

(S)-2,4,6-三甲基苯丙氨酸的立体选择性合成

李晓闻, 郁蕾蕾, 刘金春, 陈佳佳, 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: 立体选择性地合成(S)-2,4,6-三甲基苯丙氨酸。方法: 2,4,6-三甲基苯甲酸还原生成 2,4,6-三甲基苯甲醇(1), 再溴化生成 2,4,6-三甲基溴苄(2), 所得溴苄和(S)-BPB-Ni-Gly 络合物(3)缩合, 经分离立体选择性地得到(S)-Tmp-BPB-Ni 络合物(4), (4)经酸解得到(S)-2,4,6-三甲基苯丙氨酸(5)。结果: 以 52.8% 的总收率立体选择性地合成得到(S)-2,4,6-三甲基苯丙氨酸。结论: 本合成方法原料廉价易得、操作简单、反应收率高。

[关键词] (S)-2,4,6-三甲基苯丙氨酸; 立体选择性合成; 阿片肽

[中图分类号] R914.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)03-424-04

Synthesis of (S)-2,4,6-trimethylphenylalanine

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

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

[Abstract] **Objective:** Stereoselective synthesis of (S)-2,4,6-trimethylphenylalanine. **Methods:** 2,4,6-trimethylbenzoic acid was reduced to produce 2,4,6-trimethylbenzyl alcohol (1), which was brominated to generate 2,4,6-trimethylbenzyl bromide (2). The bromide (2) coupled with (S)-BPB-Ni(II)-Gly complex (3) to give (S)-Tmp-Ni(II) complex (4), which was then decomposed by acid to obtain (S)-2,4,6-trimethylphenylalanine (5). **Results:** (S)-2,4,6-trimethylphenylalanine was successfully synthesized at a total yield of 52.8%. **Conclusion:** Inexpensive and readily available starting material and reagents, simplicity of the experimental procedure and high yield make this method synthetically attractive for preparing the target amino acid.

[Key words] (S)-2,4,6-trimethylphenylalanine; stereoselective synthesis; opioid

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(3): 424-427]

非天然氨基酸在药物开发特别是生物活性肽的构效关系研究中起重要作用。将非天然氨基酸引入到肽链中可以改变活性肽的构型构象、提高酶解稳定性并产生新的生物学活性。

4-位或 3-位的苯丙氨酸是内源性阿片肽的一个重要结构特征, 它们在和阿片受体结合和活化过程中起重要作用^[1-2]。用(S)-2,4,6-三甲基苯丙氨酸(Tmp)修饰内啡肽的 3-位生成的 Dmt-Pro-Tmp-Phe-NH₂ (Dmt; 2,6-dimethyl-L-tyrosine) 显示很强的 μ -受体激动活性和 δ -受体拮抗活性^[3], 药理学研究表明, 具有这种性质的化合物具有弱的耐受性和依赖性^[4]。删除 Dmt-Pro-Tmp-Phe-NH₂ 4-位的苯丙氨

酸生成的三肽化合物 Dmt-Pro-Tmp-NH₂ 保留了原四肽化合物对阿片受体的强结合活性 ($K_{i\mu} = 0.13$ nmol/L)^[5], 体外功能活性分析表明, 该化合物是很强的 μ -受体激动剂并具有 δ -受体拮抗活性。这些研究表明, (S)-Tmp 在制备具有混合 μ -受体激动活性和 δ -受体拮抗活性的阿片肽中起重要作用。(S)-Tmp 为非天然氨基酸, 因此, 有必要探索简便的(S)-Tmp 合成方法。

Nestor 等^[6]和 Porter 等^[7]分别报道了外消旋 Tmp 的合成, 但消旋的 Tmp 难以用酶法拆分。Ramon 等^[8]报道了 Tmp 的手性合成, 但该方法存在路线长、操作繁琐等缺点。通过不对称催化氢化乙酰氨基丙烯酸甲酯衍生物可以获得 Tmp^[9], 但该方法中用到的手性试剂 [Ru(1,5-COD)(R,R-DIPAMP)]BF₄ 极其昂贵, 加之原料乙酰氨基丙烯酸甲酯价格也很高, 也不适合(S)-Tmp 的大量制备。本文对(S)-BPB-Ni-Gly(BPB: (S)-2-{N-(苄基脯氨酰基)-氨基}-2-

[基金项目] 江苏省高校自然科学基金研究项目(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

苯甲酮;Gly:甘氨酸)络合物介导的(S)-Tmp 的立体选择性合成进行了探索。

1 材料和方法

1.1 材料

美国 Varian INOVA-400 核磁共振仪,四甲基硅烷(TMS)为内标;美国 Agilent-6410 LC/MS 质谱仪;美国 PE 公司 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。(S)-BPB-Ni-Gly 络合物参照文献[10]制备。

1.2 方法

1.2.1 2,3,4-三甲基苯甲醇(1)的合成

在干燥的烧瓶中加入新蒸的四氢呋喃 75 ml,四氢铝锂 4.55 g(120 mmol)。室温搅拌下用恒压漏斗缓慢滴入溶于 25 ml 四氢呋喃的 2,4,6-三甲基苯甲酸 10.0 g(56.1 mmol),滴完后插上上接氯化钙干燥管的冷凝管升温至回流。5 h 后薄层层析(TLC)检测反应已经完全(石油醚:乙酸乙酯 = 10:3)。停止加热,自然冷却至室温后改成冰水浴,冷至 0~5℃。往反应液中小心滴入 100 ml 的 3 mol/L 盐酸水溶液。用分液漏斗分出水相和有机相,水相用乙酸乙酯(60 ml × 2)萃取。合并有机相,用饱和食盐水洗涤后用无水硫酸钠干燥。过滤,减压浓缩至约 10 ml,加入 100 ml 石油醚,放入冰水浴中,很快析出大量白色固体;抽滤并干燥后得 8.64 g,收率 96.0%,熔点(mp) 82℃~84℃;¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)δ: 1.18(s, 1H), 2.26(s, 3H), 2.39(s, 6H), 4.71(s, 2H), 6.87(s, 2H)。

1.2.2 2,3,4-三甲基苄基溴(2)的合成

在烧瓶中加入化合物 1(8.0 g, 53.6 mmol)和二氯甲烷(150 ml),常温下搅拌溶解。溶解完毕后转入冰水浴中,冷至 0~5℃,用恒压漏斗滴入三溴化磷 14.4 g(53.6 mmol),滴完后转移至 25℃水浴中恒温搅拌 4 h。TLC 检测反应完全(石油醚:乙酸乙酯=15:1)。停止反应,将溶剂减压蒸干。残余物用 100 ml 二氯甲烷溶解,用冷的 NaHCO₃ 溶液洗涤,之后用饱和食盐水洗涤,无水 MgCl₂ 干燥,过滤,滤液蒸干。蒸干后的浓缩液呈淡黄色,冷却后结晶成黄色固体 9.86 g,收率 86.3%,mp 35~37℃;¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)δ: 2.31(s, 3H), 2.38(s, 6H), 4.57(s, 2H), 6.86(s, 2H)。

1.2.3 (S,S)-Tmp-BPB-Ni 络合物[(S,S)-4]的合成

在烧瓶中加入 BPB-Ni(II)-complex 9.09 g

(18.2 mmol) 和氢氧化钠 7.27 g (182 mmol),在氮气的保护下加 70 ml 二甲基甲酰胺(DMF)并搅拌溶解,反应 30 min 后溶液呈墨绿色。将溶解于 70 ml DMF 的化合物 2(4.26 g, 20.0 mmol)滴入上述溶液中。滴完后,常温反应 30 min,经 TLC 检测反应完全。把反应液倒入 1 L 冰水中,有大量固体析出,过滤后干燥,得紫红色固体 9.31 g,收率为 81.3%。固体中含有 9:1 的(S,S)-4 和(S,R)-4 两种非对映异构体。以乙酸乙酯为溶剂进行硅胶柱层析,(S,R)-4 先流出,(S,S)-4 后流出。收集(S,S)-4 组份。将溶剂蒸干后得红色固体(S,S)-4 8.3 g,mp 135~137℃,¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)δ: 0.96(t, 2H, J = 7.31 Hz), 1.41~1.48(m, 1H), 1.67~1.74(m, 1H), 2.21(s, 6H), 2.29(s, 3H), 2.61~2.64(m, 1H), 2.77(m, 1H), 2.88(m, 2H), 2.96(m, 2H), 3.55(d, 1H, J = 15.36 Hz), 4.01(d, 1H, J = 9.00 Hz), 4.28(d, 1H, J = 14.61 Hz), 4.45(d, 1H, J = 12.66 Hz), 6.42(d, 1H, J = 8.25 Hz), 6.56~6.59(m, 2H), 6.61~6.64(m, 6H), 6.92~6.97(m, 1H), 7.05~7.16(m, 2H), 7.30~7.34(m, 2H), 8.07(d, 2H, J = 7.14 Hz), 8.21(d, 1H, J = 8.58 Hz)。

1.2.4 Tmp(5)的合成

在烧杯中加入 7.59 g (12.0 mmol) 的(S,S)-4,用 90 ml 甲醇溶解后滴入 120 ml 70℃的 3 mol/L 盐酸:甲醇(1:1)的溶液中。搅拌 20 min,红棕色逐渐退去。将溶剂蒸干,再加入 100 ml 水蒸干,如此重复 3 次以除去盐酸。残余物加入 100 ml 水和 100 ml 浓氨水,颜色变为蓝色。减压蒸干后用 150 ml 水溶解,氯仿(50 ml × 3)萃取。氯仿层用无水 MgSO₄ 干燥后过滤蒸干回收手性辅助试剂 BPB。水相蒸干得到淡蓝色固体(夹杂有镍离子)2.84 g。

得到的固体用 100 ml 乙醇:水(1:1)溶解后装入 732 阳离子树脂交换柱,先用超纯水淋洗至流出液为中性,后用氨水:水(4:1)淋洗;收集能对茚三酮显色的部分,蒸干后得白色固体 1.95 g,收率为 78.4%。

将得到的(S)-Tmp 转移至茄形瓶中,加入 60 ml 乙醇:水(1:1)搅拌,逐渐滴入 3 mol/L 盐酸约 5 ml 至氨基酸全部溶解;减压浓缩后冻干,定量得到氨基酸盐酸盐。mp 271~273℃;[α]_D²⁵ = +64.1° (c = 0.5, MeOH)[文献值^[9]: [α]_D²⁵ = +64.6° (c = 0.5, MeOH)]; Ms [M + H]⁺: Calcd: 208.27, found: 208.29。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 2.22(s, 3H), 2.33(s, 6H), 3.03(dd, 1H, J₁ = 13.00 Hz, J₂ = 8.75 Hz), 3.36(dd, 1H, J₁ = 9.70 Hz, J₂ = 7.00 Hz), 3.82(t, 1H, J = 7.80 Hz), 6.86(s, 2H)。

2 结果

本文采用简单、经济、有效的方法,由 2,4,6-三甲基苯甲酸出发经 4 步反应成功合成了目标产物 (*S*)-2,4,6-三甲基苯丙氨酸(图 1),总收率 52.8%。

3 讨论

在氨基酸的手性合成中, (*S*)-BPB-Ni-Gly 络合物介导的手性合成由于所用试剂廉价、操作方便等优点越来越受到青睐^[11]。鉴于此,本研究尝试通过 2,4,6-三甲基苄基溴和 (*S*)-BPB-Ni-Gly 络合物缩合的方法合成 (*S*)-Tmp。

2,4,6-三甲基苯甲酸用 LiAlH_4 还原得到 2,4,6-三甲基苯甲醇(1),产率 96%。化合物 1 用 PBr_3 溴化得到 2,4,6-三甲基溴苄(2),产率 86.3%。化合物 2 在碱性条件下和 (*S*)-BPB-Ni-Gly (3) 络合

物缩合生成氨基酸前体化合物 4(Tmp-BPB-Ni 络合物),产率 81.3%。化合物 4 在盐酸中分解,经阳离子交换树脂纯化得 Tmp(5),产率 78.4%。在这一合成过程中,溴苄 2 和 (*S*)-BPB-Ni-Gly(3) 络合物的缩合是关键步骤,缩合反应生成一对非对映异构体 (*S,S*)-4 和 (*S,R*)-4。在 (*S*)-BPB-Ni-Gly 络合物中,脯氨酸氮原子的苄基位于分子平面的上侧,因此,它选择性地诱导生成 (*S,S*)-构型的产物^[12]。在本实验中,HPLC 分析表明(图 2),反应后 (*S,S*)-4 和 (*S,R*)-4 的比例是 9:1,即反应对 (*S,S*)-4 的选择性高达 90%。由于 (*S,S*)-异构体和 (*S,R*)-异构体是一对非对映异构体,在硅胶板上有不同的比移值,且 (*S,R*)-异构体一般都具有较高的比移值,因此,这 2 个异构体可以用硅胶柱色谱进行分离。得到的单一异构体用盐酸分解后可得到光学纯度很高的非天然氨基酸。在以乙酸乙酯为展开剂的薄板层析中 (*S,S*)-4 和

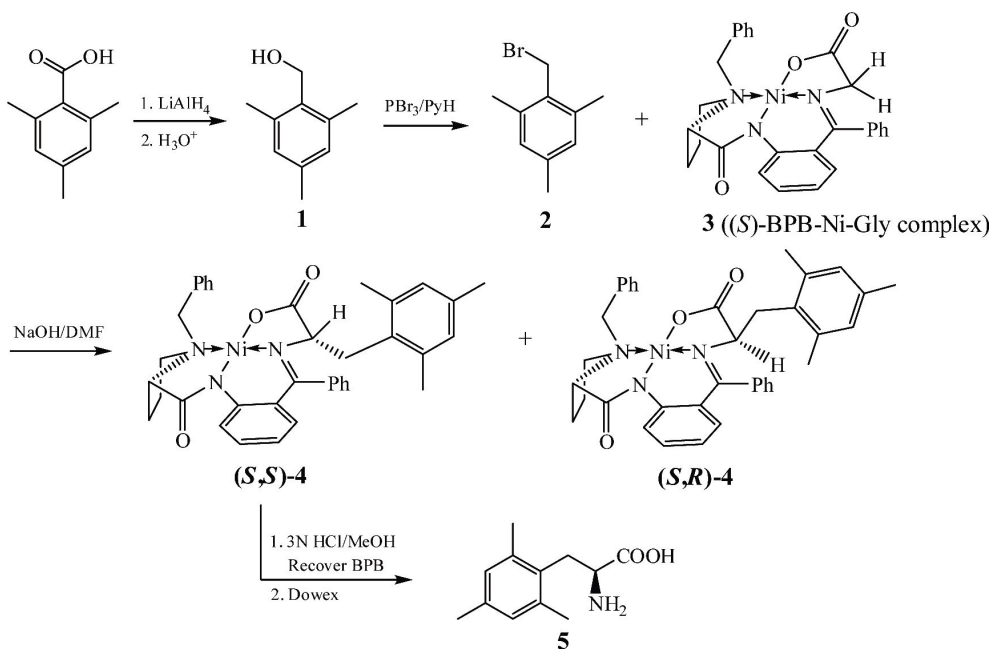
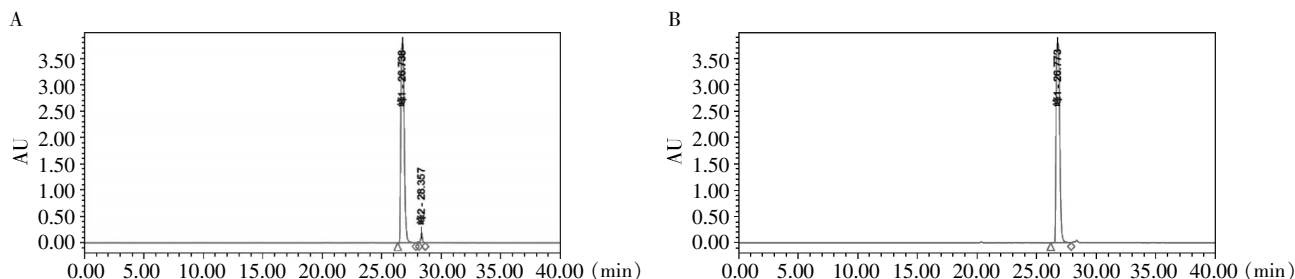


图 1 (*S*)-Tmp 的合成过程

Figure 1 Synthesis of (*S*)-Tmp



A: 反应后混合物; B: 柱色谱分离后 (*S,S*)-4。色谱柱 Nacalai Cosmosil C18; 5 mm × 250 mm; 流动相: 在 30 min 内从乙腈:水=10:90 变到乙腈:水=90:10, 流动相均含 0.05% TFA; 流速: 1.2 ml/min。

图 2 (*S,S*)-4 和 (*S,R*)-4 在硅胶柱分离前和分离后色谱图

Figure 2 HPLC spectra of (*S,S*)-4 and (*S,R*)-4 before (A) and after (B) silica gel column purification

(S,R)-4 的比移值分别是 0.35 和 0.47。实验表明,除了可用乙酸乙酯为流动相在硅胶柱色谱上分离(S,S)-4 和(S,R)-4 外,还可以用氯仿、乙酸乙酯和乙醚的三元混合溶剂对粗产物中的(S,S)-4 进行结晶纯化。

总之,本文通过 2,4,6-三甲基溴苄和(S)-BPB-Ni-Gly 络合物缩合的方法成功合成了(S)-Tmp。与先前报道的方法相比^[8-9],该法具有原料和试剂廉价易得、整个过程操作简单、反应条件温和、反应收率较高的特点。Tmp 的廉价合成为进一步研究具有 μ -受体激动活性、 δ -受体拮抗活性的具有低耐受性、依赖性阿片分子的构效关系提供了物质基础。

[参考文献]

- [1] Sasaki Y, Sasaki A, Niizuma H, et al. Endomorphin-2 analogues containing Dmp residue as an aromatic amino acid surrogate with high μ -opioid receptor affinity and selectivity[J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11(5): 675-678
- [2] Li TY, Fujita Y, Tsuda Y, et al. Development of potent μ -opioid receptor ligands using unique tyrosine analogues of endomorphin-2[J]. *J Med Chem*, 2005, 48(2): 586-592
- [3] 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 μ -agonist/ δ -antagonist and dual μ -agonist/ δ -agonist opioid ligands [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(12): 2753-2766
- [4] Ananthan S. Opioid ligands with mixed μ/δ opioid receptor interactions; an emerging approach to novel analgesics [J]. *AAPS J*, 2006, 8(1): E118-E125
- [5] Zhang L, Chang L, Yu LL, et al. Endomorphin analogues with balanced affinity for both μ - and δ -opioid receptors [J]. *Chin Chem Lett*, 2011, 22(8): 907-910
- [6] Jr Nestor JJ, Ho TL, Simpson RA, et al. Synthesis and biological activity of some very hydrophobic superagonist analogues of luteinizing hormone-releasing hormone[J]. *J Med Chem*, 1982, 25(7): 795-801
- [7] Porter J, Dykert J, Rivier J. Synthesis, resolution and characterization of ring substituted phenylalanines and tryptophans[J]. *Int J Peptide Protein Res*, 1987, 30(1): 13-21
- [8] Ramon R, Alonso M, Riera A. A unified approach to mesityl amino acids based on Sharpless dihydroxylation [J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, 18 (23): 2797-2802
- [9] Li TY, Tsuda Y, Minoura K, et al. Enantioselective synthesis of a phenylalanine library containing alkyl groups on the aromatic moiety; confirmation of stereostructure by X-ray analysis[J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(6): 873-877
- [10] 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 α -amino acids [J]. *J Org Chem*, 2003, 68(18): 7104-7107
- [11] 王江, 邓光辉, 柳红, 等. Ni(II)螯合物在氨基酸合成中的应用[J]. *有机化学*, 2008, 28(7): 1138-1144
- [12] Gu XY, Ndungu JM, Qiu W, et al. Large-scale enantiomeric synthesis, purification, and characterization of ω -unsaturated amino acids via a Gly-Ni(II)-BPB-complex[J]. *Tetrahedron*, 2004, 60(37): 8233-6243

[收稿日期] 2011-10-31