



УДК 542.91:547.466.416+577.152.3

© 1993 В. П. Кухарь, В. А. Солошонок,  
В. К. Швядас\*, Н. В. Котик, И. Ю. Галаев\*,  
А. Г. Кириленко, Е. В. Козлова\*

ГОМОХИРАЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ  
ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
II<sup>1</sup>. 3-АМИНО-4,4,4-ТРИФТОРМАСЛЯНАЯ КИСЛОТА: СИНТЕЗ,  
ЭНЗИМАТИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ  
АБСОЛЮТНОЙ КОНФИГУРАЦИИ ЭНАНТИОМЕРОВ

*Институт биоорганической химии и нефтехимии АН Украины, Киев;  
\* Институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ, Москва*

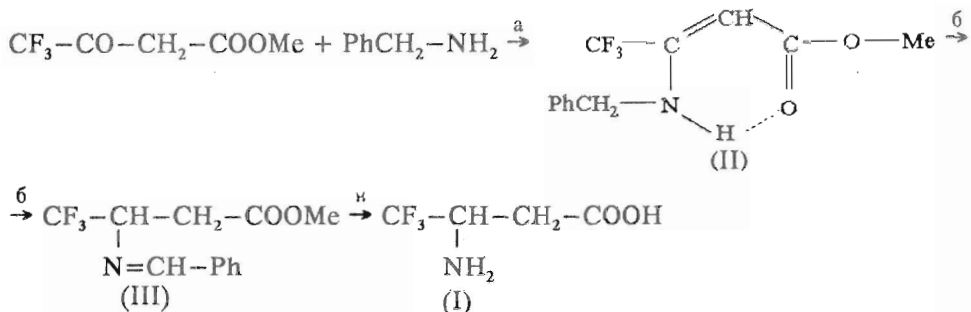
Получены не описанные ранее гомохиральные (*R*)- и (*S*)-3-амино-4,4,4-трифтормасляные кислоты. Синтез рацемической 3-амино-4,4,4-трифтормасляной кислоты проведен по трехстадийной схеме из метилового эфира 4,4,4-трифторацетоуксусной кислоты и бензиламина. Рацемическую кислоту разделяли на энантиомеры с помощью энантиоселективного гидролиза соответствующих фенилацетильных производных пенициллинацилазой. На основании рентгеноструктурного исследования установлено, что (—)-энантиомер имеет (*S*)-абсолютную конфигурацию хирального атома углерода. Определены величины удельного оптического вращения ( $[\alpha]_D^{25}$ , 1%, 6 н. HCl) для полученных препаратов (*R*)- и (*S*)-3-амино-4,4,4-трифтормасляной кислоты, равные +27,6 и —27,2 соответственно.

Из всех методов разделения рацематов аминокислот энантиоселективный гидролиз *N*-ацилированных аминокислот под действием ацилаמידогидролаз получил наибольшее распространение [2]. Однако до настоящего времени в литературе отсутствуют примеры успешного применения ацилаз аминокислот для разделения рацематов  $\beta$ -аминокислот. Возрастающий интерес к небелковым аминокислотам, в частности к  $\beta$ -аминокислотам, связанный в основном с использованием этих соединений для регулирования биологической активности природных пептидов [3], делает актуальным поиск простых и удобных методов получения гомохиральных  $\beta$ -аминокислот.

В данной работе мы сообщаем о методе получения ранее неизвестных гомохиральных (*R*)- и (*S*)-3-амино-4,4,4-трифтормасляных кислот, заключающемся в химическом синтезе рацемата 3-амино-4,4,4-трифтормасляной кислоты (I) с последующим энзиматическим гидролизом (*R*)-энантиомера *N*-фенилацетильного производного рацемата (I) в присутствии пенициллинацилазы (КФ 3.5.1.11).

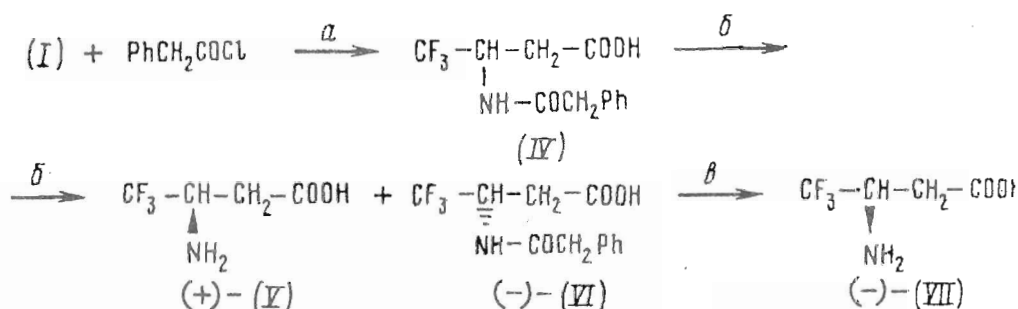
Синтез рацемата 3-амино-4,4,4-трифтормасляной кислоты (I) осуществлен конденсацией метилового эфира 4,4,4-трифторацетоуксусной кислоты с бензиламином с образованием метилового эфира 3-(*N*-бензил)амино-4,4,4-трифторкетоновой кислоты (II), изомеризацией енамина (II) в метиловый эфир 3-(*N*-бензилиден)амино-4,4,4-трифтормасляной кислоты (III) и гидролизом основания Шиффа (III) до рацемата 3-амино-4,4,4-трифтормасляной кислоты (схема I).

<sup>1</sup> Сообщение I см. [1].



а) PhMe, TsOH, кипячение, 5 ч; б) NEt<sub>3</sub>, кипячение, 12 ч; в) 2 н. HCl, 20° С, 0,5 ч; б н. HCl, кипячение, 4 ч; КУ-2 (H<sup>+</sup>-форма).

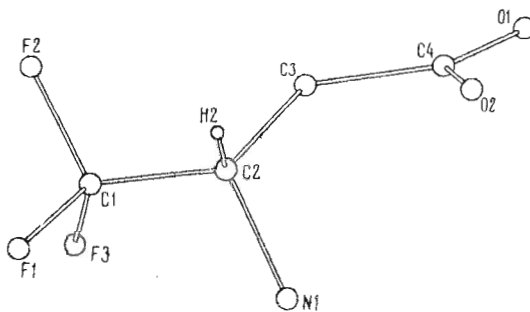
Схема 2



а) H<sub>2</sub>O/Me<sub>2</sub>CO, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, -10 + +20° С, 2 ч; б) H<sub>2</sub>O, pH 6,5—7,5, пенициллинацилаза; в) 6 н. HCl, 70° С, 6 ч; дауэкс-50 (H<sup>+</sup>-форма).

N-Фенилацетильное производное (IV) получено с выходом 93% ацилированием рацемата (I) хлорангидридом фенилуксусной кислоты в водном ацетоне в присутствии K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (схема 2).

Энзиматическое разделение (R, S)-(IV) проводили в водном растворе при pH 6,5—7,5 в присутствии 3 · 10<sup>-8</sup> М пенициллинацилазы. Установлено, что через 4,5 ч после начала гидролиза один из энантимеров рацемата (IV) полностью превращается в свободную аминокислоту (V), имеющую величину удельного оптического вращения +27,6. (-)-Энантиомер 3-амино-4,4,4-трифтормасляной кислоты (VII) получен химическим гидролизом не вовлекающегося в энзиматическую реакцию N-фенилацетильного производного (VI) (схема 2). Гомохираль-



Координаты неводородных атомов ( $\times 10^4$ ) и их эквивалентные изотропные температурные факторы  $B_{\text{экв}}(\text{Å}^2)$ 

Атом	X	Y	Z	$B_{\text{экв}}$
F1	-8242(3)	7511(2)	-2969(1)	2,41(3)
F2	-6832(3)	4840(3)	-2408(1)	3,02(3)
F3	-5012(3)	5120(3)	-3460(1)	2,79(3)
O1	-8422(3)	-477(3)	-4625(1)	1,72(3)
O2	-11650(3)	1556(3)	-4384(1)	1,67(3)
N	-9154(3)	5487(3)	-4463(1)	1,22(3)
C1	-7238(5)	5732(4)	-3140(1)	1,63(3)
C2	-8814(4)	4462(3)	-3661(1)	1,39(3)
C3	-7785(4)	2369(3)	-3787(1)	1,35(3)
C4	-9393(4)	1043(3)	-4304(1)	1,22(3)

Таблица 2

Свойства синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	Т. кип., °С (мм рт. ст), т. пл., °С (растворитель для кристаллизации)	$[\alpha]_D^{25}$ (с %, растворитель)
(I)	78	190 (MeOH)	
(II)	69	139—141 (15)	
(III)	71	136—139 (15)	
(IV)	93	144—146 (толуол)	
(V)	44	173—174 (MeOH)	+27,6 (1, 6 н. HCl)
(VI)	47	152—163 (толуол)	+4,6 (1, Me <sub>2</sub> CO)
(VII)	94	171—173 (MeOH)	-27,2 (1, 6 н. HCl)

ность соединений (+)-(V) и (-)-(VII) подтверждена результатом анализа методом лигандообменной хроматографии на хиральном сорбенте [5].

На основании данных рентгеноструктурного исследования (рисунок, табл. 1) установлено, что (-)-энантиомер (VII) имеет (S)-абсолютную конфигурацию хирального атома углерода или в рамках D, L-номенклатуры — D-конфигурацию. Соответственно (+)-энантиомеру (V) можно приписать (R)-или (L)-конфигурацию хирального атома углерода.

Таким образом, нами показано, что 3-(N-фенилацетил)амино-4,4,4-трифтормасляная кислота является субстратом для пенициллинацилазы, которая стереоспецифично катализирует гидролиз соответствующего (R)-энантиомера, что открывает возможность использования этого фермента для разделения других типов β-аминокислот.

Свойства синтезированных соединений представлены в табл. 2, их состав и строение подтверждаются данными элементного анализа и спектров ЯМР.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Соломонок В. А., Галаев И. Ю., Шлязас В. К., Козлова Е. В., Котик Е. В., Шишкин М. П., Галушко С. В., Рожено А. Б., Кудряв В. П. // Биосфера. химия. 1993. Т. 19. № 4. С. 467—473.

2. Шведас В. К. Итоги науки и техники. Биотехнология. М., 1988. Т. 7. С. 146.
3. Ojima I., Kato K., Nakahashi K., Fuchikami T., Fujita M.//J. Org. Chem. 1989. V. 54. P. 4511—4522.
4. Imperialii B.//Advances in Biotechnology/Ed. Mizrahi A. N. Y.: Alan R. Liss Inc., 1988. P. 97—131.
5. Galushko S. V., Shishkina I. P., Soloshonok V. A., Kukhar' V. P.//J. Chrom. 1990. V. 511. P. 115—121.

Поступила в редакцию  
6.VIII.1992

После доработки  
2.XII.1992

V. P. Kukhar, V. A. Soloshonok, V. K. Švedas\*,  
N. V. Kotik, I. Yu. Galaev\*, A. G. Kirilenko,  
E. V. Kozlova\*

## HOMOCHIRAL ORGANOELEMENT ANALOGUES OF NATURAL COMPOUNDS.

### II. 3-AMINO-4,4,4-TRIFLUOROBUTANOIC ACID: SYNTHESIS, ENZYMATIC RESOLUTION AND DETERMINATION OF ABSOLUTE CONFIGURATIONS OF ENANTIOMERS

*Institute of Bioorganic Chemistry and Petroleum Chemistry, Ukrainian Academy of Sciences, Kiev;*  
\* *A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, Moscow*

Racemic 3-amino-4,4,4-trifluorobutanoic acid was synthesized by condensation of 4,4,4-trifluoroacetoacetic acid methyl ester with benzylamine, isomerisation of the enamine to 3-(N-benzyliden)amino-4,4,4-trifluorobutanoic acid and hydrolysis of the Schiff base. The racemic amino acid was resolved via the penicillin acylase catalyzed hydrolysis of its phenylacetyl derivative, and the absolute configuration of the (—)-enantiomer was determined by X-ray analysis.  $[\alpha]_D^{25}$  for (R)- and (S)-3-amino-4,4,4-trifluorobutanoic acid (1%, 6 M HCl) are +27.6 and —27.2°, respectively.