Някои от възможните нежелани странични реакции При провеждането на рибозимомиметичен синтез на метилови естери на природните алфа-аминокиселини

Красимира Замфирова, Станислав Байрямов

Some of the possible unwanted side reactions during the ribozyme-mimetic synthesis of methyl esters of natural alpha-amino acids. Part I: *In this paper, some possible unwanted side reactions, during the ribozyme-mimetic synthesis of methyl esters of natural alpha-amino acids are described. These undesired side reactions lead to lowering of the yields, with side chain functionality participation. In our future work the kinetic study of the reaction will be carried out, using NMR spectroscopy and MS-analysis. By optimization of the reaction conditions, we hope to increase the yields of the desired products and will try to describe, how the ancient RNAzymes were able to synthesize these biomolecules during the Ancient World.*

Key words: *H-phosphonamide N-carboxy anhydrides:* PANCA (HPANCA)*, Model reaction, Ribozyme-mimetic synthesis, Propylene oxide (methyl oxirane), Phosphonic acid, Methyl esters, Amino acids, RNA World.*

ВЪВЕДЕНИЕ

Рибозимомиметичният синтез на метилови естери на природните алфа-аминокиселини разкрива нова страница в изясняването на ролята на РНК-ензимите в древния свят [1-4]. Те са предшествали протеиногенните ензими, което навежда на мисълта, че в ранните етапи от появата и развитието на живота цялата основна функционална, а и отчасти структурна роля се е дължала на РНК-молекулите, изграждащи този РНК-свят. Преди появата на белтъчните ензими, РНК-молекулите са били заангажирани в реализирането на основните функции, осигуряващи нормалното протичане на жизнените процеси при организмите, обитаващи тогавашната среда. Наред с катаболитните процеси, рибозимите са катализирали и анаболитни процеси на синтез на междубиомономерна връзка, демонстрирана по най-простия и убедителен начин с рибозимомиметичния синтез на метилови естери на природните алфа-аминокиселини [1-4].

При този синтез обаче, освен образуването на целевия продукт се наблюдават редица нежелани реакции, свързани с някои от страничните функционални групи при аминокиселините. Това определя нуждата за предотвратяване на протичането им, свеждането им до минимум или поне за тяхната частична редукция. Насоката, по която би могло това да бъде осъществено е чрез промяна в реакционните условия, както и съотношението между реагентите. Целта на това минимизиране на страничите реакции се определя от една страна заради интереса по какъв начин рибозимите са предотвратявали тяхното протичане, а от друга – поради нуждата от постигане на по-висока чистота и добиви, при евентуалното оптимизиране на протокола и методиката като цяло за комерсиални цели.

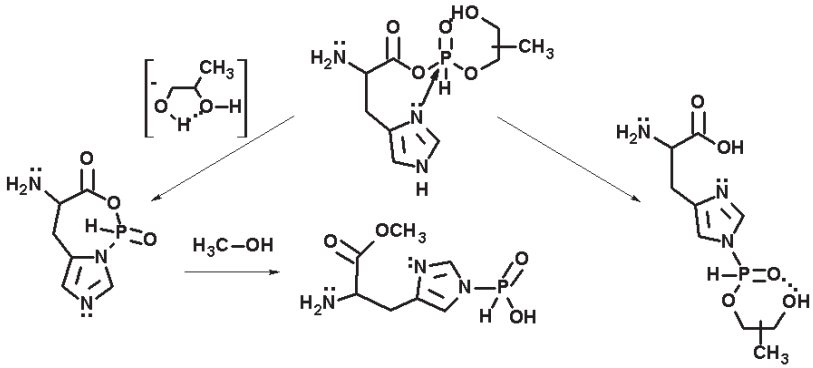
Един от начините за установяване на целия реакционен механизъм при този биомиметичен синтез е чрез използването на съвременните инструментални методи като ^{1}H, ^{32}P и ^{13}C NMR спектроскопията, UV, IR и методите на масспектрометрията.

ИЗЛОЖЕНИЕ

При рибозимомиметичния синтез на метилови естери на природните алфа-амино киселини основното активирано съединение, което се получава е цикличният фосфонамид N-карбоксианхидрид: PANCA (HPANCA). Атаката към неговия карбоксамиден въглероден атом от нуклеофили, каквато е в случая молекулата метанол води до неговия разпад с образуване на съответния метилов естер на N-фосфонилираната аминокиселина. Разбира се, атаката на метаноловата молекула може да бъде осъществена и преди образуването на съответния фосфонамид N-карбоксианхидрид: PANCA (HPANCA), т.е на етапа на образуване на

предшестващото съединение: смесен анхидрид на съответната алфа-аминокиселина и 2-хидроксиалкил Н-фосфоновата киселина. При наличието на странични функционални групи обаче, биха могли да протекат редица нежелани реакции с тяхно участие.

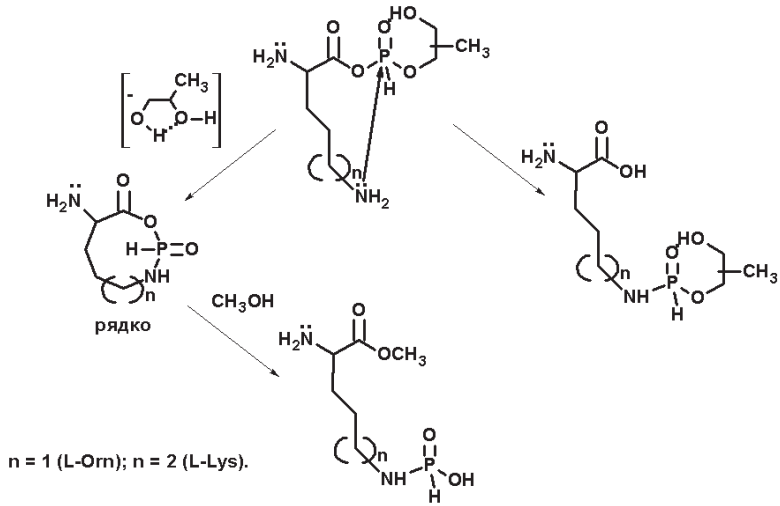
Както беше споменато по-горе, нежеланите реакции са свързани с участието на следните странични функционални групи при аминокиселините, напр.: ОН-групи на треонин (L-Thr) и серин (L-Ser), NH_2-групи на лизин (L-Lys) и орнитин (L-Orn), гванидинова група при аргинина (L-Arg), иминогрупа от имидазолното ядро на хистидина (L-His), ω-карбоксилни групи (COOH) на аспартова (L-Asp) и глутамова (L-Glu) киселини, индолово ядро на триптофан (L-Trp), р-ОН група при бензеновото ядро на тирозин (L-Tyr). Например при синтеза на метилов естер на хистидина (L-His), понижаването в добивите се дължи на странична реакция на трансфосфонилиране (пренос на фосфонатна група) към азотния атом от имидазоловото ядро в резултат на което се получава N^{im}-фосфонилиран хистидин N^{im}-2-хидроксиалкил фосфонилиран хистидин (Фиг. 1):



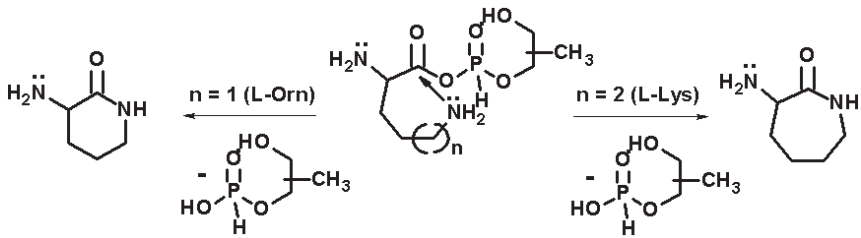
Фиг. 1. Възможни странични реакции при рибозимомиметичния синтез на метилов естер на хистидина (L-His).

Другата странична реакция с образуване на 7-членен пръстен не влияе на крайния добив, т.к. атаката му от нуклеофил (в случая метанол) води до образуване на метилов естер на N^{im}-фосфонилиран хистидин, който би могъл да бъде превърнат в метилов естер на хистидина чрез деблокиране на фосфонилната група (Фиг. 1).

Аналогичен е случаят при получаването на метилови естери на лизин (L-Lys) и орнитин (L-Orn) чрез рибозимомиметичен синтез (Фиг. 2). При тези аминокиселини обаче, поради факта, че по-трудно би могъл да бъде образуван 8- и 9-членен пръстен с последваща атака на метаноловата молекула с образуване на метилови естери на съответните N^{ω}-фосфонилирани аминокиселини, дялът на реакцията на трансфосфонилиране с образуване на N^{ω}-фосфонилирани лизин (L-Lys) и орнитин (L-Orn) и N^{ω}-2-хидроксиалкил фосфонилирани лизин (L-Lys) и орнитин (L-Orn) расте. Освен това при тези аминокиселини би могла да се наблюдава и странична реакция на вътрешномилекулна аминолиза с последващо образуване на 6- съответно 7-членен лактамен пръстен (циклоорнитин и циклолизин): α-амино-δ-лактам, съответно α-амино ε-лактам (Фиг. 3). Тази реакция е твърде вероятна, поради стабилността на образуваните 6- съответно 7-членни лактамни пръстени.

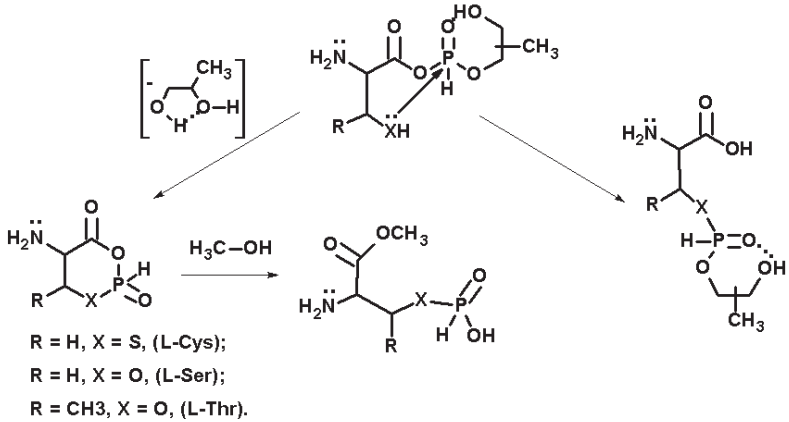


Фиг. 2. Някои от възможните странични реакции при рибозимомиметичния синтез на метилови естери на лизин (L-Lys) и орнитин (L-Orn).



Фиг.3. Възможна нежелана странична реакция на вътрешномолекулна циклизация (лактамизация) при синтеза на метилови естери на лизин (L-Lys) и орнитин (L-Orn) с образуване на циклоорнитин и циклолизин: α-амино-δ-лактам, съответно α-амино ε-лактам.

При получаването на метилови естери на аминокиселините серин (L-Ser), треонин (L-Thr) и цистеин (L-Cys) са възможни нежелани реакции с участието на страничните им функционални групи: β-хидроксилни групи при серина и треонина и β-сулфхидрилна група на цистеина (Фиг. 4). Поради факта, че е твърде вероятно образуването на 6-членен междинен цикъл (5-амино 2,6-диоксо 1,3-диокса 2-Н 2-фосфолан (Н-фосфонил О-карбоксианхидрид)) или (5-амино 2,6-диоксо 1,3-тиокса 2-Н 2-фосфолан (Н-тиофосфонил S-карбоксианхидрид)) при тези аминокиселини, в резултат на атаката на страничната хидроксилна или сулфхидрилна групи, в голяма степен се получават метилови естери на β-Х-фосфонилиран серин, треонин, съответно цистеин. Разбира се не е изключена реакция на трансфосфонилиране с получаване на β-Х-фосфонилиран серин, треонин и цистеин.



Фиг. 4. Предполагаеми странични реакции на фосфонилиране на хидроксилни и сулфхидрилна група при получаване на метилови естери на серин (L-Ser), треонин (L-Thr) и цистеин (L-Cys).

Предстои да бъдат проведени изследвания за доказване на реакционния механизъм на рибозимомиметичен синтез на метилови естери на природните алфа-аминокиселини, както и на възможните странични реакции чрез следните методи:

1. Проследяване на кинетиката на реакцията с помощта на ^{1}H, ^{32}P и ^{13}C NMR спектроскопия и с методите на масспектрометрията.
2. Изолиране на част от интермедиатите и техният анализ и идентификация с цел – доказване на реакционния механизъм.
3. Промяна в условията с цел – оптимизиране на реакцията на биомиметичен синтез.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предполагаемите нежелани странични реакции, които протичат с участието на функционалните групи на алфа-аминокиселините при синтеза на техните метилови естери и водещи до понижаване на добивите на основните продукти навеждат на мисълта, че е необходимо оптимизиране на условията при рибозимомиметичната реакция на естерификация, с участието на метанол. Това оптимизиране би довело до повишаване на добивите, чрез контрола на самата реакция от една страна, както и би отговорило на въпроса – как са се справяли древните рибозими, контролиращи процесите и позваляващи протичането на желаната реакция и са избягвали нежеланите такива.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Videva, V.S., Bairyamov, S.G., Devedjiev, I.T. Bulg. Chem. Commun. 2007, 39, 276.
[2] Devedjiev, I.T., Bairyamov, S.G., Videva, V.S. Heteroatom Chemistry. 2008, 19, 252.
[3] Bayryamov, S.G. Научни трудове на Русенски Университет-2010, том 49, серия 9.1, 41 – 48. Русе, 2010 г.
[4] Bayryamov, S.G., Bayryamov, N.G., Danalev, D. L. & Vassilev, N. G. Unpublished results.

За контакти:
Гл. ас. д-р Станислав Байрямов, Катедра “Ремонт, надеждност и химични технологии”, Русенски университет “Ангел Кънчев”, тел.: 082-888 228, 082-888 459, e-mail: sbayryamov@uni-ruse.bg

Докладът е рецензиран.