



УДК 547.466 : 547.241

© 1990 г.

А. Р. Хомутов

СИНТЕЗ ФОСФОАНАЛОГОВ ГИСТИДИНА И КАРНОЗИНА

Институт биохимии им. А. Н. Баха АН СССР, Москва

В настоящее время одним из наиболее перспективных и интенсивно исследуемых классов аналогов аминокислот и их производных являются соединения, в которых карбоксильная группа заменена на кислотный фосфорсодержащий фрагмент [1, 2]. Для представляющих особый интерес протеогенных аминокислот осуществлено получение фосфоаналогов [3] и показана их ценность в исследовании ферментов обмена аминокислот и в качестве источника физиологически активных соединений [1, 2].

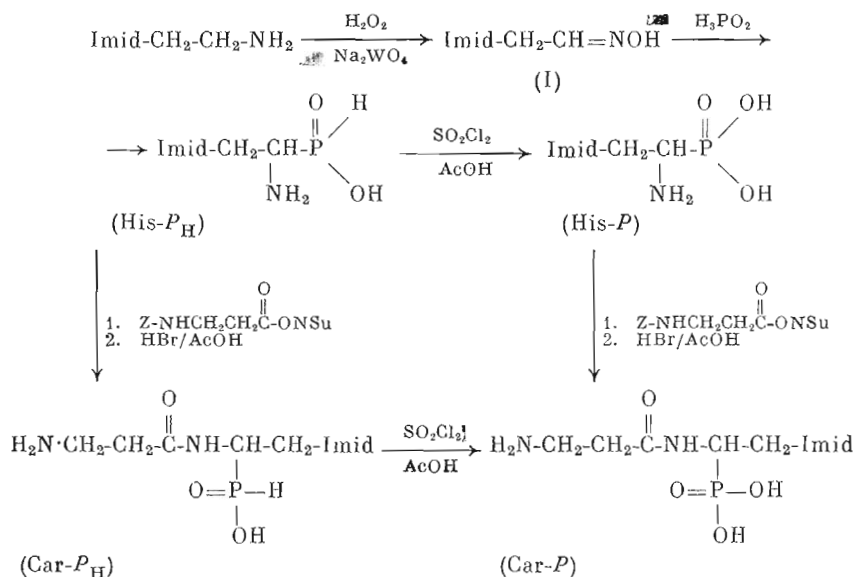
Гистидин — единственная белковая аминокислота, для которой не описан фосфонистый аналог (His-P_H), а β -имидазоллил- α -аминоэтилфосфоновая кислота (His-P) была получена недавно многостадийным синтезом, причем известные ранее методы синтеза α -аминофосфоновых кислот оказались непродуктивными в этом случае [4]. Гистидин участвует в процессах биосинтеза белка, известна его роль в азотистом обмене в норме и патологии. Эта аминокислота также является и предшественником одного из наиболее распространенных дипептидов — карнозина ($\beta\text{Ala-L-His}$, Car), которому приписываются разнообразные физиологические функции: участие в обмене меди (болезнь Вильсона) [5], передача нервного импульса в обонятельном аппарате [6], участие в мышечном сокращении [7], активация ряда ферментов [8], а также функции универсального антиоксиданта в клетке [9]. Используемый сегодня в биохимических исследованиях набор производных карнозина относительно невелик, что сужает возможности исследования роли и функций этого биологически значимого дипептида. Поэтому представлялось актуальным расширение круга производных гистидина и карнозина путем синтеза их неизвестных фосфорсодержащих аналогов.

Недавно [4] был описан один из фосфоаналогов гистидина (His-P), но многостадийность синтеза (14 стадий) и низкий суммарный выход оставили открытой проблему доступности даже этого соединения. Представлялось целесообразным найти единое синтетическое решение как для фосфонового (His-P), так и для фосфонистого (His-P_H) аналогов гистидина. Получение неизвестной ранее β -имидазоллил- α -аминоэтилфосфонистой кислоты (His-P_H) является ключевым в решении этой задачи, поскольку сегодня известны количественные методы превращения α -аминофосфонистых кислот в α -аминофосфоновые [10, 11].

Методы синтеза α -аминофосфонистых кислот основаны на использовании соответствующих альдегидов, которые после превращения в оксимы или соответствующие бензгидрилиденные производные вводят в реакцию с фосфорноватистой кислотой [10, 11]. Однако в литературе не удалось обнаружить информацию о препаративных методах синтеза имидазоллилукусного альдегида; метод его получения, использовавшийся в биохимических исследованиях, приводил лишь к следовым количествам целевого альдегида в виде его 2,4-динитрофенилгидразона [12].

Принятые сокращения: Imid — имидазоллил, Car — карнозин ($\beta\text{Ala-L-His}$).

Нам удалось осуществить одностадийное превращение гистамина в оксим имидазолилуксусного альдегида действием H_2O_2 в присутствии Na_2WO_4 в условиях, сходных с описанными для аминов [13]. Реакция проходила достаточно гладко и приводила к кристаллическому оксиму (I) с выходом 40%, т. пл. 132—134 °С (вода); при этом чувствительное к перекисям имидазольное ядро [14] не затрагивалось. Найдено, %: С 48,10; Н 5,73; N 32,85. $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$. Вычислено, %: С 47,99; Н 5,64; N 33,58. Для синтеза His- P_{H} был выбран способ, основанный на взаимодействии оксима имидазолилуксусного альдегида (I) с фосфорноватистой кислотой в условиях, близких к описанным ранее для синтеза α -аминофосфонистых кислот [10], что приводило к His- P_{H} с выходом 19%, т. пл. 238—239° С, с разл. (вода — спирт). Найдено, %: С 32,69; Н 6,26; N 22,60. $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2\text{P} \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 32,61; Н 6,02; N 22,82.



Дополнительным подтверждением строения His- P_{H} является его дальнейшее превращение в His- P . Однако использовавшиеся ранее для превращения α -аминофосфонистых кислот в α -аминофосфоновые окислители Br_2 и HgCl_2 [10, 11] в случае His- P_{H} приводили к сложной смеси продуктов, в том числе и замещенных в имидазольное ядро, содержащей незначительные количества целевого His- P .

Таким образом, необходимо было найти новый реагент для окисления α -аминофосфонистых кислот в α -аминофосфоновые. Оказалось, что SO_2Cl_2 в ледяной уксусной кислоте — универсальный окислитель для таких превращений, включая и окисление His- P_{H} , причем реакции проходят с выходами, близкими к количественным, и труднодоступный His- P удается получить из продажного гистамина в 3 стадии вместо 14, описанных в работе [4].

Синтезы дипептидов с С-концевыми фосфоаналогами различных аминокислот подробно описаны в литературе, и показано, что в этом случае удовлетворительно работает большинство классических методов пептидной химии, причем защита гидроксильных групп в фосфорной функции не всегда обязательна [2]. Конденсация N-оксисукцинимидного эфира N-Z- β Ala с His- P_{H} с последующим удалением Z-группы действием HBr в уксусной кислоте приводит к целевому Car- P_{H} с выходом 58%. Car- P получен аналогично Car- P_{H} из His- P и N-оксисукцинимидного эфира N-Z- β Ala, а также встречным синтезом — окислением Car- P_{H} SO_2Cl_2 в уксусной кислоте аналогично синтезу His- P из His- P_{H} . ^1H -ЯМР-спектры синтезированных соединений приведены в таблице.

¹H-ЯМР-спектры (δ , м. д.) и хроматографические подвижности (R_f) синтезированных соединений

Соединение	D ₂ O t-БуОН — стандарт	H2' и H4', имидазол	P-H	Другие протоны	R_f^*	
					А	Б
(I)	pD 8,7	7,68 (д, 1H, H4', J 1,0 Гц) 6,97 (д, 1H, H2', J 1,0 Гц)	—	7,00 (т, 1H, -CH-, J 6,0 Гц) 3,71 (дд, 2H, -CH ₂ -, J 6,0 и 1,0 Гц)	0,81	—
His-P _{II}	pD 0,4	8,67 (д, 1H, H4', J 1,3 Гц) 7,45 (м, 1H, H2')	7,09 (д, 1H, J _{H, P} 540 Гц)	3,68–3,09 (м, 3H, H α и H β)	0,40	0,74
His-P	pD 1,1	8,69 (д, 1H, H4', J 1,3 Гц) 7,46 (м, 1H, H2')	—	3,97–3,07 (м, 3H, H α и H β)	0,10	0,36
Car-P _{II}	pD 1,3	8,60 (д, 1H, H4', J 1,4 Гц) 7,30 (м, 1H, H2')	6,99 (д, 1H, J _{H, P} 540 Гц)	4,45–4,08 (м, 1H, H α), 3,47–2,92 (м, 4H, -CH ₂ - и H β), 2,77–2,62 (м, 2H, H ₂ NCH ₂ -)	0,18	0,62
Car-P	pD 1,1	8,59 (д, 1H, H4', J 1,4 Гц) 7,29 (м, 1H, H2')	—	4,60–4,28 (м, 1H, H α), 3,44–2,98 (м, 4H, -CH ₂ - и H β), 2,75–2,60 (м, 2H, H ₂ NCH ₂ -)	0,03	0,25

* Силуфол (Kavalier, ЧССР); система А: *i*-PrOH — 25% NH₄OH — H₂O (7 : 1 : 2); система Б: MeOH — 25% NH₄OH — H₂O — CF₃COONH₄ (120 : 48 : 30 : 1); проявление реактивом на фосфор, раствором нингидрина, реактивом Паули; соединение (I) — проявление раствором Cu(NO₃)₂ и реактивом Паули.

Автор благодарит чл.-кор. АН СССР Р. М. Хомутова и акад. С. Е. Северина за полезные советы, критическое обсуждение и ценные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kafarski P., Mastalerz P. Aminophosphonates. Natural occurrence, biochemistry and biological properties. В.: Academie-Industrie-Komplex Arzneimittelforschung, 1984 Heft 21.
2. Kafarski P., Lejczak B., Mastalerz P. Phosphonopeptides. Synthesis and biological activity. В.: Academie-Industrie-Komplex Arzneimittelforschung, 1985. Heft 25
3. Кухарь В. П., Солоденько В. А. // Успехи химии. 1987. Т. 51. № 9. С. 1504–1532.
4. Merret J. H., Spurden W. C., Thomas W. A., Tong B. P., Whitcombe I. W. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1988. № 1. P. 61–67.
5. Brown C. E. // J. Theor. Biol. 1981. V. 88. № 2. P. 245–256.
6. Snyder H. // Science. 1980. V. 209. P. 976–983.
7. Parker C. J., Ring E. // Comp. Biochem. and Physiol. 1970. V. 37. P. 413–419.
8. Ikeda J., Kimura T., Tamaki N. // J. Biochem. 1980. V. 87. № 2. P. 179–185.
9. Konen R., Yamamoto Y., Cundy K. C., Ames B. N. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 9. P. 3175–3179.
10. Хомутов Р. М., Осипова Т. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1978. № 8. С. 1954.
11. Baylis E. K., Campbell C. D., Dingwall J. G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1984. № 12. P. 2845–2853.
12. Kapeller-Adler R., Fletcher M. // Biochim. et biophys. acta. 1959. V. 33. № 1. P. 1–9.

13. Kahr K., Berther C. // Chem. Ber. 1960. B. 93. S. 132—136.

14. Гетероциклические соединения: Пер. с англ. М.: Иностран. лит-ра, 1961. С. 168.

Поступило в редакцию
19.XII.1989

После доработки
9.IV.1990

A. R. KHOMUTOV

SYNTHESIS OF PHOSPHOANALOGUES OF HISTIDINE AND CARNOSINE

A. N. Bach Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Earlier unknown β -imidazolyl- α -aminoethylphosphonous acid (His- P_H) was synthesized by the addition of hypophosphorous acid to the imidazolylacetaldehyde oxime and then converted into β Ala-His- P_H . Both P_H -compounds were oxidized into the corresponding phosphonic acids by treatment with SO_2Cl_2 in glacial acetic acid.