

На правах рукописи

РАГУЛИН Валерий Владимирович

Двойная реакция Арбузова
и развитие методологии синтеза фосфоизостеров аминокислот и пептидов

02.00.03 – Органическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора химических наук

Черноголовка, 2014

**Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Институте физиологически активных веществ Российской академии наук (ИФАВ РАН)**

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, профессор, член-корреспондент НАН Украины, главный научный сотрудник Института элементоорганических соединений Российской академии наук им. А. Н. Несмеянова (ИНЭОС РАН)	Гололобов Юрий Григорьевич
доктор химических наук, профессор кафедры органической химии Химического факультета Московского государственного педагогического университета	Грачев Михаил Константинович
доктор химических наук, профессор кафедры органической химии Химического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова	Вацадзе Сергей Зурабович

Ведущая организация: Санкт-Петербургский государственный технологический институт
(технический университет).

Защита диссертации состоится «25» марта 2014 г. в 14 часов на заседании диссертационного
совета Д 002.102.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте
физиологически активных веществ Российской академии наук по адресу: 142432, Московская обл.,
Ногинский р-н, г. Черноголовка, Северный проезд, д.1

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ИФАВ РАН
(www.ipas.ac.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2014 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук

С.В. Афанасьева

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Одной из основных задач современного органического синтеза является разработка методов получения физиологически активных веществ (ФАВ). Структурная модификация природных соединений – один из подходов к поиску новых ФАВ. Замена карбоксильной группы в молекуле аминокислоты фосфонатным $P(O)(OH)_2$ или фосфинатным $P(O)(OH)CH_2$ фрагментом позволяет сконструировать молекулы фосфоновых или фосфиновых аналогов природных аминокислот. Для построения молекул фосфиновых кислотных псевдопептидов (пептидных изостеров) может быть использован другой прием, заключающийся в замене пептидной связи $C(O)NH$ негидролизующим фосфинатным фрагментом $P(O)(OH)CH_2$. Результат такого замещения представляет собой удобную имитацию переходного состояния гидролиза пептидной связи с тетракоординированным углеродным атомом и стабильную модель состояния субстрата в биологических процессах с участием по крайней мере двух классов гидролитических ферментов – металлопротеиназ и аспарагиновых кислых протеиназ.

В этой связи задача разработки новых удобных методов образования фосфор-углеродных связей является основной в развитии методологии синтеза фосфорильных изостеров аминокислот и пептидов. Целевыми объектами настоящего исследования были выбраны фосфорильные аналоги пептидов – фосфиновые кислотные *псевдо-пептиды*, а также *фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты*, ω -фосфорильные аналоги и гомологи моноаминодикарбоновых кислот – глутаминовой и аспарагиновой кислот.

Значительное внимание в процессе создания новой фосфор-углеродной связи вызывает использование силиловых эфиров фосфористой и гипофосфористой кислот, которое позволяет осуществить формирование соответственно одной и двух новых фосфор-углеродных связей.

Цель работы заключается в разработке новых подходов к формированию двух фосфор-углеродных связей из гипофосфитов, а также в их использовании для развития методологии синтеза фосфорильных структурных изостеров аминокислот и пептидов.

Научная новизна работы.

Найдена двойная реакция Арбузова генерированных *in situ* силиловых эфиров трехвалентного фосфора из гипофосфитов с образованием двух симметричных фосфор-углеродных связей.

Разработана общая методология образования двух несимметричных фосфор-углеродных связей путем присоединения генерированного *in situ* бис(триметилсилил)гипофосфита к различным непредельным соединениям с последующим взаимодействием образовавшегося силилфосфонита *in situ* с электрофилами по типу реакций Арбузова, Абрамова, Михаэля-Пудовика, Кабачника-Филдса.

Впервые предложена общая *one-pot* процедура синтеза циклических фосфиновых кислот.

Разработана *новая методология синтеза псевдо-пептидов*, заключающаяся в первоначальном присоединении гипофосфита к α -замещенному акрилату с образованием первой P-C связи с последующим формированием аминокислотной функции и образованием второй P-C связи псевдо-пептида.

Впервые обнаружены дегидрогалогенирующие свойства триалкилортоформиатов и предложен новый общий способ получения различных винилфосфорильных соединений.

Разработана общая процедура синтеза псевдо- γ -глутамилпептидов, псевдо- γ -аминобутаноилпептидов и других фосфиновых аналогов γ -аминомасляной кислоты (ГАМК).

Впервые обнаружены, выделены и идентифицированы в качестве интермедиатов реакции амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений N,N' -алкилиденбискарбаматы, исследовано взаимодействие гидрофосфорильных соединений с предварительно синтезированными бискарбаматами в среде уксусного ангидрида и других растворителях, изучено влияние строения бискарбаматов и фосфорной компоненты, а также кислотного катализа на протекание данной двухкомпонентной реакции.

Предложена новая процедура амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений в уксусном ангидриде при комнатной температуре.

Предложен новый механизм трехкомпонентной реакции амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений, включающей стадию образования N,N' -алкилиденбисалкилкарбаматов. Показано, что формирование фосфор-углеродной связи, протекает по типу реакции Арбузова с участием N -(алкилоксикарбонил)иминиевого катиона и P -ОАс производного трехвалентного фосфора, генерированных *in situ* из бискарбамата и исходного гидрофосфорильного соединения соответственно.

В соответствии с новым механизмом реакции предложена новая идеология генерирования реакционных интермедиатов, образующих P -С связь, добавлением трифторуксусного ангидрида к смеси фосфонистой кислоты и бискарбамата в органическом растворителе, на этой основе разработан новый подход к синтезу труднодоступных фосфоизостеров аминокислот и пептидов из ацеталей малостабильных альдегидов.

Разработан общий метод синтеза ω -галогеналкилфосфорильных соединений и предложена общая процедура синтеза фосфорсодержащих аминокарбоновых (ФА) кислот.

Разработана альтернативная процедура синтеза ФА кислот, которая заключается в присоединении аминокислотной функции к углеводородному фрагменту с последующим фосфорилированием образующихся полупродуктов.

Предложена общая процедура синтеза α -замещенных ω -фосфорилированных аналогов глутаминовой кислоты и соответствующих гомологов алкилированием ω -галогеналкилфосфорильными соединениями шиффовых оснований эфиров аминокислот или их присоединением к винилфосфорильным соединениям.

Развитие *one-pot* процедуры образования двух фосфор-углеродных связей позволило разработать синтез новых фосфорных аналогов аминокислот, в том числе фосфиновых бис(ω -амино- ω -карбоновых) кислот.

Практическая значимость работы.

На основании разработанной методологии синтеза фосфиновых кислот из гипофосфитов стал доступным широкий ряд фосфиновых структурных изостеров аминокислот и пептидов с практически полезными свойствами, являющихся лигандами глутаматных рецепторов и ингибиторами ферментов.

Разработаны новая процедура синтеза природной фосфиновой аминокарбоновой кислоты – фосфинотрицина, обладающей рядом практически полезных свойств, и общий метод синтеза фосфорильных аналогов глутаминовой кислоты. Разработан синтез о-фосфометилфенилаланина, проявившего свойства антагониста NMDA рецепторов и противосудорожные свойства.

Запатентованы способ получения ω -галогеналкилфосфонатов, ключевых полупродуктов синтеза фосфорсодержащих аминокарбоновых кислот, получены патенты на способ получения псевдо- γ -глутамилпептидов и на ферментативный синтез энантиомеров некоторых псевдопептидов.

Личный вклад автора. Диссертация представляет собой результаты исследований, выполненных лично автором или при его непосредственном участии. Автору принадлежат постановка задач, выбор стратегии исследования и ее обоснование, планирование и проведение эксперимента, анализ полученных экспериментальных данных и обобщение результатов, подготовка публикаций и апробация материалов работы.

Апробация работы. Основные результаты исследования были доложены на Всесоюзном семинаре “Химия физиологически активных веществ” (Черноголовка, 1989), Всесоюзном совещании “Глутаматные рецепторы” (Москва, 1987), XIV Менделеевском съезде по общей и прикладной химии, Москва, 1989), межреспубликанской научно-практической конференции «Синтез, фармакология и клинические аспекты новых психотропных и сердечно-сосудистых веществ» (Волгоград, 1989), V Московской конференции по органической химии и технологии (1990), Симпозиуме по органической химии (С.-Петербург, 1995), конференции “Химия фосфорорганических соединений и перспективы ее развития на пороге 21 века” памяти академика М.И.Кабачника (Москва, 1998), международных конференциях по химии соединений фосфора (Казань, 1996, 2005), (С.-Петербург, 2002, 2008) и международной конференции “Основные тенденции развития химии в начале XXI века”(С.-Петербург, 2009), на XIX Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Волгоград, 2011).

Публикации. Основное содержание работы изложено в 46 публикациях, включая 3 патента и 43 оригинальные статьи в российских и международных изданиях, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 339 страницах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитированной литературы, содержит 24 таблицы, 14 рисунков, 55 схем. Список цитируемой литературы включает 315 публикаций.

Основное содержание работы

1. Метод синтеза фосфиновых кислот

1.1. Двойная реакция Арбузова

Одним из общих методов образования фосфор-углеродной связи является реакция Арбузова. Ее классический вариант обычно предполагает необходимость предварительного синтеза соответствующих эфиров фосфористой или фосфонистой кислот и выделение алкилгалогенида в качестве побочного продукта реакции. В случае близкой реакционной способности исходного электрофила и выделяющегося алкилгалогенида происходит образование смеси продуктов. Кроме

того, для получения свободной фосфоновой или фосфиновой кислоты из образующегося в результате реакции фосфоната или фосфината необходима стадия гидролиза, вследствие чего этим способом нельзя получить функционально замещенные фосфиновые кислоты, содержащие гидролитически лабильные группы.

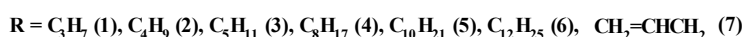
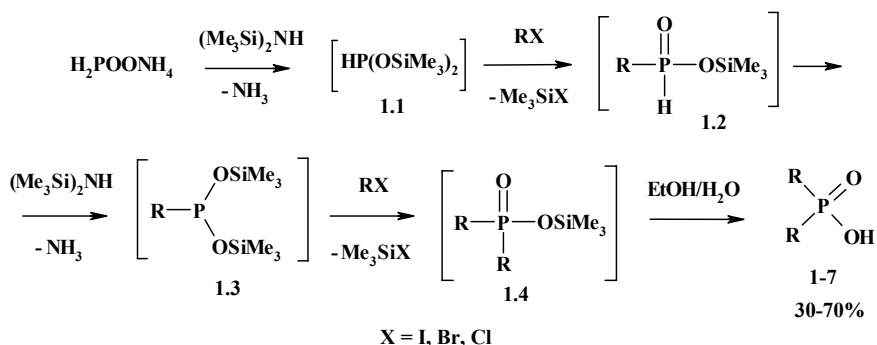
Применение процедуры, включающей силилирование гидрофосфорильных соединений с образованием фосфорилирующего агента *in situ* в реакционной массе и последующее взаимодействие его с соответствующим электрофилом, позволяет разрешить эти проблемы. Алкоголиз силиловых эфиров протекает в мягких условиях с сохранением многих гидролитически неустойчивых функциональных групп, что позволяет применить его для синтеза фосфорсодержащих аминокислот различного строения.

Разработка методологии синтеза новых фосфиновых аналогов аминокислот и, особенно, фосфиновых кислых аналогов пептидов предполагает необходимость образования в процессе реакции двух фосфор-углеродных связей.

Использование гипофосфитов в качестве исходных соединений позволяет формировать две фосфор-углеродные связи в одном реакционном сосуде в результате двух последовательных реакций, протекающих по типу реакции Арбузова или Михаэля-Пудовика с образованием фосфиновых кислот симметричного строения. Дальнейшее развитие этого подхода с разделением стадий образования первой и второй фосфор-углеродных связей и с использованием большого ряда разноименных электрофилов привело к получению функционально замещенных фосфиновых кислот несимметричного строения и разработке методов синтеза фосфиновых кислых псевдопептидов различного строения.

Данный подход использует бис(триметилсилил)гипофосфит *in situ* в качестве ключевого интермедиата, который, как было показано ранее (Воронков М.Г. с соавт., 1970) образуется взаимодействием гипофосфита аммония и гексаметилдисилазана (схема 1). Предложена “*one-pot*” процедура, предусматривающая проведение реакций образования бис(триметилсилил)гипофосфита (БСГ) и его участия в дальнейших превращениях без выделения промежуточных продуктов.

Схема 1



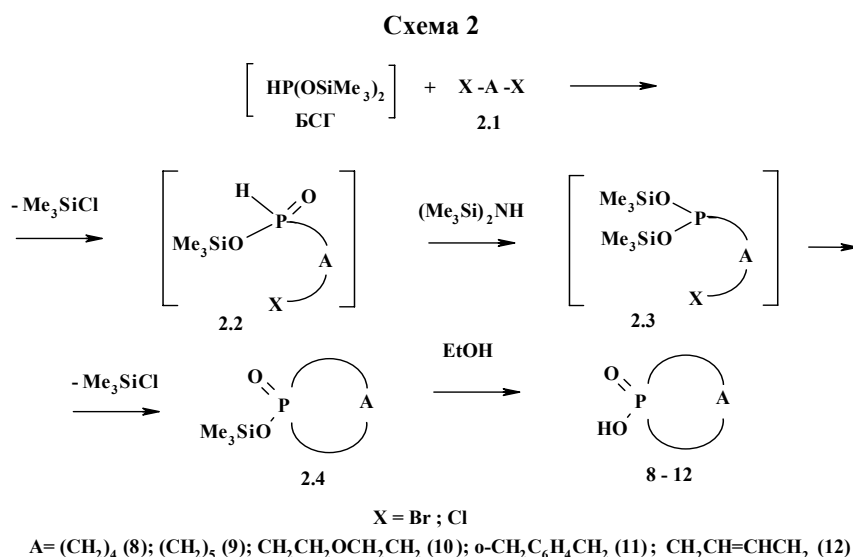
Учитывая высокую склонность БСГ к гидролизу и окислению влагой и кислородом воздуха, его способность к самовоспламенению под действием кислорода, все стадии синтеза были проведены в одном реакционном сосуде, без выделения неустойчивых промежуточных силилфосфонитов, что является основным достоинством предлагаемого метода.

Синтез фосфиновых кислот симметричного и несимметричного строения осуществляли на основе гипофосфита аммония, при необходимости заменяя его на смесь гипофосфита калия и аммония хлорида. В втором случае выход БСГ снижается (65% против 89%). Использование гипофосфита натрия менее эффективно, так как он существует в виде гидрата.

Интермедиат синтеза БСГ **1.1** (схема 1), способен последовательно взаимодействовать с двумя галогеналканами по типу реакции Арбузова с образованием двух фосфор-углеродных связей, приводящей к диалкилфосфиновым кислотам **1-7**. На ключевой стадии используется свойство гидрофосфорильных соединений под воздействием силилирующих агентов образовывать силиловые эфиры производных трехвалентного фосфора. Гидрофосфорильные соединения **1.2**, содержащие одну фосфор-углеродную связь, превращаются в силиловые эфиры фосфонистых кислот **1.3**, способных вступать в реакцию Арбузова, приводящую к диалкилфосфиновым кислотам **1-7** после алкоголиза соответствующих силиловых эфиров **1.4**

1.2. Синтез циклических фосфиновых кислот

Предлагаемый нами метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов позволяет, используя в качестве галогенпроизводных α,ω -дигалогеналканы **2.1**, получить циклические фосфиновые кислоты **8-12** в соответствии с приведенной ниже схемой (схема 2).

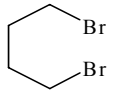
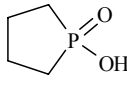
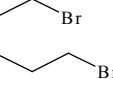
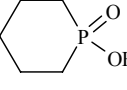
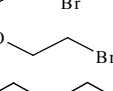
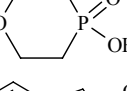
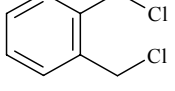
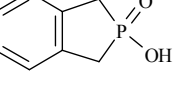
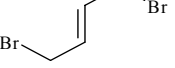
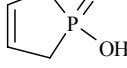


По аналогии с разд. 1.1., последовательно формируются две фосфор-углеродные связи через промежуточное силилирование гидрофосфорильной формы **2.2**, которая образуется в результате первой реакции Арбузова с участием БСГ *in situ* и молекулы α,ω -дигалогеналкана.

ω -Галогеналкилфосфонит **2.3** содержит два реакционных центра – нуклеофильный атом трехвалентного фосфора, генерированный *in situ* в условиях реакции, и электрофильный ω -углеродный атом при атоме галогена. Это создает благоприятные условия для протекания внутримолекулярной реакции Арбузова: атака неподеленной электронной пары атома фосфора по электрофильному ω -углеродному атому приводит к выделению триметилсилилгалогенида. В результате образуется вторая фосфор-углеродная связь в соответствующем силиловом эфире циклического фосфината **2.4**. Размер цикла определяется длиной углеводородной цепочки **A**.

Этим способом получены пяти- и шестичленные циклические фосфиновые кислоты **8-12**. Для предотвращения межмолекулярных реакций использовали разбавление реакционной смеси абсолютным толуолом или ксилолом. Для более напряженных пятичленных циклических фосфиновых кислот характерно смещение сигнала атома фосфора в спектре ЯМР ³¹P в область 75-84 м.д., в то время как в шестичленных циклах он наблюдался при 40-60 м.д.

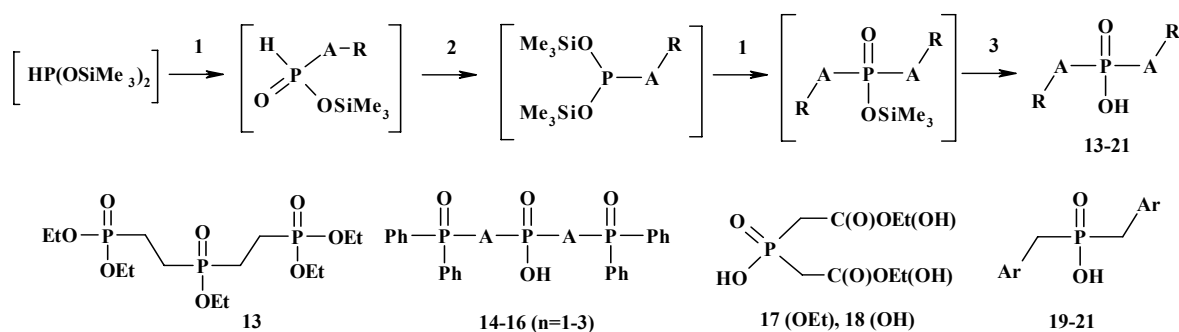
Таблица 1. Циклические фосфиновые кислоты

№	Исходный α, ω -дигалогеналкан	Фосфиновая кислота	Выход, %	Т.пл., °С	$\delta^{31}\text{P}$ (CDCl_3), δ , м.д.
8			43	50-51 (эфир)	83.7
9			36	128-129 (ацетон)	51.3
10			31	100-101 (ацетон)	43.3
11			39	155-156 (ацетон-спирт, 8:3)	60.5
12			11	86-88 (эфир)	75.4

1.3. Функционально замещенные галогеналканы в двойной реакции Арбузова

Описанная выше процедура синтеза диалкилфосфиновых кислот была распространена на функционально замещенные галогеналканы - ω -галогеналкилфосфорильные соединения, галогенметилароматические производные, галогенацетаты и ω -галогеналкилацетамидомалоновые эфиры. При введении в реакцию диэтил 2-бромэтилфосфоната и 2-бромэтилдифенилфосфиноксида образуются соответствующие фосфиновые кислоты **13,15**, в молекулах которых атомы фосфора соединены двумя метиленовыми фрагментами, что приводит к характерному расщеплению сигналов ядер фосфора в спектре ЯМР ^{31}P . В спектрах наблюдаются два сигнала различной интенсивности - дублеты в области 30.8 м.д. (для фосфонатного фрагмента) с КССВ $^3J_{\text{P-P}}$ 69.0 Гц и 35.0 м.д. (для фосфиноксидного) с КССВ $^3J_{\text{P-P}}$ 51.3 Гц, отвечающие двум крайним атомам фосфора соответственно фосфонатной или фосфиноксидной природы.

Схема 3



1. X-A-R, 2. $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{NH}$, 3. $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$

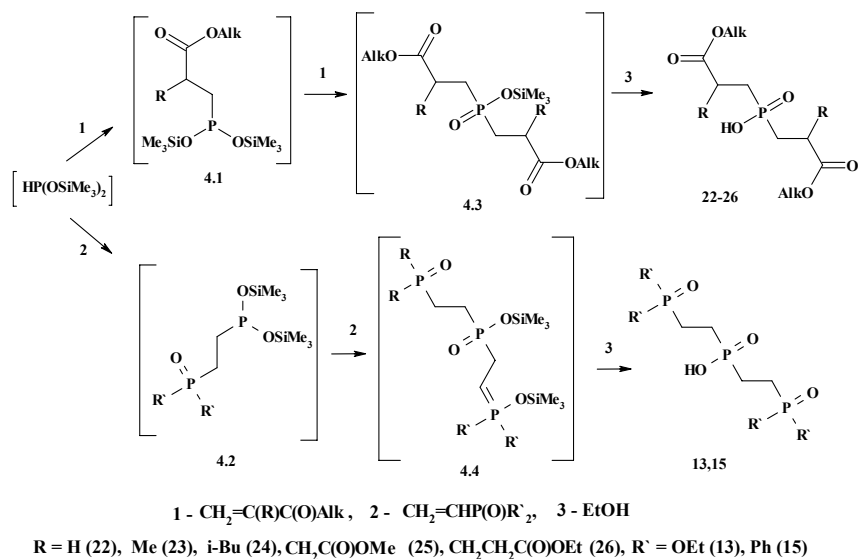
X = Br, Cl; A = $(\text{CH}_2)_n$, n = 1 (14), 2 (15), 3 (16), R = $\text{P}(\text{O})\text{Ph}_2$; n = 2, R = $\text{P}(\text{O})\text{OEt}_2$ (13)

n = 1, R = COOEt (17), CO OH (18), Ar = Ph (19), p- $\text{CF}_3\text{O-C}_6\text{H}_4$ (20), m- $\text{MeC}(\text{O})\text{-C}_6\text{H}_4$ (21)

Кроме того, в спектрах трифосфорильных соединений **13, 15** содержатся триплеты в области 54.5 м.д. и 48.5 м.д. центральных атомов фосфора симметричных фосфиновых кислот, содержащих фосфонатные и фосфиноксидные фрагменты, соответственно. При увеличении числа метиленовых фрагментов спектр ЯМР ^{31}P **14, 16** представляет собой два синглета с соотношением интенсивностей 2:1.

1.4. Двойное присоединение по Михаэлю-Пудовику. Акрилаты и винилфосфорильные соединения в качестве непредельного компонента в синтезе фосфиновых кислот

Схема 4



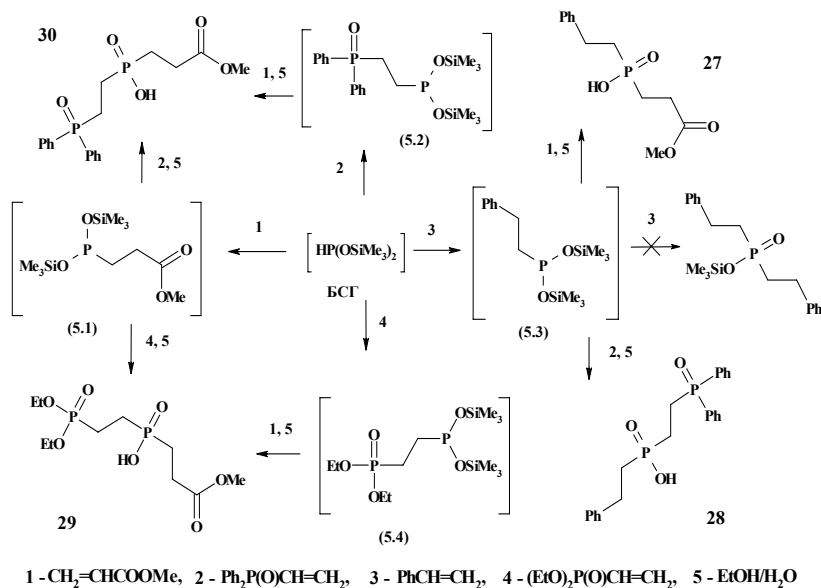
Генерированный *in situ* БСГ присоединяется по активированной двойной углеродной связи акрилата или винилфосфорильного соединения с образованием силилфосфонитов 4.1 и 4.2, которые способны *in situ* присоединяться ко второй молекуле непредельного соединения с образованием соответствующих фосфиновых кислот.

В качестве α,β -непредельных карбоновых и винилфосфорильных соединений были изучены метилакрилат, метил- и этил α -замещенные акрилаты, винилфосфонат и дифенилвинилфосфиноксид. После алкоголиза соответствующих силиловых эфиров фосфиновых кислот 4.3 и 4.4. образуются соответствующие дикарбоновые (22-26) или трифосфорильные (13,15) соединения симметричного строения.

1.5. Синтез фосфиновых кислот несимметричного строения. Двойное присоединение по Михаэлю-Пудовику к разноименным непредельным соединениям.

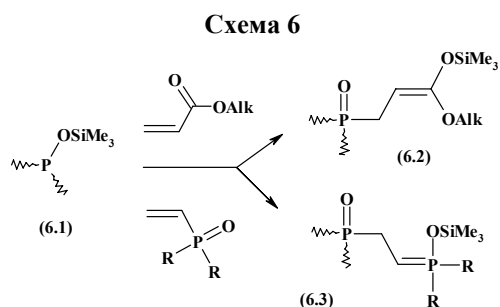
Методология двойного постадийного присоединения БСГ *in situ* и промежуточных соответствующих бистриметилсилилфосфонитов 5.1, 5.2, 5.3 и 5.4 по Михаэлю-Пудовику с использованием разноименных непредельных соединений позволяет получить фосфиновые кислоты несимметричного строения в соответствии со схемой 5.

Схема 5



В качестве непредельного компонента были исследованы метилакрилат, дифенилвинилфосфиноксид, диэтилвинилфосфонат, которые с хорошими выходами в определенных условиях образуют продукты 1:1 и 1:2 присоединения. В случае стирола получается только продукт 1:1 присоединения – фосфонит (5.3) даже в избытке непредельного компонента.

Отсутствие продукта двойного присоединения стирола позволяет исключить механизм 1,2-присоединения силилфосфонита (6.1) ко второй молекуле акрилата или винилфосфорильного соединения. По-видимому, происходит присоединение атома фосфора к β -углеродному атому непредельного компонента и триметилсилильной группы – к атому кислорода группы C=O или P=O алкена с промежуточным образованием силилового эфира соответствующего енола (6.2) или илида (6.3).



Найдены мягкие условия региоселективного 1:1

присоединения бис(триметилсилил)гипофосфита к акрилатам и винилфосфорильным соединениям.

Последующее 1,4-присоединение образовавшихся бис(триметилсилил) фосфонитов 5.1, 5.2 и 5.4 (схема 5) к α,β -непредельным соединениям (обычно без выделения из реакционной среды) позволяет получить фосфиновые кислоты несимметричного строения 27- 30 (схема 5).

1.6. Образование фосфор-углеродных связей в фосфиновых кислотах несимметричного строения путем последовательного осуществления реакций разного типа

Мы предлагаем общую стратегию синтеза с первоначальным присоединении бис(триметилсилил)гипофосфита к активированным алкенам по Михаэлю-Пудовику с образованием силиловых эфиров фосфонистых кислот, которые способны вступать в различные реакции, характерные для производных трехвалентного фосфора, например, реакции Арбузова, Абрамова, Кабачника-Филдса, Михаэля, Пудовика и другие реакции. В качестве непредельных соединений были исследованы стирол, эфиры α,β -непредельных карбоновых кислот, винилфосфонат и Шиффа основания.

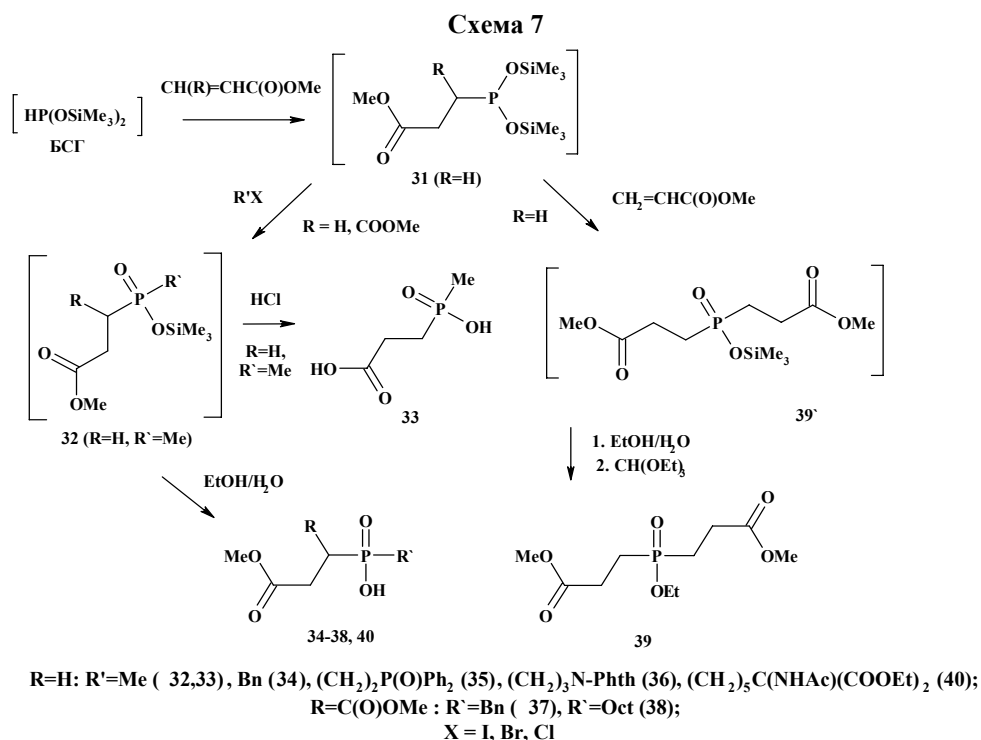
1.6.1. Акрилаты в качестве непредельного компонента синтеза

Использование в качестве непредельного компонента реакционноспособных α,β -непредельных карбоксильных соединений позволяет получить различные фосфиновые карбоновые кислоты несимметричного строения. Бис(триметилсилил)гипофосфит (БСГ) *in situ* присоединяется по активированной двойной углерод-углеродной связи акрилата с образованием фосфонитов, которые далее алкилируют галогенпроизводными по типу реакции Арбузова, Алкоголиз полученных силилфосфинатов дает целевые фосфиновые карбоновые кислоты.

Образование ключевого интермедиата синтеза фосфонита (31) (R=H) (продукта присоединения БСГ к метилакрилату) проходит экзотермически и подтверждено методами спектроскопии ^1H и ^{31}P ЯМР. Его превращения могут пойти по двум различным направлениям. В условиях получения БСГ (100÷120°C) и в избытке акрилата основным результатом реакции является продукт присоединения двух молекул акрилата по типу реакций Михаэля-Пудовика – симметричная фосфиновая кислота (39).

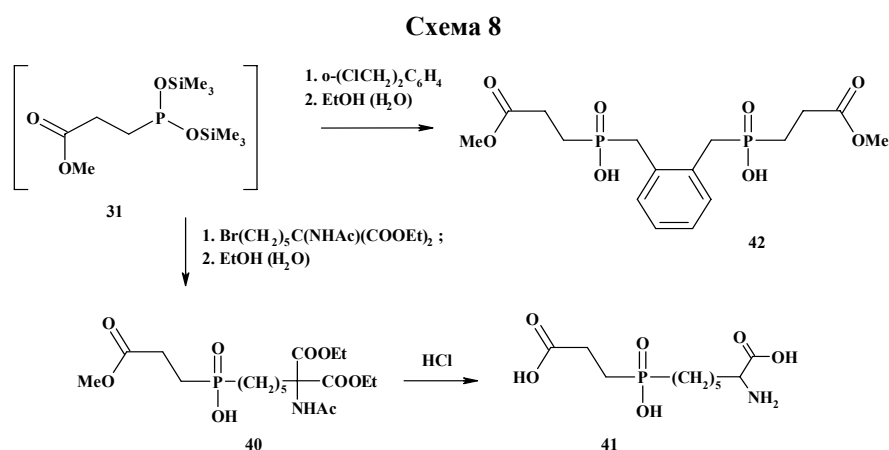
В более мягких условиях (температура не выше 20-40°C) и при относительном недостатке метилакрилата можно избежать или свести к минимуму образование побочного продукта симметричного строения. В этом случае можно направить взаимодействие фосфонита 31 с галогеналканами по схеме реакции Арбузова с образованием различных фосфиновых кислот

несимметричного строения. Процесс проводили в *one-pot* варианте – без выделения промежуточных продуктов.



При взаимодействии диметилового эфира малеиновой кислоты с БСГ не было обнаружено образования симметричного продукта присоединения двух молекул алкена даже при 100–120°C. Возможной причиной является меньшая реакционная способность этого непредельного соединения, обусловленная большим пространственным экранированием двойной связи диметилового эфира малеиновой кислоты по сравнению с метилакрилатом.

При использовании в качестве галогеналкана метилиодида в ходе реакции образуется триметилиодсилан, который способен частично дезалкилировать метилоксикарбонильную группу в силилфосфинате. Алкоголиз и последующий кислотный гидролиз образующегося продукта дают целевую кислоту $\text{MeP}(\text{O})(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ (33).



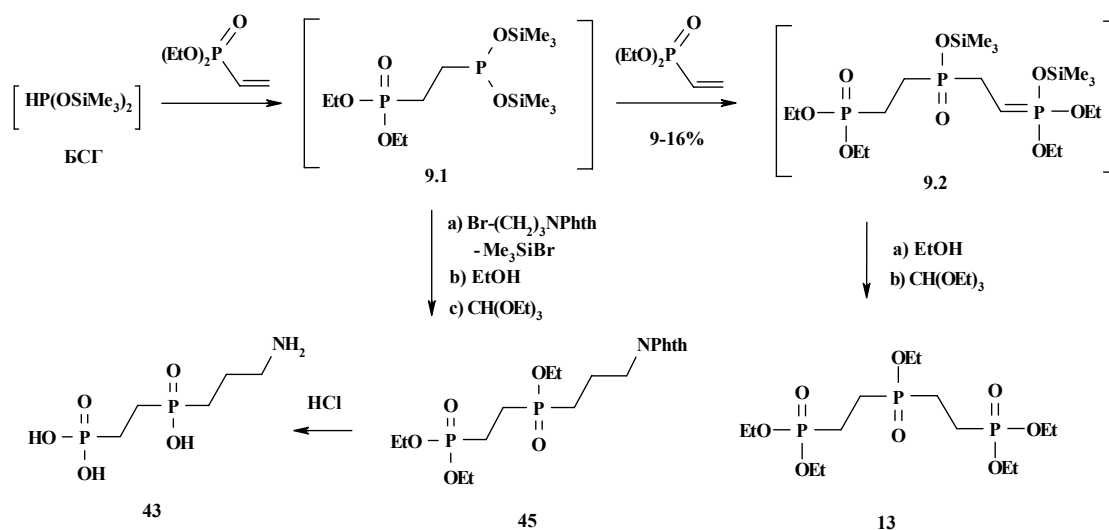
В случае активированных хлоралканов и функционально замещенных бромалканов реакции идут однозначно, не осложняются побочными процессами и приводят к различным фосфиновым кислотам несимметричного строения.

Применение 5-бромамилацетамидомалонового эфира позволяет получить фосфиновую кислоту 40, в результате кислотного гидролиза которой образуется новый тип фосфиновых аминокарбоновых кислот 41. Введение в реакцию α,ω -дигалогеналканов приводит к

потенциальным фосфорсодержащим комплексообразователям – подандам **42**, что показано на примере *o*-ксилилендихлорида.

1.6.2. Винилфосфонат в качестве неперделённого компонента синтеза

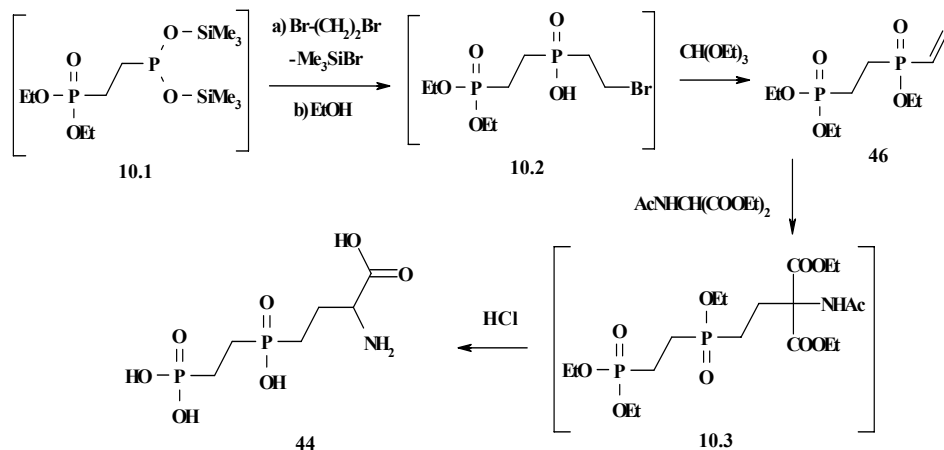
Схема 9



Ключевой интермедиат синтеза бис(триметилсилил) фосфоноэтилфосфонит **9.1** был алкилирован по типу реакции Арбузова. Для образования второй фосфор-углеродной связи использовали *N*-(3-бромпропил)фталимид. Мягкие условия присоединения БСГ к диэтиловому эфиру винилфосфоновой кислоты позволяют исключить или свести к минимуму образование продукта двойного присоединения по Михаэлю-Пудовику и получить бис(триметилсилиловый) эфир β -(диэтоксифосфинил)этилфосфонистой кислоты (**9.1**). Это интермедиат далее был использован в синтезе новых *бисфосфорильных* аналогов γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) (**43**) (схема 9) и глутаминовой кислоты (**44**) (схема 10).

Наряду с целевым продуктом реакции - γ -(фталилимино)пропилфосфинатом **45** (схема 9), был выделен бис[β -(диэтоксифосфинил)этил]фосфинат **13** симметричного строения. Последний является продуктом присоединения второй молекулы винилфосфоната к промежуточному силилфосфоноэтилфосфониту **9.1** через стадию образования силилфосфината **9.2**. Кислотный гидролиз γ -(фталилимино)пропилфосфината **45** дает бисфосфорильный аналог ГАМК **43**.

Схема 10



Синтез *бисфосфорильного* аналога глутаминовой кислоты **44** (схема 10) был осуществлен взаимодействием ключевого интермедиата фосфоноэтилфосфонита **10.1** *in situ* с избытком дибромэтана.

После алкоголиза образуется 2-(диэтоксифосфинил)этил-2-бромэтилфосфиновая кислота **10.2** (зарегистрировано с помощью спектроскопии ^1H и ^{31}P ЯМР), которую без выделения

обрабатывали избытком триэтилортоформиата. Протекающие одновременно процессы дегидробромирования и этерификации кислоты **10.2** приводят к триэтиловому эфиру β -(фосфоно)этилвинилфосфиновой кислоты **46**. Присоединение аминокислотной функции с последующим кислотным гидролизом продукта реакции **10.3** и ионообменной хроматографией позволяет получить целевую аминокислоту **44** – бисфосфорильный аналог глутаминовой кислоты.

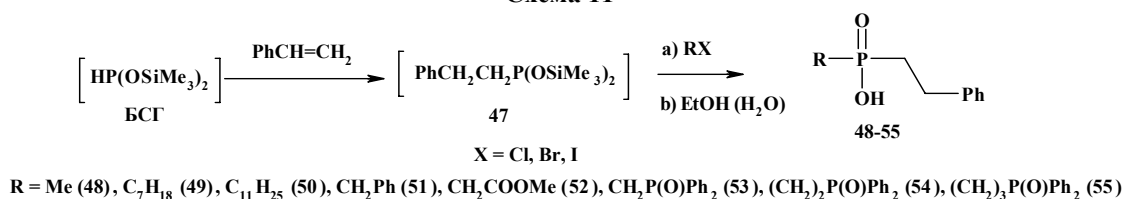
1.6.3. Стирол в качестве непредельного компонента синтеза.

Реакция Арбузова на втором этапе синтеза

Стирол, в отличие от акрилатов и винилфосфорильных соединений, образует с БСГ только продукт 1:1 присоединения даже при высоких температурах и избытке по отношению к фосфорному компоненту. По этой причине данный алкен наиболее активно использовался нами при изучении предлагаемого метода. В качестве галогеналканов для образования второй фосфор-углеродной связи были исследованы метилиодид, бензилхлорид, хлорацетат, алкилбромиды, ω -бромалкилфосфиноксиды.

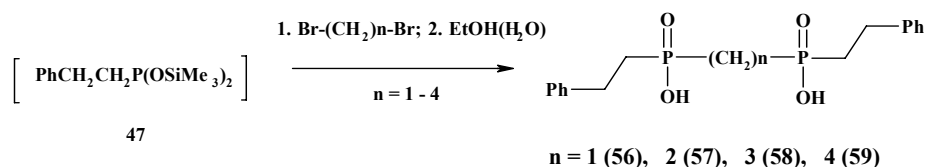
При одновременном смешивании и кипячении стирола, гипофосфита аммония и гексаметилдисилазана в течение 3-4 часов смеси с высоким выходом (87%) образуется бис(триметилсилиловый) эфир фенетилфосфонистой кислоты **47**. Это показано методом спектроскопии ЯМР ^{31}P и ^1H спектроскопии, а также экспериментом с выделением фосфонита **47** в индивидуальном виде. При использовании смеси гипофосфита калия и хлорида аммония выход соединения **47** снижается до 75%.

Схема 11



Синтез целевых фосфиновых кислот осуществляли в одном реакционном сосуде без выделения промежуточных соединений. Использование в качестве галогенпроизводных α,ω -дигалогеналканов позволяет получить α,ω -алкилен-бисфосфиновые кислоты **56-59**:

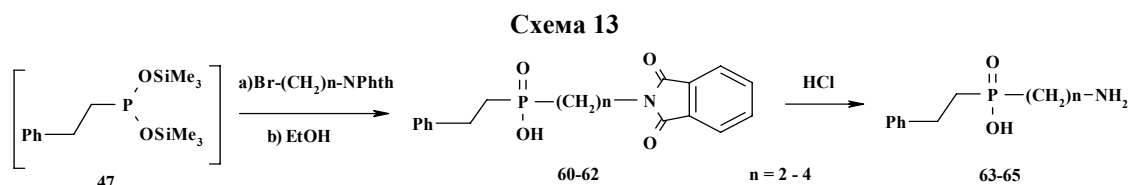
Схема 12



Фосфонит **47** способен окисляться, поэтому в некоторых случаях в спектре ЯМР ^{31}P реакционной массы присутствует примесный (3÷5%) сигнал в области 25.0 м.д., соответствующий бис(триметилсилиловому) эфиру фенетилфосфоновой кислоты. Этот побочный продукт легко отделяется при выделении целевых фосфиновых кислот **48-59**.

1.6.3.1. Синтез ω -аминоалкилфосфиновых кислот

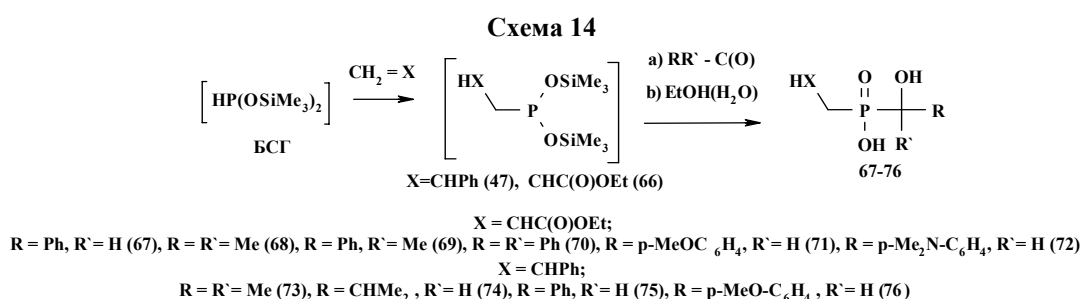
Для образования второй фосфор-углеродной связи по реакции Арбузова были использованы также ω -функционально замещенные галогеналканы. Их взаимодействие с фосфонитом **47** *in situ* позволило синтезировать новые функционально замещенные фосфиновые кислоты **60-65**.



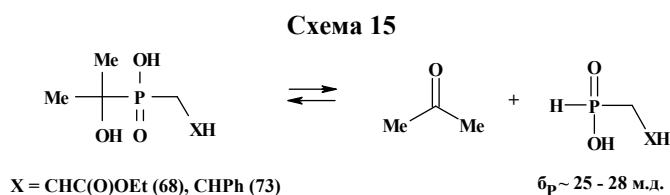
При использовании N-(ω-бромалкил)фталимидов образуются ω-(N-фталилимино)алкилфенетилфосфиновые кислоты **60-62**, гидролиз которых дает соответствующие ω-аминоалкилфосфиновые кислоты **63-65** (схема 13).

1.6.4. Реакция Абрамова на втором этапе синтеза. α-Гидроксиалкилфосфиновые кислоты

Методология синтеза фосфиновых кислот несимметричного строения получила дальнейшее развитие с использованием карбонильных соединений, которые реагируют с силилфосфонитами, образующимися в результате присоединения БСГ *in situ* к алкенам. Это превращение позволило получить ряд новых α-гидроксиалкилфосфиновых кислот **67-76** (схема 14).



Фосфониты HX-CH₂P(OSiMe₃)₂ (**47,66**), продукты присоединения БСГ *in situ* к молекуле активированного алкена (CH₂=X), способны в свою очередь *in situ* присоединяться по C=O связи альдегида или кетона по типу реакции Абрамова. В результате образуются α-гидроксиалкилфосфиновые кислоты (**67-76**) после алкоголиза соответствующих силиловых эфиров (схема 14). В качестве непрелдельного компонента синтеза были исследованы этилакрилат и стирол, в качестве карбонильной компонента – ацетон, изомаляный альдегид, бензальдегид, п-(метокси)бензальдегид, п-(диметиламино)бензальдегид, ацетофенон, бензофенон.



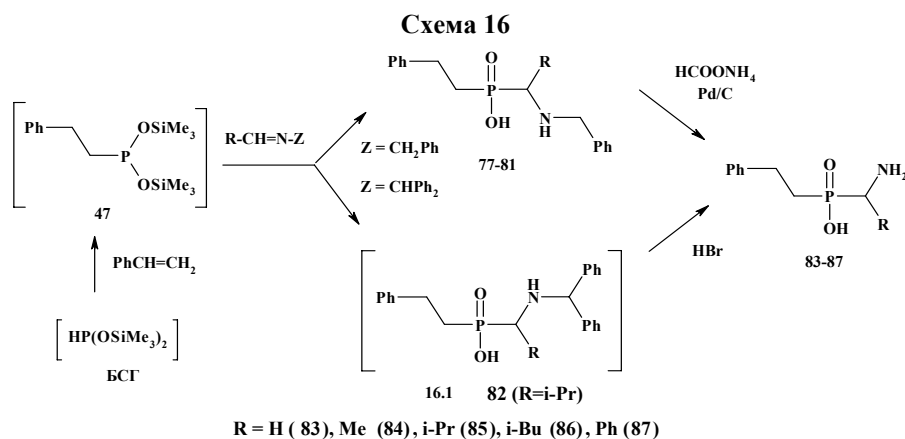
Фосфиновые кислоты **68** и **73**, содержащие 1-гидрокси-1-метилэтильный фрагмент (т.е. полученные из ацетона), наиболее неустойчивы и диссоциируют на исходные соединения, что подтверждает обратимый характер реакции Абрамова.

1.6.5. Синтез α-аминоалкилфосфиновых кислот.

Основания Шиффа в качестве непрелдельного компонента

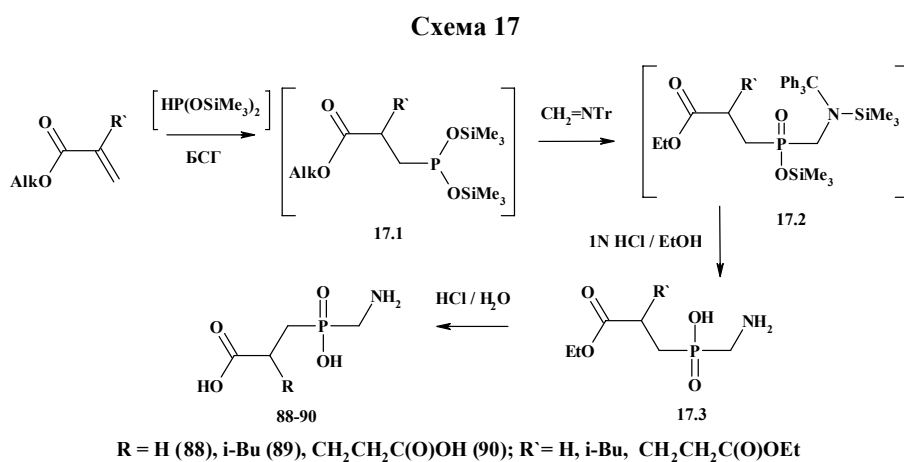
Однореакторный путь формирования двух несимметричных фосфор-углеродных связей путем постадийного присоединения промежуточных силиловых эфиров трехвалентного фосфора к разным алкенам по типу реакции Михаэля-Пудовика стал основой процедуры синтеза α-аминоалкилфосфиновых кислот.

Новые α-гидроксиалкилфосфиновые кислоты **67-76** – относительно термически нестабильные кристаллические вещества.



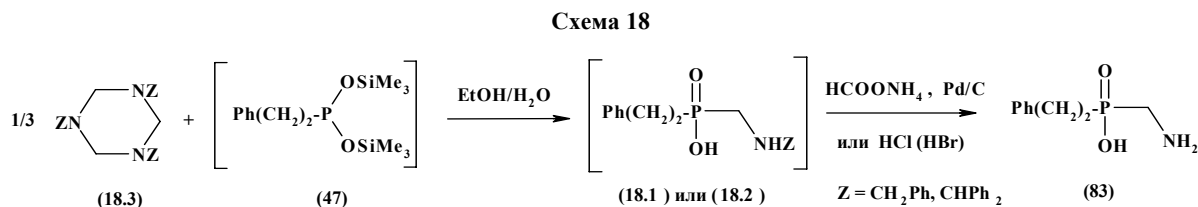
Бис(триметилсилил)фосфонит, образующийся в результате присоединения бис(триметилсилил)гипофосфита *in situ* к стиролу (47) (схема 16) или α -замещенному акрилату (17.1) (схема 17), *in situ* присоединяется к шиффовым основаниям.

Последние были предварительно получены из бензиламина, дифенилметиламина (схема 16) или тритиламина (схема 17) и соответствующих альдегидов.



Снятие N-защитных групп путем гидрогенолиза или кислотного гидролиза, а также удаление эфирных функций кислотным гидролизом приводит к свободным α -аминоалкилфосфиновым кислотам **83-90** (схемы 16, 17).

Процедура синтеза псевдо-глицил-пептидов, α -аминометилфосфиновых кислот, включает использование N-триметилметанамина, недостаточно устойчивого в условиях присоединения силиловых эфиров трехвалентного фосфора. Поэтому для синтеза аминометилфенетилфосфиновой кислоты **83** мы заменили его на иминиевые тримеры – 1,3,5-трис(Z)-гексагидро-s-триазины **18.3**, содержащие устойчивые бензильный или дифенилметильный заместители при атомах азота (схема 18).

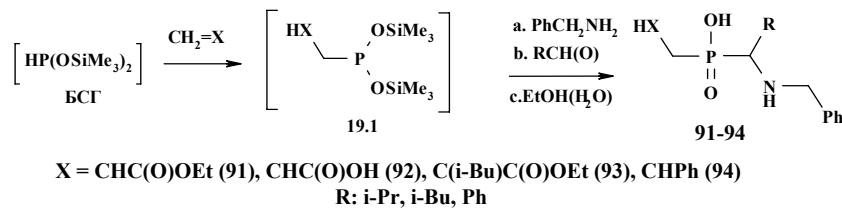


1.7. Реакция Кабачника-Филдса при образовании второй фосфор-углеродной связи.

1.7.1. Силилфосфониты в трехкомпонентной реакции Кабачника-Филдса

Альтернативный подход к синтезу α -аминоалкилфосфиновых кислот - трехкомпонентный вариант реакции Кабачника – Филдса с участием силилфосфонитов $\text{HXCH}_2\text{P}(\text{OSiMe}_3)_2$, генерируемых *in situ* с последовательным введением в реакционную среду аминного компонента и карбонильного соединения.

Схема 19



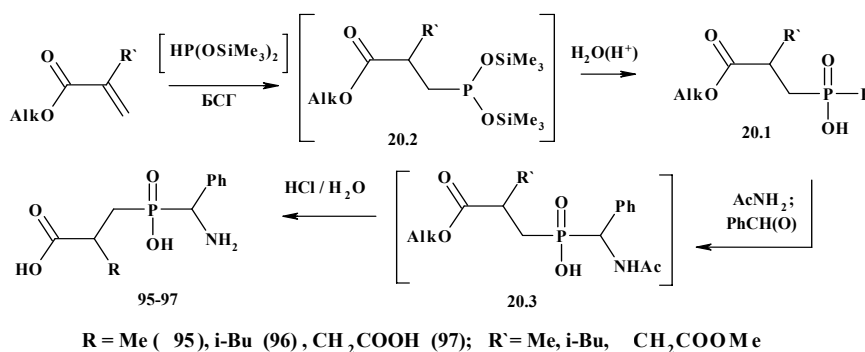
Удовлетворительные выходы фосфиновых кислот (**91-94**) были получены для бензиламина в качестве аминного компонента реакции, а для получения свободных аминокислот требуется гидрогенолиз.

Ввести в реакцию дифенилметиламин или третиламин, как амины с более удобными для последующего удаления защитными группами, в данных условиях не удалось.

1.7.2. Фосфонистые кислоты в амидной версии реакции Кабачника-Филдса.

Трехкомпонентная реакция с участием фосфонистых кислот и ацетамида в качестве аминного компонента в среде уксусного ангидрида привела к α -аминофосфиновым кислотам (**95-97**) (схема 20) с умеренными выходами только при использовании ароматических альдегидов. Безуспешными были попытки ввести в реакцию алифатические альдегиды, а также фталимид, бензамид, трифторацетамид.

Схема 20

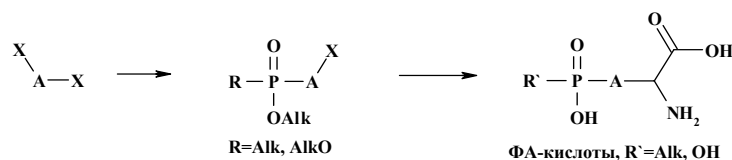


Полученные результаты позволяют сделать вывод о необходимости поиска простой и эффективной процедуры введения в молекулу α -аминофосфорильной функции. Особый интерес представляет синтез N-защищенных α -аминофосфиновых соединений на основе фосфонистых кислот, содержащих структурный изостер природной аминокислоты, - короткий путь к фосфиновым кислотным аналогам α, α' -дипептидов.

2. Развитие методологии синтеза фосфорсодержащих аминокислот.

2.1. Первоначальное фосфорилирование с последующим присоединением аминокислотной функции

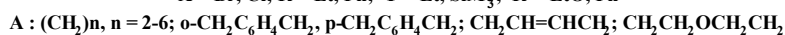
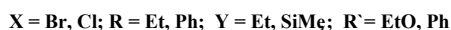
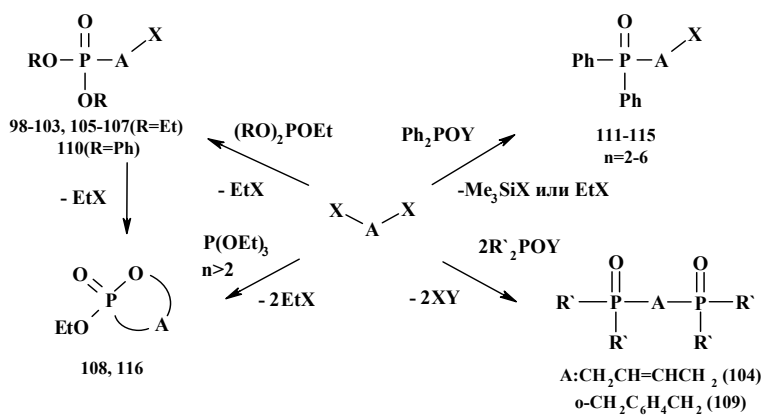
Замена карбоксильной $\{\text{C}(\text{O})\text{OH}\}$ группы в молекуле аминокислоты фосфонатным $\{\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2\}$ фрагментом является наиболее распространенным приемом для построения молекул фосфиновых аналогов природных аминокислот. Этот подход позволяет получить большое число α -аминофосфиновых кислот, проявляющих разнообразную физиологическую активность. Замена ω -карбоксильной функции фосфонатным или фосфинатным фрагментом в молекуле моноаминодикарбоновых кислот приводит к необычному типу фосфорсодержащих аминокислот (ФА).



Такие аминокислоты проявляют высокие противоэпилептические, противосудорожные и другие свойства, определяющие процессы передачи и переработки информации в центральной нервной системе. Это обстоятельство обусловило необходимость разработки методов синтеза ω -фосфорильных аналогов и гомологов аспарагиновой и глутаминовой кислот.

Проблема синтеза ω -галогеналкилфосфорильных соединений была основной в развитии методологии синтеза фосфорсодержащих аминокарбоновых (ФА) кислот, которая заключается в первоначальном фосфорилировании углеводородного фрагмента (А) с последующим присоединением аминокислотной функции и гидролизом продуктов алкилирования. Алкилирование ацетамидомалонового эфира 2-бромэтилфосфонатом протекает довольно легко и приводит после кислотного гидролиза к 2-амино-4-фосфономасляной кислоте (АР4).

Схема 21

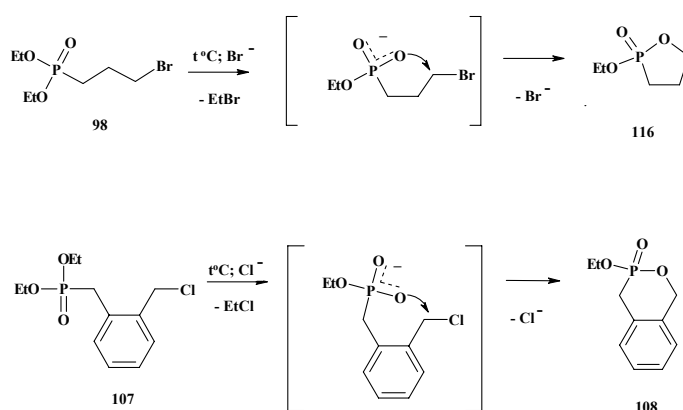


Введение в процедуру алкилирования ацетамидомалонового эфира 3-бромпропилфосфоната и его гомологов представляло заметные трудности как при синтезе ω -галогеналкилфосфонатов, так и при использовании их в качестве алкилирующих агентов (схемы 21,22). Как показали наши

исследования, эфиры ω -галоген-

алкилфосфоновых кислот, содержащие атом галогена в положении 3 или 4 относительно фосфорильного фрагмента, способны в соответствующих условиях образовывать циклические пяти- и шестичленные 1,2-оксафосфорильные соединения. Это процесс значительно ухудшает результаты алкилирования С-Н кислот ω -галогеналкилфосфонатами и снижает общий выход целевой фосфорсодержащей аминокарбоновой кислоты.

Схема 22



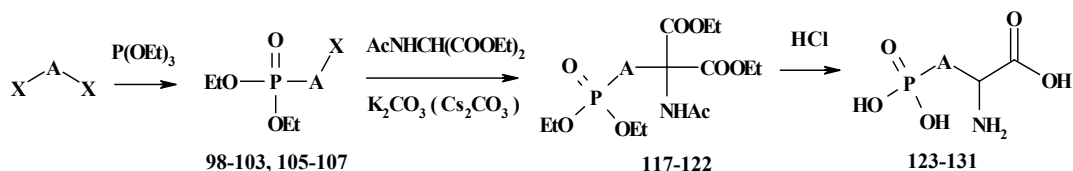
Оказалось, что 3-бромпропилфосфонат **98** и о-хлорметилбензилфосфонат **107** достаточно легко подвергаются внутримолекулярной циклизации с образованием соответствующих 1,2-оксафосфолана **116** и 1,2-оксафосфоринана **108** (схема 22). К этому времени был известен синтез 3-бромпропилфосфоната нагреванием триэтилфосфита с 20-кратным избытком α,ω -дигалогеналкана (К. Matoba и соавт., 1984).

2.2. Общий метод синтеза ω -галогеналкилфосфорильных соединений.

Модификация углеводородного фрагмента молекулы ФА

Предложенный нами простой и общий метод синтеза ω -галогеналкилфосфорильных соединений заключается в *постепенном добавлении соответствующего эфира трехвалентного фосфора к предварительно нагретому до кипения α,ω -дигалогеналкану*. В этом случае создается эффективный избыток дигалогеналкана по отношению к фосфорному компоненту в условиях, необходимых для образования связи Р-С, и побочной реакции циклизации не происходит. Таким способом с хорошими и удовлетворительными выходами были получены ω -галогеналкилфосфорильные соединения **98-103**, **105-107**, **110**, **111-115** (схема 21). Метод дает возможность синтеза продуктов с различной природой спейсера А, что позволяет проводить структурные модификации “канонической” молекулы ФА-кислоты путем алкилирования ацетамидомалонового эфира с последующим кислотным гидролизом образующихся ω -фосфоалкилацетамидомалоновых эфиров **117-122**, **133** (схема 23).

Схема 23



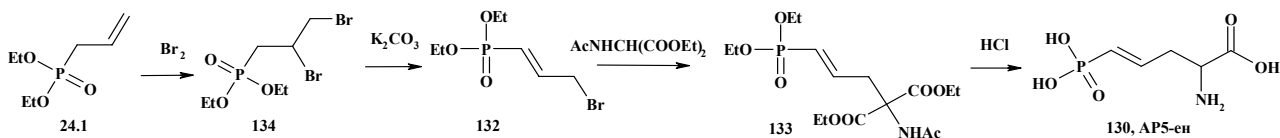
X = Br, Cl;

A : (CH₂)_n, n = 3 (98,99,117,123), 4 (100,118,124), 5 (101,119,125), 6 (102,120,126), 10 (121,127)

CH₂CH=CHCH₂ (103,131), o-CH₂C₆H₄CH₂ (107), p-CH₂C₆H₄CH₂ (106,122,128), CH₂CH₂OCH₂CH₂ (105,129)

Получен ряд фосфоновых аминокарбоновых кислот, содержащих углеводородные цепочки различной длины, а также эфирный, ароматический или непредельный фрагменты (**123-131**) (схема 23). Необходимо отметить, что непредельный аналог **AP5** - 2-амино-5-фосфо-4-пентеновая кислота (**130**, **AP5-ен**) был синтезирован из аллилфосфоната **24.1**, последовательность превращений включала стадии бромирования, дегидробромирования и другие реакции в представленные на схеме 24, так как использование *общего метода синтеза ω -галогеналкилфосфонатов* в этом случае невозможно.

Схема 24



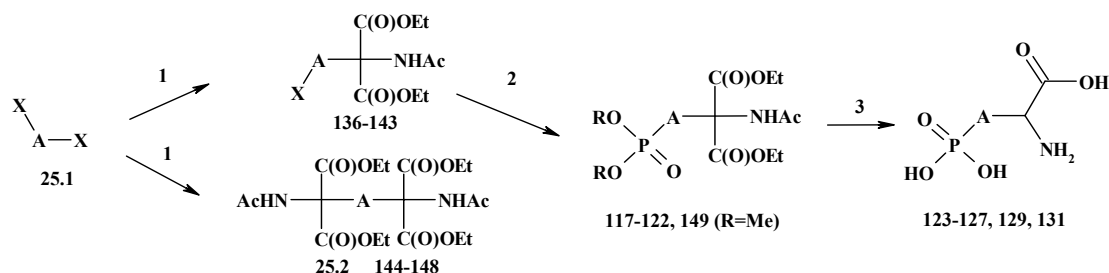
Синтез другого непредельного аналога - 2-амино-6-фосфо-4-гексеновой кислоты (**131**, **AP6-ен**) осуществлен с использованием общего метода синтеза ω -галогеналкилфосфонатов и дальнейшей процедурой синтеза аминокислот в соответствии со схемой 23.

2.3. Методология синтеза ФА кислот с “обратным построением” целевой молекулы

Нами предложена *альтернативная методология синтеза ФА*, которая устраняет необходимость синтеза ω -галогеналкилфосфонатов и заключается в *обратном порядке построения целевой молекулы* – в первоначальном присоединении аминокислотной функции к углеводородному фрагменту (А) с образованием ω -галогеналкилацетамидомалоновых эфиров **136-**

143, последующем их фосфорилированием и гидролизом промежуточных ω -фосфорилалкилацетамидомалоновых эфиров (117-122, 149) (схема 25).

Схема 25



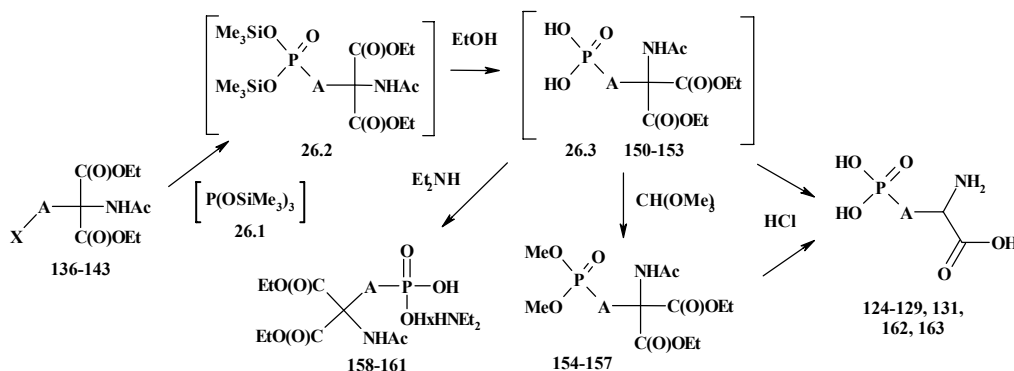
1 - AcNHCH(COOEt)₂; 2 - (EtO)₂P(O)H/K₂CO₃ или (EtO)₃P или (MeO)₃P; 3 - HCl

X = Br, Cl; A : (CH₂)_n, n = 3 (117,123), 4 (118,136,124,144), 5 (137,119,125,145), 6 (138,120,126,146), 10 (140,121,127)
CH₂CH₂OCH₂CH₂ (141,129), o-CH₂C₆H₄CH₂ (142,147), CH₂CH=CHCH₂ (143,148,149,131)

Ключевые полупродукты - эфиры **136-143** - были получены взаимодействием избытка α,ω -дигалогеналканов с ацетамидомалоновым эфиром.

Как развитие идеологии “обратного построения” целевой молекулы мы совместили процессы фосфорилирования и образования фосфорилирующего агента в одном реакционном сосуде. Так нагревание смеси фосфористой кислоты и ω -галогеналкилацетамидомалонового эфира (**136-143**) в гексаметилдисилазане, генерирование *in situ* фосфорилирующего агента – {трис(триметилсилил)фосфита} **26.1**, - и его взаимодействие с эфирами **136-143** приводит с хорошими выходами к силилфосфонатам **26.2**.

Схема 26



X = Br, Cl;

A = (CH₂)_n, n = 4(136,150,158,124), 5(137,151,154,159,125), 6(138,152,160,126), 7(139,155,162), 10(140,153,161,127),
CH₂CH₂OCH₂CH₂ (141,156,129), o-CH₂C₆H₄CH₂ (142,157,163), CH₂CH=CHCH₂ (143,131)

При алкоголизе последних образуются соответствующие ω -фосфоноалкилацетамидомалоновые эфиры, которые были выделены в виде фосфоновых кислот **150-153**, диметилловых эфиров **154-157**, а также диэтиламмониевых солей **158-161**. Последующий гидролиз кислот **150-153** или эфиров **154-157** дает целевые фосфоновые аминокарбоновые кислоты **124-127, 129, 162, 163**.

2. 4. ω -Фосфиноксидные аналоги моноаминодикарбоновых кислот.

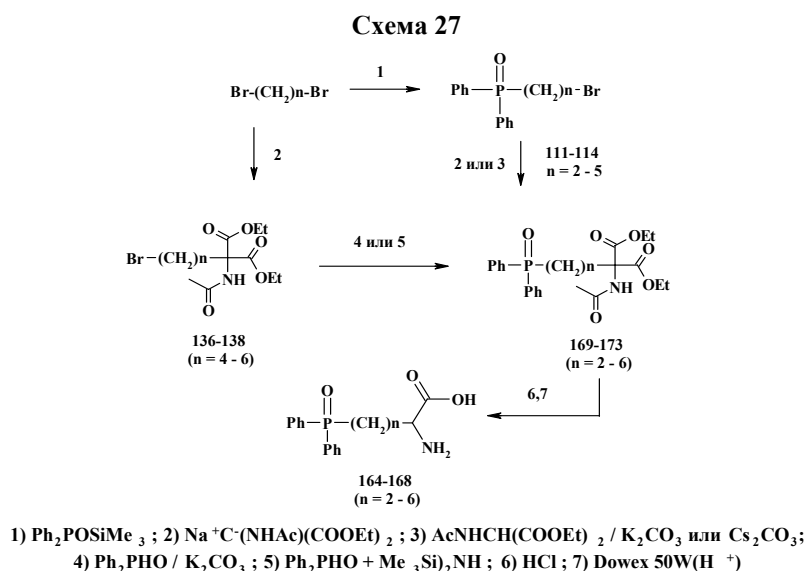
Модификация фосфорсодержащего фрагмента молекулы ФА, синтез фосфиноксидов в методологии “прямого” и “обратного” построения целевой молекулы аминокислоты.

В ряду фосфорсодержащих аминокарбоновых кислот (ФА) наиболее известны фосфоновые и фосфиновые аналоги и гомологи глутаминовой кислоты - 2-амино-4-фосфономасляная (АР4), 2-амино-5-фосфоновалериановая (АР5) и 2-амино-7-фосфоногептановая (АР7) кислоты, обладающие психотропными свойствами, а также производные 2-амино-4-метилфосфиномасляной кислоты (**фосфинотрицина**), известной своими высокими гербицидными свойствами. ФА кислоты фосфиноксидного типа в литературе не описаны.

Настоящая глава посвящена дальнейшему развитию методологии синтеза ФА кислот на примере соединений фосфиноксидного типа. Синтезированы аминокислоты общей формулы $\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ (**164-168**), представленные на схеме 27.

В соответствии с ранее предложенной методологией “прямого” и “обратного” построения молекулы ФА кислоты, фосфиноксиды-аминокислоты **164-168** были получены двумя способами. Первый способ заключается в фосфорилировании α,ω -дигалогеналканов с образованием ω -бромалкилфосфиноксидов **111-114**, алкилировании последними ацетамидомалонового эфира и последующем кислотном гидролизе продуктов алкилирования **169-173**.

Другой метод использует “обратный” порядок построения целевых молекул **164-168**: присоединение к углеводородной цепочке аминокислотной функции в виде ацетамидомалонового фрагмента с образованием ω -бромалкилацетамидомалоновых эфиров **136-138**, фосфорилирование последних и гидролиз продуктов реакции – фосфиноксидов-эфиров **169-173**.



В качестве фосфорилирующего агента выступала дифенилфосфинистая кислота. Нагревание смеси ω -бромалкилацетамидомалоновых эфиров **136-138** и $\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})\text{H}$ в кипящем гексаметилдисилазане приводит с хорошими выходами к фосфиноксид- α -аминокислотам **166-168**. Особенностью метода является предложенный нами прием совмещения процессов

фосфорилирования и образования фосфорилирующего агента ($\text{Ph}_2\text{POSiMe}_3$) в одном реакционном сосуде.

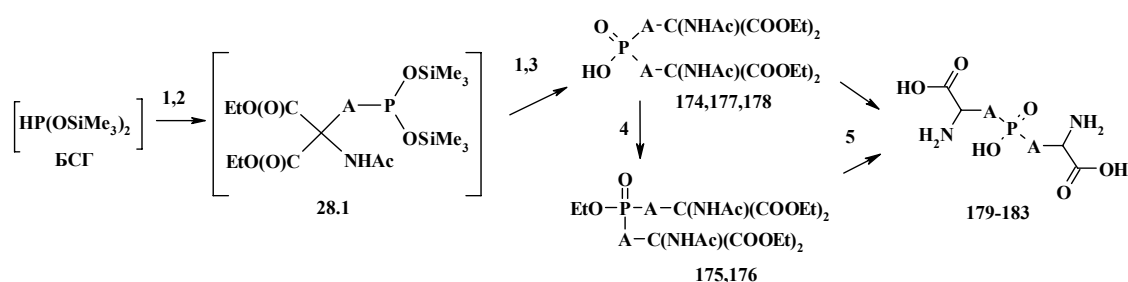
2.5. Двойная реакция Арбузова.

Бис(ω -амино- ω -карбоновые) фосфиновые кислоты симметричного строения

Дальнейшее развитие методологии *совмещения процессов образования фосфорилирующего агента и фосфорилирования* в одном реакционном сосуде и методологии *формирования двух фосфор-углеродных связей из гипофосфитов* позволяет осуществить *one-pot* процедуру **двойной перегруппировки Арбузова** с использованием 2 экв. ω -галогеналкилацетамидомалоновых эфиров **136-138,141,142**. В соответствии с разработанной нами процедурой формирования двух фосфор-углеродных связей, представленной в первой части работы,

бис(триметилсилил)гипофосфит (**БСГ**) *in situ* вводили в реакцию Арбузова с молекулой ω-галогеналкилацетамидомалонового эфира. Промежуточное гидрофосфорильное соединение (см. главу 1) в присутствии гексаметилдисилазана образует силилфосфонит **28.1**.

Схема 28



1 - X-A-C(NHAc)(COOEt)₂; 2 - Me₃Si₂NH; 3 - EtOH; 4 - CH(OEt)₃; 5 - HCl(H₂O)
X = Br, Cl;

A = (CH₂)₄ (**174, 179**); (CH₂)₅ (**175, 180**); (CH₂)₆ (**176, 181**); CH₂CH₂OCH₂CH₂ (**177, 182**); *o*-CH₂C₆H₄CH₂ (**178, 183**)

Взаимодействие последнего *in situ* со второй молекулой галогенида **136-138, 141, 142** по реакции Арбузова приводит к образованию второй фосфор-углеродной связи.

Фосфорсодержащие продукты симметричного строения выделяли хроматографией на силикагеле в виде кислот (**174, 177, 178**) или соответствующих этиловых эфиров (**175, 176**), полученных при обработке "сырого" продукта избытком триэтилортоформиата. Фосфиновые кислоты (**174, 177, 178**) и эфиры (**175, 176**) подвергали кислотному гидролизу с последующей ионообменной хроматографией на катионите. В результате были выделены новые бисаминокарбоновые кислоты симметричного строения, содержащие в центре молекулы гидроксифосфорильную функцию. Новые фосфиновые бис(ω-амино-ω-карбоновые) кислоты **179-183** представляют собой кристаллические вещества, плавящиеся с разложением.

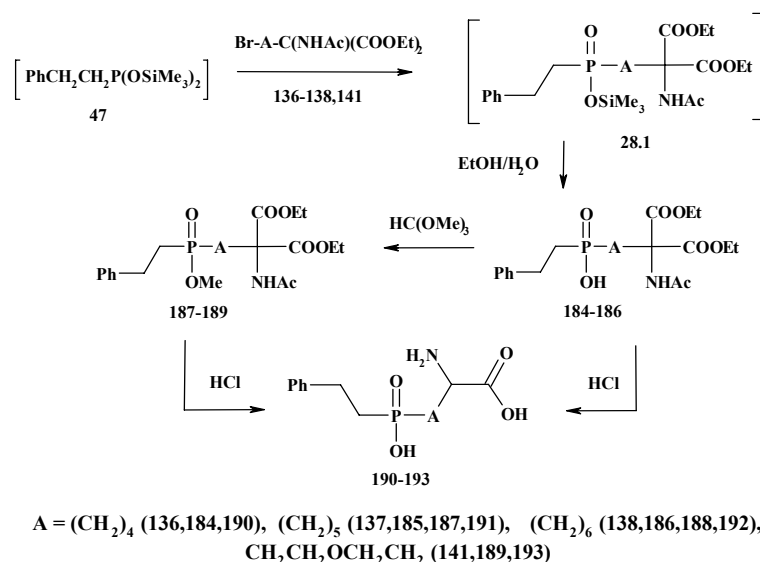
2.6. Синтез фосфиновых ω-амино-ω-карбоновых кислот несимметричного строения на основе *one-pot* формирования двух фосфор-углеродных связей

Фосфиновые и фосфоновые аналоги глутаминовой кислоты ингибируют глутаминсинтетазу, проявляют гербицидную активность, а также являются лигандами N-метил-D-аспаратных рецепторов и обладают противосудорожными свойствами. Проницаемость кислот через гемато-энцефалический барьер является, очевидно, одним из основных факторов, определяющих их физиологическую активность. С этой точки зрения фосфиновые аминокислоты, содержащие липофильный фенетильный фрагмент при атоме фосфора, представляют интерес.

С помощью процедуры *one-pot* формирования двух фосфор-углеродных связей можно сконструировать молекулу фосфиновой ω-амино-ω-карбоновой кислоты несимметричного строения с использованием стирола в качестве непредельного компонента и бромидов **136-138, 141** в этом случае вторая фосфор-углеродная связь формируется в результате реакции Арбузова.

Последовательность стадий включала взаимодействие гипофосфита аммония, гексаметилдисилазана и стирола, и последующее добавление ω-бромалкилацетамидомалоновых эфиров **136-138, 141** {без выделения промежуточных бис(триметилсилил)фенетилфосфонита **47** и силиловых эфиров **28.1**}. Алкоголиз силиловых эфиров **28.1** приводит к фосфиновым кислотам **184-186**, которые превращали в метиловые эфиры **187-189** взаимодействием с триэтилортоформиатом, так как последние удобно выделять хроматографией на силикагеле.

Схема 29



Целевые фосфиновые ω -амино- ω -карбоновые кислоты **190-193** получали кислотным гидролизом фосфиновых кислот или их эфиров.

2. 7. Синтез аналогов глутаминовой кислоты

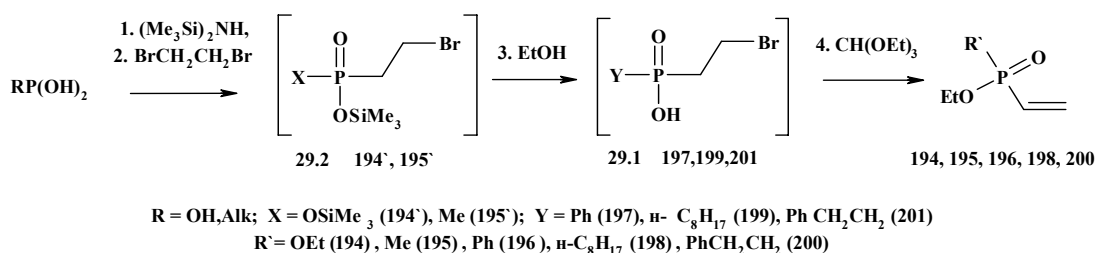
2.7.1. Триалкилортоформиаты как дегидрогалогенирующие реагенты.

Синтез винилфосфорильных соединений

Винилфосфорильные соединения, структурные изостеры акриловых производных – удобные объекты для введения аминокислотной функции и синтеза *фосфорильных аналогов глутаминовой кислоты*. В этой связи актуальным является поиск удобных методов получения винилфосфорильных соединений. Нами впервые обнаружены дегидрогалогенирующие свойства триэтилортоформиата.

При попытке этерификации фосфиновых кислот **29.1**, содержащих β -бромэтильный заместитель (схема 29) при нагревании β -бромэтилалкилфосфиновой кислоты в избытке триэтилортоформиата одновременно с этерификацией кислотной Р-ОН группы происходит дегидробромирование с образованием соответствующего винилфосфорильного соединения. В спектре ЯМР ^{31}P реакционной массы наблюдается смещение сигнала δ_p при 40-50 м.д. в область δ_p 30-40 м.д.; а в спектре ЯМР ^1H исчезают мультиплеты в области 1.95-2.65 и 3.15-3.75 м.д., соответствующие двум метиленовым группам β -бромэтильного заместителя, и появляются сигналы в области 5.95-6.50 м.д., соответствующие протонам винильного фрагмента.

Схема 30



В ходе реакции мы отбирали низко кипящую фракцию на выходе из обратного холодильника. В спектре ЯМР ^1H этой фракции в области от 1 до 2 м.д. присутствуют триплеты

трех метильных групп, приписываемые этилбромиду (≈ 1.8 м.д.), этилформиату (≈ 1.1 м.д.) и этанолу (≈ 1.2 м.д.). В области 3.1 -3.9 м.д. – наблюдаются также сигналы метиленовых групп этилбромида и этанола, и квадруплет $\delta \sim 4.2$ м.д., которые можно отнести к CH_2O -фрагменту этилформиата, в этом же интервале (3.5-4.2 м.д.) находится сигнал гидроксильного протона этанола; синглет с $\delta \sim 8.0$ м.д. соответствует протону этилформиата. Реакцию дегидробромирования можно представить следующим уравнением:



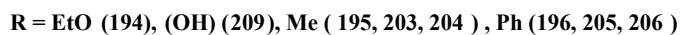
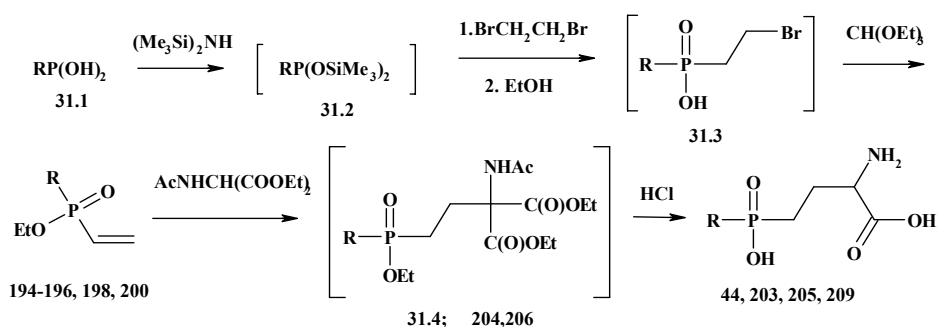
В процессе получения β -бромэтилфосфорильных производных в качестве побочных продуктов образуются соответствующие 1,2-этиленбисфосфорильные соединения, для предотвращения этого процесса используют трех-пятикратный избыток дибромэтана. На данной стадии может происходить частичное дегидробромирование, возможно, под действием гексаметилдисилазана, который формально является вторичным амином. Чтобы исключить участие в реакции гексаметилдисилазана была изучена дегидробромирующая способность триэтилортоформиата на модельных соединениях - диэтил- β -бромэтилфосфонате и дифенил- β -бромэтилфосфиноксиде. Оказалось, что в этих случаях винилфосфорильные соединения получаются с выходом 75-86%. Диэтилвинилфосфонат образуется также при нагревании диэтил- β -бром-этилфосфоната с триметилортоформиатом. При взаимодействии дифенил- β -хлорэтилфосфиноксида с триэтилортоформиатом наблюдается аналогичный процесс дегидрохлорирования, однако в этом случае для образования винилфосфиноксида требуется большее время (~ 12 часов) по сравнению с бромпроизводными, для которых было достаточно выдерживание в течение ~ 2 часов в аналогичных условиях.

Таким образом, триметил- и триэтилортоформиаты могут быть использованы в качестве дегидрогалогенирующих агентов при синтезе винилфосфорильных производных. Это особенно удобно при получении винилфосфинатов и винилфосфонатов, так как реакции дегидрогалогенирования и этерификации протекают в одном реакционном сосуде.

2.7.2. Синтез фосфинотрицина и других фосфорильных аналогов глутаминовой кислоты

Известно, что 2-амино-4-(метилфосфино)масляная кислота (фосфинотрицин), фосфиновая кислота природного происхождения, обладает рядом практически полезных свойств.

Схема 31

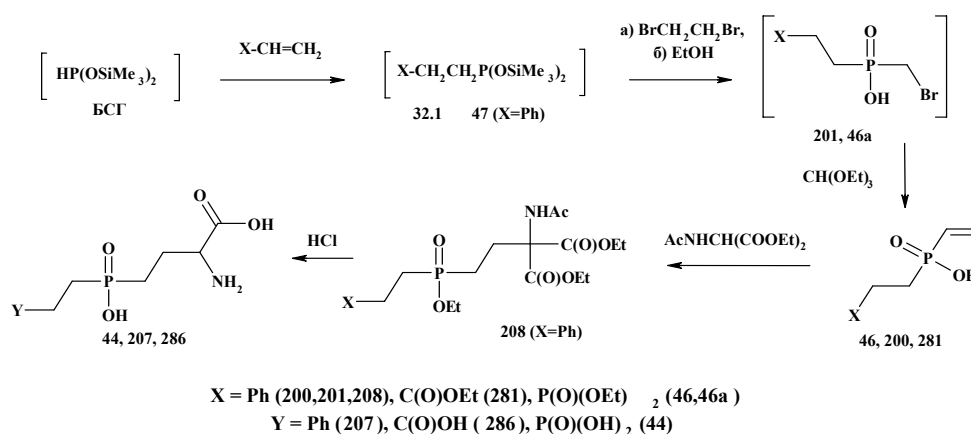


Разработан новый удобный метод синтеза фосфинотрицина и других фосфорильных аналогов глутаминовой кислоты с использованием в качестве исходных соединений гипофосфита аммония, алкилфосфонистых и фосфористой кислот **31.1**. Силилирование гидрофосфорильных

соединений **31.1** и последующее взаимодействие образующихся силиловых эфиров трехвалентного фосфора **31.2** *in situ* с избытком дибромэтана приводит, как было показано выше, к соответствующим силилфосфинатам, алкоголиз которых дает 2-бромэтил-алкилфосфиновые кислоты **31.3** (схема 31). Обработка последних избытком триэтилортоформиата в качестве дегидрогалогенирующего агента, приводит к ключевым полупродуктам синтеза - эфирам винилфосфиновых кислот **194-196, 198, 200**. Присоединение к последним ацетамидомалонового эфира по Михаэлю ведет к фосфинатам **31.4**. Некоторые фосфинаты (**204, 206**) были выделены и охарактеризованы, однако в большинстве случаев их без выделения подвергали кислотному гидролизу. Последующая хроматографическая очистка на катионите давала целевые аминокислоты - фосфорильные аналоги глутаминовой кислоты (**44, 203, 205, 209**).

Дегидробромирование 2-галогенэтилфосфорильных соединений с использованием триалкилортоформиатов было совмещено с *one-pot* процессом образования двух несимметричных фосфор-углеродных связей из гипофосфитов, описанным выше (схема 32). Стирол, акрилат и винилфосфонат были использованы в качестве непредельного компонента для формирования первой связи P-C с последующим взаимодействием образовавшихся силилфосфонитов с избытком дибромэтана по схеме перегруппировки Арбузова.

Схема 32



Дальнейшие превращения проводились по приведенной выше схеме. Так, обработка промежуточной 2-бромэтилфосфиновой кислоты избытком триэтилортоформиата приводила соответствующим винилфосфинатам, содержащим 2-(диэтоксифосфинил)этил- (**46**), 2-(этоксикарбонил)этил- (**281**) и фенетильный (**200**) заместители (схема 32). Использование винилфосфоната в качестве непредельного компонента синтеза фосфиновых кислот несимметричного строения было описано в разделе 1.6.2, этилакрилата и других α -замещенных акрилатов будет рассмотрено в разделе 3.6, посвященному синтезу структурных изостеров пептидов - фосфиновых кислых псевдо- γ -глутамилпептидов.

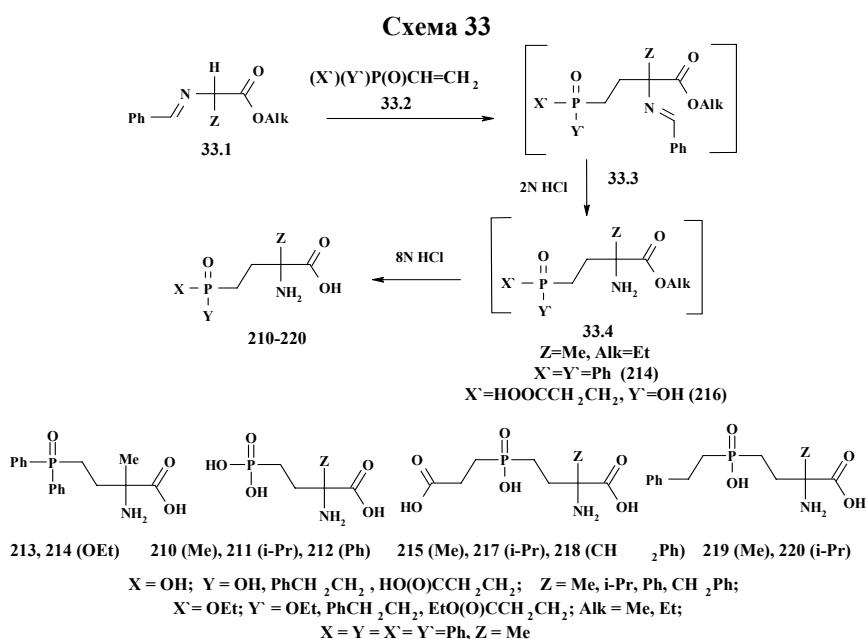
Введение в реакцию стирола в качестве непредельного компонента синтеза и образующегося силилфенетилфосфонита **47** *in situ* в обсуждаемую процедуру с сочетанием с последующей аналогичной последовательностью превращений приводит к новому аналогу фосфинотрицина - аминокислоте **207**. Это соединение содержит липофильный фенетильный заместитель при атоме фосфора и образуется после кислотного гидролиза фосфината **208** - продукта присоединения по Михаэлю ацетамидомалонового эфира к винилфенетилфосфинату **200** (схема 32).

2.8. Модификация аминокислотного фрагмента молекулы фосфорсодержащей аминокрбонной кислоты. Синтез α -алкилированных аминокислот.

2.8.1. Присоединение шиффовых оснований эфиров аминокислот к винилфосфорильным соединениям

Методология синтеза фосфорсодержащих аминокрбонных кислот, представленная выше, позволяет провести достаточно широкую модификацию фосфорсодержащего фрагмента и углеводородной цепочки “канонической” молекулы. Модификацией аминокислотного фрагмента молекулы ФА получены новые α -замещенные фосфорсодержащие аминокрбонные кислоты **210-224** (схемы **33**, **34**) потенциальные лиганды ионотропных или метаботропных глутаматных и NMDA рецепторов.

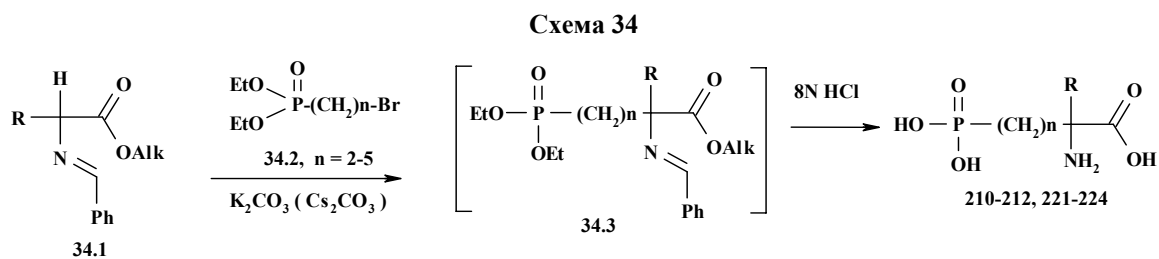
Это превращение может рассматриваться как дальнейшее развитие метода синтеза фосфорильных аналогов глутаминовой кислоты, представленного в предыдущей главе. Его особенность заключается в том, что к винилфосфорильным соединениям по Михаэлю присоединяется основание Шиффа **33.1**, предварительно полученное из эфира соответствующей аминокислоты (схема **33**). С использованием данного подхода можно вводить необходимый заместитель в α -положение аминокрбонного фрагмента исходной ФА-молекулы.



Соединения **33.1** получали из аланина, валина, фенилглицина и фенилаланина и вводили в реакцию с диэтиловым эфиром винилфосфоновой кислоты, этиловыми эфирами 2-(этоксикарбонил)этил(винил)фосфиновой кислоты и фенетилвинилфосфиновой кислоты (**33.2**) в среде тетрагидрофурана в присутствии карбонатов калия и(или) цезия (схема **33**).

2.8.2 Алкилирование шиффовых оснований эфиров аминокислот ω -бромалкилфосфонатами

Другое направление модификации аминокислотного фрагмента молекулы ФА-кислоты заключается в алкилировании шиффовых оснований аминокислот (**34.1**) ω -бромалкилфосфонатами **34.2** ($n=2-5$) (метод синтеза разработан и описан в разделе 2.2 (схема 21)). Алкилированные основания Шиффа, α -алкил- α -бензилиденамино- ω -(диалкилоксифосфинил)алкилкарбонные эфиры (**34.3**), без выделения подвергали кислотному гидролизу.



В результате последующей хроматографии на катионите получали ФА-кислоты (**210-212, 221-224**). Таким образом, использование разработанной методологии позволяет модифицировать углеводородный, фосфорсодержащий и аминокислотный фрагменты фосфорсодержащей аминокислотной кислоты.

3. Новая методология синтеза псевдо-пептидов.

Замена пептидной {C(O)NH} связи в молекуле дипептида фосфинатным {P(O)CH₂} фрагментом является перспективным подходом к дизайну молекул фосфиновых псевдо-пептидов – потенциальных ингибиторов природных ферментов. Как уже было отмечено выше, основой предложенной нами методологии синтеза псевдо-пептидов является получение *функционально замещенных фосфиновых кислот из гипофосфитов* с образованием двух фосфор-углеродных связей несимметричного расположения.

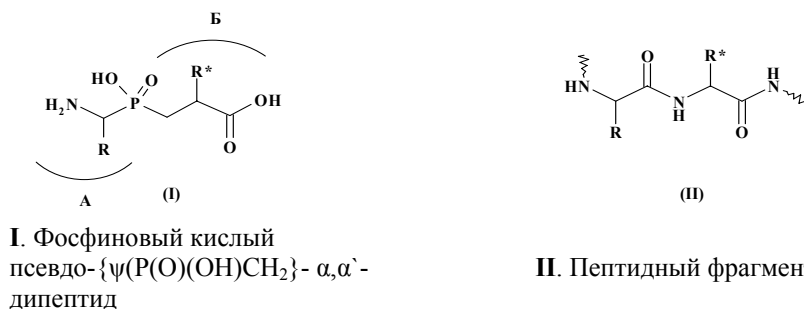


Рис.10

Известный подход к конструированию молекул фосфиновых аналогов (I) дипептидов (II) (рис.10) включает два основных этапа: синтез N-защищенного аминокислотного компонента псевдо-пептида – фосфонистого аналога аминокислоты (A) и его последующее присоединение к α -замещенному акрилату с образованием псевдо-пептидного фрагмента (B) [Ciba-Geigy, 1989].

Построение α -аминоалкилфосфорильного фрагмента пептида обычно состоит из четырех- и более стадий, поскольку необходимы введение и снятие защитных групп при атомах азота и фосфора. Кроме того, реакция присоединения силилового эфира аминокислотного компонента к акрилатам имеет свои ограничения, особенно при получении сложных аминокислотных синтонов или даже оказывается безуспешной.

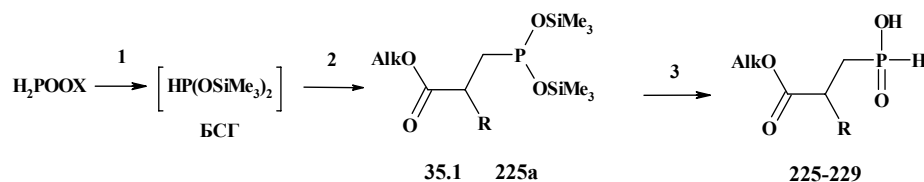
Предложенная нами **новая методология синтеза предполагает обратный порядок построения целевой молекулы**: первоначальное присоединение гипофосфита к соответствующим акрилатам с образованием *фосфонистых кислот, содержащих структурный*

изостер аминокислоты и последующее присоединение аминокислотной функции, в результате которого формируется молекула псевдо-пептида.

3.1. Синтез фосфонистых кислот, содержащих структурный изостер аминокислоты.

С использованием методики присоединения бис(триметилсилил)гипофосфита *in situ* к акрилатам нами получены фосфонистые кислоты (225-229), содержащие структурный изостер соответствующей аминокислотной функции (схема 35).

Схема 35

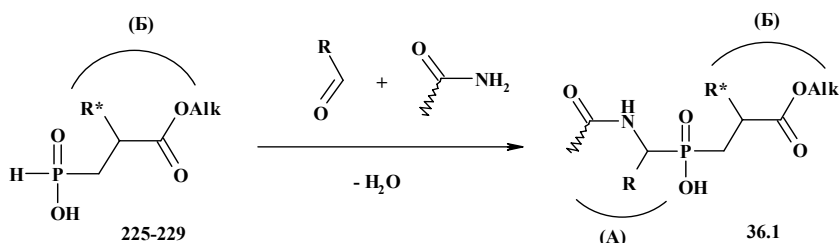


1 - $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{NH}$ or $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{NH} + \text{NH}_4\text{Cl}$; 2 - $\text{AlkO}(\text{O})\text{C}-\text{C}(\text{R})=\text{CH}_2$; 3 - $\text{EtOH}(\text{H}_2\text{O})$
 $\text{X} = \text{NH}_4$ or K ; $\text{R} = \text{H}$ (225, 225a), Me (226), *i*-Bu (227), CH_2COOMe (228), $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOEt}$ (229);
 $\text{Alk} = \text{Me}, \text{Et}$

Мягкие условия синтеза исключают или сводят к минимуму образование продуктов двойного присоединения. Фосфонистые кислоты (225-229) или их силиловые эфиры 35.1 {бис(триметилсилиловый) эфир 2-(этоксикарбонил)-этилфосфонистой кислоты 225a был выделен и охарактеризован} были использованы *in situ* для получения соответствующих фосфиновых кислых аналогов пептидов - псевдо- α, α' -дипептидов, псевдо- γ -аминобутианоилпептидов и псевдо- γ -глутамилпептидов.

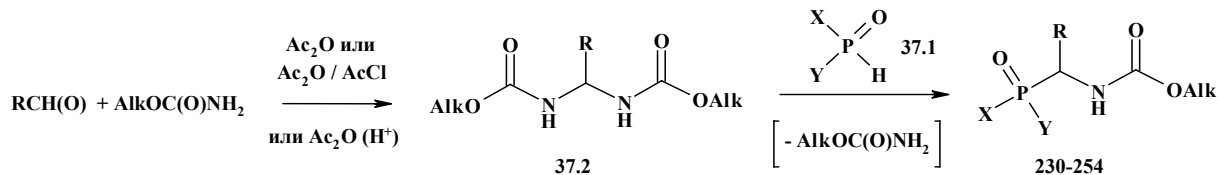
3.2. Амидоалкилирование гидрофосфорильных соединений.

Схема 36



Для синтеза фосфиновых аналогов α, α' -дипептидов 36.1 необходима удобная процедура введения в молекулу α -аминофосфорильной функции А с участием различных альдегидов. В этом случае можно осуществить амидоалкилирование фосфонистых кислот 225-229, содержащих структурный изостер соответствующей аминокислоты (фрагмент Б) (схема 36).

Схема 37



Нами найдены мягкие условия для взаимодействия метил-, этилкарбамата в качестве амидного компонента и альдегидов с различными гидрофосфорильными соединениями 37.1 в уксусном ангидриде при комнатной температуре. В результате трехкомпонентной реакции образуются N-метилоксикарбонил- и N-этилоксикарбонил- α -аминоалкилфосфорильные соединения 230-240 (таблица 2) с хорошими и удовлетворительными выходами (схема 37).

Кислотный катализ {добавление трифторуксусной кислоты (TFA) или п-толуолсульфо кислоты (TSA)} положительно влияет на протекание трехкомпонентной реакции в уксусном ангидриде. Для амидоалкилирования P(O)H-соединений также эффективной средой является смесь уксусного ангидрида и ацетилхлорида (4:1).

Таблица 2. N-Метилоксикарбонил- и N-этилоксикарбонил- α -аминофосфорильные соединения **230-240**

N	X	Y	R	Alk	Выход, %
230	OMe	OMe	Ph	Et	^a 70; ^b 67; ^r 63
231	OBu	OBu	Ph	Et	^b 71; ^r 53
232	Me	OH	Ph	Et	^a 59; ^b 73; ^b 77; ^r 52
233	Me	OH	Ph	Me	^a 79; ^r 61
234	Me	OH	i-Bu	Et	^a 33; ^b 38; ^b 48; ^r 28
235	Me	OH	i-Pr	Me	^a 31
236	Me	OH	i-Bu	Me	^a 32; ^b 51
237	HOCH ₂	OH	Ph	Et	^a 54
238	EtOC(O)CH ₂ CH ₂	OH	Ph	Et	^a 57; ^b 65; ^b 71
239	EtOC(O)CH ₂ CH ₂	OH	i-Bu	Me	^a 32
240	Et	Et	Ph	Et	^a 54

Примечание. Здесь и в таблице 3 даны выходы: **а)** при катализе TFA(10% mol), **б)** TSA(2% mol), **в)** в AcCl/Ac₂O 1:4), **г)** в Ac₂O, **д)** выход свободной аминокислоты, **е)** в реакции метилфосфонистой кислоты с соответствующим *N,N'*-алкилиден-бис(бензилкарбаматом), **ж)** с использованием диэтилацеталя уксусного альдегида.

Аминокислоты, содержащие N-бензилоксикарбонильную (Cbz) защитную группу более предпочтительны для осуществления дальнейшего пептидного синтеза. По этой причине нами использован бензилкарбамат и на его основе синтезирован ряд новых N-Cbz-защищенных α -аминоалкилфосфорильных соединений **241-254** (таблица 3).

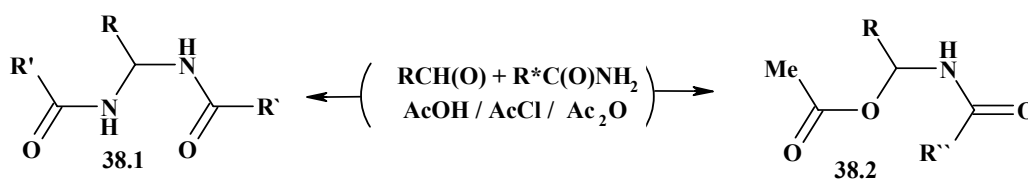
Таблица 3. N-Бензилоксикарбонил- α -аминоалкилфосфорильные соединения **241-254**

N	X	Y	R	Выход, %
241	OMe	OMe	Ph	^a 63, ^b 73, ^b 69, ^r 56
242	Me	OH	Me	^{a,ж} 27, ^b 67, ^c 51, ^{a,с} 62
243	Me	OH	Et	^b 61, ^r 31
244	Me	OH	i-Pr	^b 57, ^r 30
245	Me	OH	i-Bu	^b 46, ^b 53, ^r 33, ^c 41, ^{b,с} 59
246	Me	OH	Ph	^b 69, ^b 76, ^r 61, ^c 63, ^{a,с} 69
247	PhCH ₂ CH ₂	OH	Et	^b 59, ^r 35
248	PhCH ₂ CH ₂	OH	i-Pr	^b 63, ^r 29
248	PhCH ₂ CH ₂	OH	i-Bu	^a 31, ^b 68
250	HOCH ₂	OH	i-Bu	^{a,д} 33
251	HOCH ₂	OH	Ph	^{a,д} 42
252	EtOOCCH(Me)CH ₂	OH	Me	^a 33, ^b 57
253	EtOOCCH(Me)CH ₂	OH	Ph	^a 54, ^b 63, ^b 69, ^r 43
254	Et	Et	Ph	^a 51, ^b 67, ^r 41

Попытки в этих условиях ввести в реакцию фталимид, ацетамид, трифторацетамид оказались безуспешными или малоэффективными. Мягкие условия амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений **37.1** с участием алкилкарбаматов позволили *впервые обнаружить, выделить и охарактеризовать* интермедиаты реакции – *N,N'*-алкилиденбискарбаматы **37.2** (схема 37).

Прервав ход трехкомпонентной реакции на ранней стадии и анализируя выделенные продукты, мы обнаружили наличие в реакционной массе смеси *N*-алкилоксикарбонил- α -аминоалкилфосфорильного соединения (**230-254**) и соответствующего бискарбамата (**255-263**), соотношение которых зависели от реакционной способности реагентов и времени взаимодействия. С помощью хроматографии на силикагеле были разделены эти соединения и интермедиаты охарактеризованы в индивидуальном виде методами ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{31}P спектроскопии.

Схема 38



R=i-Bu, R'=OEt (255); Bn (261)
 R=Ph, R'=OMe (256), OEt (257), OBn (262)
 R'=OBn, R=Me (258), Et (259), i-Pr (260), 2-Me-Bu (263)

Эти данные довольно неожиданны, поскольку ранее более вероятными интермедиатами трехкомпонентной реакции считались ацетаты **38.2** (схема 38). Действительно, такие интермедиаты выглядят более предпочтительными, если механизм реакции включает стадию нуклеофильной атаки атома фосфора P(O)H -соединения на электрофильный углеродный центр 1-(ациламино)алкилацетата **38.2**, содержащего хорошую уходящую ацетилокси-группу. Полученные нами результаты являются хорошим обоснованием для изучения двухкомпонентной реакции гидрофосфорильных соединений **39.1** с бискарбаматами **39.2**.

Мы нашли, что предварительно синтезированные бискарбаматы **255-263** способны реагировать с гидрофосфорильными соединениями **39.1** в уксусном ангидриде или в смеси ацетилхлорида и уксусного ангидрида (1:4) при комнатной температуре с образованием целевых α -амидоалкилфосфорильных соединений **39.3** (схема 39).

Схема 39



R = Me, i-Bu, Ph; X = Me, OMe, Y = OH, OMe

Отметим, что в среде бензола или толуола, этанола, диоксана, тетрагидрофурана взаимодействия бискарбаматов с гидрофосфорильными соединениями не происходит.

Взаимодействие бискарбамата с P(O)H -компонентом в среде уксусного ангидрида является **кислотнокатализируемым** процессом, в отличие от ранее опубликованных отрицательных данных для трехкомпонентного варианта реакции. Реакция бискарбаматов с гидрофосфорильными соединениями в среде уксусного ангидрида протекает удовлетворительно на холоду без катализа,

лучше с добавлением кислого катализатора (TFA или TSA), и заметно лучше реакция проходит в смеси уксусного ангидрида и ацетилхлорида, а также в среде ацетилхлорида, но в последнем случае происходит заметное дезалкилирование алкилоксифосфорильного и алкилоксикарбонильного фрагментов. Добавление трифторуксусной кислоты (TFA), п-толуолсульфо кислоты (TSA) к смеси реагентов в уксусном ангидриде, а также проведение двухкомпонентного варианта реакции в смеси ацетилхлорида и уксусного ангидрида (1:4) приводят к заметному увеличению скорости реакции и выходов продуктов реакции.

Взаимодействие *N,N'*-изоамилиденбис(этилкарбамата) **255** и метилфосфонистой кислоты было исследовано с использованием метода спектроскопии ^{31}P ЯМР (рис.11 и 12).

Схема 40

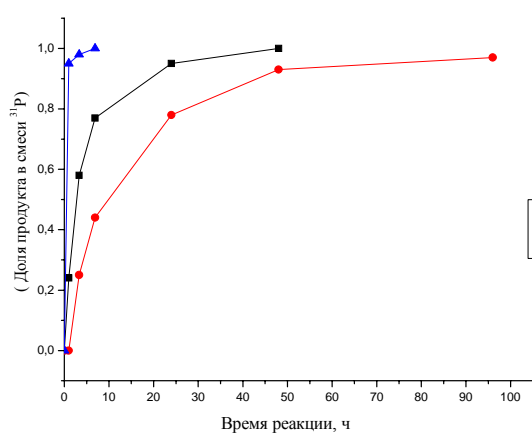
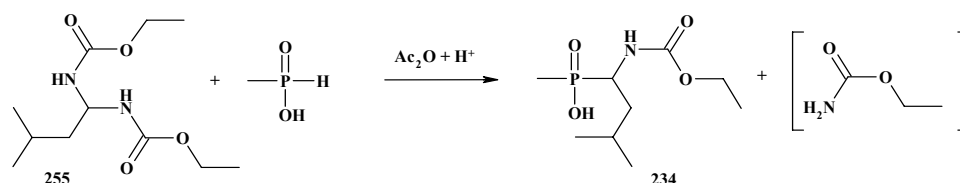
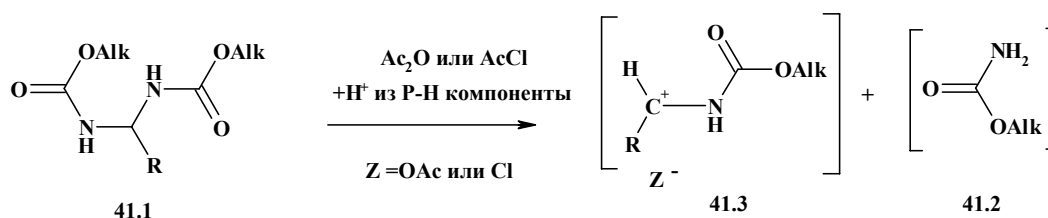


Рис. 11. Зависимость доли продукта **234** в реакционной смеси {соотношения интегральных интенсивностей сигналов ^{31}P продукта **234** и суммы сигналов ^{31}P продукта и метилфосфонистой кислоты в спектре ^{31}P ЯМР смеси} от продолжительности реакции (часы) и кислого катализа в уксусном ангидриде: (1) - п-толуолсульфо кислота (2 мол.%), (2) – трифторуксусная кислота (10 мол.%), (3) – отсутствие катализатора

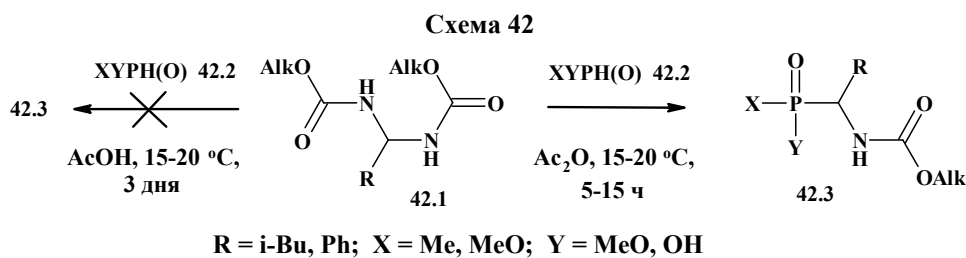
Полученные результаты позволяют заключить, что амидоалкилирование гидрофосфорильных соединений представляет собой многостадийный процесс. Стадией, определяющей скорость реакции, вероятно, является протонирование атомов кислорода ($\text{C}=\text{O}$) или азота амидного фрагмента интермедиата – бисалкилкарбамата **41.1**, с последующим выделением молекулы алкилкарбамата **41.2** и образованием промежуточного реакционноспособного *N*- (алкилоксикарбонил)иминиевого катиона (соли) **41.3** (схема 41).

Схема 41



Бискарбаматы **42.1** взаимодействуют с гидрофосфорильными соединениями **42.2** (метилфосфонистой кислотой или диметилфосфитом) в уксусном ангидриде на холоду и в отсутствие кислотного катализатора. Однако, в уксусной кислоте образования соответствующих α -амидоалкилфосфорильных соединений **42.3** в этих условиях не происходит (схема 41). Следует отметить, что в обоих случаях кислотный катализ обусловлен уксусной кислотой, которая

используется в качестве реакционной среды, или образуется в процессе взаимодействия P(O)H-компонента с уксусным ангидридом.



Отсутствие реакции в среде уксусной кислоты и ее замедление в смеси уксусного ангидрида и уксусной кислоты наглядно подтверждается взаимодействием N,N'-изоамилиден-бис(этилкарбамата) **255** с метилфосфонистой кислотой (рис. 12).

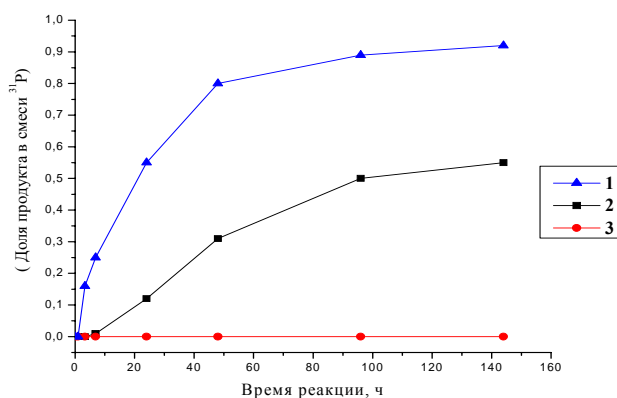
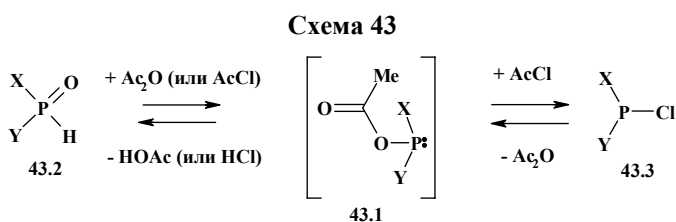


Рис. 12. Зависимость доли продукта **234** в реакционной смеси {соотношения интегральных интенсивностей сигналов ³¹P продукта **234** и суммы сигналов ³¹P продукта и метилфосфонистой кислоты в спектре ³¹P ЯМР реакционной смеси} от продолжительности реакции (часы) при разбавлении толуолом в соотношении (1:1) в: **(1) уксусном ангидриде**, **(2) смеси уксусного ангидрида и уксусной кислоты** и **(3) в уксусной кислоте**.

Полученные данные могут свидетельствовать о следующем:

- 1) исходный P(O)H-компонент и интермедиат (бискарбамат) непосредственно не участвуют в формировании фосфор-углеродной связи,
- 2) относительно слабая уксусная кислота способна обеспечить образование промежуточного ацилиминиевого катиона **41.3** в соответствии со схемой 41,
- 3) взаимодействие исходного P(O)H-компонента и генерируемого *in situ* ацилиминиевого иона также не приводит к образованию фосфор-углеродной связи,
- 4) исходный фосфорный компонент в уксусном ангидриде, вероятно, превращается в более реакционноспособное соединение по отношению к ацилиминиевому катиону.

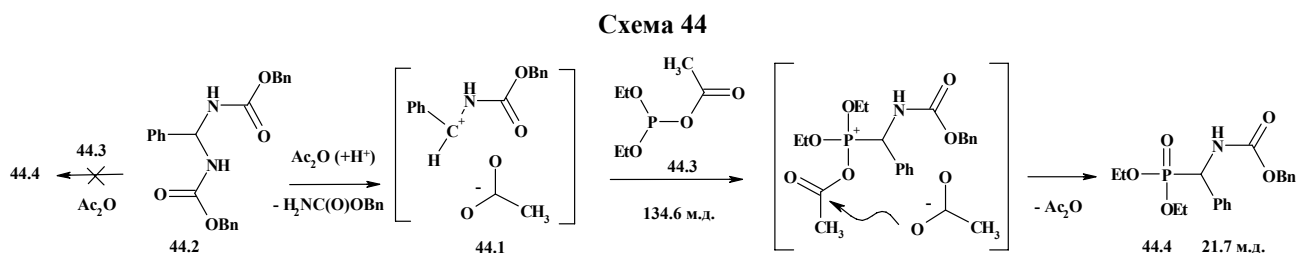
Результаты исследования позволяют предположить, что соединением, непосредственно взаимодействующим с ацилиминиевым катионом **41.3**, является P-OAc-производное трехвалентного фосфора **43.1** (схема 43). Вероятно, в среде ацетилхлорида гидрофосфорильные соединения **43.2** превращаются в соответствующие хлориды трехвалентного фосфора **43.3** через стадию образования соединений **43.1** (схема 43).



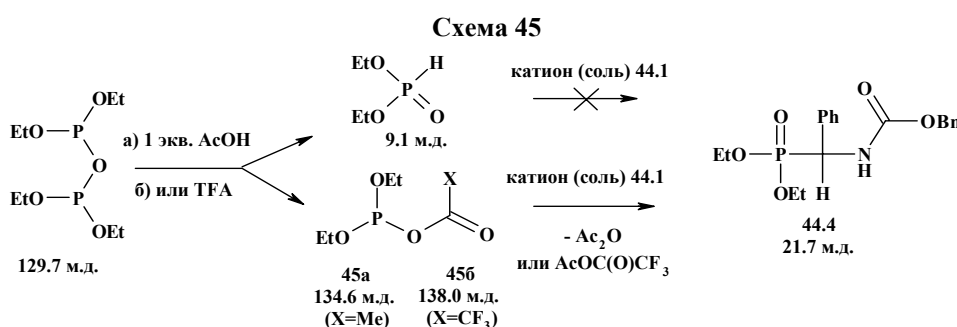
P-OAc-Форма **43.1**, вероятно, является промежуточной между формами P(O)H и P-Cl, участвующими в равновесном процессе, который протекает в системе AcOH-Ac₂O-AcCl (схема 43).

Увеличение содержания ацetylхлорида в смеси сдвигает равновесие в сторону образования хлоридов трехвалентного фосфора **43.3**, а содержания уксусной кислоты - к образованию гидрофосфорильной формы **43.2**. Возможно, уксусный ангидрид является более мягким и удобным растворителем-реагентом для образования Р-ОАс-производных **43.1** (схема 43). Мы обнаружили два сигнала атомов фосфора в области, характерной для соединений трехвалентного фосфора, в спектрах ЯМР ^{31}P растворов метилфосфонистой кислоты в ацetylхлориде и метилдихлорфосфина в уксусном ангидриде. Сигнал в области δ_{P} 198 м.д. соответствует атому фосфора MePCl_2 . По-видимому, второй сигнал в области δ_{P} 185 м.д. соответствует одному из двух формально возможных Р-ОАс-производных $\text{MeP}(\text{H})(\text{O})\text{OH} - \{\text{MeP}(\text{OAc})\text{Cl}$ или $\text{MeP}(\text{OAc})_2\}$, образование последнего в избытке уксусного ангидрида представляется более вероятным.

С целью подтверждения генерирования *in situ* РОАс-производных трехвалентного фосфора в условиях амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений мы провели моделирование предполагаемой стадии образования фосфор-углеродной связи. В условиях, благоприятных и неблагоприятных для генерирования ацилиминиевого иона **44.1** из алкилиденбискарбамата **44.2**, в реакцию вводили диэтилацetylфосфит **44.3**. Последний использовали как предварительно синтезированный (схема 44), так и образующийся *in situ* из тетраэтилпирофосфита (схема 45).



Полученные результаты подтверждают необходимость кислотного катализа (AcOH или TFA, ~10 мол. %) для генерирования ацилиминиевого иона **44.1** и образования целевого фосфоната **44.4** ($\delta_{\text{P}} \sim 21.7$ м.д.). Ацetylфосфит **44.3** ($\delta_{\text{P}} \sim 134.6$ м.д.) и бискарбамат **44.2** в уксусном ангидриде не образуют фосфонат **44.4** в отсутствие катализа (схема 44).



Использование тетраэтилпирофосфита в качестве источника диэтилацetylфосфита **45a** или диэтилтрифторацetylфосфита **45b** также подтверждает образование N-Cbz- α -аминофосфоната **44.4**, поскольку диэтилфосфит ($\delta_{\text{P}} \sim 9.1$ м.д.) не расходовался в процессе реакции (схема 45).

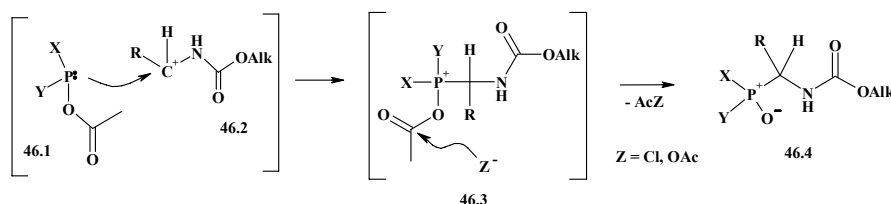
Ацилоксипроизводные трехвалентного фосфора **46.1** (схема 46) могут быть более реакционноспособными соединениями по отношению к ацилиминиевым катионам **46.2** в сравнении с исходными P(O)H-производными. Они содержат нуклеофильный атом фосфора и

электрофильный углеродный атом АсО-группы и, следовательно, могут легко превращаться по типу реакции Арбузова (схема 46).

Нуклеофильный атом трехвалентного фосфора молекулы **46.1** атакует положительно заряженный атом углерода иминиевого катиона **46.2** с последующим формированием фосфор-углеродной связи. Затем быстро протекает атака аниона (Z) на электрофильный углеродный атом АсО-фрагмента промежуточного фосфониевого интермедиата **46.3**, которая приводит к целевому α -амидофосфорильному соединению **46.4** (схема 46).

Таким образом, результаты наших исследований позволяют предложить *новую версию механизма трехкомпонентной реакции амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений в уксусном ангидриде*. Этот многостадийный процесс включает стадию образования *N,N*-алкилиден-бискарбаматов и превращение, протекающее по типу реакции Арбузова, с участием генерированных *in situ* Р-ОАс-производного трехвалентного фосфора (**46.1**) и N-(алкилоксикарбонил)иминиевого катиона (**46.2**) (схема 46).

Схема 46

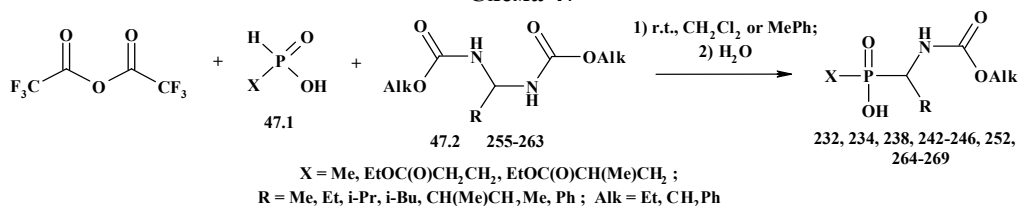


Новая методика амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений в смеси уксусного ангидрида и ацетилхлорида в мягких условиях может применяться с использованием как ароматических, так и для менее реакционноспособных алифатических альдегидов. В результате получают *N*-защищенные α -аминофосфорильные соединения **230-254** с сохранением эфирных алкоксифосфорильных и алкоксикарбоксильных фрагментов целевой молекулы. Следовательно, данную процедуру можно рекомендовать для *синтеза широкого ряда фосфиновых кислот псевдо- α, α' -дипептидов*.

3.3. Реакция Арбузова N-алкоксикарбонилиминиевых ионов и ацилфосфонитов, генерированных *in situ* трифторуксусным ангидридом

Новая идеология генерирования реакционных интермедиатов, образующих Р-С связь, позволила разработать метод синтеза *N*-защищенных α -аминоалкилфосфиновых кислот (схема 47) с добавлением трифторуксусного ангидрида (ТФАА) к смеси гидрофосфорильного соединения **47.1** и *N,N*-алкилиденбискарбамата **47.2** в растворе хлористого метилена или толуола на холоду с последующей водной обработкой.

Схема 47

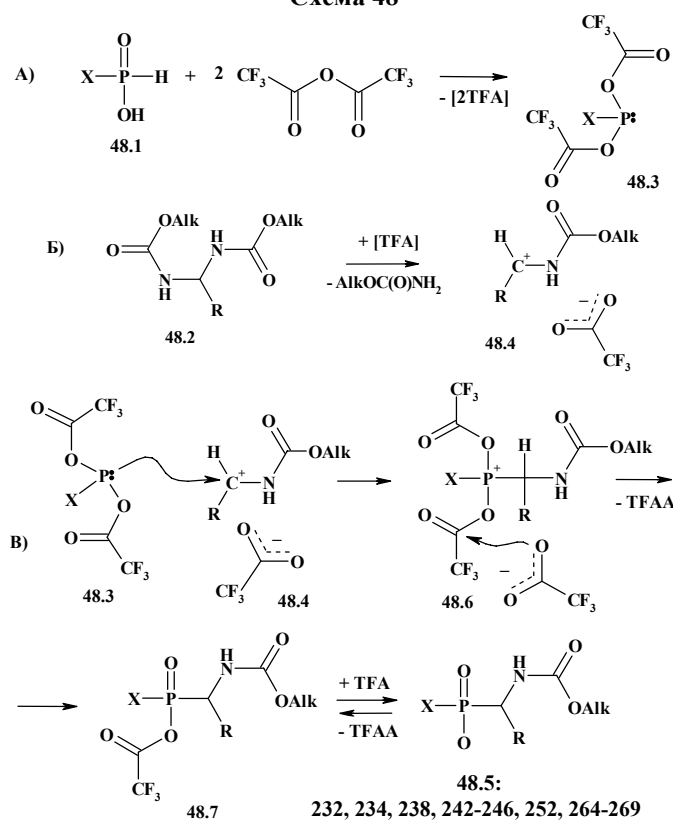


Данная процедура позволяет получить *N*-алкилоксикарбонил- α -аминоалкилфосфиновые кислоты **232, 234, 238, 242-246, 252**, синтезированные нами ранее и описанные в разделе 3.2, а также новые *N*-защищенные аминофосфиновые кислоты **264-269** с хорошими и

удовлетворительными выходами (таблица 4). В качестве гидрофосфорильного компонента были исследованы метилфосфонистая кислота и фосфонистые кислоты - 2-(этилоксикарбонил)этилфосфонистая и 2-(этилоксикарбонил)пропилфосфонистая кислоты (таблица 4), содержащие структурный изостер глицина и аланина.

Порядок добавления трифторуксусного ангидрида к раствору смеси фосфонистой кислоты **48.1** и N,N' -алкилиденбисалкилкарбамата **48.2** в хлористом метиле или толуоле при комнатной температуре определяет первоначальное генерирование P^{III} -OAc-производного трехвалентного фосфора **48.3** *in situ* в результате взаимодействия фосфонистой кислоты **48.1** и TFAA (стадия А, схема 48) с выделением трифторуксусной кислоты. Последняя инициирует последующее генерирование N -алкилоксикарбонилиминиевого катиона (соли) **48.4** *in situ* из N,N' -алкилиденбис(алкилкарбамата) **48.2** (стадия Б, схема 48).

Схема 48



Образование целевых α -аминоалкил-фосфиновых кислот (**48.5**: 232, 238, 252, 264-269) в среде органического растворителя подтверждает предложенный нами механизм. Атом фосфора бис(трифторацетил)фосфонита **48.3**, имеющий неподеленную электронную пару, атакует положительно заряженный углеродный атом N -(бензилоксикарбонил)-иминиевого катиона **48.4**, в результате формируется связь P-C (стадия В, схема 48). Атака аниона CF_3COO^- на электрофильный атом углерода ацильного фрагмента фосфониевого катиона **48.6** приводит к образованию целевого фосфината и регенерации молекулы TFAA.

Таким образом, процесс формирования новой фосфор-углеродной связи протекает по схеме реакции Арбузова и приводит к эфирам фосфиновых кислот **46.7**, которые являются смешанными ангидридами соответствующей фосфиновой и трифторуксусной кислот. В отличие от классической реакции Арбузова нуклеофильная атака атома фосфора в данном случае направлена на катион, а не на электрофильный атом углерода нейтрального соединения. Вероятно, атака аниона CF_3COO^- ацильного фрагмента происходит сразу же после образования связи P-C.

Оказалось, что оптимальным является эквимольное соотношение реагентов – фосфонистой кислоты (**48.1**), N,N' -алкилиденбис(алкилкарбамата) (**48.2**) и TFAA (таблица 21). Это соотношение может служить косвенным подтверждением того, что трифторуксусный ангидрид выступает в качестве не только катализатора реакции, но и реагента.

В соответствии с предложенным механизмом реакции, он должен входить в состав образующихся продуктов, что было установлено с помощью спектроскопии ЯМР. Эти результаты находятся в согласии с полученными ранее данными и свидетельствуют о кислотно-катализируемом характере реакции.

Таблица 4. *N*-Защищенные- α -аминоалкилфосфиновые кислоты **232**, **234**, **238**, **242-246**, **252**, **264-269**

N	X	R	Alk	^a Выход, %
232	Me	Ph	Et	57.6
234	Me	i-Bu	Et	62.3, ⁶ 17.0, ^a 42.3
238	EtOOCCH ₂ CH ₂	Ph	Et	59.4
242	Me	Me	Bn	67.1
243	Me	Et	Bn	58.7, ⁶ 14.1, ¹ 31.7
244	Me	i-Pr	Bn	51.8, ⁶ 15.3
245	Me	i-Bu	Bn	64.2
246	Me	Ph	Bn	61.7
252	EtOOCCH(Me)CH ₂	Me	Bn	37.5
264	Me	CH(Me)CH ₂ Me	Bn	50.3
265	EtOOCCH ₂ CH ₂	i-Pr	Bn	51.5
266	EtOOCCH ₂ CH ₂	i-Bu	Bn	49.4
267	EtOOCCH ₂ CH ₂	Ph	Bn	55.8
268	EtOOCCH(Me)CH ₂	i-Bu	Bn	28.3, ^a 50.3
269	EtOOCCH(Me)CH ₂	CH(Me)CH ₂ Me	Bn	30.7, ^a 48.5

Примечание: ^a1.0 мол.эквивалент TFAA; ⁶0.5 мол.эквивалента TFAA; ^b0.8 мол.эквивалент TFAA; ¹1.5 эквивалента; ^aФосфонистая кислота предварительно соупарена с уксусным ангидридом

3.4. Новый подход к синтезу некоторых труднодоступных фосфиновых кислых аналогов аминокислот и пептидов.

Попытки ввести в трехкомпонентную реакцию амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений некоторые малостабильные альдегиды и ацетали альдегидов были безуспешны или малоэффективны. В качестве *стабильных синтетических эквивалентов* таких альдегидов для реакции с гидрофосфорильными соединениями можно рассматривать *N,N'*-алкилиденбискарбаматы. В соответствии с предложенным нами механизмом при добавлении трифторуксусного ангидрида к смеси бискарбамата и P(O)H-компонента в эквимольном соотношении в органическом растворителе генерируются иминиевый катион и P^{III}-OC(O)CF₃ производное трехвалентного фосфора, образующие целевую связь P-C продукта.

Этот подход позволяет синтезировать ряд труднодоступных фосфорильных аналогов аминокислот и пептидов. В качестве исходных соединений для синтеза алкилиденбискарбаматов **258**, **255**, **270**, **271** и β -(*N*-бензилоксикарбонил) аминоакрилата **272** могут выступать ацетали альдегидов (схема **49**).

Взаимодействие карбаматов и β -аминоакрилата с гидрофосфорильными соединениями протекает в органической среде с генерированием *in situ* высокореакционноспособных интермедиатов. Добавление 1 экв. трифторуксусного ангидрида к смеси реагентов приводит к образованию по схеме реакции Арбузова смешанных P^{IV}-OC(O)CF₃ ангидридов, водная обработка которых дает целевые продукты **234**, **242**, **273-275**. В качестве исходных соединений были исследованы ацетали уксусного, изовалерианового, бензилоксиуксусного (**49.1**, R=CH₂OBn), фенилуксусного (**49.1**, R=Bn) и этилоксикарбонилуксусного (**49.2**, R=CH₂C(O)OEt) альдегидов.

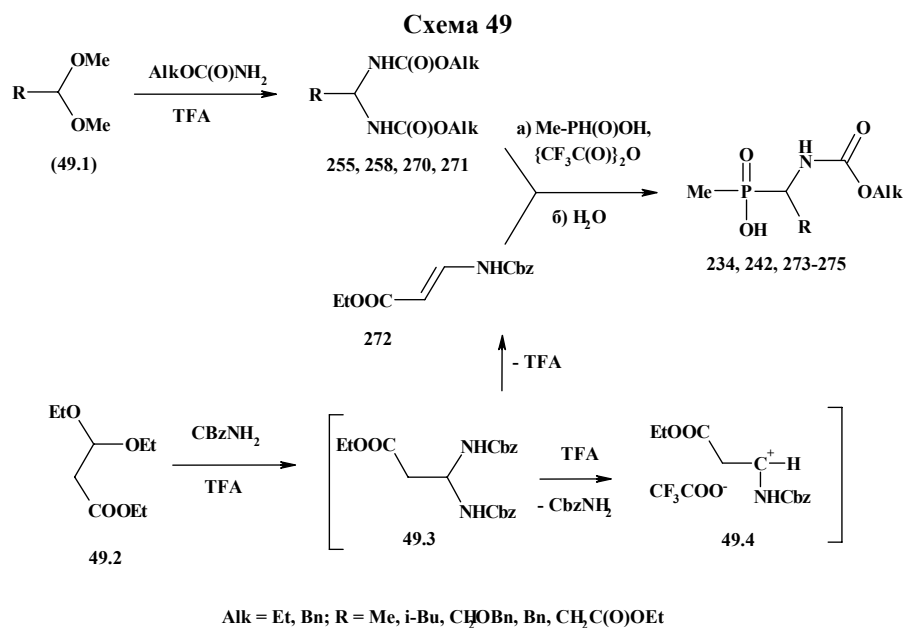


Таблица 5. *N*-Алкилоксикарбонил- α -аминоалкилметилфосфиновые кислоты

N	R	Alk	Выход, %
234	<i>i</i> -Bu	Et	55
242	Me	Bn	53
273	CH ₂ OBn	Bn	53
274	Bn	Et	51
275	CH ₂ C(O)OEt	Bn	68

Интерес к использованию трех последних реагентов обусловлен тем, что образующиеся из них фосфиновые псевдо-пептиды или фосфорильные аналоги соответствующей аминокислоты представляют собой изостеры серинового, фенилаланинового и аспарагинового фрагментов, соответственно. В качестве гидрофосфорильного компонента была изучена метилфосфонистая кислота.

В реакцию были введены альдегиды, генерированные *in situ* из ацеталей в условиях кислотного катализа, который необходим также и для последующего взаимодействия альдегида с алкилкарбаматом с целью выхода к *N,N'*-алкилиденбискарбаматам (258, 255, 270, 271). Присутствие трифторуксусной кислоты облегчает протекание процесса.

Ацетали уксусного, изовалерианового, фенилуксусного и бензилоксиуксусного альдегида, как и ожидалось, реагируют в уксусном ангидриде с 2 экв. алкилкарбамата в присутствии трифторуксусной кислоты с образованием соответствующего *N,N'*-алкилиденбискарбамата (258, 255, 270, 271). Однако, попытка синтезировать аналогичный бискарбамат с участием диэтилацетала этилоксикарбонилуксусного альдегида и 2 экв. бензилкарбамата в присутствии 2.5 экв. TFA в уксусном ангидриде неожиданно привела к этиловому эфиру β -(*N*-бензилоксикарбонил)аминоакриловой кислоты 273 (схема 49). По-видимому, первоначально образуется бискарбамат 49.3, который в условиях кислотного катализа превращается в *N*-Cbz- β -аминоакрилат 272 с выделением молекулы бензилкарбамата и образованием промежуточного *N*-(бензилоксикарбонил)-иминиевого катиона (соли) 49.4. Превращению последнего в акрилат 272 способствует наличие электроноакцепторной сложноэфирной группы. Этот результат также может служить подтверждением предложенного нами механизма кислотно катализируемого образования *N*-алкилоксикарбонилиминиевых ионов из *N,N'*-алкилиденбискарбаматов при амидоалкилировании гидрофосфорильных соединений.

Бискарбаматы **258**, **255**, **270**, **271** вступают в реакцию с метилфосфонистой кислотой и трифторуксусным ангидридом в толуоле или хлористом метиле. В соответствии с описанным выше механизмом, генерируемые реакционноспособные интермедиаты взаимодействуют по схеме реакции Арбузова с образованием N-алкилоксикарбонил- α -аминофосфиновых кислот (**242**, **234**, **273**, **274**). β -N-Cbz-Аминоакрилат **272** реагирует с метилфосфонистой кислотой и трифторуксусным ангидридом в толуоле на холоду.

При последующей обработке водой выделяется соответствующая N-Cbz-защищенная α -аминофосфиновая кислота **275** с хорошим выходом, что подтверждает генерирование *in situ* в условиях реакции соответствующих бис(трифторацетил)метилфосфонита и N-(бензилоксикарбонил)иминиевого иона.

Таким образом, предложен общий метод синтеза N-алкилоксикарбонил- α -аминофосфиновых кислот, в том числе соединений, содержащих структурный изостерный фрагмент серина, фенилаланина и аспарагиновой кислоты. Этот подход позволяет получить ряд труднодоступных фосфорильных аналогов аминокислот и фосфиновых кислых псевдо-пептидов из ацеталей малостабильных альдегидов.

3.5. Развитие методологии синтеза псевдо- γ -аминобутаноилпептидов

(фосфиновых аналогов пептидов γ -аминомасляной кислоты)

Ключевыми интермедиатами служили силиловые эфиры фосфонистых кислот **50.1**, содержащих структурный изостер соответствующей аминокислоты. Эти соединения получают *in situ* (схема 50) и взаимодействуют по типу реакции Арбузова с молекулой N-(3-бромпропил)фталимида и образованием второй фосфор-углеродной связи.

Этот подход позволяет синтезировать фосфиновые кислые псевдо- γ -аминобутаноилпептиды **A** – псевдо-пептиды γ -аминомасляной кислоты – аналоги пептидов ГАМК (**Б**), в молекуле которых одна пептидная связь замещена негидролизующим метилфосфорильным фрагментом (Рис.13). Такие соединения представляют интерес как эффективные лиганды ГАМК рецепторов.

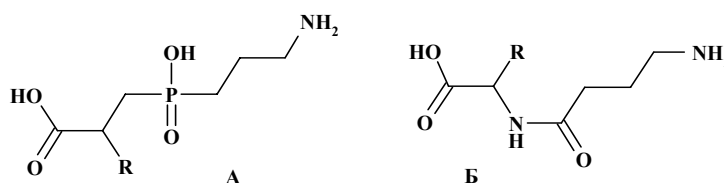
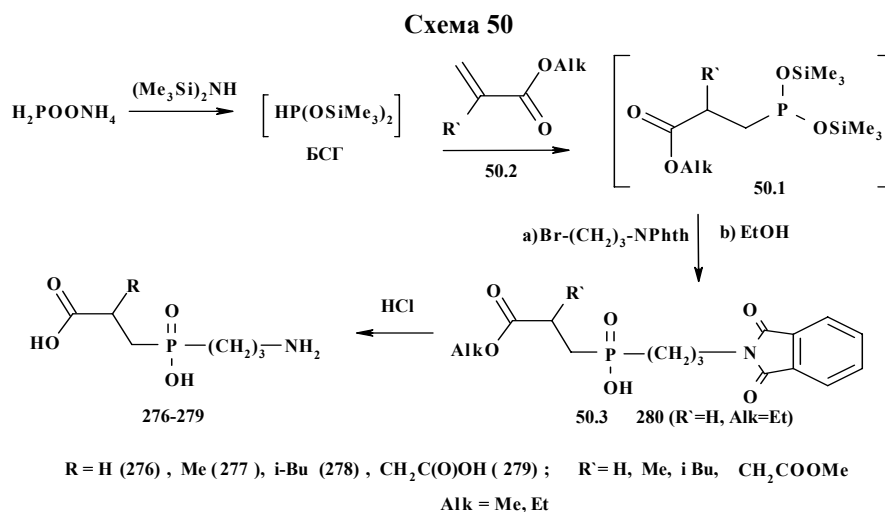


Рис 13

С использованием α -замещенных акрилатов были получены псевдо-пептиды **276-280**. Например, введение в реакцию этилакрилата в качестве непредельного компонента дает псевдо- γ -аминобутаноилглицин $\{\gamma\text{-Abu-}\psi(\text{PO}_2\text{CH}_2)\text{Gly}\}$ **276**, применение этилметакрилата приводит к псевдо- γ -аминобутаноилаланину $\{\gamma\text{-Abu-}\psi(\text{PO}_2\text{CH}_2)\text{Ala}\}$ **277**, использование этил- α -изобутилакрилата позволяет получить псевдо- γ -аминобутаноилвалин $\{\gamma\text{-Abu-}\psi(\text{PO}_2\text{CH}_2)\text{Val}\}$ **278**, а диметилового эфира итаконовой кислоты - псевдо- γ -аминобутаноиласпартат $\{\gamma\text{-Abu-}\psi(\text{PO}_2\text{CH}_2)\text{Asp}\}$ **279** (схема 50).

Силилфосфониты **50.1** *in situ* взаимодействуют с N-(3-бромпропил)фталимидом по типу реакции Арбузова с образованием 2-замещенных-2-(алкоксикарбонил)этил-3-

(фталилимино)пропилфосфиновых кислот **50.3**, которые могут быть выделены в индивидуальном виде, например, кислота **280**.

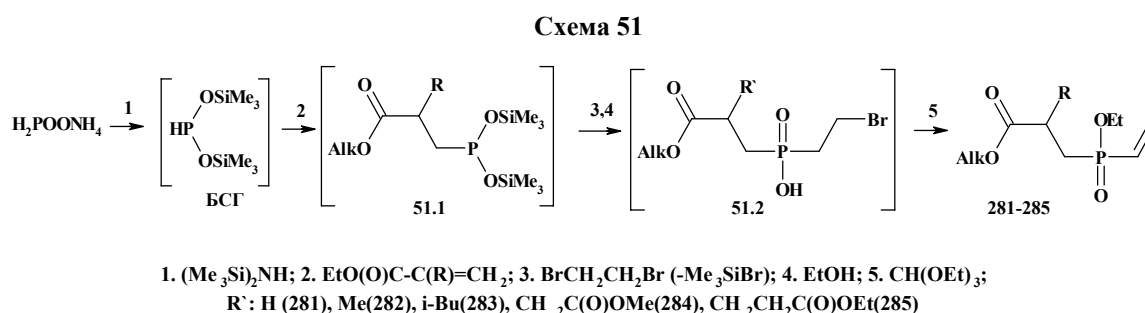


Последующий гидролиз приводит к соответствующим 2-замещенным 2-(гидроксикарбонил)этил-3-аминопропилфосфиновым кислотам – псевдо-γ-аминобутаноилпептидам **276-279**.

3. 6. Методология синтеза псевдо-γ-глутамилпептидов.

3.6.1. Метод синтеза винилфосфиновых кислот, содержащих структурный изостер аминокислоты

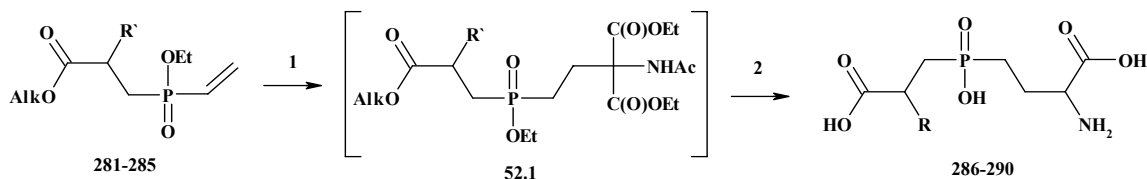
Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов с участием α-замещенных акрилатов (для образования первой связи P-C) и избытка дибромэтана (для образования второй связи P-C) был использован для получения эфиров винилфосфиновых кислот. Обработка образующихся *in situ* 2-бромэтилфосфиновых кислот **51.2** избытком триэтилортоформиата дает ряд эфиров винилфосфиновых кислот, содержащих структурные изостеры соответствующих аминокислот. Эти винилфосфинаты были использованы в качестве исходных соединений для присоединения аминокислотной функции и образования ряда псевдо-γ-глутамилпептидов с хорошими выходами.



Конструирование псевдо-γ-глутамилпептидов в соответствии с этой процедурой представляет собой двухстадийный процесс (схема 51, 52). На *первой стадии* осуществляется *one-pot* формирование обеих фосфор-углеродных связей. В результате образуются винилфосфинаты **281-285**, содержащие β-R'-замещенный β-(алкоксикарбонил)этильный фрагмент – структурный изостер соответствующей аминокислоты в молекуле будущего псевдо-пептида (схема 52).

3.6.2 Синтез псевдо- γ -глутамилпептидов.

Схема 52



1. $\text{AcNHCH}(\text{COOEt})_2/\text{K}_2\text{CO}_3$; 2. HCl , reflux; Dowex 50W(H^+)

$\text{R}' = \text{H}$ (281), Me (282), *i*-Bu (283), $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OMe}$ (284), $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ (285);

$\text{R} = \text{H}$ (286), Me (287), *i*-Bu (288), $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (289), $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (290)

Присоединение ацетамидомалонового эфира по Михаэлю к винилфосфинатам **281-285** в тетрагидрофуране приводит к соответствующим 2- R' -замещенным 2-алкоксикарбонил-этил-3-(*N*-ацетил)-амино-3,3-бис(этоксикарбонил)пропилфосфинатам **52.1**. Последние без выделения превращают в целевые псевдо-пептиды путем кислотного гидролиза и последующей ионообменной хроматографии на катионите. 2-Замещенные 2-гидроксикарбонил-этил-3-амино-3-(гидроксикарбонил)пропилфосфиновые кислоты **286-290** (псевдо- γ -глутамилпептиды) были выделены с выходом 50-71% и охарактеризованы спектральными методами.

Таким образом, разработан *общий метод синтеза псевдо- γ -глутамилпептидов* из аммоний гипофосфита аммония, представляющий собой двухстадийный процесс с образованием β -замещенных β -(алкоксикарбонил)этилвинилфосфинатов на первой стадии и присоединением аминокислотной функции на второй.

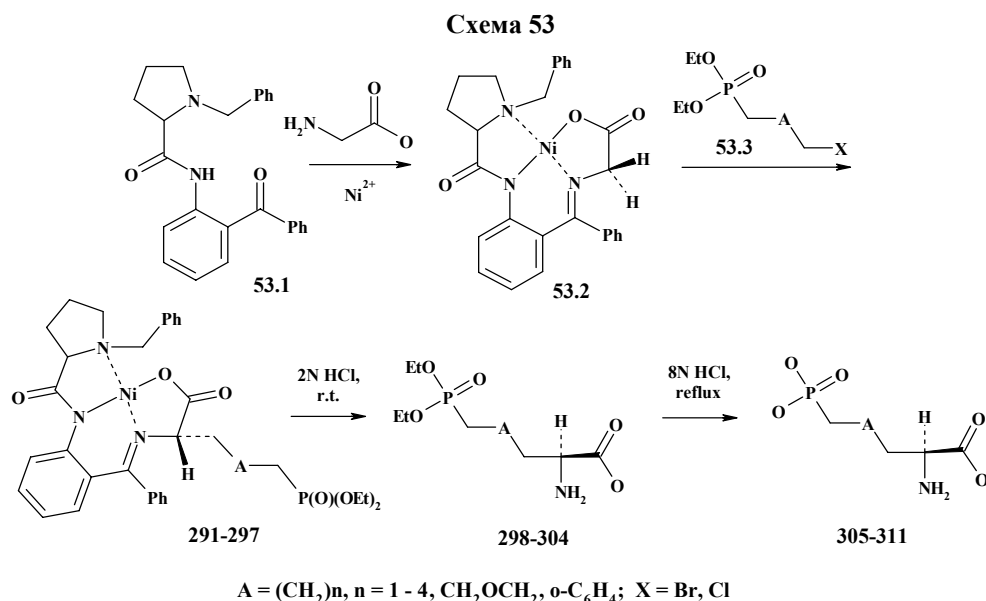
4. Методы синтеза энантимеров фосфорсодержащих аминокислот и фосфиновых псевдо-пептидов

4.1. Асимметрический синтез энантимеров фосфорсодержащих аминокислот

Для синтеза энантиомерных ω -фосфоно- α -аминокарбонных кислот нами был использован разработанный ранее метод стереоселективного введения алкильного радикала в метиленовую группу глицина (Белоконем Ю.Н. с сотр., 1985).

Глицин взаимодействием с (*N*-бензил-*S*- или -*R*-пролил)аминобензофеноном (**53.1**) был превращен в соответствующее шиффово основание (схема 53). Последнее в присутствии никелевых солей образует стабильный никелевый комплекс (**53.2**), содержащий *S*- или *R*-пролиновый фрагмент и метиленовую группу, активность которой повышена. Алкилирование активированного глицинового метиленового фрагмента *S*-пролинового никелевого комплекса (**53.2**) диэтил- ω -бромалкилфосфонатами **53.3** в присутствии щелочи приводит к образованию смеси диастереомерных комплексов **291-297** *S,S*- и *S,R*-конфигурации. Соответственно, при алкилировании хирального комплекса **53.2** (*R*)-конфигурации получается смесь *R,R*- и *R,S*-диастереомеров. В обоих случаях соотношение диастереомеров *S,S*/*S,R* и *R,R*/*R,S* составляет $\sim 95/5$. Разложением алкилированных комплексов **291-297** в 2*N* HCl получены этиловые эфиры фосфорсодержащих аминокислот **298-304** с энантиомерной чистотой 95-97%, что определено методом лигандообменной хроматографии. Хиральные индуцирующие реагенты *S*- и *R*- (*N*-

бензил-пролил)-о-аминобензофеноны (53.1) могут быть регенерированы при разложении комплексов **291-297** с выходом 93-97%.



Свободные ω-фосфоно-α-аминокарбоновые кислоты **305-311** образуются при кислотном гидролизе этиловых эфиров **298-304** без заметной рацемизации с выделением энантимерно чистых аминокислот из водного спирта. Фосфоновые аминоккарбоновые кислоты **306, 307, 299-311** получены в виде *S*-энантимеров, 2-амино-5-фосфоновалериановая кислота (AP5) выделена в виде *R*-энантиомера **303**, а в случае 2-амино-7-фосфогептановой кислоты (AP7) получены оба оптических антипода *S*-энантиомер **307** и *R*-энантиомер **308**.

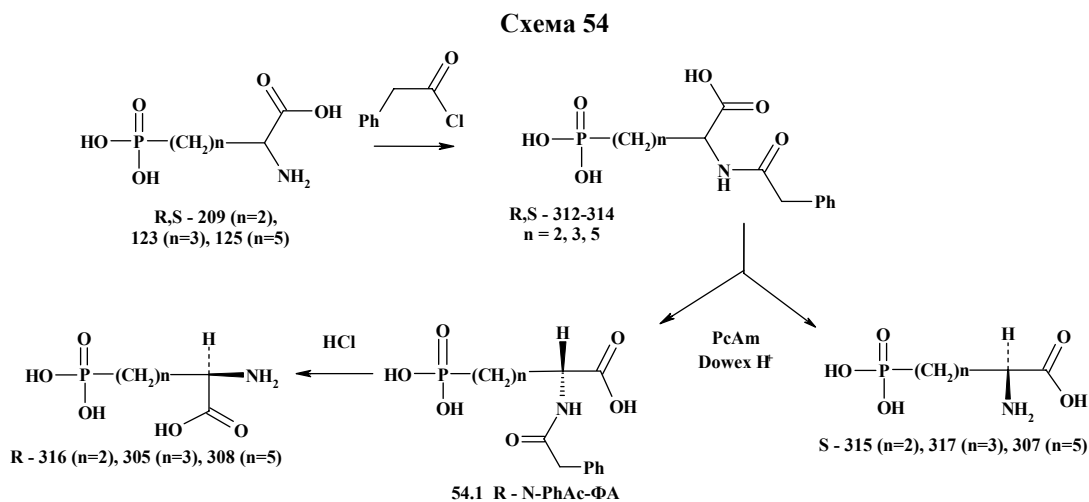
4.2. Ферментативный метод синтеза энантимеров аминокислот и псевдо-пептидов

4.2.1. Синтез энантимеров фосфорсодержащих аминоккарбоновых кислот

Стереоселективность многих биологических мишеней часто непредсказуема, поэтому для изучения физиологической активности новых аминокислотных и пептидных производных обычно необходимо наличие обоих оптических антиподов. Для разделения рацемических смесей аминокислот использование ферментов наиболее предпочтительно, так как позволяет выделить оба энантиомера. С помощью ферментативного катализа можно синтезировать не только энантиомерные фосфорсодержащие аминоккарбоновые кислоты, но и α-аминофосфиновые кислоты, а также энантиомеры псевдо-пептидов.

Нами предложен метод синтеза энантимеров фосфорсодержащих аминоккарбоновых кислот, включающий ферментативный стереоселективный гидролиз *N*-ацелированных производных аминокислот. На ключевой стадии в качестве биокатализатора была использована пенициллинамидаза (PcAm) в иммобилизованной форме, обладающая высокой (~10³-10⁴) *S/R*-стереоселективностью гидролиза амидной связи в молекуле *N*-фенилацелированных производных аминокислот. В качестве объектов исследования были выбраны 2-амино-4-фосфономасляная (AP4) (**209**) (n=2), 2-амино-5-фосфоновалериановая (AP5) (**123**) (n=3) и 2-амино-7-фосфогептановая (AP7) (**125**) (n=5) кислоты (схема 54), обладающие нейропротекторными свойствами. *R,S-N*-Фенилацелированные производные аминокислот (**312-314**) были получены в

условиях реакции Шоттена-Баумана взаимодействием фенилацетилхлорида с *R,S*-аминокислотами (209, 123, 125).



Стадию ферментативного гидролиза рацемических *N*-фенилацетил производных аминокислот **312-314** контролировали методом ВЭЖХ, реакцию останавливали после превращения половины исходного количества амидного производного в свободную аминокислоту. Образующиеся *S*-энантиомеры аминокислот *S*-**315** (*n*=2), *S*-**317** (*n*=3), *S*-**307** (*n*=5) с помощью ионообменной хроматографии на катионите отделяли от негидролизованной *R*-формы *N*-фенилацетиловой аминокислоты **54.1**. Кислотный гидролиз последней без заметной рацемизации приводит к *R*-форме, что позволило выделить энантиомеры – *R*-**316** (*n*=2), *R*-**305** (*n*=3), *R*-**308** (*n*=5). Обе оптические формы аминокислот характеризовались более высокой ($\geq 99\%$) энантиомерной чистотой по сравнению с продуктами асимметрического синтеза.

2.2. Исследование предложенной процедуры ферментативного синтеза энантиомеров аминокислот

С целью исследования границ применимости ферментативного синтеза энантиомерных аминокислот, мы использовали иммобилизованную пенициллинамидазу в качестве биокатализатора стереоселективного гидролиза *N*-фенилацетиловых производных различного строения.

2.2.1. Синтез энантиомеров 2-метил-2-амино-4-фосфономасляной кислоты MAP4.

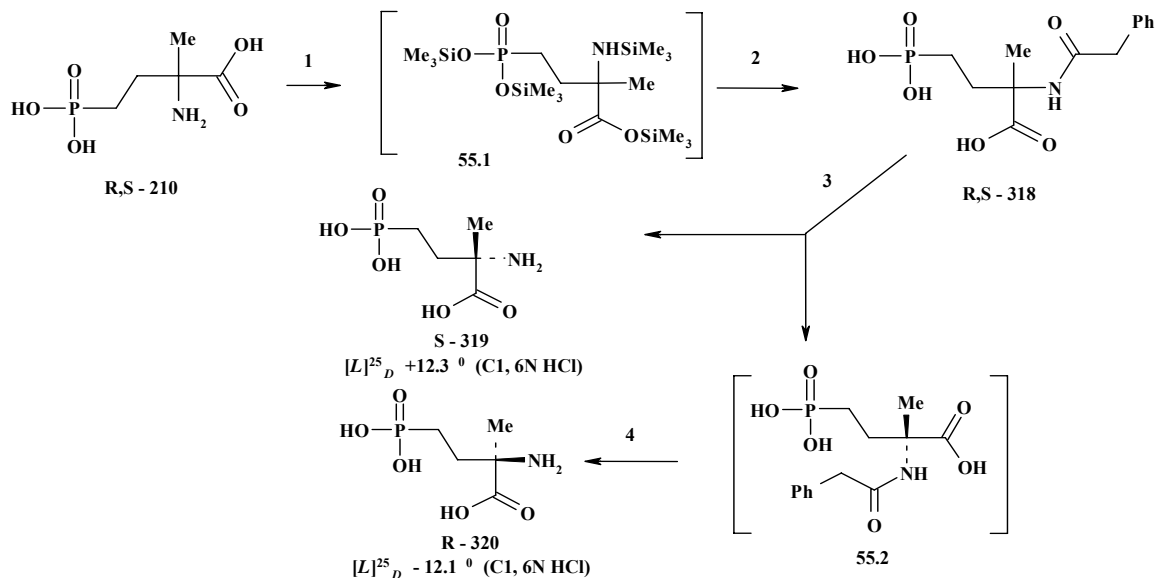
Известно, что α -алкилированные α -аминокислоты обладают свойствами лигандов метаболотропных глутаматных рецепторов (MGluR). α -Метил- γ -фосфоновый аналог глутаминовой кислоты – 2-метил-2-амино-4-фосфономасляная кислота (MAP4) (**210**) является агонистом одного из типов MGluR.

Нами впервые предложен ферментативный синтез *R*- и *S*-энантиомеров MAP4 (схема 55) по аналогии с разработанным нами методом ферментативного синтеза энантиомеров ФА-кислот. Попытка ацилирования аминокислоты **210** с использованием классической процедуры Шоттена-Баумана оказалась неудачной. В отличие от α -незамещенных α -аминокислот потребовалось предварительное силилирование аминокислоты **210**. Последующее взаимодействие

силилированного производного **55.1** *in situ* с фенилацетилхлоридом приводило к целевой (*N*-фенилацетил)аминокислоте **318** после алкоголиза и удаления силильных групп.

Данный эксперимент представляет собой *первый пример использования пенициллинамидазы (PcAm) для разделения α -замещенных α -аминокислот на энантиомеры.*

Схема 55



1. $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{NH}$; 2. a). $\text{PhCH}_2\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, б). EtOH (H_2O); 3. PcAm, pH 7.5; Dowex (H^+); 4. HCl, reflux

Ферментативный гидролиз *N*-фенилацетил-2-метил-2-амино-4-фосфономаляной кислоты *R,S*-**318** протекал заметно дольше, чем гидролиз незамещенного аналога *R,S*-**312** (схема 54) в тех же условиях (pH 7.5, температура 25-35°C). Несмотря на значительное время ферментативного гидролиза амидной связи, положительным результатом является сохранение высокой энантиоселективности пенициллинамидазы.

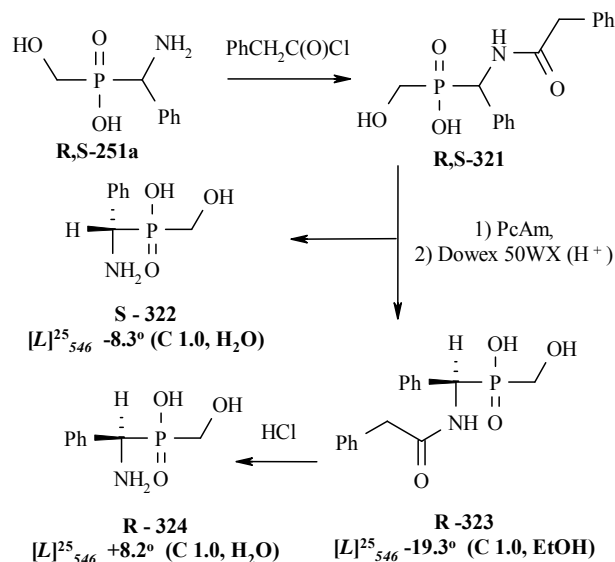
Гидролизованная *S*-**319** и *N*-фенилацетилованная *R*-**55.2** формы были разделены с использованием ионообменной хроматографии. Кислотный гидролиз соединения *R*-**55.2** дал целевой энантиомер *R*-**320** без заметной рацемизации. Сравнение абсолютной величины оптического вращения *R*- и *S*-форм, а также сравнение оптических, физико-химических и аналитических характеристик обоих антиподов с литературными данными подтверждает высокую оптическую чистоту полученных энантиомеров.

2.2.2. Ферментативный синтез энантиомеров фосфинового аналога фенилглицина.

Следующим объектом исследования возможности ферментативного метода синтеза энантиомеров стал **фосфиновый кислый аналог фенилглицина** - α -амино-бензил-гидроксиметилфосфиновая кислота **251a**, полученная амидоалкилированием гидроксиметилфосфонистой кислоты (см. предыдущую главу). Выбор этого соединения обусловлен интересом к ферментативному гидролизу амидной связи при α -аминофосфиновой кислой функции, характерной для фосфиновых кислых аналогов наиболее распространенного типа пептидов - α,α' -дипептидов, а также часто наблюдаемой склонности фенилглициновых производных к рацемизации, обусловленной подвижностью бензильного протона.

R- и *S*-энантимеры фосфинового аналога фенилглицина были получены с использованием пенициллинамидазы (PcAm) в качестве биокатализатора гидролиза *N*-фенилацетилпроизводного **321**. Последний был получен ацилированием аминокислоты **251a** фенилацетилхлоридом в соответствии с классической реакцией Шоттена-Баумана (схема 56). Образовавшийся в результате ферментативного гидролиза *S*-энантимер **322** был отделен от негидролизованной *R*-(*N*-фенилацетил)аминокислоты **323** методом ионообменной хроматографии.

Схема 56.

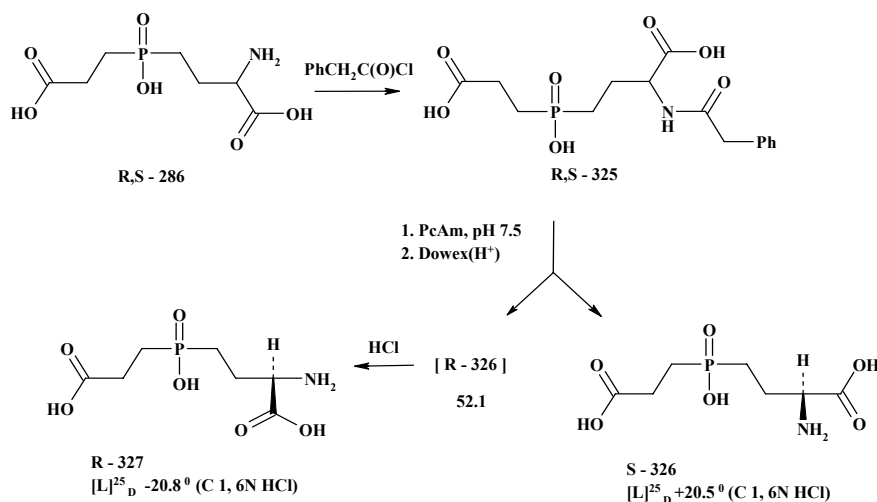


Обычно не выделяемая в индивидуальном виде *R*-*N*-ацилированная форма, в этом эксперименте была получена в виде белого кристаллического вещества, очищена, и охарактеризована. Кислотный гидролиз соединения *R*-**323** протекал без заметной рацемизации и дал оптический антипод *R*-**324**.

2.2.3. Синтез энантимеров псевдо- γ -глутамилглицина

Осуществлен ферментативный синтез энантимеров псевдо- γ -глутамилглицина (схема 57). Рацемический псевдо- γ -глутамилпептид **286** *N*-ацилировали с хлорангидридом фенилуксусной кислоты и получили 2-(гидроксикарбонил)этил-3-(*N*-фенилацетил)амино-3-гидроксикарбонил)пропилфосфиновой кислоты *R,S*-**325** в соответствии с классической процедурой Шоттена-Баумана (схема 57).

Схема 57



После стадии ферментативного гидролиза использовали хроматографию на катионите, что позволило разделить *S*-энантиомер псевдо- γ -глутамилпептида **326** и негидролизованную *R*-форму *N*-фенилацетил-аминокислоты **326** (52.1). Последнюю без выделения гидролизовали солянокислым раствором с образованием *R*-энантиомера псевдо-пептида **327**.

Таким образом, использование пенициллинамидазы на ключевой стадии ферментативного стереоселективного гидролиза позволило разделить рацемические смеси аминокосфиновых и аминокосфиновых кислот различного строения, что позволяет рекомендовать данную процедуру для синтеза энантиомеров широкого ряда фосфорсодержащих аминокислот и фосфиновых псевдо-пептидов.

Выводы

1. Найдена двойная реакция Арбузова для гипофосфитов.
2. Предложена и реализована новая методология последовательного формирования двух фосфор-углеродных связей путем последовательного присоединения генерированных *in situ* производных трехвалентного фосфора к алкенам по типу реакции Михаэля-Пудовика, а также первоначального присоединения гипофосфита к алкену с последующим взаимодействием образовавшегося фосфонита с соответствующими электрофилами по типу реакции Арбузова, Абрамова, Кабачника-Филдса, Михаэля-Пудовика.
3. Разработан общий метод синтеза циклических фосфиновых кислот и метод синтеза диалкилфосфиновых кислот симметричного и несимметричного строения.
4. Разработан общий метод синтеза ω -галогеналкилфосфорильных соединений и общая процедура синтеза фосфорсодержащих аминокосбиновых кислот.
5. Обнаружены дегидрогалогенирующие свойства триалкилортоформиатов и разработан новый общий способ получения винилфосфорильных соединений, что позволило предложить общий метод синтеза фосфинотрицина и других фосфорильных аналогов глутаминовой кислоты.
6. Разработаны новые подходы к синтезу фосфорсодержащих аминокосбиновых кислот и новая методология синтеза фосфиновых псевдо-пептидов.
7. Обнаружены, выделены и охарактеризованы *N,N'*-алкилиденбискарбаматы в качестве стабильных интермедиатов реакции амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений.
8. Предложен новый механизм амидного варианта реакции Кабачника-Филдса, включающий стадию образования связи Р-С по типу реакции Арбузова генерированных *in situ* *N*-(алкилоксикарбонил)иминиевого катиона и Р-ОАс производного трехвалентного фосфора.
9. Показана перспективность амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений в органических растворителях, что позволяет в мягких условиях синтезировать ряд *N*-защищенных псевдо- α,α' -дипептидов, труднодоступных другими методами синтеза.
10. Разработаны общие методы синтеза псевдо- γ -глутамилпептидов и псевдо- γ -аминобутаноилпептидов.
11. С использованием ферментативного катализа получен ряд энантиомеров фосфоизоостеров аминокислот и пептидов.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Простой способ получения диалкилфосфиновых кислот. // Изв. АН СССР, сер. хим. 1988. Вып.11. С.2652.
2. В.В.Рагулин, В.В.Григорьев, В.А.Неманова, Е.Н.Цветков. Исследование противосудорожной активности антагонистов глутаматных рецепторов. // Хим.-фарм. журн. 1988. Т.22. N3. С.275-277.
3. В.В.Григорьев, В.В.Рагулин. Действие фосфорсодержащих аминокарбоновых кислот на нервно-мышечную передачу мясной мухи. // Нейрофизиология. 1988. Т.20. N2. С.256-259.
4. В.В.Рагулин, В.В.Григорьев, Е.Н.Цветков. Способ получения ω -галогеналкилфосфонатов. // Авторское свидетельство СССР N1410489. Б.И.1990. N34. РЖХим.1991. 3N169П. Приоритет от 17.11.86 г. Патент N1410489. Россия.
5. В.В.Рагулин, М.Е.Бофанова, Е.Н.Цветков. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение I. Способ получения соединений фосфонатного типа. // Изв. АН СССР, сер. хим. 1989. Вып. 11. С.2590-2595.
6. В.В.Рагулин, В.В.Григорьев, В.А.Неманова, Е.Н.Цветков Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение III. Соединения с о-ксилиленовым фрагментом. // Хим.-фарм. журн. 1991. N 3. С. 50-52.
7. V.V.Ragulin, M.E.Bofanova, E.N.Tsvetkov. Phosphorus - containing aminocarboxylic acids. IV. A convenient method of phosphonic acids synthesis. // Phosphorus, Sulfur and Silicon. 1991. V. 62. N 1. P. 237-241.
8. В.В.Григорьев, В.В.Рагулин, В.А.Неманова. Видовые различия в действии конкурентных антагонистов NMDA рецепторов в нейронах гиппокампа мышей и крыс. // Доклады РАН. 1992. Т.326, N4, С.742-745.
9. V.V.Ragulin, N.R.Kurdyumova, E.N.Tsvetkov. Phosphorus - containing aminocarboxylic acids. V. Method for the synthesis of phosphinic acids. // Phosphorus, Sulfur and Silicon. 1994. V. 88. N 2. P. 271-274.
10. В.В.Рагулин, Н.Р.Курдюмова, Е.Н.Цветков. Синтез ациклических и циклических диалкилфосфиновых кислот на основе гипофосфита аммония. // Ж. общ. химии. 1994. Т.64. Вып.3. С.419-422.
11. Е.Н.Цветков, В.И.Евреинов, В.Е.Баулин, В.В.Рагулин, Н.А.Бондаренко, З.Н.Вострокнутова, З.В.Сафронова. Фосфорсодержащие поданды. XIII. Лиганды с литий-натриевой избирательностью в ряду бис[о-(2-дифенилфосфинилэтил)фениловых] эфиров олигоэтиленгликолей и их аналогов. // Ж. общ. химии. 1995. Т.65. Вып.9. С.1421-1431.
12. Н.Р.Курдюмова, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Синтез винилфосфорильных производных. Триэтилортоформиат как новый дегидрогалогенирующий реагент. // Ж. общ. химии. 1996. Т.66. Вып.5. С.769-771.
13. Л.Ф.Рожко, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение VI. Улучшенный метод синтеза 2-амино-5-фосфопентановой кислоты. // Ж. общ. химии. 1996. Т.66. Вып.7. С. 1093-1095.

14. И.Г.Андропова, В.И.Малеев, В.В.Рагулин, М.М.Ильин, Е.Н.Цветков, Ю.Н.Белоконь. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение VII. Асимметрический синтез фосфоновых аминокарбоновых кислот. // Ж. общ. химии. 1996. Т.66. Вып.7. С.1096-1099.
15. Н.Р.Курдюмова, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Синтез фосфиновых кислот на основе гипофосфита калия. // Ж. общ. химии. 1996. Т.66. Вып.8. С. 1402-1403.
16. С.В.Куликов, В.В.Григорьев, В.В.Рагулин. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. VIII. Синтез и исследование пептидов на основе 2-амино-5-фосфоноалериановой кислоты. // Хим.-фарм. журн. 1997. Вып.7. С.32-34.
17. N.R.Kurdyumova, V.V.Ragulin, E.N.Tsvetkov. Synthesis of Phosphinothricine and Other Phosphorylic Analogues of Glutamic Acid. // Mendeleev Commun. 1997. N 2. P. 69-70.
18. Н.Р.Курдюмова, Л.Ф.Рожко, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов. I. Акрилаты в качестве непредельной компоненты. // Ж. общ. химии. 1997. Т.67. Вып.12. С. 1965-1969.
19. Н.Р.Курдюмова, Л.Ф.Рожко, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов. II. Стирол в качестве непредельной компоненты. // Ж. общ. химии. 1997. Т.67. Вып.12. С. 1970-1973.
20. Л.Ф.Рожко, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение IX. Фосфиноксиды. // Ж. общ. химии. 1997. Т.67. Вып.12. С. 1974-1976.
21. Н.Р.Курдюмова, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение X. Синтез фосфиновых диаминокислот. // Ж. общ. химии. 1999. Т.69. Вып.7. С. 1122-1125.
22. Н.Р.Курдюмова, В.В.Рагулин. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение XI. Синтез 2-амино-4-{(фосфоноэтил)фосфино}масляной кислоты. // Ж. общ. химии. 1999. Т.69. Вып.7. С. 1126-1128.
23. Л.Ф.Рожко, В.В.Рагулин. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение XII. Синтез ненасыщенных аналогов. // Ж. общ. химии. 1999. Т.69. Вып.7. С. 1129-1133.
24. Л.Ф.Рожко, С.Г.Клочков, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение XIII. Ферментативный синтез энантиомеров фосфоновых аминокарбоновых кислот. // Ж. общ. химии. 1999. Т.69. Вып.7. С. 1134-1137.
25. И.В.Саратовских, В.В.Калашников, В.В.Рагулин. Синтез α -замещенных фосфорсодержащих аминокарбоновых кислот. // Ж. общ. химии. 1999. Т.69. Вып.7. С. 1218-1220.
26. V.V.Ragulin, L.F.Rozhko, I.V.Saratovskikh, N.S.Zefirov. Simple synthesis of 2-(hydroxycarbonyl)ethyl-3-amino-3-(hydroxycarbonyl)propyl phosphinic acid and related compounds. Patent of Japan B2000-18568. January 27.2000; Chem. Abs. 2001, AN 2001:552806.
27. V.V.Ragulin, L.F.Rozhko, I.V.Saratovskikh, N.S.Zefirov. Enzymatic method for the synthesis of enantiomers of 2-(hydroxycarbonyl)ethyl-3-amino-3-(hydroxycarbonyl)propyl phosphinic acid (pseudo- γ -glutamylglycine) and derivatives. Patent of Japan B2000-18581 January 27.2000, Chem. Abs. 2001, AN 2001:574226.
28. В.В.Рагулин. Синтез фосфинового аналога глутамилглицина. // Ж. общ. химии. 2001. Т.71. Вып. 11. С. 1928-1929.

29. В.В.Рагулин. “One-pot” синтез α -аминофосфиновых кислот. // Ж. общ. химии. 2004. Т. 74. Вып. 1. С. 154-156.
30. Л.Ф.Рожко, В.В.Рагулин. Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов. III. Синтез α -гидроксифосфиновых кислот. // Ж. общ. химии. 2004. Т.74. Вып. 7. С. 1177-1181.
31. В.В.Рагулин. Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов. IV. Синтез псевдо- γ -глутамилглицина и его энантиомеров. // Ж. общ. химии. 2004. Т.74. Вып. 8. С. 1273-1278.
32. В.В.Рагулин. Ферментативный синтез энантиомеров 2-метил-2-амино-4-фосфономасляной кислоты. // Ж. общ. химии. 2004. Т.74. Вып. 8. С. 1400-1402.
33. А.Н.Туранов, В.К.Карандашев, В.В.Рагулин. Экстракционные свойства бис(дифенилфосфинилэтил)фосфиновой кислоты в азотнокислых средах. // Радиохимия. 2005. Т.47, вып.3. С. 252-256.
34. Л.Ф.Рожко, В.В.Рагулин. α -Гидрокси- α -аминофосфиновые кислоты. I. Синтез нового аналога фенилглицина и его энантиомеров. // Ж. общ. химии. 2005. Т.75. Вып. 4. С. 571-574.
35. И.В.Саратовских, В.В.Рагулин. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Сообщение XIV. Синтез α -замещенных аналогов глутаминовой кислоты. // Ж. общ. химии. 2005. Т.75. Вып.7. С. 1140-1147.
36. L.F.Rozhko, V.V.Ragulin. Method for the synthesis of phosphinic acids from hypophosphites. V. The synthesis of pseudo - α , α' -dipeptides. // *Amino Acids*. 2005. V. 29. pp. 139-143.
37. В.В.Рагулин. Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов. VI. Общий метод синтеза псевдо- γ -глутамилпептидов. // Ж. общ. химии. 2007. Т.77. Вып. 5. С. 763-768.
38. В.В.Рагулин. Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов. VII. Синтез псевдо- γ -аминобутаноилпептидов и других фосфиновых аналогов ГАМК. // Ж. общ. химии. 2008. Т.78. Вып. 9. С. 1422-1427.
39. А.Н.Туранов, В.К.Карандашев, В.В.Рагулин. Экстракция редкоземельных элементов из азотнокислых растворов дифенилфосфинилметил-2-фенилэтилфосфиновой кислотой. Ж. неорг. химии. 2009. Т.54, вып. 3. С.535-542.
40. М.Е.Dmitriev, V.V.Ragulin. New opinions on the amidoalkylation of hydrophosphorylic compounds. // *Tetrahedron Lett*. 2010. V. 51. N. 19. P. 2613-2616.
41. М.Э.Дмитриев, В.В.Рагулин. Метод синтеза фосфиновых кислот на основе гипофосфитов. VIII. Синтез α -аминоалкил-фенетилфосфиновых кислот. // Ж. общ. химии. 2010. Т.81. Вып. 9. С.1446-1451.
42. М.Э.Дмитриев, А.Россинец, В.В.Рагулин. Амидоалкилирование гидрофосфорильных соединений. // Ж. общ. химии. 2011. Т.81. Вып. 6. С.898-910.
43. М.Э.Дмитриев, В.В.Рагулин. Ацетали и N,N' -алкилиденбискарбаматы в синтезе N -защищенных α -аминофосфиновых кислот. // Ж. общ. химии. 2012. Т.82. Вып. 11. С. 1919-1922.
44. В.В.Рагулин. ω -Галогеналкилфосфорильные соединения, синтез, свойства. // Ж. общ. химии. 2012. Т.82. Вып. 12. С.1973-1981.
45. М.Е.Dmitriev, V.V.Ragulin. Arbuzov-type reaction of acylphosponites and N -alkoxycarbonylimine cations generated in situ with trifluoroacetic anhydride. // *Tetrahedron Lett*. 2012. V. 53. N. 13. P.1634-1636.

46. М.Э.Дмитриев, В.В.Рагулин. Ацилоксипроизводные трехвалентного фосфора в реакции амидоалкилирования гидрофосфорильных соединений. // Ж. общ. химии. 2013. Т.83. Вып. 10. С.1681-1687.

Тезисы коференций:

47. В.В.Рагулин, В.А.Неманова, В.В.Григорьев, Е.Н.Цветков. Исследование противосудорожной активности фосфорсодержащих аминокарбоновых кислот как антагонистов глутаматных рецепторов. // Тезисы Всесоюзного совещания "Глутаматные рецепторы", М., 1987, С.131.
48. В.В.Рагулин. Синтез диалкилфосфиновых кислот. // Тезисы Всесоюзной конференции по химии и химической технологии. М.,1989, С.231.
49. В.В.Рагулин, В.В.Григорьев, Е.Н.Цветков. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты. Методы синтеза, физиологическая активность. // // Тезисы докладов Всесоюзного семинара "Химия физиологически активных соединений." Черноголовка, 1989 г., С.201.
50. В.В.Рагулин, В.В.Григорьев, Е.Н.Цветков. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты - новый класс противосудорожных веществ. // Тезисы докладов XIV Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. 1989г., М., "Наука", Т.1. С. 476.
51. В.В.Григорьев, В.А.Неманова, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Фосфорсодержащие аминокарбоновые кислоты - новый класс противосудорожных соединений, методы синтеза, физиологическая активность. // Тезисы докладов межреспубликанской научно-практической конференции «Синтез, фармакология и клинические аспекты новых психотропных и сердечно-сосудистых веществ» Волгоград, 1989. С.21-22.
52. В.В.Рагулин. Метод синтеза фосфиновых кислот. // Тезисы докладов V Московской конференции по органической химии и технологии, М., 1990 г., ч.II., С.179.
53. V.V.Grigoirev, V.V.Ragulin, S.O.Bachurin. The action of glycine and antagonists on NMDA responses in the rat cortical neurons. // Proc. of 13th Congress of ISN, Sydney, 1991, P.143.
54. V.V.Grigoirev, V.V.Ragulin, S.O.Bachurin. Influence of glycine and AP7 on NMDA responses in the rat cortical neurons. // Proc. of Int. Conf. "Receptors of the mediatory aminoacids: structure, function and drug design.", London, 1990, P.196.
55. V.A.Nemanova, V.V.Ragulin, V.V.Grigoirev, Bachurin S.O. Different influence of competitive antagonists (AP5 and AP7) on NMDA responses in the rat and mice hippocampal neurons. // Proc. of III Int. Congr. of comparative physiology and biochemistry, Tokyo, 1991, 169.
56. Н.Р.Курдюмова, В.В.Рагулин, Е.Н.Цветков. Синтез фосфиновых кислот. // Тезисы Симпозиума по органической химии. С.-Петербург, 1995, С.132-133.
57. N.R.Kurdyumova, V.V.Grigoirev, V.V.Ragulin, E.N.Tsvetkov. Synthesis of phosphinic aminocarboxylic acids. // Proc. Of XI Intern. Conf. on Chemistry of Phosphorus Compounds (ICPC-XI), Kazan, Russia, 1996, P.182.
58. Н.Р.Курдюмова, В.В.Рагулин. Синтез ω-аминоалкилфосфиновых кислот. // Труды конференции "Химия фосфорорганических соединений и перспективы ее развития на пороге 21 века" памяти академика М.И.Кабачника, Москва, 1998, С.134.

59. V.V.Ragulin. Methods for synthesis of phosphorylic analogues of amino acids and peptides. // Proc. Of XIII Intern. Conf. on Chemistry of Phosphorus Compounds (ICCP-C-XIII), S.-Petersburg, Russia, 2002, P.261.
60. V.V. Ragulin. A novel synthetic route to pseudo- α,α -dipeptides. // Proc. Of XIV Intern. Conf. on Chemistry of Phosphorus Compounds (ICCP-C-XIV), Kazan, Russia, 2005, P.120.
61. M.E.Dmitriev, V.V.Ragulin. Synthesis of phosphinic pseudo- α,α' -dipeptides. // Book of Abstracts of XV International Conference on Chemistry of Phosphorus Compounds (ICCP-C-XV), S.-Petersburg, Russia, 2008. P.125 (engl.) стр.358 (рус.)
62. M.E.Dmitriev, V.V.Ragulin. Acrylates in the synthesis of phosphinic acid pseudo-peptides. Proc. of Intern.Conf. on Organic Chemistry "Chemistry of Compounds with Multiple-Carbon Bonds", S.-Petersburg, Russia, 2008. P.193-194.
63. M.E.Dmitriev, V.V.Ragulin. Synthesis of α -aminophosphinic pseudo-peptides. Dmitriev M.E., Ragulin V.V. Proc. of Intern.Conf. "Organic Chemistry for Medicine", Chernogolovka, 2008. P.79-80.
64. M.E.Dmitriev, V.V.Ragulin. Synthesis of pseudo-peptides by amidoalkylation of phosphonous acids containing isostere of amino acid. // Международная конференция по химии "Основные тенденции развития химии в начале XXI века", 21-24 апреля 2009, Санкт-Петербург. С. 352.
65. M.E.Dmitriev, V.V.Ragulin. Methodology for the synthesis of phosphinic peptides. XIX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. Волгоград. 2011. Т.1. С.188.

Автор считает своим долгом почтить память проф. Е.Н.Цветкова и выразить искреннюю признательность за поддержку, оказанную им на первом этапе исследования. Автор выражает глубокую благодарность своим соавторам, старшим и младшим коллегам, в разное время принимавшим участие в работе: академику Н.С.Зефинову, член-корр. РАН С.О.Бачурину, проф. Ю.Н.Белоконю, д.х.н. В.И.Малееву, д.б.н. В.В.Григорьеву, к.б.н. С.Г.Клочкову, к.х.н. Н.Р.Курдюмовой, И.Г.Андроновой, М.Е.Бофановой, М.Э.Дмитриеву, В.В.Калашникову, Л.Ф.Рожко, И.В.Саратовских, автор благодарен сотрудникам лаборатории прикладной спектроскопии института к.ф.-м.н. В.О.Завельскому, [А.Н.Пушину], В.И.Шестову, И.П.Калашниковой, сотрудникам аналитической группы к.х.н. Е.В.Смолиной и Г.Д.Шишко, сотрудникам лаборатории элементоорганических биоизостеров.