



УДК 547.466:543.47

СНЯТИЕ N-ТОЗИЛЬНОЙ И N-БЕНЗИЛОКСИКАРБОНИЛЬНОЙ ЗАЩИТНЫХ ГРУПП АМИНОКИСЛОТ ЭЛЕКТРОВΟΣСТАНОВЛЕНИЕМ В ДИМЕТИЛФОРМАМИДЕ

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТОНИЗАЦИИ АНИОНОВ АМИНОКИСЛОТ
В НЕВОДНОМ РАСТВОРИТЕЛЕ *

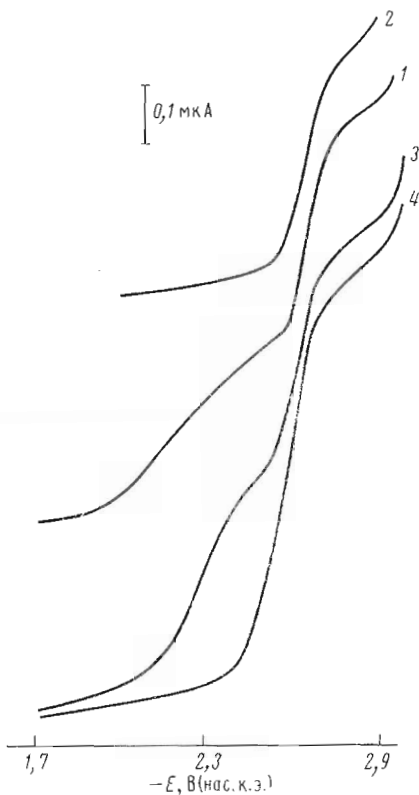
Майрановский В. Г., Логинова Н. Ф.

Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт, Москва

Изучено электровосстановление N-тозилных и N-бензилоксикарбонильных производных аминокислот в среде диметилформамида и диметилсульфоксида. На полярограмме защищенных аминокислот наблюдаются две волны, первая из которых относится к выделению водорода карбоксильной группы, вторая — к отщеплению тозилной или бензилоксикарбонильной группы. Различное поведение тозилных производных аминокислот с первичной и вторичной аминогруппой и эфира тозиламино кислоты связывается с протеканием в случае тозиламино кислоты после снятия защит реакций «автопротонования» с участием протонов N—H- и (или) COO—H-остатков. Обсуждается механизм электроотщепления тозилной и бензилоксикарбонильной группы. Найдено, что электроотщепление этих защитных групп не сопровождается рацемизацией. Показана возможность изучения протолитических реакций с участием электрогенерированных амфосоединений в неводных средах, оценены константы скорости рекомбинации анионов некоторых аминов и аминокислот с уксусной кислотой в диметилформамиде.

Электрохимическое восстановление тозиламино кислот в метаноле [2] и диметилформамиде [3] приводит к получению с хорошим выходом свободных аминокислот. В отличие от метанола [2, 4] в среде диметилформамида удастся провести аналогичную реакцию и с соответствующими бензилоксикарбонильными производными [5]. Эти превращения являются типичными случаями электродепротектирования — быстро развивающегося метода, который обладает рядом достоинств по сравнению с классическими способами снятия защит [6]. К ним относятся прежде всего мягкие условия проведения реакции (нейтральная среда, комнатная температура) и возможность плавного варьирования силы «реагента» — электрода — путем изменения его потенциала для осуществления ступенчатого или одновременного отщепления защитных групп. В качестве примеров успешного использования электрохимического метода, демонстрирующих преимущества его по сравнению с химическими способами отщепления защитных групп, можно привести снятие тозилного остатка в синтезе *цис*- и *транс*-изомеров 4-меркапто-*L*-пролина [4], одностадийное отщепление N-Tos- и S-Bzl-групп при получении глутатиона [7] и др. (см. [6]).

* Доложено на IX Всесоюзном совещании по электрохимии органических соединений, Тула, 1976 [1].



Влияние основания на волны тозиламинокислот: 1 — Tos-Ala-OH (II); 2 — Tos-Ala-OH + Bu₄NOH; 3 — Tos-Pro-OH (VIII); 4 — Tos-Pro-OH + Bu₄NOH; концентрация соединений (II) и (VIII) $\sim 10^{-3}$ М; Bu₄NOH $\approx 3 \cdot 10^{-3}$ М; фон — 0,04 М Bu₄NClO₄ в диметилформамиде

(VIII) в диметилформамиде (а также в диметилсульфоксиде) дают не одну, а две катодные волны (см. рисунок и таблицу). Первая из них (менее отрицательная) составляет 0,3—0,8 от уровня одноэлектронной волны *, причем потенциал полуволны $E_{1/2}$, отнесенный к насыщенному каломельному электроду (нас. к. э.), для различных веществ лежит в интервале $-2,25 \div -2,45$ В. Предельный ток на площадке второй волны в случае соединений (I) — (VII) отвечает $n = 1,3-1,7 e$ (n — число электронов, участвующих в восстановлении). Волны имеют необратимый характер, а высоты их практически ограничены диффузией (установлено путем изменения периода капания ртути).

Природа волн. С целью выяснения процессов, происходящих на первой и второй волнах, изучалось влияние кислот и оснований, проводился электролиз при потенциалах этих волн, а поведение тозиламинокислоты (VII) сравнивали с поведением соответствующего эфира (IX). Добавление основания (гидроокиси тетрабутиламмония) приводило к исчезновению первой волны у соединений (I) — (VII) и уменьшению второй примерно до одноэлектронного уровня; в случае соединения (VIII) первая волна тоже исчезала, но ток на площадке второй волны по-прежнему отвечал $n = 2e$ (см. рисунок).

* Определено сравнением с высотой одноэлектронной волны восстановления пиперогруппы *n*-нитробензолсульфобутанола.

В продолжение работ [3, 5] в настоящем сообщении приводятся более подробные сведения о полярографических свойствах тозил- и бензилоксикарбонил-аминокислот в диметилформамиде и диметилсульфоксиде, а также результаты препаративного электровосстановления производных оптически активных аминокислот. Переход от свободных аминокислот к *N*-ацильным производным позволяет проводить исследования в неводных средах, в которых сами аминокислоты трудно растворимы, причем такие соединения являются удобными моделями [8, 9] для выяснения некоторых особенностей поведения аминокислот. Данные по полярографии свободных аминокислот имеются в работах [10—12].

За исключением работы [6], в литературе не содержится указаний на образование двух полярографических волн *N*-ацил-аминокислот в апротонной среде. Изучение природы этих волн важно с практической точки зрения — для выбора потенциала электролиза: неправильно выбранным потенциалом электровосстановления бензилоксикарбонилглицина можно было бы в принципе объяснить низкий выход (10%) свободного глицина в опытах итальянских исследователей [13] (по нашим данным, эта реакция проходит с выходом $\sim 90\%$, если электролиз вести при потенциалах второй волны).

В отличие от тозилалкил- и тозилариламинов [3] тозиламинокислоты (I)—

Полярографические характеристики N-тозил- и N-бензилоксикарбонил-аминокислот и модельных соединений *

Соединение	$-E_{1/2}$, В (нас. к. э.)	Примечания
(I) Tos-Gly-OH	2,65	Число электронов на площадке второй волны $n = 1,3-1,7 e$ $n = 2 e$ Одна волна, $n = 1 e$ То же Одна волна, $n = 2 e$ Волна искажена разрядом фона
(II) Tos-Ala-OH	2,68	
(III) Tos-Val-OH	2,71	
(IV) Tos-Leu-OH	2,71	
(V) Tos-Ser-OH	2,62	
(VI) Tos-Phe-OH	2,67	
(VII) Tos-βAla-OH	2,68	
(VIII) Tos-Pro-OH	2,65	
(IX) Tos-βAla-OMe	2,41	
(X) Tos-HNBu	2,55	
(XI) Tos-OAm	2,34	
(XII) Z-Ala-OH	2,90	

* Фон — 0,04 М перхлорат тетрабутиламмония в диметилформамиде. Приводятся значения $E_{1/2}$ отщепления защитных групп (для соединений (I) — (VIII) и (XII) — вторая волна).

Действие кислот проявлялось по-разному в зависимости от их силы. Добавление 1—2 экв. фенола вызывало увеличение второй волны (I) — (VII), суммарный ток достигал при этом $n = 2e$. До двухэлектронного уровня возрастали также волны у соединений (IX) и (X); волны (VIII) оставались неизменными. Дальнейший рост концентрации фенола (вплоть до ~50 экв.) не приводил к увеличению волн. Прибавление более сильной кислоты — уксусной — сопровождалось, напротив, непрерывным повышением второй волны. Этот эффект является общим для волны отщепления тозилгруппы у соединений (I) — (X); первые волны у соединений (I) — (VIII) в присутствии фенола и уксусной кислоты существенно не увеличивались.

Наблюдаемое влияние кислот и оснований можно объяснить, предположив, что первая волна на полярограмме соединений (I) — (VIII) относится к выделению водорода карбоксильной группы («водородная волна»). В пользу этого предположения говорило отсутствие подобной волны у соединений (IX) — (XI). После проведения препаративного электровосстановления соединения (II) на первой волне в качестве единственного продукта было выделено исходное вещество, а полярограмма после электролиза практически совпадала с полярограммой, которая получалась при добавлении основания (см. рисунок, кривая 2). Таким образом, первой волне у соединений (I) — (VIII) отвечает следующий процесс:



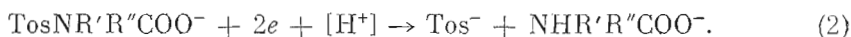
По нашим данным, диметилформамид и диметилсульфоксид (точнее, 0,04 М растворы Bu_4NClO_4 в этих растворителях) содержат некоторое количество основных примесей, которые частично должны нейтрализовать тозиламинокислоту. Это обстоятельство и является, по-видимому, причиной того, что первые волны меньше одноэлектронных:



($a < 1$ — доля оставшейся не нейтрализованной тозиламинокислоты *).

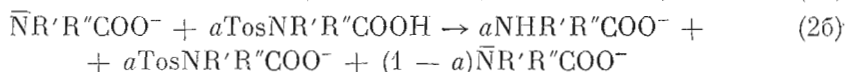
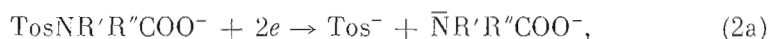
* Амперометрическое титрование основных примесей бензойной кислотой (сравнима по силе с $\text{TosNR}'\text{R}''\text{COOH}$, дает волну с $E_{1/2} = -2,28\text{В}$) показало, что в 0,04 М растворах Bu_4NClO_4 в диметилформамиде и диметилсульфоксиде содержится $(5-7) \cdot 10^{-4}$ М основных примесей. Поскольку концентрация тозиламинокислот в растворе $\sim 10^{-3}$ М, получаем $a = 0,5-0,3$, что неплохо согласуется с наблюдаемыми высотами первых волн у соединений (I) — (VIII).

Из результатов препаративного электролиза следует, что при потенциалах второй волны тозиламинокислоты отщепляется тозилная группа и освобождается аминокислота. Это превращение в случае $R' \neq H$, т. е. соединения (VIII), записывается в виде

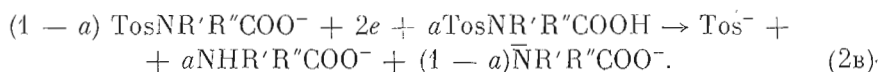


Известно, что анионная форма деполяризатора обычно восстанавливается труднее, чем нейтральная (правило Шиката — Тахи, см. [14]); сдвиг $E_{1/2}$ для соединений (I) — (VIII) по сравнению с соединением (IX) на $-0,2 \div -0,3$ В (см. таблицу) служит косвенным указанием на то, что в реакции (2) действительно участвует в качестве восстанавливающейся частицы анион тозиламинокислоты. Источником протона в реакции (2) может быть среда (растворитель, фоновый электролит, протогенные примеси), но прежде всего сами молекулы $\text{TosNR}'\text{R}''\text{COOH}$, диффундирующие к электроду; в последнем случае должен возникнуть скрытый предельный ток [15]. Он наблюдается на опыте: наличие у соединения (VIII) первой («водородной») волны не приводит к завышению суммарного предельного тока на площадке второй волны сверх $n = 2e$ (см. рисунок).

С учетом возникновения скрытого тока за счет «автопротонирования» процесс, протекающий при потенциалах второй волны соединения (VIII), выражается следующим образом:

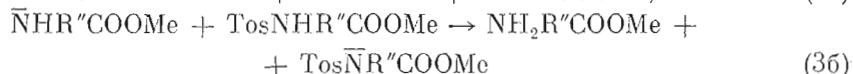
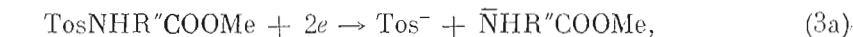


или суммарно:

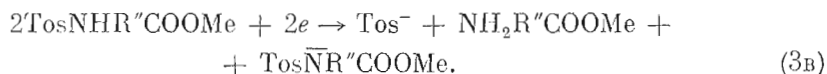


Из последнего уравнения видно, что общее число электронов, потребляющихся при потенциалах второй волны, здесь равно двум и не зависит от величины a .

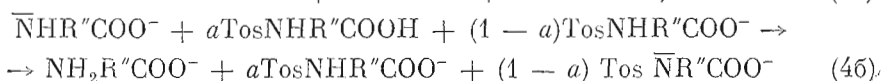
В случае производных (IX) и (X), имеющих в качестве кислотной TosNH -группу, ситуация меняется. Анионы $\text{Tos}\bar{\text{N}}\text{R}''\text{COOMe}$ и $\text{Tos}\bar{\text{N}}\text{C}_4\text{H}_9$, появляющиеся после «автопротонирования», в отличие от $\text{TosNR}'\text{R}''\text{COO}^-$ полярографически неактивны и поэтому кажущееся число электронов при потенциалах второй волны $n = 1e$:



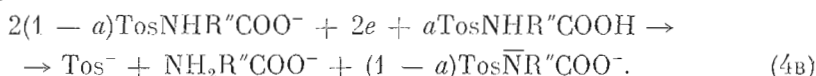
или суммарно:



Наконец, при восстановлении тозилатов первичных аминокислот (соединения (I) — (VII)), являющихся двухосновными кислотами ($-\text{COOH}$ и TosNH -группы), реализуется промежуточный случай с образованием после «автопротонирования» как активных ($\text{TosNHR}''\text{COO}^-$), так и неактивных ($\text{Tos}\bar{\text{N}}\text{R}''\text{COO}^-$) частиц:

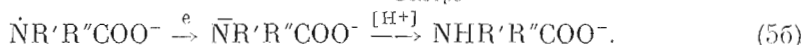
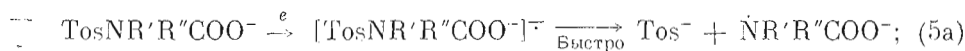


или суммарно:



Общее число электронов (на площадке второй волны) $n = 2/(2 - a)$, и в отличие от двух предыдущих случаев оно зависит теперь от величины a . При $a = 0$ (когда карбоксильная группа полностью диссоциирована, например при добавлении основания) получаем в соответствии с опытом $n = 1e$; при $a = 1$ (диссоциация карбоксила подавлена) должны были бы иметь $n = 2e$. В условиях нашего эксперимента $0 < a < 1$, поэтому и получается $1 < n < 2$.

Собственно электрохимическое отщепление тозильной группы (реакция 2) протекает, скорее всего, по механизму $^{\ominus}\text{ECE}^*$, например по схеме



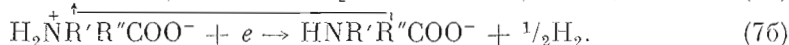
Как показывают опыты по замедленному гомогенному переносу электрона [16] — в частности, на соединение (I) от анион-радикала метилбензоата, — предложенный ранее [17] механизм ЕЕС, согласно которому расщепление связи $\text{Tos}-\text{N}$ происходит лишь после переноса двух электронов, маловероятен.

Процесс отщепления Z-группы можно представить схемой



В уравнение (6) не включено восстановление CO_2 , которое должно происходить [18] при потенциалах отщепления Z-группы.

Каталитическое выделение водорода из уксусной кислоты под действием электрогенерированных аминокислот: кинетика протонизации анионов аминокислот. Как отмечалось выше, при добавлении избытка уксусной кислоты волны тозиламинокислот, отвечающие отщеплению тозильной группы, начинают превышать уровень двухэлектронной волны и продолжают непрерывно расти с повышением концентрации уксусной кислоты. Такое поведение мы объясняем каталитическим действием аминокислот, образующихся по реакции (2), на разряд водорода из уксусной кислоты:



Каталитически активными оказались все изученные N-тозильные производные, включая соединения (IX) и (X). Поэтому в качестве «каталитического центра» молекулы в реакциях 7а и 7б принимается аминогруппа, превращающаяся в результате рекомбинации с уксусной кислотой в катионную четвертичную форму. Аминогруппы тозиламиносоединений под влиянием тозильной группы теряют основные свойства, вследствие чего исходные вещества не обладают такой каталитической активностью.

Образование каталитического тока по (7а) — (7б) мы использовали для определения константы k скорости рекомбинации электрогенерированных аминокислот с донорами протона. Среднее значение константы скорости, вычисленное по уравнению Коутецкого [19], в условиях 7–10-кратного избытка уксусной кислоты для двух аминокислот (I) и (II) $k = (1,7 \pm \pm 0,3) \cdot 10^4$ л·моль $^{-1}$ с $^{-1}$; в случае соединений (IX) и (X) $k = (0,8 \pm \pm 0,2) \cdot 10^4$ л·моль $^{-1}$ с $^{-1}$. Большую величину k для первых соединений можно объяснить электронодонорным влиянием заместителя $-\text{COO}^-$,

* E — электрохимическая стадия, C — химическая стадия.

повышающим основные свойства аминокруппы (например, по данным работы [20], в водном растворе pK_a NH^+ -групп в кислотах $\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ и $\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$ равны соответственно 7,73 и 9,60).

Преимущество способа изучения, основанного на предварительном электрохимическом генерировании аминокислот из защищенных производных (помимо тозилных могут быть взяты, например, *N*-бензоильные производные), заключается в том, что он позволяет исследовать протолитические реакции и в таких средах, в которых сами аминокислоты плохо растворяются (диметилформамид, диметилсульфоксид, спирты и др.)*.

Изучение кинетики протолитических реакций с участием различных аминокислот и доноров протона в неводных средах может дать важную информацию для понимания особых свойств [18] аминокислот.

Электролиз тозилных и бензилоксикарбонильных производных оптически активных аминокислот. Известно, что процессы снятия защитных группировок могут осложняться снижением оптической чистоты аминокислот. На примере препаративного электровосстановления тозил-*L*-аланина и бензилоксикарбонил-*L*-валина мы показали, что электроотщепление этих защитных групп в среде диметилформамида не сопровождается заметной рацемизацией: оптическая чистота сохраняется на $\sim 100\%$ (см. «Экспериментальную часть»). Ранее было найдено, что рацемизация не происходит при электролизе тозиламинокислот и в среде метанола [2].

Экспериментальная часть

Тозильные производные аминокислот, аминов и спиртов синтезированы по известным методикам, и их физико-химические характеристики соответствовали литературным данным. Диметилформамид сушили над прокаленным поташом и перегоняли в вакууме; содержание воды не превышало 0,03% (определено титрованием по Фишеру).

Полярграфические измерения производили на полярографе LP-60 (Laboratory Pristroe, Чехословакия). Электролиз вели на ртутном катоде в электролизере с разделенными катодным и анодным пространствами при потенциале, отвечающем предельному току на полярограмме. Потенциал катода поддерживали с помощью потенциостата П-5827. Процесс электролиза контролировали снятием полярограмм.

Для выделения аминокислот и аминов раствор после окончания электролиза упаривали в вакууме при 30—35°, остаток растворяли в небольшом объеме дистиллированной воды и пропускали через колонку с ионообменной смолой дауэкс 50 × 8 в H^+ -форме. Колонку промывали водой, аминокислоту смывали 5% аммиаком. Аммиачные элюаты после упаривания в вакууме давали свободную аминокислоту с выходом 85—95%.

Образующийся при электролизе соединения (XI) спирт ($\sim 100\%$) определяли методом ГЖХ на хроматографе JGC-20K (Jeol, Япония) с планетно-ионизационным детектором на 1-м колонке с 10% полиэтиленгликолем-400 на хромосорбе.

Оптическое вращение аминокислот измеряли на спектрополяриметре JASCO (Япония) после упаривания реакционного раствора досуха и растворения остатка в небольшом объеме ледяной уксусной кислоты (концентрация $\sim 0,5\%$). Оптическую активность рассчитывали с учетом выхода аминокислот, найденного денситометрически. Поправка на влияние посторонних веществ составляла 5% (определена холостым опытом). Оптическое вращение *L*-валина и *L*-аланина, полученных при электролизе

* Здесь следует принять во внимание возможный «эффект наследования» [14]: некоторые свойства образовавшейся молекулы, зависящие от ориентации ее в двойном электрическом слое, адсорбции на электроде и др., могут заметно отличаться от равновесных. Величина этого эффекта оценивается сравнением поведения вещества, введенного в раствор и генерированного на электроде.

соответственно бензилоксикарбонил-*L*-валина и тозил-*L*-аланина, $[M] = +72,55$ и $+24,3^\circ$ соответственно (литературные данные $[M] = +72,6^\circ$ и $+24,3^\circ$ [21]).

ЛИТЕРАТУРА

1. Майрановский В. Г., Логина Н. Ф. (1976) в сб. Новости электрохимии органических соединений, с. 58, Институт электрохимии АН СССР, М.
2. Hogner L., Neuman H. (1965) Chem. Ber., 98, 1715—1721, 3462—3469.
3. Майрановский В. Г., Логина Н. Ф. (1971) Ж. орган. химии, 41, 2581—2582.
4. Verbiscar A., Witkop B. (1970) J. Org. Chem., 35, 1924—1927.
5. Майрановский В. Г., Мельник С. Я., Вейнберг А. Я., Самохвалов Г. И., авт. свид. № 226628 от 1.12.1966; бюл. изобрет. № 29, 1968; Мельник С. Я., Майрановский В. Г., Миропольская М. А., Самохвалов Г. И. (1968) Ж. орган. химии, 38, 1495—1500.
- 6а. Майрановский В. Г. (1975) в сб. Электросинтез и биоэлектрохимия (под ред. Фрумкина А. Н., Страдыня Я. П., Феоктистова Л. Г.), с. 128—155, «Наука», М.; б. Mairanovsky V. G. (1976) Angew. Chem., Int. Ed., 15, 281—292.
7. Iwasaki T., Matsumoto K., Matsuoka M., Miyoshi M. (1972) Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 50, 3, 220—221.
8. Хургин Ю. И., Дмитриева М. Г., Триполитова Е. В. (1964) Реакц. способн. орган. соедин., 1, 35—42.
9. Khurgin Yu. I., Dmitrieva M. G. (1965) Tetrahedron, 21, 2305—2310.
10. Okazaki Y., Otsuki T. (1967) Rev. Polarogr. (Japan), 14, 307—312.
11. Koch T., Purdy W. (1971) Anal. chim. acta, 54, 271—280.
12. Fujiwara S., Umezawa Y., Ishizuka H. (1971) Bull. Soc. Chem. Jap., 44, 1984—1986.
13. Sarobianco G., Zecchin S., Vidali G. (1970) Ann. Chim., 60, 1, 37.
14. Майрановский С. Г. (1966) Каталитические и кинетические волны в полярографии, с. 141, 190, «Наука», М.
15. Kemula W., Grabowski Z. (1952) Rozn. Chem., 26, 266—280.
16. Майрановский В. Г., Логина Н. Ф., Титова И. А. (1975) Докл. АН СССР, 223, 643—646.
17. Cottrell P., Mann C. (1971) J. Amer. Chem. Soc., 93, 3579—3585.
18. Roberts J., Sawyer D. (1965) J. Electroanal. Chem., 9, 1—7.
19. Koutecky J. (1953) Coll. Czech. Chem. Commun., 18, 311—325.
20. Scheinblatt M., Gutowsky M. (1964) J. Amer. Chem. Soc., 86, 4814—4820.
21. Гринштейн Дж., Винц М. (1965) Химия аминокислот и пептидов, «Мир», М.

Поступила в редакцию
1.III.1976

После переработки
26.IV.1976

REMOVAL OF N-TOSYL AND N-BENZYLOXYCARBONYL PROTECTIVE GROUPS FROM AMINO ACIDS BY ELECTROCHEMICAL REDUCTION IN DIMETHYLFORMAMIDE. A STUDY OF AMINO ACID ANIONS PROTONATION IN NON-AQUEOUS SOLUTION

MAIRANOVSKY V. G., LOGINOVA N. F.

All-Union Institute for Vitamin Research, Moscow

The polarographic behaviour of N-tosyl- and N-benzyloxycarbonyl derivatives of amino acids and some model compounds has been examined in dimethylformamide and dimethylsulfoxide (0.04 M Bu₄NClO₄ being used as supporting electrolyte). There were observed two waves on the polarogram of the protected amino acids, the first being attributed to release of carboxyl hydrogen and the second-to cleavage of protective groups. The reduction schemes were proposed. The differences in characteristics of some related compounds (tosylamino acids with primary or secondary amino groups and tosylamino acid esters) are thought to be due to the «autoprotonation» and dissociation in COO-H and N-H groups. A possible mechanism is discussed for cleavage of tosyl and benzyloxycarbonyl groupings. The possibility has been demonstrated for studying protolytic reactions with electrogenerated amino acids in non-aqueous media. Based on the catalytic current values, the rate constants of amino acid anions recombination with acetic acid were determined. The electrocleavage of tosyl and benzyloxycarbonyl groups was found to proceed without racemization.