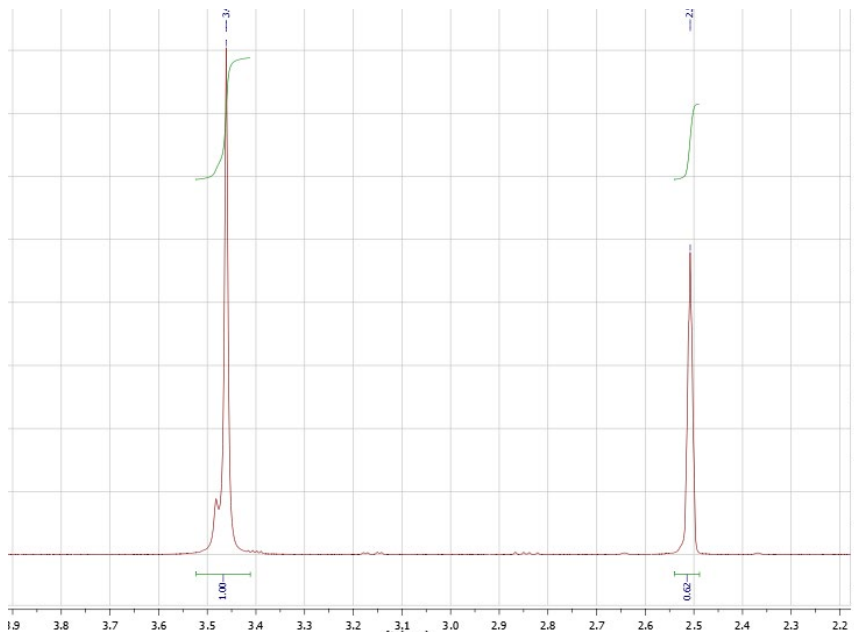


Рис. 5.

ет избегать, поскольку добиться их полного обезвоживания представляется затруднительным.

При проведении анализа смесей аминокислот до появления современных ионных хроматографов использовался метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ), при котором аминокислоты превращали в летучие соединения путем силилирования. Поскольку силиламы являлись менее эффективными донорами триметилсилильной группы,

чем силилированные мочевины и амиды, то в большинстве аналитических работ именно N,O-бис-(триметилсилил)-амиды и получили применение, несмотря на их относительную дороговизну. Кроме того, так как фторированные производные проявляют большую летучесть в сравнении со своими нефторированными аналогами, наибольшую популярность в аналитических работах до сих пор имеют N-триметилсилил-N-метилтрифторацетамид, а также N,O-бис-

(триметилсилил)трифторацетамид. Силилирование аминокислот силиламами можно существенно ускорить, проводя его путем микроволнового облучения реакционной смеси в равном объеме ацетонитрила (MeCN)⁷. Но наша попытка силилировать L-β-фенил-α-аланин N,O-бис-(триметилсилил)трифторацетамидом простым нагревом в ДМСО-d₆ не увенчалась успехом, повидимому ввиду низкой растворимости аминокислоты в диметилсульфоксиде.

Известен пример силилирования полифункциональ-

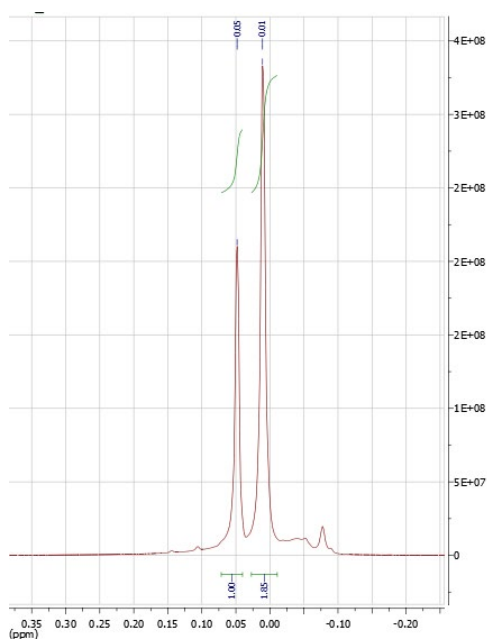


Рис. 4.



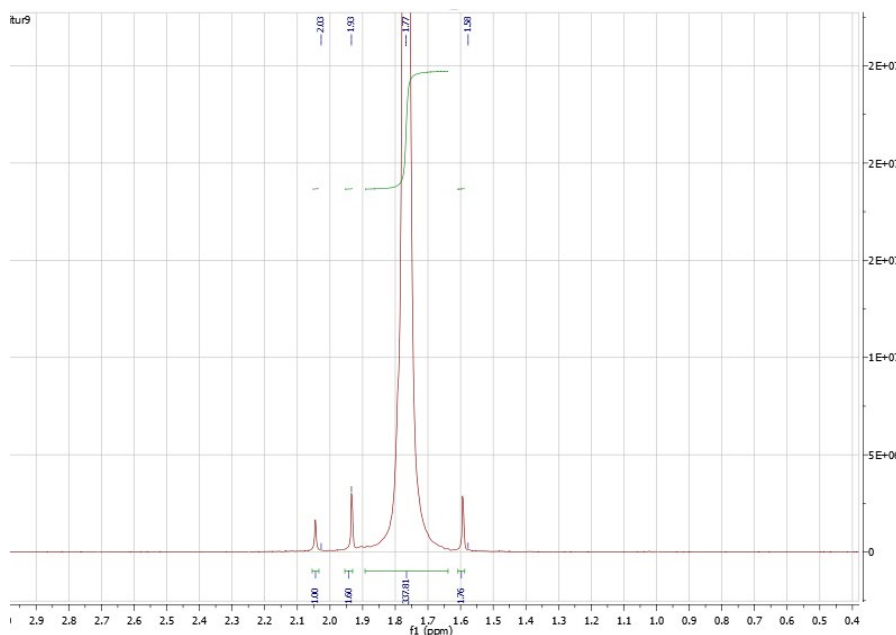


Рис. 8а.

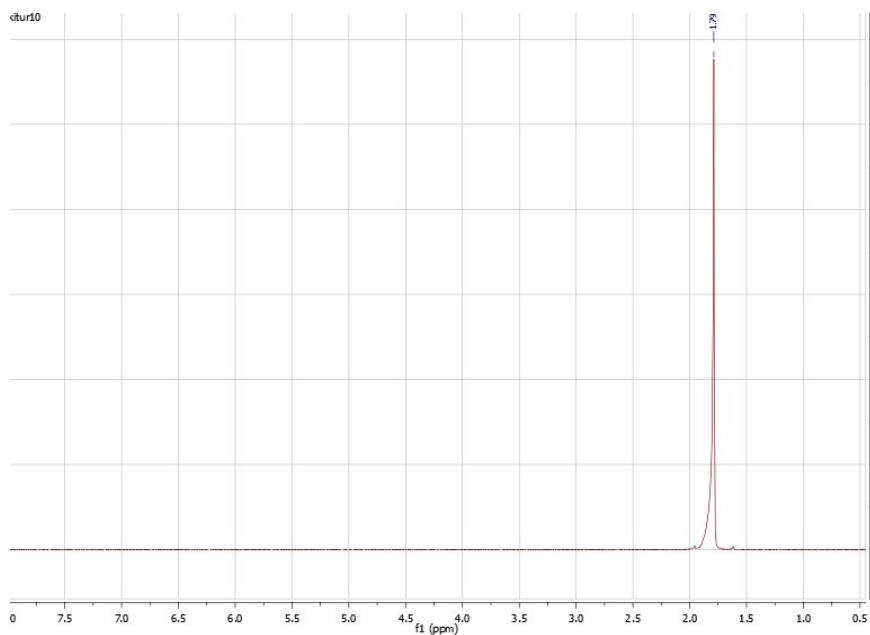
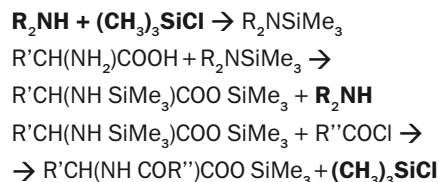


Рис. 8б.



Последнюю реакцию проводят в высушенных растворителях, например, в CH_3CN . На Рис. 8а представлен 1H ЯМР-спектр ацетонитрила (ЧДА) после перегонки над пятиокисью фосфора, содержащего не более 0,7% воды; эту воду можно удалить только выдерживанием растворителя над свежепрокаленными молекулярными ситами (5А) (Рис. 8б).

Среди силиламинов одним из первых для удобного препаративного силилирования аминокислот или даже их гидрохлоридов применялся N-триметилсилил-диэтиламин^{5,8} $(CH_3)_3SiN(CH_2CH_3)_2$ (I), который в настоящее время является коммерческим реагентом. При защите от влаги воздуха он достаточно устойчив: на Рис. 6а приведен ЯМР 1H -спектр технического образца (I), хранившегося более 30(!) лет в запаянной стеклянной ампуле. Как видно, летучие примеси исходного сырья (предположительно диэтиламин и гексаметилдисилоксан) составляют не более 5-10 мольных %. Выдерживание (I) в вакууме водоструйного насоса вследствие близости температур кипения компонент смеси позволяет лишь частично снизить содер-

ных аминокислот (в т. ч. треонина и триптофана) бис(триметилсилил)ацетамидом в ацетонитриле при кипячении (хотя в таблице приведена температура 30°C)⁶.

Однако, с точки зрения требований технологий с замкнутым циклом производства, при использовании N,O-бис-силилированных аминокислот в качестве промежуточных продуктов в фармацевтической промышленности более привлекательными кажутся методы на основе силиламинов или сочетании ТМХС с аминами.

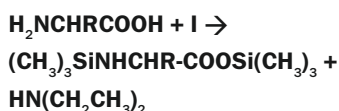
Tab.1. Trimethylsilylderivate von Aminosäuren

Trimethylsilylderivate von	Ausb. % d. Th.	Sdp. °C/Torr	n_D^{20}	d_4^{20}
Glycin ^{*) **)}	88	85/15	1.4216	0.8975
Sarkosin	87	93/25	1.4228	0.8915
Alanin ^{*) **)}	91	76/15	1.4174	0.8831
β-Alanin	92	42/0.1	1.4238	0.8920
Valin ^{*)}	97	98/15	1.4229	0.8775
Norvalin	96	58/0.6	1.4230	0.8773
Leucin ^{***)}	92	63/0.8	1.4244	0.8729
Isoleucin ^{*)}	93	108/15	1.4268	0.8806
Phenylalanin ^{*)}	96	110/1.1	1.4853	0.9930
Tyrosin	82 ^{†)}	103/10 ⁻⁴	1.4680	0.9560
Serin	97	73/0.4	1.4229	0.9002
Cystein	90	78/0.1	1.4559	0.9334
Asparaginsäure	93	74/0.1	1.4307	0.9481
Glutaminsäure ^{†)}	93	115/1.1	1.4390	0.9539
Lysin	91	92/5 · 10 ⁻⁴	1.4385	0.8894
Histidin	93	115/10 ⁻³	1.4644	0.9655 ^{††)}
Prolin	87	56/0.1	1.4395	0.9261
Hydroxyprolin	93	75/10 ⁻³	1.4370	0.9281

Рис. 7.

жение в (I) примеси гексаметилдисилоксана (Рис. 6б). Для окончательной очистки требуется осторожная фракционная перегонка при атмосферном давлении. При простом нагревании смеси избытка (I) и аминокислоты (или ее гидрохлорида) с высоким выходом образуются соответствующие N,O-бис-силилированные производные аминокислот (Рис. 7), включая тех из них, которые позже обнаружались в гидролизате та-

бачного белка (Рис. 1)³. К числу их относятся, например, L-β-фенил-α-аланин, тирозин, аспарагиновая кислота.



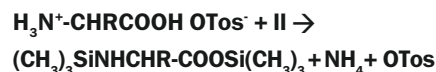
Тот же метод силилирования использовался при синтезе N-фосфорилированных аминокислот, причем в ряде слу-



чаев удалось выделить триметилсилиловые эфиры N-фосфорилированных аминокислот^{13,14}:



Не менее важное место занимает гексаметилдисилазан (II), также коммерчески доступный. При его использовании промежуточные N,O-бис-силилированные производные аминокислот вводят в последующие реакции как без дополнительной очистки, так и выделяя в чистом виде. Например, так поступают при получении N,O-бис(триметилсилил)-глицина, β-аланина и ряда др. аминокислот обработкой (II) их тозилных солей^{9,10}.



Однако, согласно нашему опыту, существуют трудности очистки исходных тозилных солей аминокислот.

В качестве альтернативного силилирующего агента в работе¹⁰ использован также один из силиламидов – малодоступный 2-оксо-3-(триметилсилил)-тетрагидро-1,3-оксазол, применявшийся ранее для силилирования карбоновых кислот¹¹.

Реагент II также успешно использовался для N-силилирования гидрохлоридов эфиров α-аминокислот, полученных предварительно действием на свободные α-аминокислоты смесью дешевого триметилхлорсилана (III) и соответствующего спирта¹².

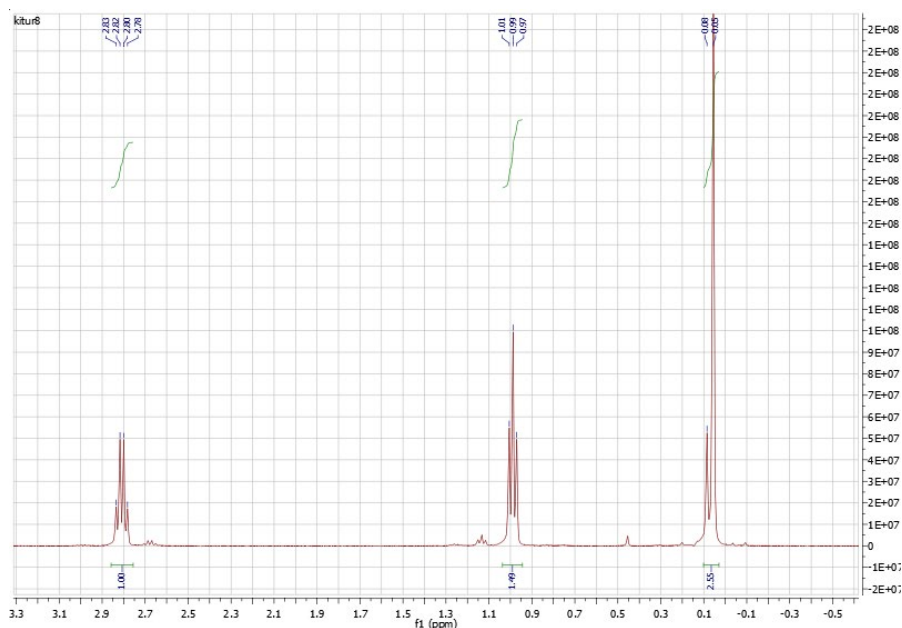


Рис. 6а.

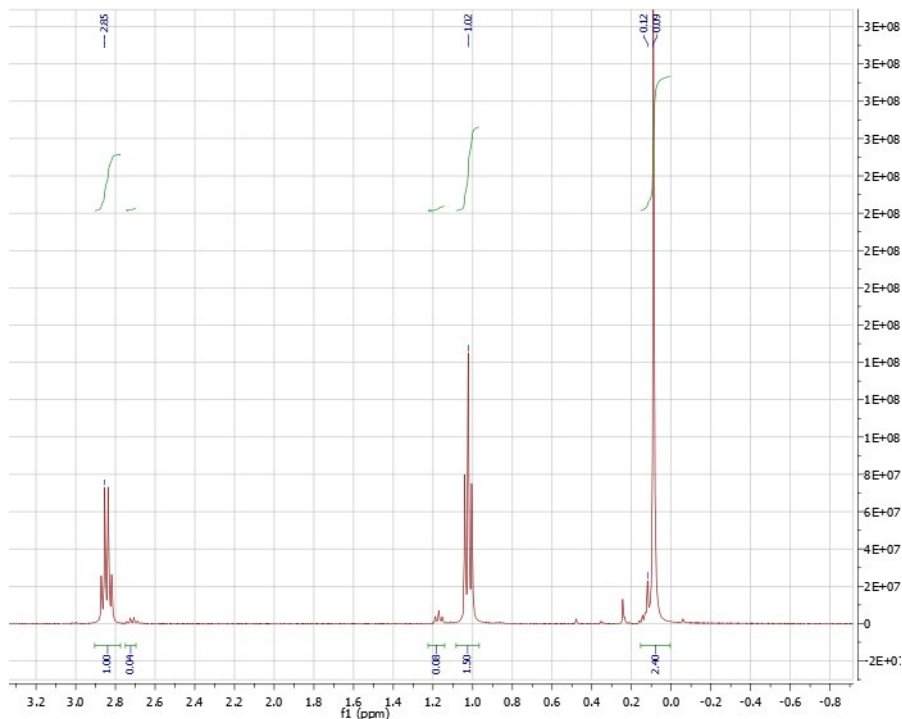
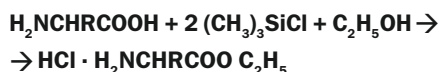
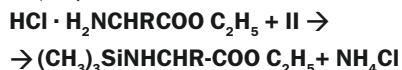


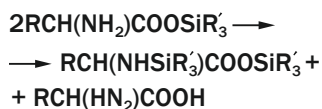
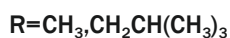
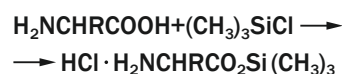
Рис. 6б.



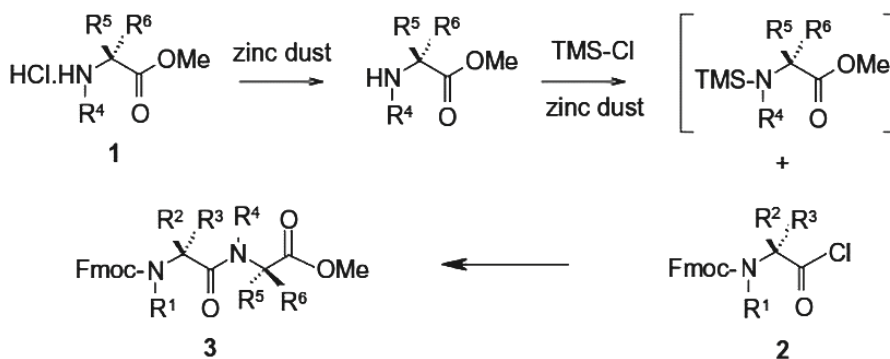
E13N, сахарин



Обращает на себя внимание применение сахараина, который ранее анонсировался, как один из возможных катализаторов силилирования¹⁵. Что же касается действия **III** на свободные аминокислоты, то уже непродолжительный нагрев их смеси приводит к гидрохлоридам силиловых эфиров аминокислот, которые могут подвергаться дальнейшему диспропорционированию:



N-Силилирование готового гидрохлорида метилового эфира α -фенилаланина оказалось возможным путем последовательной его обработки в хлороформе порошком металлического цинка (пылью) и **III**. Правда, охарактеризовано было не это промежуточное соединение, а продукт его реакции с ацилирующим агентом (**Рис. 9**)¹⁶.

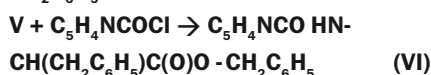
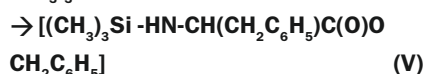
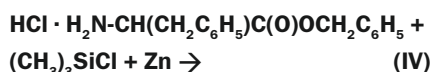


Entry	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
a	H	H	H	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H
b	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H
c	H	C ₆ H ₅	H	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H
d	H	C ₆ H ₅	H	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H
e	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	H	CH ₃	H	H
f	H	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃
g	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃
h	H	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃
i	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃
j	H	R ² -R ³ = (CH ₂) ₅		H	R ⁵ -R ⁶ = (CH ₂) ₅	

entry : c, L-isomer ; entry : d, D-isomer

Рис. 9.

При попытке синтеза бензилового эфира N-никотиноил-L-β-фенил-α-аланина авторами была апробирована эта методика^{1,2}.



Экспериментальная часть. К суспензии 281 мг (0,964 мМ) **(IV)** в 7 мл хлороформа добавляли 0,30 мл **(III)** и перемешивали 10 мин. при комнатной температуре, затем добавляли 352 мг цинковой пыли и перемешивали 30 мин.. Осадок отфильтровали, к полученному раствору **(V)** добавляли 1,3 мМ никотиноилхлорида (на **Рис. 10** представлен фрагмент его ¹H ЯМР-спектра), перемешивали 4 часа при комнатной

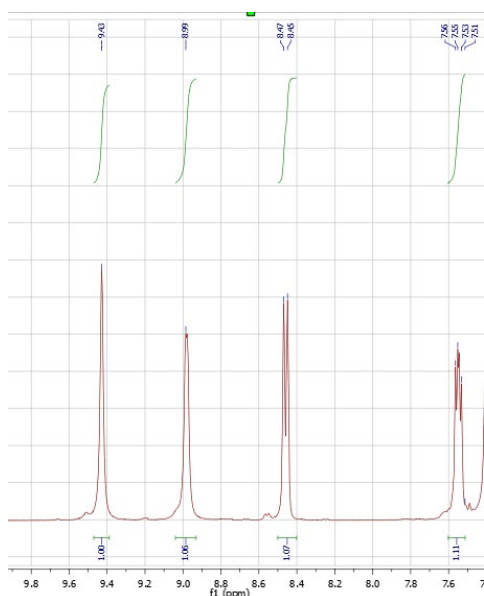


Рис. 10.

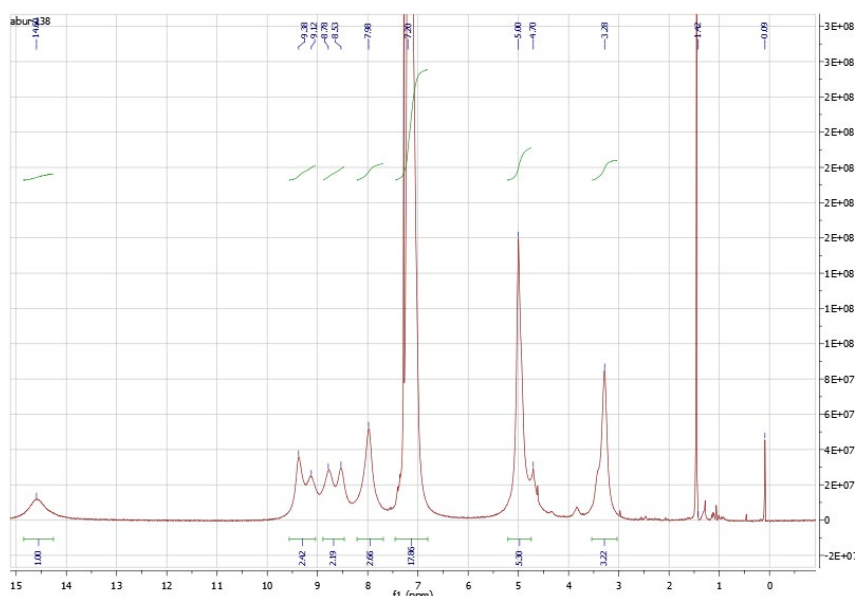


Рис. 11.

температуре и оставили на ночь. Реакционную смесь промыли дважды холодной водой, органический слой отделили, водный слой экстрагировали дважды хлороформом. Объединенный органический экстракт сушили обезвоженным сульфатом натрия, упаривали в вакууме и получали 193 мг (57,5%) неочищенного (VI) – светло-коричневое масло.


Рис. 11 соответствует ^1H ЯМР-спектру полученного продукта, который подтверждает, что силилирование (IV) прошло успешно (уширенные сигналы при 3,28 и 5,00 м.д. относятся к метиленовым протонам, причем на последний налага-

ется сигнал метинового протона, а сигнал при 1,42 м.д. относится к остаткам воды в образце).

Говоря о перспективах развития методов силилирования аминокислот, нельзя не упомянуть такой возможный источник силильной группы, как гексаметилдисулоксан¹⁷, а также силикагель^{18,19}, основные и кислотные центры на поверхности которого (по данным ИК-спектроскопии) координируют карбоксильные и аминогруппы аминокислот (в том числе фенилаланина).

Отдельную группу кремнийсодержащих аминокислот составляют их про-

изводные со связью кремний-углерод (см. например работу²⁰ и приводимую в ней литературу), также позиционируемые, как «силилированные (silylated) аминокислоты», но обсуждение методов их синтеза выходит за рамки настоящей работы.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации с использованием научного оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН. Авторы выражают признательность Т.В. Стрелковой за регистрацию спектров ЯМР. 

Литература:

1. A.B. Uryupin, K.A. Kochetkov "N-Nicotinoyl-aminoacids – convenient approach to synthesis" // Tobacco Review International (2019), V. 9, P. 46-49
2. А.А. Ходак, А.Б. Урюпин, К.А. Кочетков // Тобacco-Ревю (2020) (готовится к публикации).
3. M.A. Khorasani, W.M. Coleman III, M.F. Dube, L.T. Taylor "Isolation of free amino acids via enzymatic hydrolysis of tobacco derived F-1 protein" // Beitrage zur Tabakforschung International (2018), V. 28, N 4, P. 179-190.
4. а) А.Б. Урюпин, И.А. Рахов, Т.А. Машуркова «Реакции галогенангидридов кислот фосфора с N-силилированными органическими соединениями» // Успехи химии, 67, 827-838 (1998); б) М.В. Кашутина, С.Л. Иоффе, В.А. Тартаковский «Силилирование органических соединений» // Успехи химии (1976), Т. 44, вып. 9, С. 1620-1648.
5. S.V. Rogozhin, Yu.A. Davidovich, A.I. Yurtanov «Transformation of amino acid hydrohalides into free amino acids via silylation» // Synthesis (1975), P. 113-114.
6. J.F. Klebe, H. Finkbeiner, D.M. White "Silylations with bis(trimethylsilyl)acetamide, a highly reactive silyl donor" // JACS (1965) V. 88, iss 14, P. 3390-3395.
7. C. Deng, X. Yin, L. Zhang, X. Zhang // "Development of microwave-assisted derivatization followed by gas chromatography-mass spectrometry for fast determination of amino-acids in neonatal blood samples" // Rapid Communications in Mass-spectrometry (2005), V. 19, P. 2227-2234.
8. K. Ruehlmann "Ueber die Si-N-Bildung. VI. Silylierung von Aminosaeuren" // Chem. Ber. (1961), B. 94, S. 1876-1878.
9. A.O. Martirosyan, S.P. Gasparyan, M.V. Aleksanyan, V.E. Oganessian, V.V. Martirosyan, A.A. Chachoyan, B.T. Garibdzanyan "Synthesis and antitumor properties of amino acids acylated with 2-methyl-3-oxo-1-phenyl-1-cyclopentane carboxylic acid" // Pharmaceutical Chemistry Journal (2010) V. 44, No 3, P. 115-116.
10. A. Arreta, C. Palomo "Reagents and synthetic methods; Synthesis of N-(N-Aryl- or N-Alkylaminocarbonyl)-amino acids by addition of N,O-bis(trimethylsilyl)aminoacids to isocyanates" // Synthesis (1982) P. 1050-1052.
11. C. Palomo "A convenient synthesis of trimethylsilyl carboxylates using N-trimethylsilyl-2-oxazolidinone in the absence of catalysts" // Synthesis (1981) P. 809-811.
12. A.V. Lebedev, A.B. Lebedeva, V.D. Sheludeakov, V.V. Shatunov, S.N. Ovcharuk "Organosilicon synthesis of isocyanates. IV. Synthesis of isocyanates from aliphatic and alkylaromatic amino acid esters" // Russian Journal of General Chemistry (2007) V. 77, N 4, P. 581-585.
13. A.B. Uryupin, V.Yu. Komissarov, P.V. Petrovskii, Yu.A. Davidovich, T.A. Mashurkova, M.I. Kabachnik "Synthesis of N-phosphorylated aminoacids" // Phosphorus, Sulfur and Silicon (1995), V. 103, P. 215-224.
14. А.Б. Урюпин, В.Ю. Комиссаров, П.В. Петровский Ю.А. Давидович, Т.А. Машуркова, М.И. Кабачник «Новый метод синтеза N-фосфорилированных аминокислот» // Известия Академии наук. Серия химическая (1992) № 7, С. 1694-1695.
15. S.A. Bruynes, T.K. Jurriens "Catalyst for silylations with hexamethyldisilazane" // J.Org.Chem. (1982), V. 47, N 20, P. 3966.
16. V.Vommina, V. Suresh Babu, G.-R. Vasanthakumar and Subramanyam J. Tantry "N-Silylation of amines and amino acid esters under neutral conditions employing TMS-Cl in the presence of zinc dust" // Tetrahedron Letters (2005) V. 46, P. 4099-4102.
17. H. Matsumoto, I. Hoshino, J. Nakabayashi, T. Nakano, Y. Nagai "A facile silylation of carboxylic acids with hexamethyldisiloxane" // Chemistry Letters (1980), P. 1475-1478.
18. И.А. Ворсина, Т.Ф. Григорьева, А.П. Баринаева, Н.З. Ляхов «Механохимическое взаимодействие диоксида кремния с органическими кислотами» // Химия в интересах устойчивого развития (2011) Т. 19, С. 485-494.
19. Ranu Brindaban, Kalcharan C. Chattopadhyay "Green procedures for the synthesis of useful molecules avoiding hazardous solvents and toxic catalysts" // RSC Green Chemistry Series (2009) V. 3. Issue Eco-Friendly Synthesis of Fine Chemicals. P. 186-219.
20. B. Rugen, H. Audi, P. Jewula, et al. "Designing silylated L-amino acids using a Wittig strategy: synthesis of peptide derivatives and 18F-labelling" // European Journal of Organic Chemistry (2017) iss. 36, P. 5399-5409.