

ՀՀ ԳԱԱ «ԱՅԿԵՆՄԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ» ԳԱԿ ՊՈԱԿ

Ստեփանյան Լալա Աշոտի

**Դեհիդրոտալանինի նոր մոդիֆկացված քիրալային Ni(II)  
կոմպլեքսների սինթեզը և դրանց հետազոտումը  $\beta$ -տեղակալված  
 $\alpha$ -ամինաթթուների կենսամիմետիկ ասիմետրիկ  
սինթեզի ռեակցիաներում**

Գ.00.14 - "Կենսատեխնոլոգիա" և  
Բ.00.10 - "Կենսորգանական քիմիա" մասնագիտություններով  
քիմիական գիտությունների թեկնածուի գիտական  
աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՄԵՂՄԱԳԻՐ

Երևան – 2013

---

ИПЦ «АРМБИОТЕХНОЛОГИЯ» НАН РА ГНКО

Степанян Лала Ашотовна

**Синтез новых модифицированных хиральных Ni(II) комплексов  
дегидроаланина и их исследование в биомиметических  
асимметрических реакциях синтеза  $\beta$ -замещенных  $\alpha$ -  
аминокислот**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук по специальностям  
03.00.14 – «Биотехнология» и 02.00.10 – «Биоорганическая химия»

Ереван – 2013

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝

ՀՀ ԳԱԱ ակադեմիկոս, պրոֆեսոր  
Ա. Ս. Սաղյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

քիմիական գիտությունների դոկտոր  
Ա.Ե. Աղաջանյան  
քիմիական գիտությունների դոկտոր  
Վ.Հ. Մնացականյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

Երևանի պետական համալսարան

Պաշտպանությունը կայանալու է 2013թ. հունիսի 19-ին, ժամը 14<sup>00</sup>– ին ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ում գործող ՀՀ ԲՈՂ-ի կենսատեխնոլոգիայի 018 մասնագիտական խորհրդի նիստում:

Հասցեն՝ 0056, ՀՀ, ք. Երևան, Գյուրջյան փողոց, 14, հեռ/ֆաքս (374 10) 65 41 83

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ գրադարանում:

Մեղմագիրն առաքված է 2013թ. մայիսի 18-ին:

Մասնագիտական խորհրդի  
գիտական քարտուղար, կ.գ.թ.

Գ.Ե. Ավետիսովա

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета ННЦ «Армбиотехнология» НАН РА

Научный руководитель:

академик НАН РА, профессор  
А.С. Сагиян

Официальные оппоненты:

доктор химических наук  
А.Е. Агаджанян  
доктор химических наук  
В.А. Мнацаканян

Ведущая организация:

Ереванский государственный университет

Защита диссертации состоится «19» июня 2013г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании специализированного совета 018 Биотехнологии ВАК РА при ННЦ «Армбиотехнология» НАН РА.

Адрес: 0056, РА, г. Ереван, ул. Гюрджяна, 14, тел/факс (374 10) 65 41 83

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННЦ «Армбиотехнология» НАН РА.

Автореферат разослан «18» мая 2013 г.

Ученый секретарь

специализированного совета, к.б.н.

Г.Е. Аветисова

## ԱՇՈՍԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐ

**Խնդրի արդիականությունը:** Ֆիզիոլոգիական ակտիվությամբ օժտված օպտիկապեն ակտիվ քիրալային միացությունների շարքում հատուկ տեղ են զբաղեցնում ամինաթթուները, որոնք լայն կիրառություն են ստացել բժշկագիտության, սննդարդյունաբերության, գյուղատնտեսության և այլ բնագավառներում: Վերջին տասնամյակներում հետազոտողների ուշադրությունը սևեռված է հատկապես ոչ սպիտակուցային  $\alpha$ -ամինաթթուների վրա, որոնք օժտված են ֆիզիոլոգիական ակտիվությամբ մեծ պաշարով և հանդիսանում են ժամանակակից հակաքաղցկեղային, հակավիրուսային, հակահիպերտենզիվային և այլ դեղապատրաստուկների կարևոր դեղաբանորեն ակտիվ բաղադրիչները ( Koike T., et al., 2000, Cativele, 1997; Couturier, 2004):

Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների կիրառման կարևորագույն ոլորտներից է Պոզիտրոնային Ըմիսիոնային Տոմոգրաֆիան (ՊԷՏ), որտեղ իզոտոպներով ( $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ) նիշակրված նմանակների տեսքով դեղապատրաստուկները կիրառվում են մի շարք հիվանդությունների (ուռուցքային, սրտաբանական և այլն) արդյունավետ ակտորոշման գործընթացներում որպես ռադիոդեղապատրաստուկ (Fasth, 1990; Vries 1999; Hess, 2002):

Անհրաժեշտ է նշել, որ գրեթե բոլոր բնագավառներում ամինաթթուները պիտանի են կիրառության համար միայն օպտիկապեն մաքուր իզոմերների տեսքով: Մասնավորապես, հայտնի է, որ, դեղաբանորեն ակտիվ քիրալային պատրաստուկի օպտիկական անտիպոդը ցուցաբերում է բացասական դեղաբանական ազդեցություն (լավագույն դեպքում մնում է չեզոք), իսկ ՊԷՏ ակտորոշման բնագավառում նիշակրված ամինաթթվի օպտիկական անտիպոդի մինչև 5% պարունակությունը ռադիոդեղապատրաստուկում խանգարում է արդյունավետ ակտորոշմանը (Blaschke, 1980; Abellan, 2000): Իզոտոպների կիսատրոհման շրջանների կարճատևության պատճառով յսիստ կարևոր է նաև ռադիոդեղապատրաստուկի ստացման պրոցեսների արագընթացությունը:

Բնականաբար, նման կարգի քիրալային միացությունները պետք է սինթեզվեն հնարավորինս արագ և բարձր էնանտիոմերային (կամ դիաստերեոմերային) մաքրությամբ: Հետևաբար, առավել բարձր էնանտիոսելեկտիվությամբ և ամինաթթվային մնացորդի ռեակցիոնունակությամբ օժտված մոդիֆիկացված դեհիդրոամինաթթվային քիրալային կոմպլեքսների ստացումը և դրանց կիրառմամբ զանազան կառուցվածքի օպտիկապեն ակտիվ  $\beta$ -տեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուների բարձրսելեկտիվ և համեմատաբար արագընթաց կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդների մշակումը արդիական և հրատապ խնդիր է:

**Հետազոտության նպատակն ու խնդիրները:** Սույն առենախտության նպատակն է նոր, արդյունավետ մոդիֆիկացված քիրալային դեհիդրոամինաթթվային կոմպլեքսների սինթեզը և, որպես ՊՖ-կախյալ ֆերմենտների մոդելային համակարգեր, դրանց միջոցով օպտիկապեն ակտիվ  $\beta$ -տեղակալված ( $S$ )- և ( $R$ )- $\alpha$ -ամինաթթուների՝ ներառյալ գրականության մեջ չնկարագրված նոր միացությունների, արագընթաց և բարձրսելեկտիվ կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդների մշակումը:

Նշված նպատակների իրականացման համար անհրաժեշտ է լուծել հետևյալ խնդիրները.

- Սինթեզվել և հետազոտել  $Ni^{II}$  իոնի նոր մոդիֆիկացված հարթ քառակուսային դեհիդրոտամինաթթվային կոմպլեքսներ, կազմված N-բենզիլպրոլինի մնացորդի ֆենիլային օդակի *որթո*-դիրքում F և Cl տեղակալիչներ պարունակող փրալային օժանդակ ռեագենտների և դեհիդրոտամինի Շիֆի հիմքերից՝  $Ni^{II}-(S)-2-CBPPB-\Delta-Ala$ ,  $Ni^{II}-(R)-2-CBPPB-\Delta-Ala$ ,  $Ni^{II}-(S)-2-FBPPB-\Delta-Ala$  և  $Ni^{II}-(R)-2-FBPPB-\Delta-Ala$ :
- Մոդիֆիկացված կոմպլեքսները հետազոտել դեհիդրոտամինաթթվային մնացորդի չհագեցած  $C=C$  կապին նուկլեոֆիլների միացման ասիմետրիկ ռեակցիաներում, մշակել  $\beta$ -տեղակալված (S)- և (R)- $\alpha$ -ամինաթթուների բարձրսելեկտիվ և համեմատաբար արագընթաց կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդներ:
- Մշակել գրականության մեջ չնկարագրված  $\beta$ -դիրքում հետերոցիկլիկ պիպերազինային օդակ պարունակող (S)- և (R)- $\alpha$ -ալանինի նոր նմանակների ասիմետրիկ կենսամիմետիկ սինթեզի մեթոդներ:
- Վետազոտել սինթեզված որոշ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների ազդեցությունը մի շարք գրամ-դրական և գրամ-բացասական միկրոօրգանիզմների աճի վրա:

**Գիտական նորույթ:** Որպես պիրիդոքսալֆոսֆատ ֆերմենտների արդյունավետ մոդելային համակարգեր, առաջին անգամ, սինթեզվել և հետազոտվել են N-բենզիլպրոլինի մնացորդի ֆենիլային օդակի 2-րդ դիրքում ֆտոր և քլոր տեղակալիչներ պարունակող  $Ni^{II}$  իոնի նոր մոդիֆիկացված դեհիդրոտամինային կոմպլեքսներ՝  $Ni^{II}-(S)-2-CBPPB-\Delta-Ala$ ,  $Ni^{II}-(R)-2-CBPPB-\Delta-Ala$ ,  $Ni^{II}-(S)-2-FBPPB-\Delta-Ala$  և  $Ni^{II}-(R)-2-FBPPB-\Delta-Ala$ : Վերջիններս հետազոտվել են ինչպես հայտնի, այնպես էլ գրականության մեջ չնկարագրված  $\beta$ -տեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում: Մշակվել են (S)- և (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով  $\beta$ -տեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուների բարձր-սելեկտիվ ( $ee > 97\%$ ) և համեմատաբար արագընթաց (10-30 րոպե) կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդներ:

Մշակվել է պոտենցիալ հակավիրուսային ակտիվությամբ օժտված էնանտիոմերապես հարստացված գիլլիկ 2-կարբօքսիպիպերազինի սինթեզի մեթոդ:

**Աշխատանքի կիրառական նշանակությունը:** Մշակված մեթոդները ունիվերսալ են և հնարավորություն են ընձեռում համեմատաբար կարճ ժամանակահատվածում (10-30ր) միևնույն տեխնոլոգիական սխեմայով և նույն փրալային մոդիֆիկացված դեհիդրոտամինաթթվային սինտոնի կիրառմամբ սինթեզվել էնանտիոմերապես հարստացված ( $ee > 97\%$ ) (S)- և (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով զանազան ոչ սպիտակուցային  $\beta$ -տեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուներ:

Ծնորհիվ մոդիֆիկացված դեհիդրոտամինաթթվային կոմպլեքսներում առկա համեմատաբար բարձր էնանտիոսելեկտիվության և դեհիդրոտամինաթթվային մնացորդների բարձր ռեակցիոնունակության, մշակված մեթոդները կարող են կիրառվել ինչպես օպտիկապես ակտիվ ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների պրեպարատիվ արտադրությունում, այնպես էլ ՊԷՏ-ռադիոդեպատրաստուկների ստացման գործընթացներում:

Բացի այդ, էնանտիոմերապես հարստացված ցիկլիկ 2-կարբօքսիպիպերագինի ստացման մշակված մեթոդը ապագայում կարող է կիրառություն գտնել հակավիրուսային դեղապատրաստուկների արտադրության գործընթացներում:

***Պաշտպանության ներկայացվող դրույթները:***

- ֆտոր և քլոր պարունակող մոդիֆիկացված դեհիդրոալանինային կոմպլեքսները՝ որպես պիրիդօքսալային ֆերմենտների առավել արդյունավետ մոդելային համակարգեր;
- (S)- և (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով β-ալիֆատիկ և արոմատիկ տեղակալված α-ամինաթթուների ստացման բարձրսելեկտիվ (*ee* >97%) և համեմատաբար արագընթաց ասիմետրիկ կենսասինտետիկ սինթեզի մեթոդներ (0,25 ժամ);
- պիպերագինային օդակ պարունակող (S)- և (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով β-տեղակալված ալանինի նոր ածանցյալների ասիմետրիկ կենսասինտետիկ սինթեզի մեթոդներ;
- գրականության մեջ չնկարագրված նոր ցիկլիկ 2-կարբօքսիպիպերագինի, N-Mesyլ և N-Tosyl պաշտպանված (S)-β-(N-էթանոլամին)ալանինների սինթեզի մեթոդներ;
- սինթեզված որոշ ամինաթթուների կենսաբանական հետազոտության արդյունքները:

***Աշխատանքի կապը գիտական ծրագրերի և թեմաների հետ:*** Աշխատանքն իրականացվել է Միջազգային գիտատեխնիկական կենտրոնի **A-1677**(2008-11թթ.) դրամաշնորհի, ինչպես նաև «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի բազային գիտահետազոտական ծրագրերի շրջանակներում:

***Հնդինակի անձնական ներդրումը:*** Հնդինակի անձնական ներդրումը ներառում է աշխատանքի հետ առնչվող գիտական գրականության վերլուծությունն ու ընդհանրացումը, հետազոտության հիմնական փորձարարական խնդիրների իրականացումն ու ամփոփումը, տպագրվող գիտական հոդվածների նախապատրաստումը և ատենախոսության կազմումը: Խնդրի դրվածքն ու արդյունքների քննարկումն իրականացվել է գիտական ղեկավար ՀՀ ԳԱԱ ակադեմիկոս, պրոֆեսոր Ա.Ս.Սադյանի ղեկավարությամբ:

***Աշխատանքի քննարկումը և տպագրությունները:*** Ատենախոսության նյութը շարադրված է 5 գիտական հոդվածների տեսքով, իսկ նրա առանձին արդյունքները զեկոլոյցի ձևով ներկայացվել են State-of the-Art Biotechnology in Armenia and ISTC contribution, Tsakhkadzor, 2008, «Успехи в области органической и фармацевтической химии» Ереван. 2012 միջազգային գիտաժողովներում:

***Աշխատանքի իրականացման վայրը:*** Աշխատանքն իրականացվել է ՀՀ Էկոնոմիկայի նախարարության «Կենսատեխնոլոգիայի ԳՀԻ» ՓԲԸ-ի (ներկայումս՝ ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ) «Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների սինթեզի» (ներկայումս՝ «Ասիմետրիկ սինթեզի») լաբորատորիայում:

***Աշխատանքի ծավալը և կառուցվածքը:*** Ատենախոսությունը կազմված է նախաբանից և չորս գլուխներից (գրական ակնարկ, խնդրի դրվածք և հետազոտման օբյեկտի ընտրություն, արդյունքների քննարկում, փորձնական մաս), եզրակացությունից և գրականության ցանկից: Աշխատանքը շարադրված է 138 էջի վրա, բերված են 8 սխեմա, 6 նկար և 7 աղյուսակ: Գրականության ցանկն ընդգրկում է 177 գիտական տպագիր հոդվածներ:

**ԳԼՈՒՆ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ.** Նվիրված է թեմայի հետ անմիջապես առնչվող ասիմետրիկ սինթեզի եղանակների ամփոփմանը: Նկարագրված են ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների կիրառման ոլորտները, օրգանիզմում ՊՖ-կալյայ ֆերմենտների ազդեցությամբ ամինաթթուների մետաբոլիկ փոխարկումները և նրանց մոդելավորումը, ասիմետրիկ սինթեզի հիմնական օրինաչափությունները և ամինաթթուների ստացման կատալիտիկ ու ստեխիոմետրիկ ասիմետրիկ սինթեզի արդյունավետ մեթոդները:

**ԳԼՈՒՆ 2. ԽՆԴՐԻ ԴՐՎԱԾՔ ԵՎ ՀՆՏԱԳՈՏՄԱՆ ՕՔՅԵԿՏԻ ԸՆՏՐՈՒԹՅՈՒՆԸ.** Հնտագոտության հիմնական առարկա են հանդիսացել պիրիդօքսալֆոսֆատ (ՊՖ) ֆերմենտների արդյունավետ մոդելային համակարգերի ստացումը և հնտագոտումը (S)- և (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով β-դիքրոմ ալիֆատիկ, արոմատիկ և հետերոցիկլիկ տեղակալիչներ պարունակող α-ամինաթթուների, ինչպես նաև ցիկլիկ 2-կարբօսիպիպերազինի և նրա միջանկյալ արգասիքների՝ N-Mesyl և N-Tosyl պաշտպանված (S)-β-(N-էթանոլամին)ալանինի ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում: Որպես ՊՖ-ֆերմենտների մոդելային համակարգեր ընտրվել են Ni<sup>II</sup> իոնի հետ դեհիդրալանինի և 2-N-(N'-բենզիլպրոլիլ)ամինոբենզոֆենոն (BPB) քիրալային օժանդակ ռեագենտի Շիֆի հիմքի առաջացրած հարթ-քառակուսային կոմպլեքսների մոդիֆիկացված նմանակները, որոնք N-բենզիլպրոլինի մնացորդի ֆենիլային օդակի 2-րդ դիրքում պարունակում են F և Cl տեղակալիչներ (2-CBPB և 2-FBPB):

**ԳԼՈՒՆ 3. ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԻ ՔՆՆԱՐԿՈՄ.**

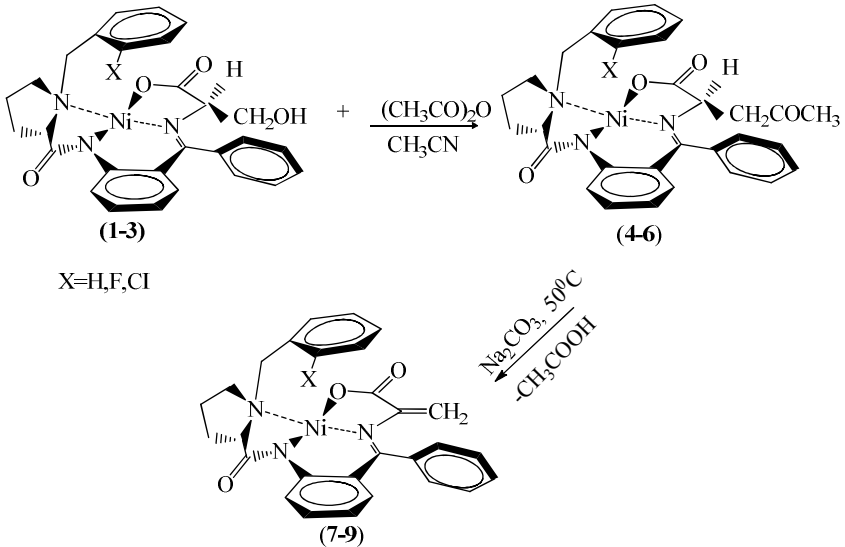
**3.1. Դեհիդրալանինի նոր մոդիֆիկացված կոմպլեքսների սինթեզը և կառուցվածքային հնտագոտությունը:**

Ատենախոսական աշխատանքի սույն գլուխը նվիրված է N-բենզիլպրոլինի մնացորդի ֆենիլային օդակի 2-րդ դիրքում էլեկտրոնաակցեպտոր F և Cl տեղակալիչներ պարունակող մոդիֆիկացված 2-CBPB և 2-FBPB քիրալային օժանդակ ռեագենտների և դեհիդրալանինի Շիֆի հիմքերի հետ Ni<sup>II</sup> իոնի առաջացրած նոր հարթ քառակուսային կոմպլեքսների սինթեզին ու կառուցվածքային հնտագոտություններին:

Մոդիֆիկացված Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-Δ-Ala, Ni<sup>II</sup>-(R)-2-CBPB-Δ-Ala, Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPB-Δ-Ala և Ni<sup>II</sup>-(R)-2-FBPB-Δ-Ala կոմպլեքսների սինթեզն իրականացվել է չմոդիֆիկացված կոմպլեքսների համար նախկինում մշակված մեթոդներով: Համեմատության համար աշխատանքում սինթեզվել է նաև չմոդիֆիկացված BPB քիրալային ռեագենտի հենքի վրա կառուցված դեհիդրալանինի հարթ քառակուսային կոմպլեքսը (7): (Մխմմա 1):

Նախ իրականացվում է (R)-սերինի կոմպլեքսի (1-3) Օ-ացետիլացում և ստացված Օ-ացետիլների հի կոմպլեքսի (4-6) դեացետոսիլացում: Ացետիլացման ռեակցիան իրականացվել է սենյակային ջերմաստիճանում, ացետոնիտրիլի միջավայրում, քաղցալաթթվի անհիդրիդի ներկայությամբ: Օ-ացետիլների կոմպլեքսներից քաղցալաթթվի մնացորդի α,β-էլիմինացման նպատակով ռեակցիոն խառնուրդի ջերմաստիճանը բարձրացվում է մինչև 50°C՝ ինտենսիվ խառնման պայմաններում, 1 ժամ տևողությամբ:

Սխեմա 1



X=H, Ni<sup>II</sup>-(S)-BPB-(R)-Ser (1), Ni<sup>II</sup>-(S)-BPB-(R)-OAcSer (4), Ni<sup>II</sup>-(S)-BPB-Δ-Ala (7), X=Cl, Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-(R)-Ser (2), Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-(R)-OAcSer(5), Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-Δ-Ala(8), X=F, Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPB-(R)-Ser (3), Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPB-(R)-OAcSer (6), Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPB-Δ-Ala (9):  
(1, 4 և 7-ը չմոդիֆիկացված կոմպլեքսներ):

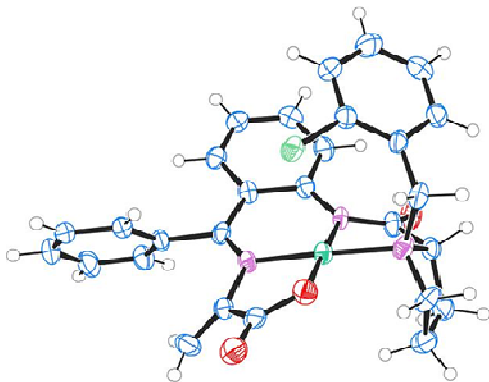
Ընդ որում, Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPB-(R)-O-AcSer (6) կոմպլեքսի առաջացումն ու դեագնոստիկացումը ընթանում է շատ ավելի արագ, քան Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-(R)-O-AcSer (5) կոմպլեքսի դեպքում:

Ի տարբերություն դեհիդրատացիայի չմոդիֆիկացված կոմպլեքսի, մոդիֆիկացված կոմպլեքսների սինթեզի ժամանակ ելային սերինի կոմպլեքսների ացետիլացումը և դեագնոստիկացումը ընթանում է համեմատաբար ավելի հեշտ: Դեհիդրատացիայի մոդիֆիկացված կոմպլեքսները սկսում են առաջանալ նույնիսկ սենյակային ջերմաստիճանում, սակայն ամբողջական դեագնոստիկացման համար անհաժեշտ է ռեակցիոն խառնուրդը տաքացնել է մինչև 50°C (70°C-ի փոխարեն՝ չմոդիֆիկացված կոմպլեքսի դեպքում):

Նմանատիպ մեթոդով սինթեզվել են (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով Ni<sup>II</sup>-(R)-2-CBPB-Δ-Ala (10) և Ni<sup>II</sup>-(R)-2-FBPB-Δ-Ala (11) մոդիֆիկացված կոմպլեքսները՝ որպես ելայնությամբ օգտագործելով համապատասխանաբար Ni<sup>II</sup>-(R)-2-CBPB-(S)-Ser և Ni<sup>II</sup>-(R)-2-FBPB-(S)-Ser կոմպլեքսները:

Դեհիդրատացիայի նոր սինթեզված մոդիֆիկացված կոմպլեքսների (8, 9, 10, 11) քիմիական կառուցվածքն ու բացարձակ կոնֆիգուրացիան հետազոտվել և հաստատվել է ֆիզիկաքիմիական անալիզի ժամանակակից մեթոդներով:

Անհրաժեշտ է նշել, որ Ni<sup>II</sup> իոնի դեհիդրատայանինային կոմպլեքսների շարքում առաջին անգամ Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-Δ-Ala (**8**) կոմպլեքսի համար հաջողվել է ստանալ լավ կազմավորված բյուրեղ և իրականացնել ռենտգենկառուցվածքային հետազոտություն: (Նկար 1):



**Նկար 1:** Մոդիֆիկացված Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-Δ-Ala (**8**) կոմպլեքսի մոլեկուլային կառուցվածքը ըստ ռենտգենկառուցվածքային անալիզի տվյալների:

Ռենտգենկառուցվածքային անալիզի տվյալները միանշանակ հաստատում են կոմպլեքսի սպասվելիք կառուցվածքը և նրա պրոլինային մնացորդի (S)-բացարձակ կոնֆիգուրացիան:

### **3.2 Մոդիֆիկացված դեհիդրատայանինային կոմպլեքսների փորձարկումը նուկլեոֆիլային միացման ռեակցիաներում:**

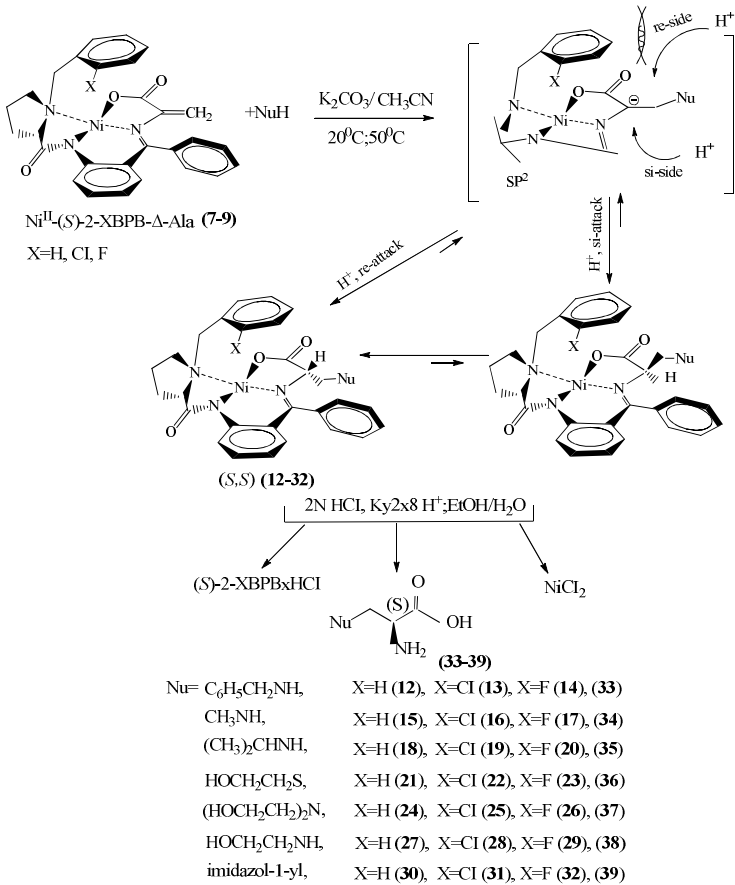
Սինթեզված դեհիդրատայանինի մոդիֆիկացված կոմպլեքսները՝ որպես ՊՖ-կախյալ ֆերմենտների մոդելային համակարգեր, հետազոտվել են β-դիրքում ալիֆատիկ, արոմատիկ և հետերոցիկլիկ տեղակալված ոչ սպիտակուցային (S)- և (R)-α-ամինաթթուների կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաներում: Համեմատության համար նախկինում մշակված մեթոդներով իրականացվել են նաև համապատասխան ալիֆատիկ և արոմատիկ տեղակալված (S)- և (R)-α-ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի ռեակցիաները չմոդիֆիկացված (S)-BPB և (R)-BPB քիրալային ռեագենտների նմանատիպ դեհիդրատայանինային կոմպլեքսների մասնակցությամբ:

#### **3.2.1. β-տեղակալված (S)-α-ալանինների արդյունավետ ասիմետրիկ սինթեզ:**

Հետազոտվել են դեհիդրատայանինի մոդիֆիկացված **8** և **9** կոմպլեքսների չհազնցած C=C կապին նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաները: Որպես նուկլեոֆիլներ օգտագործվել են բենզիլամին, մեթիլամին, էթանոլամին, դիէթանոլամին, իզոպրոպիլամին, իմիդազոլ և մերկապտոէթանոլ: (Սխեմա 2):



## Սխմնա 2



Նուկլեոֆիլների միացման ռեակցիաները նախ տարվել են դեհիդրատացիոնի ստանդարտ չմոդիֆիկացված կոմպլեքսի (7) կիրառմամբ, այնուհետև, նույն ռեակցիաները իրականացվել են մոդիֆիկացված (8, 9) կոմպլեքսների մասնակցությամբ: Ռեակցիաներն իրականացվել են տարբեր պայմաններում՝ սենյակային ջերմաստիճանում և մինչև 50°C տաքացման պայմաններում, հիմքերի ներկայությամբ և առանց հիմքերի: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ գրեթե բոլոր հետազոտված նուկլեոֆիլային միացման ռեակցիաները համեմատաբար ավելի բարձր ելքերով և ստերեոսելեկտիվությամբ են ընթանում ագետոնիտրիլի միջավայրում K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-ի առկայությամբ, տաքացման պայմաններում (աղյուսակ 1):

### Աղյուսակ 1.

Դեհիդրոլանինի մոդիֆիկացված և չմոդիֆիկացված կոմպլեքսների  
 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{K}_2\text{CO}_3$  միջավայրում նուկլեոֆիլների ախմետրիկ միացման արդյունքները:

№ փ.	Ելային կոմպլեքս	Նուկլեոֆիլ	T, °C	Հարաբերություն, % <sup>***</sup>		Ժամա նակ, (րոպե)	Քիմ. նյւր <sup>****</sup> , %
				(S,S)	(S,R)		
1*	Ni <sup>II</sup> -(S)-2-FBPB-Δ-Ala(9)	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	97.2(97.0)	2.8 (3.0)	12	89
2*	“-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	20	97.8(98.0)	2.2(2.0)	60	83
3	“-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	96.4(97.0)	3.65(3.0)	100	80
4	“-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	20	96.5(97.0)	3.5(3.0)	260	79
5	“-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	50	98.3(98.0)	1.7 (2.0)	90	75
6**	“-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	50	97.8(98.0)	2.2(2.0)	100	74
7**	“-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	20	97.9(98.0)	2.1(2.0)	200	75
8	“-	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> × HCl	20	97.5(98.0)	2.5(2.0)	210	84
9	“-	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> × HCl	50	97.1(97.0)	2.9(2.0)	90	85
10	“-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	20	96.9(97.0)	3.1(3.0)	30	84
11	“-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	97.6(98.0)	2.4(2.0)	20	85
12	“-	(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH	20	97.3(97.0)	2.7(3.0)	120	83
13	“-	(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH	50	97.8 (98)	2.2(2.0)	60	84
14	“-	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub>	20	95.9(96.0)	4.1(4.0)	220	80
15	“-	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub>	50	98.9(99.0)	1.1(1.0)	200	85
16	“-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SH	20	1.5(1.0)	98.5(99.0)	35	86
17	“-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SH	50	1.5	98.5	25	93
18*	Ni <sup>II</sup> -(S)-2-CBPB-Δ-Ala(8)	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	97.0	3.0	15	80
19	“-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	96.1(97.0)	3.9(3.0)	120	78
20	“-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	50	94.6(95.0)	5.4(5.0)	110	66
21	“-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	20	94.1(94.0)	5.9(6.0)	250	63
22	“-	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> × HCl	50	96.81(97.5)	3.19(3.5)	90	92
23	“-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	97.5(94.0)	2.5(6)	180	76
24	“-	(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH	50	96	4	240	82
25	“-	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub>	50	94.5	5.5	220	92
26	“-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SH	50	3.8 (1)	96.2(99)	180	72
27*	Ni <sup>II</sup> -(S)-BPB-Δ-Ala (7)	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	93	7	240	75
28	“-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	50	94	6	300	85
29	“-	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> × HCl	50	94	6	50ժամ	81
30	“-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	50	90	10	50ժամ	85
31	“-	(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH	50	94	6	50ժամ	78

\*- բենզիլամինի միացումն իրականացվել է  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{NaOH}$  միջավայրում (փ.1, 2, 18 և 27); \*\* - միացումն իրականացվել է առանց պոտաշի, \*\*\* – դիաստերեոմերների հարաբերությունը ըստ քիրալային ԲԱՏՔ անալիզի տվյալների (փակագծերում բերված են <sup>1</sup>H ՄՄՌ անալիզի տվյալները), \*\*\*\* – նուկլեոֆիլների միացման փուլում դիաստերեոմեր կոմպլեքսների խառնուրդի քիմիական ելքը:

Նուկլեոֆիլային միացման ռեակցիաների ընթացքին հարմար է հետևել ՆՇՔ-ի մեթոդով [SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> (3:1)], ըստ ելային դեհիդրոարալանինային կոմպլեքսի հետքերի անհետացման և միացման արգասիք կոմպլեքսների դիաստերեոիզոմերների միջև թերմոդինամիկական հավասարակշռության հաստատման:

Նուկլեոֆիլների միացման արդյունքում առաջանում են (S,S)- և (S,R)- դիաստերեոմեր կոմպլեքսների խառնուրդներ՝ (S,S)-դիաստերեոիզոմերների մեծ ավելցուկով, բացառությամբ **21**, **22** և **23** կոմպլեքսների, որոնց դեպքում ավելցուկով են առաջանում (S,R)- դիաստերեոիզոմերները (համաձայն Լյան-Ինգոլդ-Պրելոնգի կանոնի): Ընդ որում, ասիմետրիկ միացման ռեակցիաների ստերեոսելեկտիվությունը գլխավորապես հսկվում է թերմոդինամիկական գործոններով և մոդիֆիկացված կոմպլեքսներում դիաստերեոմերների միջև թերմոդինամիկական հավասարակշռությունը ստեղծվում է համեմատաբար ավելի արագ:

Այդուսակում բերված տվյալներից հետևում է, որ դեհիդրոարալանինի ստանդարտ **7** կոմպլեքսից (փ. 27-31) մոդիֆիկացված Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPB-Δ-Ala (**8**) (փ. 18-27) և Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPB-Δ-Ala (**9**) (փ. 1-18) կոմպլեքսներին անցնելիս նկատվում է սինթետիկ ստերեոսելեկտիվության աճ և նուկլեոֆիլ միացման ասիմետրիկ ռեակցիաների տևողության կտրուկ կրճատում: Այսպես, չմոդիֆիկացված կոմպլեքսի դեպքում սինթետիկ ստերեոսելեկտիվությունը միջինացված տվյալներով կազմում է 84-90%, իսկ միացման ռեակցիաների տևողությունը մոտ 5-50 ժամ, իսկ մոդիֆիկացված կոմպլեքսների կիրառման ժամանակ սինթետիկ ստերեոսելեկտիվությունը աճում է մինչև 96-98%, իսկ ռեակցիաների տևողությունը կրճատվում է մինչև 0,25 ժամ:

Ռենտգենկառուցվածքային անալիզի տվյալների հիման վրա կարելի է ենթադրել, որ մոդիֆիկացված կոմպլեքսներում առկա գերբարձր էնանտիոսելեկտիվությունը և դեհիդրոարալանինաթթվային մնացորդի C=C կապի բարձր էլեկտրոֆիլությունը պայմանավորված են N-բենզիլարոլինի մնացորդի ֆենիլային օղակ ներմուծած էլեկտրոնասկզբատոր տեղակալիչի ազդեցությամբ կոմպլեքսի մակրոկառուցվածքում հարուցված կոնֆորմացիոն փոփոխություններով. (ինչպես դա բացատրվել էր նախկինում նմանատիպ մոդիֆիկացված ամինաթթվային կոմպլեքսների C-ալկիլման ռեակցիաներում):

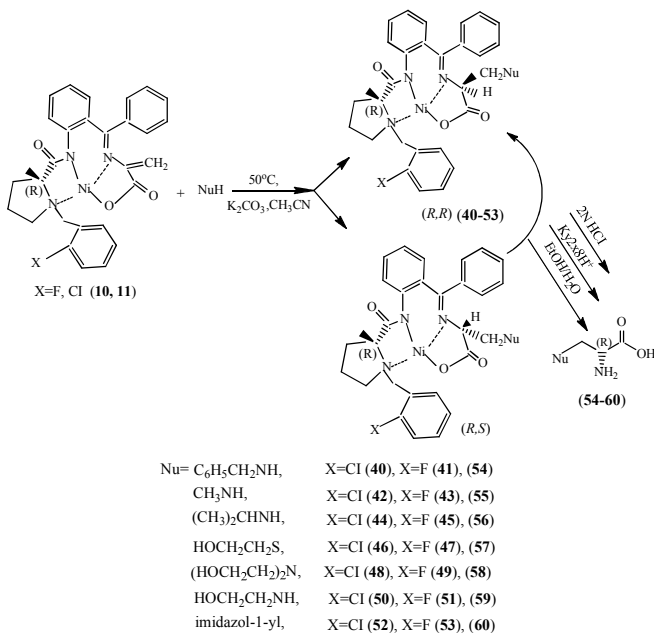
Նուկլեոֆիլային միացման արգասիք կոմպլեքսների՝ (S,S)- և (S,R)- դիաստերեոիզոմերների հարաբերությունը որոշվել է անմիջապես դիաստերեոմերային խառնուրդից (մինչև քրոմատոգրաֆացվելը) անջատված ամինաթթվային մնացորդի բիրտային ԲՄՏՔ կամ ԳՏՔ անալիզի եղանակով: Լրացուցիչ ասիմետրիկ միացման ռեակցիաների դիաստերեոսելեկտիվությունը որոշվել է նաև <sup>1</sup>H-ՄՄՌ եղանակով դիաստերեոմեր կոմպլեքսների խառնուրդի անալիզով: Արդյունքները բերված են աղյուսակ 1-ում:

**3.2.2 β-տեղակայված (R)-α-ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզ:** Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ այսօր դեղագործության բնագավառում մեծ կարևորություն են ներկայացնում ոչ սպիտակուցային (R)-α-ամինաթթուները, ատենալստասկան աշխատանքի սույն բաժնում հետազոտվել են (R)-պրոլինի հենքի վրա կառուցված մոդիֆիկացված դեհիդրոարալանինային կոմպլեքսներին նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաները, նպատակ ունենալով իրականացնել β-դիրքում ալիֆատիկ

և արումատիկ տեղակալված (*R*)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով  $\alpha$ -ամինաթթուների արդյունավետ ասիմետրիկ սինթեզներ:

Հիմք ընդունելով (*S*)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով մոդիֆիկացված քիրալային օժանդակ ռեագենտների դեհիդրոպալանինային կոմպլեքսների հետազոտման ժամանակ արձանագրված արդյունքները, (տես բաժին 3.2.1-ը), սույն բաժնում  $\beta$ -տեղակալված (*R*)- $\alpha$ -ամինաթթուների ասիմետրիկ սինթեզի համար օգտագործվել են մոդիֆիկացված (*R*)-2-CBPB և (*R*)-2-FBPB քիրալային օժանդակ ռեագենտների և դեհիդրոպալանինի Շիֆի հիմքերի հետ Ni<sup>II</sup> իոնի առաջացրած հարթ-քառակուսային կոմպլեքսները (**10**, **11**): Որպես նուկլեոֆիլ ազնեաններ հետազոտվել են ալիֆատիկ ամիններ, բենզիլամին, իմիդազոլ և մերկապտոէթանոլ: Նուկլեոֆիլ միացման ռեակցիաներն իրականացվել են CH<sub>3</sub>CN/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> միջավայրում 50°C տաքացման պայմաններում: (Սխեմա 3):

### Սխեմա 3



Նուկլեոֆիլ միացման ռեակցիաների ստերեոսելեկտիվությունը (*ee*) գնահատվել է քիրալային ԲԱՀԶ անալիզի մեթոդներով, ինչպես դա արվել էր (*S*)-2-FBPB և (*S*)-2-CBPB քիրալային ռեագենտների դեհիդրոպալանինային կոմպլեքսների կիրառման դեպքում: Արդյունքները բերված են աղյուսակ 2-ում: Ինչպես երևում է աղյուսակի տվյալներից, բոլոր փորձերում էլ արձանագրվել են բարձր ստերեոսելեկտիվություն և միացման ռեակցիաների համեմատական կարճա-

տևություն: Միջինացված տվյալներով (*R,R*)- դիաստերեոմերների էնանտիոմերային ավելցուկը ասիմետրիկ միացման ռեակցիաներում գերազանցում է 96%-ը:

**Աղյուսակ 2.**

Ni<sup>II</sup>-(*R*)-2-FBPPB-Δ-Ala (11) և Ni<sup>II</sup>-(*R*)-2-CBPPB-Δ-Ala (10) կոմպլեքսների և նուկլեոֆիլների միացման արդյունքները (CH<sub>3</sub>CN/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 50°C)

№	Դեհիդրալանիկ կոմպլեքս	Նուկլեոֆիլ ռեագենտ	Ժամանակ (րոպե)***	( <i>R,R</i> )/( <i>R,S</i> ) (%)*	Ելք (%)**
1	Ni <sup>II</sup> -( <i>R</i> )-2-FBPPB-Δ-Ala (11)	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> × HCl	90	97.1/2.9	78
2	-.-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	20	97.3/ 2.7	81
3	-.-	(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH	60	97.5/2.5	79
4	-.-	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub>	200	98.6/ 1.4	83
5	-.-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SH	25	3.2/96.8	90
6	-.-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	100	96.4 /3.64	82
7	-.-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	90	98.1 /1.9	70
8	Ni <sup>II</sup> -( <i>R</i> )-2-CBPPB-Δ-Ala(10)	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> × HCl	90	96.6/3.4	86
9	-.-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	180	95.2/4.8	72
10	-.-	(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH	240	96.1/3.9	80
11	-.-	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub>	220	94/6	90
12	-.-	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SH	180	5/95	73
13	-.-	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	120	95.9/4.1	80
14	-.-	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	110	94/6	65

\* Քիրալային ԲԱԶԲ անալիզի տվյալները;

\*\* Ընդհանուր քիմիական ելքը նուկլեոֆիլների միացման փուլում;

\*\*\* Ռեակցիաներն իրականացվել են նույն պայմաններում, ինչ պայմաններում իրականացվել են Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-CBPPB-Δ-Ala (8) և Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-FBPPB-Δ-Ala (9) կոմպլեքսների նուկլեոֆիլ միացման ռեակցիաները:

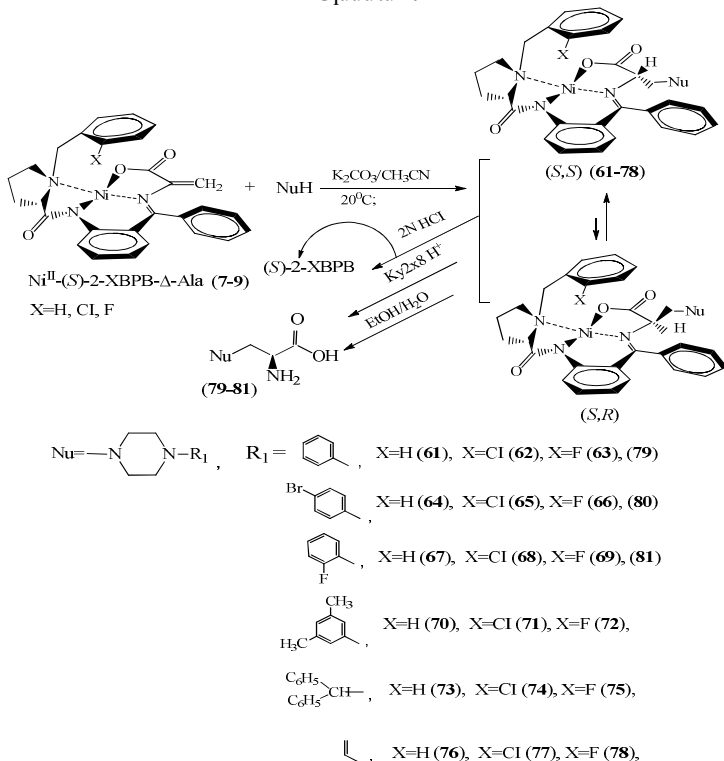
Նուկլեոֆիլ միացման հիմնական արգասիք (*R,R*)-դիաստերեոիզոմեր կոմպլեքսները (40-53) անջատվել են խառնուրդից պրեպարատիվ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով [SiO<sub>2</sub>, 20x20սմ, CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> (3:1)] և հետագոտվել ու հաստատվել է նրանց կառուցվածքն ու բացարձակ կոնֆիգուրացիան ժամանակակից ֆիզիկաքիմիական անալիզի մեթոդներով: Առաջացած (*R,R*)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով հիմնական դիաստերեոմեր կոմպլեքսների աղաթթվային քայքայման հիդրոլիզատից անջատվել են էնանտիոմերապես հարստացված (*R*)-β-տեղակալված α-ամինաթթուներ (54-60): Արդյունքում սինթեզվել են 7 ոչ սպիտակուցային (*R*)-ամինաթթու:

**3.3 Դեհիդրալանիկ մոդիֆիկացված կոմպլեքսների հետազոտումը հետերոցիկլիկ նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաներում**

**3.3.1. β-դիրքում պիպերազինային օդակ պարունակող (*S*)-α-ալանինի նոր ածաղայների կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզը:** Այսօր բժշկական պրակտիկայում լայնորեն կիրառվում են պիպերազինային ֆրագմենտ պարունակող պատրաստուկներ և դրանց նոր, առավել աղյուսակվտ նմանակների ստացման և հետազոտական աշխատանքները հաջողությամբ շարունակվում են:

Սույն աշխատանքում հետազոտվել է պիպերազինային օդակ պարունակող հետերոցիկլիկ նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաները  $Ni^{II}$  իոնի մոդիֆիկացված և չմոդիֆիկացված քիրալային դեհիդրոալանինային կոմպլեքսներին, ինչի արդյունքում սինթեզվել են գրականության մեջ չնկարագրված, նոր ոչ սպիտակուցային օպտիկապես ակտիվ  $\alpha$ -ամինաթթուներ: (Սխեմա 4):

Սխեմա 4



Հետերոցիկլիկ նուկլեոֆիլների սելեկտիվ միացումը դեհիդրոալանինի քիրալային կոմպլեքսներին՝ (7-9) իրականացվել է ագետոնիտրիլի միջավայրում՝ ինչպես  $K_2CO_3$  ներկայությամբ, այնպես էլ առանց հիմքի: (Սխեմա 4): Պարզվել է, որ միացման ռեակցիաները հատկապես բարձր դիաստերեոսելեկտիվությամբ են ընթանում  $CH_3CN$ -ի միջավայրում հիմնային կատալիզի և նուկլեոֆիլ/հիմք=1/1.5 հարաբերության պայմաններում:

Որպես հետերոցիկլիկ նուկլեոֆիլներ օգտագործվել են բենզիլպիպերազին, 4-բրոմբենզիլպիպերազին, 2-ֆտորբենզիլպիպերազին, 3,5-դիմեթիլբենզիլպիպերազին, դիֆենիլմեթիլպիպերազին և ալիլպիպերազին:

Միացման ռեակցիայի ընթացքին հարմար է հետևել ՆՇԸ-ով  $[SiO_2, 20 \times 20 \text{ սմ}, CHCl_3-CH_3COCH_3 (5:1)]$ :

Դեհիդրոալանինի կոմպլեքսներին (7, 8 և 9) նուկլեոֆիլների միացման

արդյունքում առաջանում են նոր ինդուցված քիրալային կենտրոնի տարբեր կոնֆիգուրացիաներով [(S,S) և (S,R)] դիաստերեոմեր կոմպլեքսների խառնուրդներ՝ (S,S) դիաստերեոիզոմերի գերակայությամբ (61-78):

Այստեղ ևս չնդիֆիկացված 7 կոմպլեքսից մոդիֆիկացված 8 և 9 կոմպլեքսներին անցնելիս նկատվում է նուկլեոֆիլային միացման արդյունքում առաջացած դիաստերեոիզոմերների հարաբերության [(S,S)/(S,R)] աճ և ասիմետրիկ ռեակցիաների տևողության կրճատում:

Միացման արդյունքում առաջացած հիմնական դիաստերեոիզոմեր կոմպլեքսների (61-78) նմուշները մաքրվել են խառնուրդից վերաբյուրեղացմամբ կամ պրեկարատիվ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով [SiO<sub>2</sub>, 20x20սմ, CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub> (5:1)] և հետազոտվել ու հաստատվել է նրանց կառուցվածքն ու բացարձակ կոնֆիգուրացիան ֆիզիկաքիմիական անալիզի ժամանակակից մեթոդներով: Արդյունքները բերված են աղյուսակ 3- ում և 4-ում:

### Աղյուսակ 3.

Դեհիդրոլանինի կոմպլեքսներին հետերոցիկլիկ նուկլեոֆիլների առանց հիմքի միացման արդյունքները (CH<sub>3</sub>CN, 20°C-ում):

№	Դեհիդրոլանինի կոմպլեքս	Նուկլեոֆիլ	(S,S)/(S,R) (%)*	Ժամ., (րոպե)	Ելք (%)**
1	Ni <sup>II</sup> -(S)-BPB-Δ-Ala	4-բրոմբենզիլպիպերազին	84.76/15.24	35	78
2	“-	2-ֆտորբենզիլպիպերազին	86.15/13.85	40	85
3	“-	բենզիլպիպերազին	85.58/14.42	25	75
4***	“-	ալիլպիպերազին	78.12/21.88	38	60
5***	“-	3,5-դիմեթիլբենզիլպիպերազին	79.12/20.88	540****	65
6***	“-	դիֆենիլմեթիլպիպերազին	79.13/20.87	420****	62
7	Ni <sup>II</sup> -(S)-2-FBPB-Δ-Ala	4-բրոմբենզիլպիպերազին	95.93/4.07	15	90
8	“-	2-ֆտորբենզիլպիպերազին	95.18/4.82	12	87
9	“-	բենզիլպիպերազին	95.5/4.5	10	95
10***	“-	ալիլպիպերազին	93.4/6.6	25	78
11***	“-	3,5-դիմեթիլբենզիլպիպերազին	94.9/5.1	340****	82
12***	“-	դիֆենիլմեթիլպիպերազին	95.2/4.8	230****	75
13	Ni <sup>II</sup> -(S)-2-CBPB-Δ-Ala	4-բրոմբենզիլպիպերազին	95.9/4.1	20	87
14	“-	2-ֆտորբենզիլպիպերազին	95.3/4.7	18	83
15	“-	բենզիլպիպերազին	94.5/5.5	15	90
16***	“-	ալիլպիպերազին	92.9/7.1	30	75
17***	“-	3,5-դիմեթիլբենզիլպիպերազին	94.7/5.3	380****	77
18***	“-	դիֆենիլմեթիլպիպերազին	94.7/5.3	280****	70

#### Աղյուսակ 4.

Դեհիդրոալանինի կոմպլեքսներին հետերոցիկլիկ նուկլեոֆիլների միացման արդյունքները  $K_2CO_3$ -ի ներկայությամբ ( $CH_3CN$ ,  $20^\circ C$ -ում):

№	Դեհիդրոալանինի կոմպլեքս	Նուկլեոֆիլ	(S,S)/(S,R) (%) <sup>*</sup>	Ժամ., (րոպե)	Ելք (%) <sup>**</sup>
1	<b>Ni<sup>II</sup>-(S)-BPB-Δ-Ala</b>	4-բրոմբենզիլալիպերազին	87.1/12.9	30	80
2	–“–	2-ֆտորբենզիլալիպերազին	91.9/8.1	35	85
3	–“–	բենզիլալիպերազին	90.5/9.5	20	75
4 <sup>***</sup>	–“–	ալիլալիպերազին	79.85/20.15	35	60
5 <sup>***</sup>	–“–	3,5-դիմեթիլբենզիլալիպերազին	81.52/18.48	480 <sup>****</sup>	70
6 <sup>***</sup>	–“–	դիֆենիլմեթիլալիպերազին	83.13/16.87	300 <sup>****</sup>	73
7	<b>Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPP-Δ-Ala</b>	4-բրոմբենզիլալիպերազին	96.38/3.62	15	93
8	–“–	2-ֆտորբենզիլալիպերազին	96.98/3.02	10	87
9	–“–	բենզիլալիպերազին	98.1/1.9	8	96
10 <sup>***</sup>	–“–	ալիլալիպերազին	95.63/4.37	20	77
11 <sup>***</sup>	–“–	3,5-դիմեթիլբենզիլալիպերազին	95.3/4.7	320 <sup>****</sup>	82
12 <sup>***</sup>	–“–	դիֆենիլմեթիլալիպերազին	97.9/2.1	200 <sup>****</sup>	85
13	<b>Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPP-Δ-Ala</b>	4-բրոմբենզիլալիպերազին	96.2/3.8	23	86
14	–“–	2-ֆտորբենզիլալիպերազին	95.7/4.3	13	89
15	–“–	բենզիլալիպերազին	96.2/3.8	10	90
16 <sup>***</sup>	–“–	ալիլալիպերազին	95.1 /4.9	25	76
17 <sup>***</sup>	–“–	3,5-դիմեթիլբենզիլալիպերազին	96.7/3.3	360 <sup>****</sup>	81
18 <sup>***</sup>	–“–	դիֆենիլմեթիլալիպերազին	96.1/3.9	240 <sup>****</sup>	78

\* - տվյալները ստացվել են քիրալային ԲԱՏՔ (HPLC) անալիզի մեթոդով,

\*\* - դիաստերեոմեր կոմպլեքսների ընդհանուր քիմիական ելքը,

\*\*\* - համապատասխան ամինաթթուները չի հաջողվել անջատել,

\*\*\*\* - փորձերն իրականացվել են  $50^\circ C$  ջեմաստիճանում:

Ամինաթթուների անջատման նպատակով նուկլեոֆիլ միացման արգասիք դիաստերեոիզոմեր կոմպլեքսների խառնուրդները քայքայվել են 2N HCl-ի ազդեցությամբ և առաջացած հիդրոլիզատներից նպատակային ամինաթթուներն անջատվել են ստանդարտ մեթոդով:

Ընդհանուր առմամբ, սույն բաժնում սինթեզվել և հետազոտվել են ամինաթթվային մնացորդի կողքային ռադիկալում հետերոցիկլիկ տեղակալված 18 նոր կոմպլեքսներ և նրանցից անջատված 3 նոր հետերոցիկլիկ տեղակալված  $\alpha$ -ամինաթթուներ:

Աշխատանքում իրականացվել է նաև սինթեզված նոր, գրականության մեջ չնկարագրված 1,4-տեղակալված պիպերազինային օղակ պարունակող ամինաթթուների՝ (S)-2-ամինո-3-(բենզիլալիպերազին-1-իլ)պրոպիոնաթթվի (79) և (S)-2-ամինո-3-(4-բրոմբենզիլալիպերազին-1-իլ)պրոպիոնաթթվի (80) կենսաբանական հատկությունների ուսումնասիրություններ (տես բաժին 3.5) :

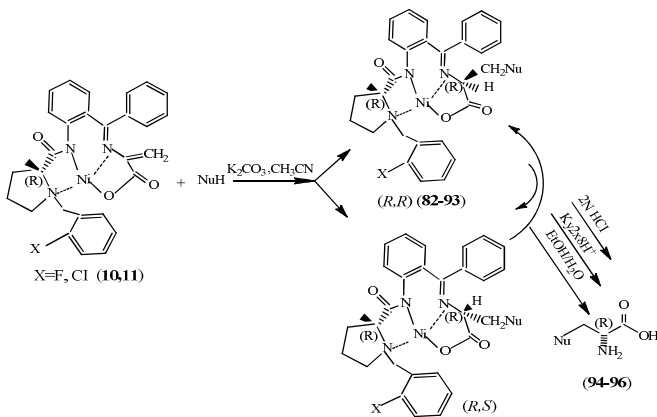


Նուկլեոֆիլային միացման արգասիք **70-78** կոմպլեքսներից չի հաջողվել անջատել նպատակային ինդիվիդուալ մաքուր ամինաթթուները, քանի որ վերջիններս մթնոլորտային օդում ենթարկվում են անդարձելի փոխարկումների և հնարավոր չէր իդենտիֆիկացնել <sup>1</sup>H-ՄՄՌ եղանակով:

**3.3.2. Պիպերազինային օդակ պարունակող β-տեղակալված (R)-α-ալանինի նոր ածազյալների սինթեզ:** Աշխատանքի հաջորդ փուլում իրականացվել է (R)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով ռադիկալում տեղակալված պիպերազիններ պարունակող β-տեղակալված α-ամինաթթուների արդյունավետ ասիմետրիկ սինթեզներ, օգտագործելով Ni<sup>II</sup>-(R)-2-CBPB-Δ-Ala (**10**) և Ni<sup>II</sup>-(R)-2-FBPB-Δ-Ala (**11**) մոդիֆիկացված դենիդրալանինային կոմպլեքսները: Ռեակցիաներն իրականացվել են մինևսույն նուկլեոֆիլ ազեոնների կիրառմամբ և նույն պայմաններում, ինչպես դա արվել է դենիդրալանինի **8** և **9** կոմպլեքսների դեպքում: (Սխեմա 5):

Ինչպես և սպասվում էր, նուկլեոֆիլ միացման հիմնական արգասիք դիաստերեոմեր կոմպլեքսների (**82-93**) ՄՄՌ սպեկտրադիտական, տարրային անալիզի և R<sub>F</sub>-ի (ՆՇՔ) տվյալները միանշանակ համընկնում են նույն ամինաթթուների (S)-բացարձակ կոնֆիգուրացիայով համապատասխան դիաստերեոմեր կոմպլեքսների (**61-78**) տվյալների հետ, իսկ նրանց տեսակարար օպտիկական պտույտի արժեքները բացարձակ արժեքով համընկնում են, սակայն ունեն հակառակ պտույտի նշան:

Սխեմա 5



- |  |  |
|--|--|
| Nu= C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> N             | X=Cl ( <b>82</b> ), X=F ( <b>83</b> ), ( <b>94</b> ) |
| 4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> N                             | X=Cl ( <b>84</b> ), X=F ( <b>85</b> ), ( <b>95</b> ) |
| 2-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> N                              | X=Cl ( <b>86</b> ), X=F ( <b>87</b> ), ( <b>96</b> ) |
| (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> N | X=Cl ( <b>88</b> ), X=F ( <b>89</b> ),               |
| (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CHN(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> N               | X=Cl ( <b>90</b> ), X=F ( <b>91</b> ),               |
| CH <sub>2</sub> =CH-CH <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> N                           | X=Cl ( <b>92</b> ), X=F ( <b>93</b> ),               |

Այսպիսով, ընդհանրացնելով սույն բաժնում ստացված տվյալները, կարելի է արձանագել, որ տեղակալված հետերոցիկլիկ պիպերազինային օդակ պարունակող նուկլեոֆիլների միացման ռեակցիաներում ևս պահպանվում է վերը

նշված օրինաչափությունները՝ մոդիֆիկացված Ni<sup>II</sup>-2-CBPB-Δ-Ala (**8, 10**) և Ni<sup>II</sup>-2-FBPB-Δ-Ala (**9, 11**) դեհիդրատալանինային կոմպլեքսների կիրառման դեպքում նկատվում է սինթեզի ստերեոստեիլկոմպլոյության աճ և ասիմետրիկ ռեակցիաների համեմատական արագընթացություն:

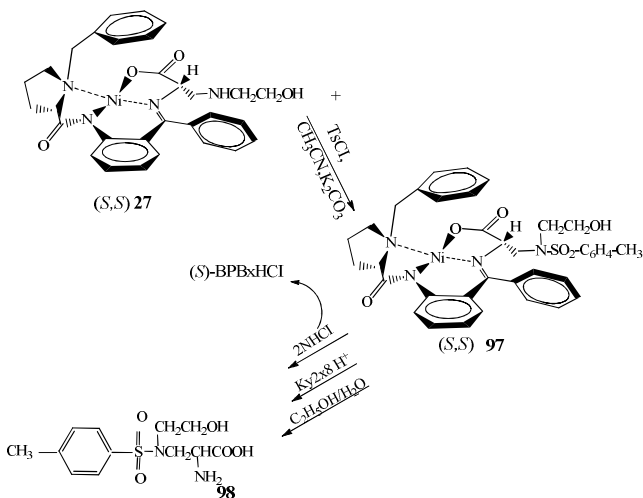
### 3.4 (S)-2-կարբօքսիպիպերազինի և Ms- և Ts-պաշտպանված (S)-β-(N-էթանոլամինո)-α-ալանինների սինթեզ:

Ատենախոսական աշխատանքի սույն բաժնում նպատակ էր դրվել մշակել հակավիրուսային ազդեցության Ինդինավիր դեղապատրաստուկի կառուցվածքային նմանակ (S)-2-կարբօքսիպիպերազինի ստացման մեթոդ:

Որպես ելային ամինաթթվային սինտոն 2-կարբօքսիպիպերազինի ստացման համար ընտրվել է (S)-β-(N-էթանոլամինո)-α-ալանինի և (S)-BPB քիրալային օժանդակ ռեագենտի Շիֆի հիմքի Ni<sup>II</sup> կոմպլեքսը (**27**), որը սինթեզվել էր համաձայն սխեմա 2-ի (տես բաժին 3.2.1):

**27** կոմպլեքսը նաև ենթարկվել է ամինաթթվային մնացորդի N-տոզիլացման՝ տոլուոլսուլֆոբորիդի ազդեցությամբ: Տոզիլացման ռեակցիան իրականացվել է տարբեր միջավայրերում (ացետոնիտրիլ, մեթիլենքլորիդ) և տարբեր հիմքերի (պոտաշ, նեոթիլամին, NaOH) ներկայությամբ, ինչպես սենյակային ջերմաստիճանում, այնպես էլ տաքացման պայմաններում: Լավագույն արդյունքներ են արձանագրվել ացետոնիտրիլի միջավայրում պոտաշի ներկայությամբ 14<sup>0</sup>C ջերմաստիճանի տակ ռեակցիան իրականացնելու դեպքում: Մինչև 30<sup>0</sup>C ռեակցիոն խառնուրդի ջերմաստիճանի բարձրացումը բերում է տոզիլացված արգասիք կոմպլեքսի (S,R)-իզոմերի քանակի ավելացման: Կոնդենսման արդյունքում առաջանում է N-Ts պաշտպանված (S)-β-(N-էթանոլամինո)-α-ալանինի կոմպլեքս՝ (S,S)-դիաստերեոմեր (**97**), այսինքն՝ ներմոլեկուլային ցիկլացում տեղի չի ունենում: (Սխեմա 6) :

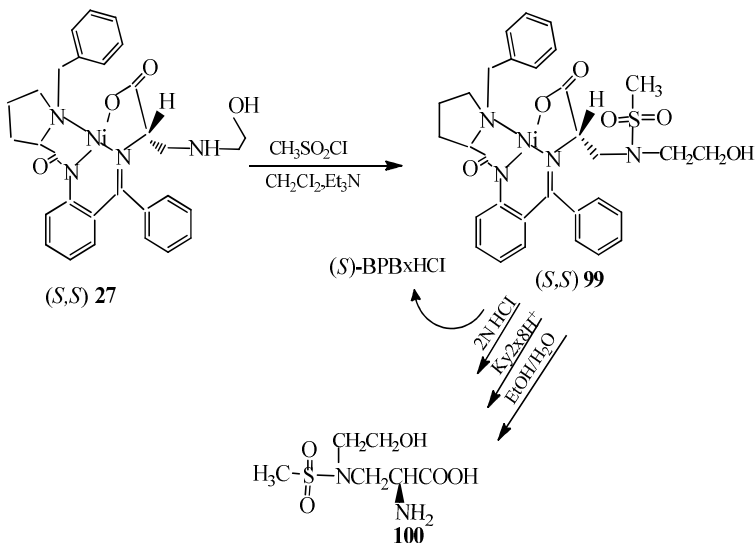
Սխեմա 6



Այնուհետև, կոմպլեքս **27**-ը ենթարկվել է մեզիլացման մեթիլ-սուլֆոբորոնի ազդեցությամբ: Այս ռեակցիան ևս հետազոտվել է տարբեր պայմաններում՝ լուծիչի, հիմքի և ջերմաստիճանի փոփոխմամբ, սակայն բոլոր դեպքերում էլ ներմուխկուլային ցիկլում չի արձանագրվել: Արդյունքում առաջանում է N-Ms պաշտպանված (*S*)- $\beta$ -(N-էթանոլամին)- $\alpha$ -ալանին (**100**): (Սխեմա 7):

Ռեակցիայի ընթացքին նույնպես հետևել ենք ՆՇՔ մեթոդով [SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>=(1/3)] մինչև R<sub>1</sub>-ի ավելի փոքր արժեքով ելային կոմպլեքսի (**27**) հետքերի անհետացումը:

Սխեմա 7

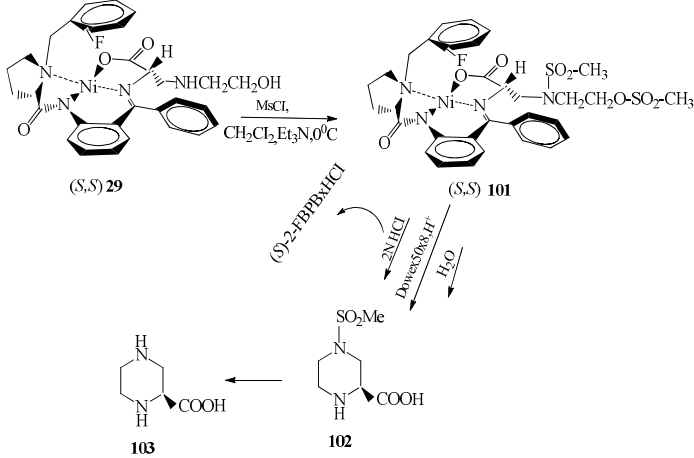


Անհրաժշտ է նշել, որ ատենախոսական աշխատանքի սույն բաժնում սինթեզված N-Ts և N-Ms պաշտպանված (*S*)- $\beta$ -(N-էթանոլամին)- $\alpha$ -ալանինները (**98**, **100**) կարող են օգտագործվել պեպտիդային սինթեզում՝ որպես (*S*)- $\beta$ -(N-էթանոլամին)- $\alpha$ -ալանինի կարբօքսիլային բաղադրիչներ:

Աշխատանքի հաջորդ փուլում վերոնշյալ ռեակցիաները հետազոտվել են մոդիֆիկացված Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-FBPPB- $\Delta$ -Ala կոմպլեքսի կիրառմամբ: Վերը նշված մեթոդով իրականացվել է (*S*)- $\beta$ -(N-էթանոլամին)- $\alpha$ -ալանինի մոդիֆիկացված **29** կոմպլեքսի սինթեզը, այնուհետև ստացված կոմպլեքսը մեթիլենբորոնի միջավայրում նեէթիլամինի ներկայությամբ ենթարկվել է մեզիլացման: (Սխեմա 8):

Ռեակցիայի ընթացքին հետևել ենք ՆՇՔ մեթոդով [SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH (19:1)] ըստ ելային **29** կոմպլեքսի հետքերի անհետացման: Մոտ 30 րոպեի ընթացքում ելային կոմպլեքսը լրիվությամբ տրանսֆորմացվում է արգասիքի (**101**):

## Սխեմա 8



**101** մեզիլացված կոմպլեքսի աղաթթվային քայքայման փուլում տեղի է ունենում ամինաթթվային մնացորդի ներմոլեկուլային ցիկլում N-Ms պաշտպանված (S)-2-կարբօքսիպիպերազինի (**102**) առաջացմամբ: Վեջինիս N-պաշտպանող խմբի հեռացումը բերում է նպատակային ցիկլիկ ամինաթթվի (S)-2-կարբօքսիպիպերազինի (**103**) առաջացմանը: Ինչպես նպատակային ամինաթթվի (**103**), այնպես էլ նրա N-Ms պաշտպանված նմանակի (**102**) և միջանկյալ **101** կոմպլեքսի կառուցվածքն ու բացարձակ կոնֆիգուրացիան հետազոտվել և պարզաբանվել է ժամանակակից ֆիզիկաքիմիական անալիզի մեթոդներով:

Այսպիսով, որպես ՊՖ-կախյալ ֆերմենտների արդյունավետ մոդելային համակարգ, օգտագործելով դեհիդրոալանինի մոդիֆիկացված  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -(S)-2-FBFPB- $\Delta$ -Ala կոմպլեքսը, հնարավոր դարձավ կարևոր ոչ սպիտակուցային ցիկլիկ  $\alpha$ -ամինաթթվի՝ (S)-2-կարբօքսիպիպերազինի (**103**) սինթեզը, ինչը ևս մեկ անգամ վկայում է մոդիֆիկացված կոմպլեքսների բարձր արդյունավետության մասին:

### 3.5. Սինթեզված ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների ազդեցությունը գրամ-դրական և գրամ-բացասական միկրոօրգանիզմների աճի վրա:

Ուսումնասիրվել է սույն ատենախոսական աշխատանքում սինթեզված ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների ազդեցությունը գրամ-բացասական և գրամ-դրական մանրէների հետևյալ ներկայացուցիչների վրա՝ *E. Coli*, *C. freundii*, *Erwinia* sp., *C. glutamicum*, *C. Flavum*:

Փորձարկվող կուլտուրաների վրա, որոնք զագոնով աճեցվել են LA լիարժեք և M9 սինթետիկ միջավայրերում, ավելացվել է ոչ սպիտակուցային ամինաթթվի քյուրեդիկ կամ նրա 5մմոլ/լ կոնցենտրացիայով լուծույթից 50մկլ և համապատասխան միջավայրում մեկ օր ինկուբացումից հետո գրանցվել է ճնշման զոնան: Նետագոտության արդյունքում արձանագրված տվյալները բերված են աղյուսակ 5-ում:

**Աղյուսակ 5.**

Սինթեզված ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների ազդեցությունը գրամ-դրական և գրամ-բացասական միկրոօրգանիզմների աճի վրա:

Փորձարկվող նյութեր	E. coli DH5α	C. freundi i62	Erwinia sp.	C. glutamicum 191	C. flavum E 531
(S)-2-ամինո-3-(բենզիլպիպերազին-1-իլ)պրոպիոնաթթու	+	+	-	-	-
(S)-2-ամինո-3-(4-բրոմբենզիլպիպերազին-1-իլ)պրոպիոնաթթու	+	-	+	+	+
(S)-իմիդազոլիլալանին	-	-	-	-	-
(S)-դիէթանոլամինալանին	+	+	+	+	+
(S)-էթանոլամինալանին	-	-	+	-	-
(S)-բենզիլամինալանին	-	-	+	-	-
(S)-մեթիլամինալանին	-	-	-	-	-
(S)-թիոէթանոլալանին	-	+	+	-	+

+ -աճի ճնշում, \* -աճի ճնշումը միայն սինթետիկ միջավայրում,

Ինչպես երևում է աղյուսակում բերված տվյալներից, որոշ ամինաթթուներ ցուցաբերում են տեսակային ընտրողականություն: Օրինակ, (S)-2-ամինո-3-(4-բրոմբենզիլպիպերազին-1-իլ)պրոպիոնաթթուն չի ճնշում միայն C.freundii-ի աճը, իսկ (S)-β-(N-էթանոլամինո)-α-ալանինը և (S)-β-(N-բենզիլամինո)-α-ալանինը ճնշում են միայն Erwinia sp.-ի աճը: Նշված հակաբակտերիալ ընտրողական ազդեցությունն անկասկած կարևոր նախադրյալ է ապագայում այդ միացությունների հենքի վրա պոտենցիալ հակաբակտերիալ դեղապատրաստուկների ստացման համար:

Ուսումնասիրվել է (S)-β-(N-մեթիլամինո)-α-ալանինի և (S)-β-(N-բենզիլամինո)-α-ալանինի ազդեցությունը ամինոտրանսֆերազներով կատալիզվող տրանսամինացման ռեակցիաների արագության վրա: Արոմատիկ ամինոտրանսֆերազների մոտ դիտվել է մրցակցային արգելակում (S)-β-(N-բենզիլամինո)-α-ալանինով, իսկ ասպարտատ ամինոտրանսֆերազի մոտ՝ ոչ մրցակցային արգելակում (S)-β-(N-մեթիլամինո)-α-ալանինով: Վերը նշված հատկանիշների շնորհիվ այդ ամինաթթուները կարող են հանդես գալ որպես պոտենցիալ դեղաբանորեն ակտիվ նյութեր:

Հաջորդ փուլում ստուգվել է (S)-β-(N-իզոպրոպիլամինո)-α-ալանինի ազդեցությունը Br.flavum տեսակի միկրոօրգանիզմների աճի վրա: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ փոքր չափաբաժինների՝ (~2000գ/մլ) կիրառման ժամանակ այդ ամինաթթվի ճնշող ազդեցությունը չի նկատվում, իսկ չափաբաժինը մեծացնելիս մինչև 4000գ/մլ և ավելի ճնշվում է միկրոօրգանիզմների աճը: Ընդ որում, միջավայր իզոլելիցին ամինաթթվի ավելացումը բերում է միկրոօրգանիզմների աճի վերականգնման: Հետևաբար, կարելի է ենթադրել, որ (S)-β-(N-իզոպրո-

պիլամինո)- $\alpha$ -ալանին ոչ սպիտակուցային ամինաթթուն ազդում է որպես բնական իզոլեյցին ամինաթթվի նմանակ:

1-մեթիլ-3-նիտրո-1-նիտրոզոզուանիդինով իրականացվել է մուտագենեց, որի արդյունքում ստացվել է (S)- $\beta$ -(N-իզոպրոպիլամինո)- $\alpha$ -ալանինի նկատմամբ կայուն մուտանտ: Միկրոկենսաբանական եղանակով ստուգվել է ստացված մուտանտների իզոլեյցին սինթեզելու ընդունակությունը և դրանցից ընտրվել են առավել ակտիվ տեսակները: Արձանագրված բոլոր տվյալները միանշանակ վկայում են այն մասին, որ (S)- $\beta$ -(N-իզոպրոպիլամինո)- $\alpha$ -ալանինը միկրոբիոլոգիայում կարելի է կիրառել որպես կարևոր սպիտակուցային ամինաթթու՝ իզոլեյցինի ակտիվ նմանակ՝ վերջինիս շտամ արտադրիչների կատարելագործման և ակտիվության բարձրացման համար:

### ԵՐԱԿԱՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Գիտահետազոտական աշխատանքների արդյունքում ստացված տվյալների հիման վրա կարելի հանգել հետևյալ եզրակացությունների.

1. Առաջին անգամ սինթեզվել և կառուցվածքային հետազոտվել են N-բենզիլպրոլինի մնացորդի ֆենիլային օղակի 2-րդ դիրքում ֆտոր և քլոր տեղակալիչներ պարունակող նոր մոդիֆիկացված քիրալային հարթ քառակուսային դեհիդրոալանինային կոմպլեքսներ՝ Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPP- $\Delta$ -Ala, Ni<sup>II</sup>-(R)-2-CBPP- $\Delta$ -Ala, Ni<sup>II</sup>-(S)-2-FBPP- $\Delta$ -Ala, Ni<sup>II</sup>-(R)-2-FBPP- $\Delta$ -Ala: Դեհիդրոալանինային կոմպլեքսների շարքում առաջին անգամ Ni<sup>II</sup>-(S)-2-CBPP- $\Delta$ -Ala կոմպլեքսի կառուցվածքն ու բացարձակ կոնֆիգուրացիան հետազոտվել և հաստատվել է ռենտգենկառուցվածքային անալիզի եղանակով:
2. Դեհիդրոալանինի մոդիֆիկացված կոմպլեքսները, որպես ՊԳ-կախյալ ֆերմենտների մոդելային համակարգեր հետազոտվել են դեհիդրոամինաթթվային մնացորդի չհագեցած C=C կապին տարբեր ալիֆատիկ և արոմատիկ նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաներում: Մշակվել են  $\beta$ -տեղակալված (S)- և (R)- $\alpha$ -ամինաթթուների թերմոդինամիկորեն վերահսկվող բարձրսելեկտիվ ( $ee \geq 97\%$ ) և համեմատաբար արագընթաց կենսամիմետիկ ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդներ:
3. Դեհիդրոալանինի չմոդիֆիկացված և մոդիֆիկացված կոմպլեքսները հետազոտվել են նաև չհագեցած C=C կապին տարբեր հետերոցիկլիկ նուկլեոֆիլների ասիմետրիկ միացման ռեակցիաներում: Սինթեզվել են նոր, գրականության մեջ չնկարագրված 1,4-տեղակալված պիպերազինային օղակ պարունակող էնանտիոմերապես հարստացված (S)- և (R)- $\alpha$ -ամինաթթուներ ( $ee \approx 97\%$ ):
4. Մշակվել են N-Ts և N-Ms պաշտպանված (S)- $\beta$ -(N-էթանոլամինո)- $\alpha$ -ալանինի և (S)-2-կարբօքսիալիլերազինի բարձրսելեկտիվ ( $ee$  մինչև 98%) և համեմատաբար արագընթաց ասիմետրիկ սինթեզի մեթոդներ:
5. Հետազոտվել է սինթեզված ամինաթթուների ազդեցությունը մի շարք գրամ-դրական և գրամ-բացասական մանրէների վրա և բացահայտվել է տեսակային ընտրողականություն որոշ ամինաթթուների մոտ: Յուրյց է տրվել, որ առաջին անգամ սինթեզված (S)- $\beta$ -(N-իզոպրոպիլամինո)- $\alpha$ -ալանինի ոչ սպիտակուցային ամինաթթուն ազդում է միկրոօրգանիզմների աճի վրա որպես իզոլեյցինի

- նմանակ և այն կարելի է օգտագործել միկրոբիոլոգիայում սպիտակուցային ամինաթթու իզոլեյցինի ակտիվ շտամ արտադրիչների ստացման նպատակով: Յույց է տրվել արոմատիկ ամինոտրանսֆերազի մրցակցային արգելակումը (*S*)- $\beta$ -(*N*-բենզիլամինո)- $\alpha$ -ալանինով, իսկ ասպարտատ ամինոտրանսֆերազի ոչ մրցակցային արգելակումը (*S*)- $\beta$ -(*N*-մեթիլամինո)- $\alpha$ -ալանինով:
6. Ատենախոստական աշխատանքում սինթեզվել են նոր միացություններ՝ ամինաթթուներ և նրանց միջանկյալ կոմպլեքսները, որոնց կառուցվածքը և բացարձակ կոնֆիգուրացիան պարզաբանվել է ժամանակակից ֆիզիկա-քիմիական անալիզի մեթոդներով:

***Ատենախոստության հիմնական արդյունքները տպագրված են հետևյալ աշխատանքներում***

1. **Л. А. Степанян** Синтез нового модифицированного Ni<sup>II</sup>-комплекса основания Шиффа дегидроаланина // Хим. журн. Армении, 2010, Т. 63, № 2, сс. 279-282.
2. А.С. Сагян, **Л. А. Степанян**, С.А. Дадаян, А.В. Геолчянан, Г.А. Паносян Эффективный асимметрический синтез (*S*)- $\beta$ -замещенных  $\alpha$ -аминокислот через модифицированный Ni<sup>II</sup>-комплекс шиффового основания дегидроаланина // Хим. журн. Армении, 2010, Т. 63, № 3, сс. 361-371.
3. Ashot S. Saghyan, **Lala A. Stepanyan**, Luiza L. Manasyan, Arpine V. Geolchanyan, Silva M. Djamgaryan, Hrant R. Ajvazyan, Henry A. Panosyan, Viktor I. Maleev, Tatiana F. Saveleva Synthesis of novel chiral Ni<sup>II</sup> complexes of dehydroalanine Schiff bases and their reactivity in asymmetric nucleophilic addition reactions. Novel synthesis of (*S*)-2-carboxypiperazine. //Tetrahedron: Asymmetry, 2010, vol. 21, pp. 2638–2645.
4. Ashot S. Saghyan, Hayarpi M. Simonyan, **Lala A. Stepanyan**, Samvel G. Ghazaryan, Arpine V. Geolchanyan, Luiza L. Manasyan, Vahe T. Ghochikyan, Taniel V. Ghochikyan, Nelli A. Hovhannisyanyan, Ashot Gevorgyan, Viktor O. Iaroshenko, Peter Langer Asymmetric synthesis of new  $\beta$ -heterocyclic (*S*)- $\alpha$ -aminopropionic acids // Tetrahedron: Asymmetry, 2012, vol. 23, pp. 891-897.
5. A. M. Paloyan, **L. A. Stepanyan**, S. A. Dadayan, A. A. Hambardzumyan, Gh. P. Halebyan, and A. S. Saghyan Catalytic Properties of Enzymes from *Erwinia carotovora* Involved in Transamination of Phenylpyruvate //Applied Biochemistry and Microbiology, 2013, Vol. 49, No 2, pp. 106-112.

## СТЕПАНЯН ЛАЛА АШОТОВНА

### СИНТЕЗ НОВЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ХИРАЛЬНЫХ Ni(II) КОМПЛЕКСОВ ДЕГИДРОАЛАНИНА И ИХ ИССЛЕДОВАНИЕ В БИОМИМЕТИЧЕСКИХ АСИММЕТРИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ СИНТЕЗА $\beta$ -ЗАМЕЩЕННЫХ $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТ

#### РЕЗЮМЕ

**Ключевые слова:** асимметрический синтез, небелковая аминокислота, хиральный реагент, Ni<sup>II</sup> комплекс, *ee*-энантиомерный выход, нуклеофильное присоединение.

Диссертационная работа посвящена синтезу хлор- и фторсодержащих новых хиральных модифицированных комплексов дегидроаланина, и разработке эффективных методов биомиметического асимметрического синтеза ряда оптически активных  $\beta$ -замещенных  $\alpha$ -аминокислот с применением синтезированных модифицированных комплексов дегидроаланина. Работа выполнена в лаборатории асимметрического синтеза небелковых аминокислот НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА.

Первая часть диссертационной работы посвящена синтезу новых модифицированных комплексов иона Ni<sup>II</sup> основания Шиффа дегидроаланина с хиральными вспомогательными реагентами (*R*)- и (*S*)-N-(2-бензоилфенил)-1-(2-хлорбензил)пирролидин-2-карбоксамидами (Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-СВРВ- $\Delta$ -Ala и Ni<sup>II</sup>-(*R*)-2-СВРВ- $\Delta$ -Ala) и (*R*)- и (*S*)-N-(2-бензоилфенил)-1-(2-фторбензил)пирролидин-2-карбоксамидами (Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-ФВРВ- $\Delta$ -Ala и Ni<sup>II</sup>-(*R*)-2-ФВРВ- $\Delta$ -Ala). Структуру и абсолютную конфигурацию комплексов установили методами физико-химического анализа. Методом рентгенструктурного анализа подтверждена структура комплекса Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-СВРВ- $\Delta$ -Ala.

Синтезированные модифицированные комплексы дегидроаланина в качестве модельных систем пиридоксальфосфат-зависимых ферментов были исследованы в асимметрических биомиметических реакциях нуклеофильного присоединения алифатических и ароматических нуклеофилов к С=C связи дегидроаминокислотного остатка. В результате разработаны высокоселективные (*ee* до 97%) и относительно скоротечные методы асимметрического биомиметического синтеза  $\beta$ -замещенных (*S*)- $\alpha$ -аминокислот.

Модифицированные и немодифицированные комплексы дегидроаланина исследовались также в асимметрических реакциях присоединения гетероциклических нуклеофилов. Были синтезированы неописанные в литературе новые энантиомерно обогащенные (*ee*~97%)  $\beta$ -гетероциклически замещенные (*S*)- $\alpha$ -аминокислоты, содержащие 1,4-дизамещенный пиперазиновый фрагмент.



В асимметрических реакциях нуклеофильного присоединения дегидроаминокислотных остатков исследовались также модифицированные хиральные  $Ni^{II}$  комплексы (*R*)-абсолютной конфигурации. Реакции проводились с теми же нуклеофилами (алифатическими, ароматическими и гетероциклическими) и в тех же условиях, что в случае синтеза (*S*)- $\alpha$ -аминокислот. В результате разработаны универсальные методы высокоселективного асимметрического биомиметического синтеза  $\beta$ -замещенных (*R*)- $\alpha$ -аминокислот.

На следующем этапе диссертационной работы модифицированные и немодифицированные комплексы дегидроаланина использовались в реакциях синтеза новой важной небелковой аминокислоты (*S*)-2-карбоксихиперазина. Для этого были синтезированы  $Ni^{II}$  комплексы N-защищенных (*S*)- $\beta$ -(N-этаноламино)- $\alpha$ -аланинов и после кислотного гидролиза выделяли соответствующие N-Ts и N-Ms-защищенные аналоги (*S*)- $\beta$ -(N-этаноламино)- $\alpha$ -аланина. При использовании модифицированных комплексов на основе хирального вспомогательного реагента (*S*)-2-FBPB на стадии кислотного разложения происходит внутримолекулярная циклизация с образованием важной небелковой аминокислоты (*S*)-2-карбоксихиперазина.

В заключительной части диссертационной работы было исследовано влияние синтезированных небелковых аминокислот на рост грам-отрицательных и грам-положительных микроорганизмов. Показано, что впервые синтезированная небелковая аминокислота (*S*)- $\beta$ -(N-изопропиламино)- $\alpha$ -аланин может применяться в качестве эффективного аналога для микробиологической селекции активного штамма-продуцента изолейцина. Было так же изучено влияние (*S*)- $\beta$ -(N-бензиламино)- $\alpha$ -аланина и (*S*)- $\beta$ -(N-метиламино)- $\alpha$ -аланина на скорость реакции трансминирования, катализируемой аминотрансферазами.

В целом, в настоящей работе синтезировано 76 неописанных в литературе новых соединений, из которых 11 оптически активные небелковые (*S*)- и (*R*)- $\alpha$ -аминокислоты с различными алифатическими, ароматическими и гетероциклическими заместителями в боковом радикале.

Несомненно, синтезированные новые модифицированные дегидроаланиновые комплексы иона  $Ni^{II}$ , как эффективные модели ПФ-зависимых ферментов, могут вытеснить из практики применение их немодифицированных аналогов в препаративном производстве оптически активных  $\beta$ -замещенных небелковых аминокислот. Разработанные методы с высокой энантиоселективностью и укороченным контролем времени открывают путь к синтезу новых энантимерно обогащенных  $\beta$ -замещенных  $\alpha$ -аминокислот (включая применяемые в ПЭТ диагностике изотопно-меченые аминокислоты (*S*)- и (*R*)-абсолютной конфигурации).

Основные материалы диссертационной работы докладывались на международных конференциях «Современное состояние биотехнологии в Армении и роль МНТЦ в ее развитии», (г. Цахкадзор, 28 сентября-2 октября,

2008г.), «Успехи в области органической фармацевтической химии» (г. Ереван 3-6 октября, 2012г.).

По теме диссертационной работы опубликовано 5 работ.

*STEPANYAN LALA*

**SYNTHESIS OF NEW MODIFIED CHIRAL Ni(II) COMPLEXES OF DEHYDROALANINE AND THEIR STUDY IN BIOMIMETIC ASYMMETRIC REACTIONS OF SYNTHESIS OF  $\beta$ -SUBSTITUTED  $\alpha$ -AMINO ACIDS**

**ABSTRACT**

**Key words:** asymmetric synthesis, non-protein amino acids, chiral auxiliary, Ni<sup>II</sup> complex, *ee*-enantiomeric yield, nucleophilic addition.

The thesis is devoted to the synthesis of chloro- and fluoro-containing new chiral modified complexes of dehydroalanine and development of efficient methods for the biomimetic asymmetric synthesis of a series of optically active  $\beta$ -substituted  $\alpha$ -amino acids with the use of synthesized modified complexes of dehydroalanine. The work has been accomplished in the laboratory of asymmetric synthesis of non-protein amino acids of the SPC "Armbiotechnology" NAS RA.

The first part of the thesis is devoted to the synthesis of new modified Ni<sup>II</sup> complexes of Schiff's bases of dehydroalanine with chiral auxiliaries (*R*)- and (*S*)-*N*-(2-benzoylphenyl)-1-(2-chlorobenzyl) pyrrolidine-2-carboxamides (Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-CBPB- $\Delta$ -Ala and Ni<sup>II</sup>-(*R*)-2-CBPB- $\Delta$ -Ala), and (*R*)- and (*S*)-*N*-(2-benzoylphenyl)-1-(2-fluorobenzyl)pyrrolidine-2-carboxamides (Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-FBPB- $\Delta$ -Ala and Ni<sup>II</sup>-(*R*)-2-FBPB- $\Delta$ -Ala). The structures and absolute configuration of complexes were established by physicochemical methods of analysis. The structure of Ni<sup>II</sup>-(*S*)-2-CBPB- $\Delta$ -Ala complex was confirmed by the method of X-ray structural analysis.

The synthesized modified dehydroalanine complexes as model systems of pyridoxal phosphate-dependent (PP) enzymes were studied in the asymmetric biomimetic reactions of nucleophilic addition of aliphatic and aromatic nucleophiles to the C=C bond of dehydroamino acid moiety. As a result high-selective (*ee* up to 97%) and relatively fast methods for the asymmetric biomimetic synthesis of  $\beta$ -substituted (*S*)- $\alpha$ -amino acids were developed.

The modified and unmodified complexes of dehydroalanine were also studied in the asymmetric addition reactions of heterocyclic nucleophiles. Novel, not previously described in the literature enantiomerically enriched (*ee*  $\approx$ 97%)  $\beta$ -heterocycle substituted (*S*)- $\alpha$ -amino acids containing 1,4-disubstituted piperazine fragment were synthesized.

Modified chiral Ni<sup>II</sup> complexes of (*R*)-absolute configuration were also studied in the asymmetric reactions of nucleophilic addition of dehydroamino acid moieties. The

reactions were carried out with the same nucleophiles (aliphatic, aromatic and heterocyclic) and under the same conditions as in the case of (*S*)- $\alpha$ -amino acids synthesis. As a result universal methods for high-selective asymmetric biomimetic synthesis of  $\beta$ -substituted (*R*)- $\alpha$ -amino acids were elaborated.

At the next stage of the thesis modified and unmodified complexes of dehydroalanine were used in the reactions of synthesis of a novel important non-protein amino acid (*S*)-2-carboxypiperazine. For this purpose Ni<sup>II</sup> complexes of N-protected (*S*)- $\beta$ -(*N*-ethanolamino)- $\alpha$ -alanines were synthesized and after acid hydrolysis the corresponding N-Ts and N-Ms-protected analogs of (*S*)- $\beta$ -(*N*-ethanolamino)- $\alpha$ -alanine were isolated. With the use of modified complexes on the basis of (*S*)-2-FBPB chiral auxiliary at the stage of acid decomposition intramolecular cyclization with the formation of an important non-protein amino acid (*S*)-2-carboxypiperazine takes place.

The concluding part of the thesis is devoted to investigation of the effect of synthesized non-protein amino acids on growth of gram-negative and gram-positive microorganisms. It was shown that non-protein amino acid (*S*)- $\beta$ -(*N*-isopropylamino)- $\alpha$ -alanine synthesized for the first time can be used as an efficient analog for the microbiological selection of an active isoleucine strain-producer. The effect of (*S*)- $\beta$ -(*N*-benzylamino)- $\alpha$ -alanine and (*S*)- $\beta$ -(*N*-methylamino)- $\alpha$ -alanine on the rate of the transamination reaction catalysed by aminotransferases was also studied.

On the whole 76 novel compounds, not described in literature, including 11 optically active non-protein (*S*)- and (*R*)- $\alpha$ -amino acids with various aliphatic, aromatic and heterocyclic substituents in the side-chain radical were synthesized in the course of this work.

Undoubtedly, synthesized novel modified Ni<sup>II</sup> complexes of dehydroalanine as efficient models of PP-dependent enzymes can force out of practice their unmodified analogs used in the preparative production of optically active  $\beta$ -substituted non-protein amino acids. The developed methods with high enantioselectivity and shortened time mentoring pave the way to the synthesis of novel enantiomerically enriched  $\beta$ -substituted  $\alpha$ -amino acids (including isotope labeled amino acids of (*S*)- and (*R*)-absolute configuration used in PET diagnostics).

Basic materials of the thesis were reported at the International Conference “State-of-the-Art Biotechnology in Armenia and ISTC contribution” (Tsakhkadzor, September 28-October 2, 2008), “Achievements in Organic Pharmaceutical Chemistry” (Yerevan, October 3-6, 2012).

5 papers have been published on the subject of the thesis.