

## 手性镍络合物介导的 2,6-二甲基-L-酪氨酸的合成

郁蕾蕾, 陈佳佳, 刘金春, 李晓闻, 常磊, 厉廷有\*

(南京医科大学药学院化学系, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:采用经济、可靠的方法合成 2,6-二甲基-L-酪氨酸。方法:通过 *O*-乙氧甲酰基-3,5-二甲基-4-氯甲基苯酚和 (*S*)-2-[*N*-(苄基脯氨酰基)-氨基]-二苯甲酮-Ni-甘氨酸[(*S*)-BPB-Ni-Gly, 手性 Ni 络合物]络合物缩合的方法立体选择性地合成 2,6-二甲基-L-酪氨酸。结果:由 3,5-二甲基苯酚出发经 4 步反应得到 2,6-二甲基-L-酪氨酸,总收率 34.3%。结论:该法具有原料廉价易得、反应条件温和、可重复的特点。

**[关键词]** 氨基酸合成; BPB-Ni-Gly 西弗碱; 2,6-二甲基-L-酪氨酸; 阿片

**[中图分类号]** R914.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2012)03-420-04

## Chiral Ni complex mediated stereoselective synthesis of 2,6-dimethyl-L-tyrosine

YU Lei-lei, CHEN Jia-jia, LIU Jin-chun, LI Xiao-wen, CHANG Lei, LI Ting-you\*

(Department of Chemistry, School of Pharmacy, NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore an economical and effective method to synthesize 2,6-dimethyl-L-tyrosine. **Methods:** 2,6-dimethyl-L-tyrosine was stereoselectively synthesized by coupling of *O*-carbethoxy-3,5-dimethyl-4-chloromethyl phenol with (*S*)-2-[*N*-(*N'*-benzylpropyl)-amino] benzophenone-Ni-glycine [(*S*)-BPB-Ni-Gly] Schiff base. **Results:** The target compound was successfully synthesized starting from 3,5-dimethylphenol by 4 steps with a total yield of 34.3%. **Conclusion:** This method has the characteristics of cheap starting material, practicable, and reproducible.

**[Key words]** amino acid synthesis; BPB-Ni-Gly Schiff base; 2,6-dimethyl-L-tyrosine; opioid

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(3): 420-423]

随着生命科学的发展,人们发现越来越多肽性质的激素、毒素、酶抑制剂、抗菌剂等。在这些生物活性肽的构效关系研究中,非天然氨基酸发挥重要作用。非天然氨基酸的引入可以探测生物活性肽的拓扑构象、提高肽的酶解稳定性和生物学活性。

虽然内源性阿片肽的种类多种多样,但内源性阿片肽的首位都是酪氨酸<sup>[1]</sup>。2,6-二甲基-L-酪氨酸(2,6-dimethyl-L-tyrosine, Dmt)是酪氨酸的优良替代物,用 Dmt 取代阿片配体中的酪氨酸可大大提高母体化合物的受体亲和性和体内外生物活性,或诱发新的生物学活性<sup>[1-3]</sup>。Dmt 不仅在阿片受体激动剂开发中发挥重要作用<sup>[4-6]</sup>,它还在阿片受体拮抗剂的开

发中发挥重要作用<sup>[7-9]</sup>。本文旨在使用廉价易得的原料,通过简单、经济、有效的方法合成 Dmt。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

<sup>1</sup>H-NMR 用美国 Varian 400 MHz 核磁共振仪测定,内标为四甲基硅烷(TMS);美国 Perkin-Elmer model 341 自动旋光仪;美国 Waters 600 分析/半制备高效液相色谱仪。薄层层析用硅胶板为青岛海洋化工研究所生产,用紫外灯或碘显色。所用试剂除特殊说明外,均为市售化学试剂。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 *O*-乙氧甲酰基-3,5-二甲基苯酚(2)的合成<sup>[10]</sup>

将 20.5 g (188 mmol) 氯甲酸乙酯滴加入 3,5-二甲基苯酚(1) 20.0 g (165 mmol)、吡啶 14 ml (174 mmol) 和苯 120 ml 的混合溶液里,30 min 滴完。搅拌反应 30 min 后,溶液过滤,沉淀用 50 ml 苯洗涤。滤液浓

**[基金项目]** 江苏省高校自然科学基金基础研究项目(08EJB-350002);南京医科大学科技发展基金重点项目(08NMUZ-011)

\*通讯作者, E-mail: l\_tingyou@njmu.edu.cn

缩,得到的浓缩液用 150 ml 乙酸乙酯溶解,之后用水 100 ml、10%柠檬酸溶液 100 ml、饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得淡黄色的液体 29.5 g。

### 1.2.2 O-乙氧甲酰基-3,5-二甲基-4-氯甲基苯酚(3)的合成<sup>[10]</sup>

将化合物 2(25.0 g, 129 mmol)、37%甲醛 27 ml、浓盐酸 126 ml 组成的混合液的温度维持在 55℃~60℃下连续通盐酸气体 3.5 h。溶液放冷后,用 CCl<sub>4</sub> (100 ml × 2)萃取。合并萃取液,萃取液用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩。浓缩液减压蒸馏得到化合物 3(19.8 g)。

### 1.2.3 (S,S)-BPB-Ni-Dmt 络合物[(S,S)-5]的合成

在一个 250 ml 的圆底烧瓶里加入 BPB-Ni-Gly 络合物(4)9.09 g (18.2 mmol) 和 NaOH 7.27g(81.8 mmol),通氮气,加入无水二甲基甲酰胺(DMF)70 ml 溶解络合物和碱。室温搅拌,待绿色的烯醇盐形成后,化合物 3(4.85 g, 20.0 mmol)溶于 70 ml 无水 DMF 的溶液由恒压滴液漏斗滴入。反应液在室温下搅拌 30 min,反应过程用薄层层析(TLC,展开剂乙酸乙酯)检测。待反应完成后,反应液倒入 1 000 ml 冰水中,生成的沉淀过滤,水洗,真空干燥。以乙酸乙酯为洗脱剂,经硅胶柱色谱进行分离纯化后得到 10.06 g 红棕色的(S,S)-5 固体。

### 1.2.4 O-乙氧甲酰基-2,6-二甲基-L-酪氨酸(6)的合成

将 4.24 g(6.0 mmol)(S,S)-5 溶于 50 ml 甲醇的

溶液慢慢滴加入由 30 ml 3 mol/L HCl 和 30 ml 甲醇组成的混合液中,溶液温度维持在 70℃。约 20 min 后,溶液的红色退去,说明反应完成。溶液减压浓缩至干,残余物用水(50 ml × 3)溶解并蒸干以除去多余的 HCl。残余物用 50 ml 浓氨水和 50 ml 水溶解并蒸干。残余物用 80 ml 水溶解,用 CHCl<sub>3</sub>(50 ml × 3)萃取,合并 CHCl<sub>3</sub> 萃取液,用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥后过滤、蒸干、回收手性配体 BPB。水相减压浓缩至干,得到含有 Ni<sup>2+</sup>离子的灰绿色化合物 6(1.57 g)。粗产物 6 不经分离直接用于下一步反应。

### 1.2.5 (S)-2,6-二甲基酪氨酸(7)的合成

粗产物 6 溶于 30 ml 55% 的氢碘酸中,加热回流 4 h。溶液蒸干,残余物溶于最少量的乙醇:水(1:1,V/V)的溶液中,溶液上 Dowex 50 × 2 100 离子交换柱。柱子首先用去离子水洗涤,直至流出液接近中性。之后柱子用水与浓氨水的体积比为 1:4 的溶液洗涤,得含化合物 7 的溶液,蒸干得固体化合物 7。得到的固体溶于 20 ml 1 mol/L HCl 中,减压浓缩至小体积,放冷,将析出的晶体过滤,干燥得 Dmt·HCl 0.99 g。

## 2 结果

本文采用简单、经济、有效的方法,由 3,5-二甲基苯酚出发经 4 步反应成功合成了目标产物 2,6-二甲基-L-酪氨酸(图 1),总收率 34.3%。中间体及目标产物的收率、熔/沸点、核磁信息见表 1。

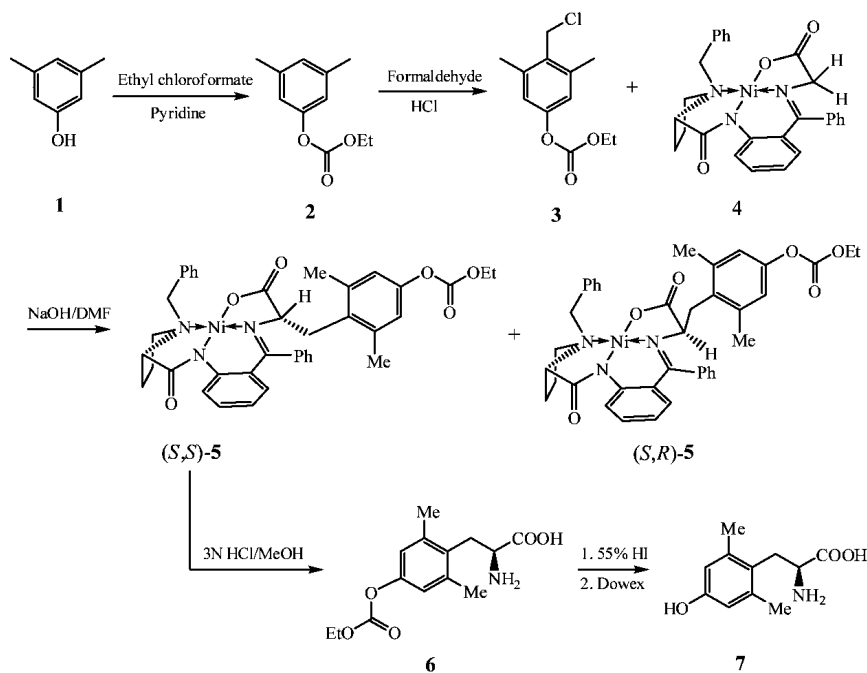


图 1 Dmt 的合成过程

Figure 1 Synthetic procedure for Dmt

表 1 重要中间体和目标产物的产率及分析数据

Table 1 Yield and analytical data of important intermediates and target product

化合物	性状	熔/沸点(°C)	收率(%)	<sup>1</sup> H-NMR (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )
2	淡黄色液体	bp 90~91/1.5 mmHg	92.0	δ: 1.38 (t, 3H, J=7.15 Hz), 2.31 (s, 6H), 4.28~4.32 (m, 2H), 6.784 (s, 2H), 6.863 (s, 1H)
3	无色液体	bp 155~160/5 mmHg	63.1	δ: 1.38 (t, 3H, J=7.15 Hz), 2.42 (s, 6H), 4.34~4.31 (m, 2H), 4.63 (s, 2H), 6.87 (s, 2H)
5	红棕色固体	mp 173~175	75.0	δ: 2.02~2.13 (m, 6H), 2.23~2.28 (m, 1H), 2.56~2.27 (m, 1H), 2.71~2.78 (m, 1H), 3.50~3.56 (m, 4H), 3.53 (d, 1H, J=10.0 Hz), 3.71~3.89 (m, 2H), 4.24 (dd, 1H, J <sub>1</sub> =9.25 Hz, J <sub>2</sub> =5.25 Hz), 4.47 (d, 1H, J=12.75 Hz), 5.29 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, J=7.35 Hz), 6.26 (s, 2H), 6.45~6.47 (m, 1H), 6.60 (t, 1H, J=7.05 Hz), 7.06~7.17 (m, 4H), 7.29~7.40 (m, 4H), 8.07 (d, 2H, J=7.05 Hz), 8.18 (d, 1H, J=8.70 Hz)
7	白色固体 <sup>a</sup>	mp 243~245	78.8	δ: 2.18 (s, 6H), 2.97 (dd, 1H, J <sub>1</sub> =14.35 Hz, J <sub>2</sub> =6.60 Hz), 3.05 (dd, 1H, J <sub>1</sub> =14.35 Hz, J <sub>2</sub> =9.45 Hz), 3.78 (t, 1H, J=7.88 Hz), 6.42 (s, 2H), 8.39 (s, 3H), 9.07 (s, 1H), 13.50 (s, 1H) <sup>b</sup>

<sup>a</sup>:  $[\alpha]_D^{25} = +38.72^\circ$  (c = 0.5, MeOH), 文献:  $[\alpha]_D^{25} = +39.41^\circ$  (c = 1.0, MeOH)<sup>[11]</sup>; <sup>b</sup>: <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)。

### 3 讨论

光学纯的 (*S*)-Dmt 可以通过手性铑试剂 [Ru (1,5-COD) (*R,R*-DIPAMP)]BF<sub>4</sub> 催化氢化乙酰氨基丙烯酸甲酯衍生物的方法制备<sup>[12]</sup>, 但手性铑试剂价格昂贵, 其中的原料之一乙酰氨基丙烯酸甲酯价格也很高, 因此, 不适合该氨基酸的大量制备。

Dmt 还可以通过相应的卤代烃和手性的甘氨酸等价物缩合的方法制备。报道的甘氨酸等价物有 1,4-双(*S*-1-苯基乙基)二酮哌嗪<sup>[13]</sup>, 该化合物参与反应时需要用双(三甲基硅烷基)氨基锂(LH-MDS)进行活化, 氨基锂试剂不仅价格高, 反应还需在-78°C 的低温和惰性气体保护下进行, 因此, 也不适合于 Dmt 的大量制备。

相比较而言, 衍生于天然脯氨酸的 (*S*)-BPB-Ni-Gly 络合物(4, 图 1)是较好的甘氨酸等价物, 原因是天然脯氨酸原料易得、价廉, 从脯氨酸出发经三步简单的反应可以 71.5% 的总收率得到 (*S*)-BPB-Ni-Gly 络合物<sup>[11]</sup>, 加之该甘氨酸等价物只需用 NaOH 就可生成负离子参与反应, 因此, 从 (*S*)-BPB-Ni-Gly 络

合物出发合成 Dmt 是较好的选择<sup>[14]</sup>。

文献中基于 (*S*)-BPB-Ni-Gly 络合物法合成 Dmt 的重要中间体是 4-苄氧基-2,6-二甲基苄基溴(10, 图 2)<sup>[14]</sup>。据报道 4-苄氧基-2,6-二甲基苄基溴(10)经由 4-溴-3,5-二甲基苯酚(8)通过 4 步反应得到<sup>[14]</sup>。按照文献的方法, 可顺利地合成得到化合物 9。但是在化合物 9 的溴化时却遇到了很大的麻烦。考虑到苄基基团对 HBr 的敏感性, 文献中溴化反应是在-78°C、氩气保护、吡啶存在下进行的。尽管严格按照文献描述的方法进行实验, 还是有严重的副反应发生, 只得到很少的产物 (< 5%)。我们发现, 反应后的溶液具有强烈、刺鼻的溴苄特征性气味, 溴苄的生成通过和溴苄标准品在 TLC 上进行了确认。反应的低产率以及溴苄的生成, 说明化合物 9 中的苄基基团被反应生成的 HBr 切断了。

为解决这一问题, 本文设计了一个新的 Dmt 合成路线, 采用 *O*-乙氧甲酰基-3,5-二甲基-4-氯甲基苯(3, 图 1)作为合成氨基酸的原料。在化合物 3 中, 乙氧甲酰基对一般的酸稳定, 且化合物 3 的氯甲基是通过氯甲基化反应一步引入的, 因此, 避免了低温、惰性气体保护等苛刻条件。

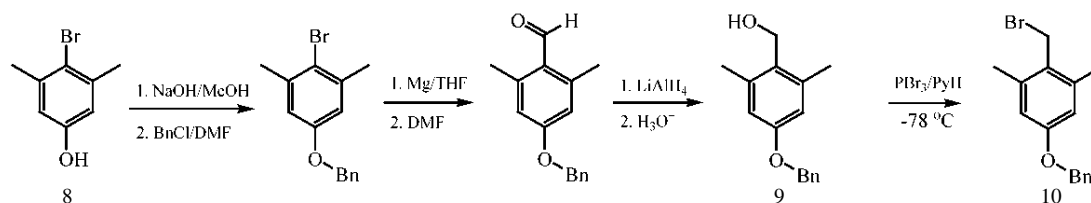


图 2 4-苄氧基-2,6-二甲基苄基溴 (10) 的合成

Figure 2 Synthesis of 4-benzyloxy-2,6-dimethylbenzyl bromide (10)

O-乙氧甲酰基-3,5-二甲基-4-氯甲基苯酚(3)和(S)-BPB-Ni-Gly络合物(4)缩合后生成一对(S,S)-和(S,R)-非对映异构体。由于(S)-BPB-Ni-Gly络合物的手性诱导作用,(S,S)-异构体是反应的主要产物<sup>[14]</sup>;HPLC分析也表明,(S,S)-5和(S,R)-5在产物中所占的比例是6:1。(S,S)-5和(S,R)-5是非对映异构体,在薄层层析中具有不同的比移值;在以乙酸乙酯为展开剂时,两化合物的比移值( $R_f$ )分别是0.28和0.36。因此,这一对异构体可以用硅胶柱色谱进行分离,或用结晶的方法予以纯化。

与文献报道的方法相比,本方法具有最简短的合成路线、最廉价的起始原料且反应条件温和、结果可重复等特点。

#### [参考文献]

- [1] Li TY, Fujita Y, Tsuda Y, et al. Development of potent  $\mu$ -opioid receptor ligands using unique tyrosine analogues of endomorphin-2[J]. J Med Chem, 2005, 48(2): 586-592
- [2] Li TY, Shiotani K, Miyazaki A, et al. Bifunctional[2',6'-Dimethyl-L-tyrosine]endomorphin-2 analogues substituted at position 3 with alkylated phenylalanine derivatives yield potent mixed  $\mu$ -agonist/ $\delta$ - antagonist and dual  $\mu$ -agonist/ $\delta$ -agonist opioid ligands [J]. J Med Chem, 2007, 50(12): 2753-2766
- [3] Zhang L, Chang L, Yu LL, et al. Endomorphin analogues with balanced affinity for both  $\mu$ - and  $\delta$ -opioid receptors [J]. Chin Chem Lett, 2011, 22(8): 907-910
- [4] Yamamoto T, Nair P, Largent-Milnes TM, et al. Discovery of a potent and efficacious peptide derivative for  $\delta/\mu$  opioid agonist/neurokinin 1 antagonist activity with a 2', 6'-dimethyl-L-tyrosine; in vitro, in vivo, and NMR-based structural studies [J]. J Med Chem, 2011, 54(7): 2029-2038
- [5] Ballet S, Feytens D, Buysse K, et al. Design of novel neurokinin 1 receptor antagonists based on conformationally constrained aromatic amino acids and discovery of a potent chimeric opioid agonist-neurokinin 1 receptor antagonist [J]. J Med Chem, 2011, 54(7): 2467-2476
- [6] Wachter RD, Graff C, Keresztes A, et al. Synthesis, biological evaluation, and automated docking of constrained analogues of the opioid peptide H-Dmt-D-Ala-Phe-Gly-NH<sub>2</sub> using the 4- or 5-methyl substituted 4-Amino-1,2,4,5-tetrahydro-2-benzazepin-3-one scaffold [J]. J Med Chem, 2011, 54(19): 6538-6547
- [7] Li TY, Jinsmaa Y, Nedachi M, et al. Transformation of  $\mu$ -opioid receptor agonists into biologically potent  $\mu$ -opioid receptor antagonists [J]. Bioorg Med Chem, 2007, 15(3): 1237-1251
- [8] Li TY, Fujita Y, Shiotani K, et al. Potent Dmt-Tic pharmacophoric  $\delta$ - and  $\mu$ -opioid receptor antagonists [J]. J Med Chem, 2005, 48(25): 8035-8044
- [9] Balboni G, Salvadori S, Marczak ED, et al. Opioid bifunctional ligands from morphine and the opioid pharmacophore Dmt-Tic [J]. Eur J Med Chem, 2011, 46(2): 799-803
- [10] Abrash HI, Niemann C. Steric hindrance in  $\alpha$ -chymotrypsin-catalyzed reactions [J]. Biochem, 1963, 2(5): 947-953
- [11] Ueki H, Ellis TK, Martin CH, et al. Improved synthesis of proline-derived Ni(II) complexes of glycine: versatile chiral equivalents of nucleophilic glycine for general asymmetric synthesis of  $\alpha$ -amino acids [J]. J Org Chem, 2003, 68(18): 7104-7107
- [12] Dygos JH, Yonan EE, Scaros MG, et al. A convenient asymmetric synthesis of the unnatural amino acid 2,6-dimethyl-L-tyrosine [J]. Synthesis, 1992, (8): 741-743
- [13] Balducci D, Contaldi S, Lazzari I, et al. A highly efficient stereocontrolled synthesis of (S)-2',6'-dimethyl-tyrosine [(S)-DMT] [J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2009, 20(12): 1398-1401
- [14] Tang X, Soloshonok VA, Hruba VJ. Convenient, asymmetric synthesis of enantiomerically pure 2',6'-dimethyltyrosine (DMT) via alkylation of chiral equivalent of nucleophilic glycine [J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2000, 11(14): 2917-2925

[收稿日期] 2011-11-25