



На правах рукописи

КОШКИН СЕРГЕЙ АЛЕКСЕЕВИЧ

**СИНТЕЗ И МЕМБРАННО-ТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА ЛИПОФИЛЬНЫХ
N-ФОСФОРИЛМЕТИЛИРОВАННЫХ АМИНОКИСЛОТ**

02.00.08 – химия элементоорганических соединений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань – 2015

Работа выполнена на кафедре высокомолекулярных и элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Черкасов Рафаэль Асхатович

Официальные оппоненты:

Гаврилова Елена Леонидовна, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань, профессор кафедры органической химии Института нефти, химии и нанотехнологии

Богданов Андрей Владимирович, кандидат химических наук, ФГБУН «Институт органической и физической химии имени А. Е. Арбузова» Казанского научного центра Российской академии наук, г. Казань, старший научный сотрудник лаборатории фосфорсодержащих аналогов природных соединений

Ведущая организация: ФГБУН «Институт элементоорганических соединений имени А. Н. Несмеянова» Российской академии наук, г. Москва

Защита диссертации состоится «5» ноября 2015 года в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 212.081.03 при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, Химический институт им. А.М. Бутлерова, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». Электронная версия автореферата размещена на официальном сайте ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» <http://www.kpfu.ru>. Отзывы на автореферат в двух экземплярах просим отправлять по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», отдел аттестации научно-педагогических кадров.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 212.081.03

кандидат химических наук, доцент

Кутырева Марианна Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Наблюдаемый на протяжении последних десятилетий устойчивый интерес к N-фосфорилметилованным аминокислотам обусловлен проявляемой ими высокой и разнообразной биологической активностью. Так, например, простейший представитель N-фосфорилметилованных аминокислот – N-фосфонометилглицин является широко применяемым гербицидом, известным под названием глифосат (Glyphosate) или Roundup. Для других представителей этого класса соединений обнаружены противоопухолевые, антибактериальные, противовирусные, гипертензивные свойства, которые в сочетании с низкой токсичностью для млекопитающих позволяют рассматривать их как потенциальные лекарственные средства. Однако области использования фосфорилированных аминокислот не ограничиваются лишь созданием новых лекарственных средств. Будучи полидентатными лигандами хелатного типа, они обладают ярко выраженными комплексообразующими свойствами по отношению к ионам переходных металлов, что находит свое применение при создании новых адсорбентов и координационных материалов с уникальными магнитными и оптическими свойствами.

Вместе с тем полидентатная структура N-фосфорилметилованных аминокислот при увеличении их липофильности введением в структуру длинноцепочечных углеводородных заместителей делает их привлекательными для создания на их основе новых экстрагентов. Липофильные фосфорилированные амины, демонстрируя высокие скорости трансмембранного переноса ионов редкоземельных элементов и органических кислот в условиях мембранной экстракции, уже зарекомендовали себя как эффективные экстракционные реагенты. Можно полагать, что присутствующая в фосфорилированных аминокислотах протондонорная карбоксильная группа, которая может либо принимать участие в связывании субстратов в комплекс мембранного переноса, либо, оставаясь незадействованной в координации с субстратом, понижать липофильность образуемого комплекса, будет в значительной степени способствовать увеличению селективности мембранного транспорта. Это, а также возможность варьирования природы заместителя у α -атома углерода аминокислот, а также природы и расположения в молекуле функциональных групп, открывает широкие перспективы для изучения влияния структурных факторов на экстракционные свойства N-фосфорилметилованных аминокислот, что представляет несомненный интерес для поиска новых высокоэффективных транспортных реагентов.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время надежные одностадийные подходы к синтезу N-фосфорилметилованных аминокислот разработаны главным образом для получения аминокислот модифицированных метилфосфонатной группой. Получение аминокислот, функционализированных диалкилфосфиноксидной группой, представлено лишь единичными примерами на простейших аминокислотах. Мембранная экстракция N-фосфорилметилованными аминокислотами через жидкие липофильные мембраны ранее изучалась только для N-дигексилфосфорилметил-, N-диоктилфосфорилметил- и N-дидецилфосфорилметил-N-бутилглицина.

Цели и задачи работы. Целью настоящей работы явилась разработка оптимальных методов синтеза новых липофильных N-фосфорилметилованных производных аминокислот различного строения, идентификация их структуры, изучение их кислотно-основных и мембранно-транспортных характеристик и выявление соотношения «структура – свойство», необходимого для создания эффективных экстрагентов кислых субстратов разнообразного строения.

Научная новизна работы. В работе впервые найдены универсальные условия синтеза α -аминофосфиноксидов с длинными углеводородными заместителями у атома фосфора из протеиногенных аминокислот с использованием реакции Кабачника-Филдса. С применением разработанных методов синтезирован ряд неописанных ранее липофильных моно- и бис-N-фосфорилметилованных производных глицина, α - и β -аланина, валина, лейцина, фенилаланина, серина, треонина, метионина, пролина, глицилглицина, аспарагиновой и глутаминовой кислот. Показана эффективность применения полученных соединений в качестве переносчиков в процессах экстракции жидкими поддерживаемыми мембранами дикарбоновых кислот и их функционализированных производных.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанные методы синтеза N-фосфорилметилованных аминокислот могут найти практическое использование при получении новых синтетических рецепторов, ионофоров, экстракционных и адсорбционных реагентов, а также биологически активных фосфорилированных пептидов. Установленные в ряде случаев зависимости между структурой новых аминофосфорильных переносчиков и эффективностью и селективностью их мембранно-транспортного действия могут служить теоретической предпосылкой при выработке стратегии направленного синтеза новых типов экстрагентов субстратов различной природы. Синтезированные в работе эффективные мембранные переносчики представляют значительный интерес для создания экстракционных систем, предназначенных для выделения, концентрирования и разделения дикарбоновых, гидрокси- и аминокислот из объектов природного и техногенного происхождения, а также при создании мембранных биореакторов. Кроме того, мембранная экстракция N-фосфорилметилованными аминокислотами может быть использована в аналитических целях на этапах пробоподготовки в комплексных биохимических исследованиях, а также при решении вопросов защиты окружающей среды.

Методология и методы исследования. В рамках проведенных исследований для создания и оптимизации методов синтеза моно- и бис-N-фосфорилметилованных аминокислот была использована трехкомпонентная реакция Кабачника-Филдса и широкий набор современных физико-химических методов анализа для установления структуры и состава полученных соединений (ИК и ЯМР спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ, PCA). Мембранная экстракция карбоновых кислот синтезированными N-фосфорилметилованными аминокислотами изучалась с применением кондуктометрического и ВЭЖХ-МС анализа.

Положения, выносимые на защиту:

- методы синтеза новых липофильных фосфорилированных протеиногенных аминокислот, базирующиеся на одnoreакторном трехкомпонентном процессе конденсации по Кабачнику-Филдсу;
- результаты изучения структуры новых фосфорилированных аминокислот с длинноцепочечными заместителями у атома фосфора методами ЯМР, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа;
- результаты измерения кислотно-основных свойств новых фосфорилированных аминокислот;
- результаты изучения процессов трансмембранного переноса полифункциональных карбоновых кислот новыми липофильными N-фосфорилметилованными аминокислотами.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов проведенных исследований определяется и подтверждается использованием целого ряда современных физико-химических методов анализа.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были представлены на следующих конференциях: 18-я (Вроцлав, Польша, 2010), 19-я (Роттердам, Нидерланды, 2012), 20-я (Дублин, Ирландия, 2014) Международные конференции по химии фосфора; Международный симпозиум «Современные тенденции в металлоорганической химии и катализе» (Москва, 2013); Международный конгресс по органической химии (Казань, 2011); XXVII Международная Чугаевская конференция по координационной химии (Казань, 2014 г; IX научная конференция молодых ученых, аспирантов и студентов "Материалы и технологии XXI века" (Казань, 2009); Итоговая научная конференция Казанского (Приволжского) федерального университета (Казань, 2013).

Публикации. Основные результаты диссертации изложены в 5 статьях и 9 тезисах докладов. Публикации по теме диссертации написаны в соавторстве с научным руководителем д.х.н. профессором Черкасовым Р.А. и с научным консультантом к.х.н., доцентом Гарифзяновым А.Р., которым автор выражает свою глубокую благодарность.

Личный вклад автора заключается в постановке целей и задач исследований, выборе объектов, проведении эксперимента, анализе экспериментальных данных, обработке и обобщении результатов, а также формулировании выводов.

Работа выполнена на кафедре высокомолекулярных и элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета в рамках основного научного направления «Синтез, строение, реакционная способность и практически полезные свойства органических, элементоорганических и координационных соединений», а также за счет средств субсидии Казанского федерального университета «Новое поколение элементоорганических экстрагентов, мембранно-транспортных реагентов, компонентов ионселективных электродов для целей извлечения, концентрирования, сепарации и анализа объектов природного и техногенного происхождения» (№ госрегистрации 114 090 970 012) и при финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований №13-03-00536 и 13-03-90448.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 146 страницах машинописного текста, включает 21 рисунок, 45 схем, 9 таблиц и имеет 80 приложений. Состоит из введения, трех глав, выводов и списка использованных библиографических источников, включающего 176 ссылок.

В первой главе представлен обзор литературных данных, отражающий современное состояние исследований по синтезу N-фосфорилметилованных аминокислот. Рассмотрены сведения об их биологической активности и комплексообразующих свойствах, обсуждены вопросы использования этих соединений в качестве мембранных переносчиков. Основные результаты экспериментальных исследований и их обсуждение приведены во второй главе. Представлен подбор условий осуществления процесса фосфорилирования ряда аминокислот и результаты установления структуры впервые полученных соединений физико-химическими методами анализа. Для некоторых N-фосфорилметилованных аминокислот определены константы ионизации и скорости мембранного переноса ряда дикарбоновых, гидрокси- и α -аминокислот. На примере глутаровой кислоты показана способность ее селективного транспорта через жидкие липофильные мембраны N,N-бис[(диоктилфосфорил)метил]-2-аминопропановой кислотой.

Экспериментальная часть работы, включающая описание проведенных синтетических, экстракционных и спектральных экспериментов, приведена в заключительной части диссертации; полученные для синтезированных веществ графические спектральные данные приведены в Приложении.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

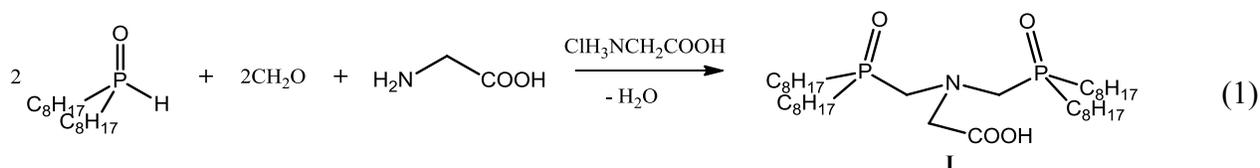
Как следует из анализа литературы, основными методами синтеза α -аминофосфорильных соединений (АФС) являются реакция Кабачника-Филдса и иминный вариант реакции Пудовика. Оба эти метода отличают доступность исходных реагентов, относительная простота исполнения, высокие выходы и большое структурное разнообразие получаемых продуктов. Использование в указанных методах эфиров аминокислот или их N-функционализированных производных, предполагающих последующее удаление защитных групп, позволяет получить аминофосфонаты, содержащие аминокислотные фрагменты. Однако выходы получаемых при этом продуктов по сравнению с АФС, которые не содержат функциональных групп у аминного азота, либо существенно ниже, либо ничтожно малы. Использование же свободных аминокислот в качестве исходных реагентов приводит к успеху лишь в единичных случаях, особенно, если в их составе содержатся длинные углеводородные цепи. Интересующие же нас как потенциальные мембранные экстрагенты α -аминофосфиноксиды ранее были синтезированы аналогичными методами, исходя из фосфинистых кислот, только на примере аминокислот со вторичным атомом азота (пролин, N-бутилглицин).

Для решения нашей основной задачи – синтеза N-метилфосфиноксидных производных природных аминокислот успешным из перечисленных синтетических приемов, скорее всего, может оказаться лишь реакция Кабачника-Филдса. Присоединение гидрофосфорильных соединений к имиnam, хоть и привлекательно тем, что не осложнено параллельным протеканием реакции Абрамова, более стереоселективно и осуществляется обычно при комнатной температуре, в случае с имиnam, полученными из аминокислот, проходит с низкими выходами. Кроме того, не все имиnam, получаемые из аминокислот, могут быть выделены в индивидуальном виде ввиду их нестабильности и склонности к полимеризации. Вместе с тем, реакция с менее кислыми фосфинистыми кислотами, в отличие от изученных ранее процессов с участием фосфитов, вероятнее всего будет требовать нагревания, что может способствовать увеличению числа побочных процессов и снижению выхода целевых АФС.

Подобного рода аргументы побудили нас выбрать для синтеза липофильных N-фосфорилметилованных аминокислот трехкомпонентную реакцию Кабачника-Филдса. Для достижения высокой липофильности создаваемых переносчиков наиболее благоприятным является введение длинноцепочечных углеводородных заместителей к атому фосфора, поскольку стерическая нагрузка α -углеродного атома аминофосфиноксидного остова будет осложнять образование комплексов, участвующих в мембранном переносе. Поэтому в качестве гидрофосфорильной компоненты в рамках выполнения данной работы мы в основном

применяли диоктилфосфинистую и дидецилфосфинистую кислоты. Наличие столь длинных углеводородных заместителей в структуре переносчика является необходимым условием для предотвращения его вымывания из мембранной фазы, объем которой в сравнении с объемами принимающих и питающих фаз чрезвычайно мал. В качестве карбонильной компоненты во всех экспериментах применяли параформ, который, ввиду его гигроскопичности, брали с 5% избытком.

Ключевым вопросом для процесса фосфорилметилирования аминокислот являлась форма использования аминокислоты, так как в свободном виде они практически нерастворимы в органических растворителях, а проведение синтеза в водной среде невозможно по причине нерастворимости в ней фосфинистых кислот с длинноцепочечными заместителями и сложности протекания реакции в такой среде. Для доставки аминокислот в сферу реакции первоначально мы использовали межфазный катализ гидрохлоридом соответствующей аминокислоты.



Для выбора оптимальных условий синтеза, мы проводили реакцию диоктилфосфинистой кислотой с параформом и глицином в присутствии его гидрохлорида с вариацией природы растворителя (схема 1), для чего мы использовали дихлорметан, ацетонитрил, ТГФ, диоксан и пропанол-2. Гидрохлорид глицина применяли в количестве 25% от стехиометрического количества самой аминокислоты, все остальные реагенты использовались в эквимолярном количестве. Анализ спектров ЯМР ^{31}P образцов реакционных смесей после нагревания в кипящих растворителях в течение 6 часов позволяет заключить, что реакция протекает селективно с образованием преимущественного одного фосфорсодержащего продукта лишь в среде ацетонитрила и пропанола-2. Реакция в дихлорметане проходит с малым выходом, о чем свидетельствует интенсивный сигнал исходной фосфинистой кислоты 34.8 м.д. в спектрах ЯМР ^{31}P .

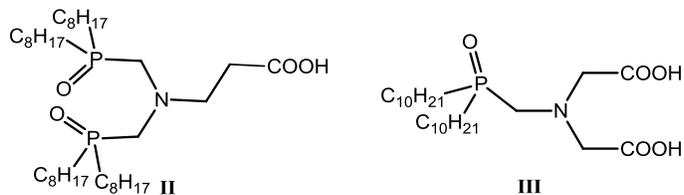
Из реакционной смеси, полученной в результате кипячения в ацетонитриле, выделено желтое маслообразное вещество с выходом 84%. На основании данных спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$, масс-спектрометрии высокого разрешения и элементного анализа было установлено, что полученный продукт имеет структуру N,N-бис[(диоктилфосфорил)метил]глицина (**I**). Удаление растворителя из реакционной смеси, полученной в среде пропан-2-ола, привело к выделению твердого белого аморфного вещества, которое легко перекристаллизуется из этилацетата. Анализ спектральных данных позволил установить что выделенное вещество представляет собой α -гидроксиметилдиоктилфосфиноксид. Реакционные смеси, полученные нагреванием в ТГФ и в диоксане, имеют более сложный состав. Разделение их методом флеш-хроматографии на сухой колонке и последующий анализ спектров ЯМР ^{31}P свидетельствуют о том, что в данных условиях образуется смесь продуктов моно- и бисфосфорилметилирования, а также (α -гидроксиметил)диоктилфосфиноксида. Основываясь на полученных результатах, в

дальнейшем для получения N-фосфорилметилированных аминокислот в качестве реакционной среды использовался ацетонитрил.

Для изучения влияния количества гидрохлорида глицина на степень замещения атомов водорода у азота на метилфосфиноксидные группы мы варьировали вводимое количество гидрохлорида глицина – 10, 25 и 50 мол. % относительно свободного глицина при нагревании в течение 3 часов. Во всех случаях по данным ЯМР $^{31}\text{P}\{-^1\text{H}\}$ было зафиксировано образование лишь одного продукта – соединения **I**. Однако при использовании 10% количества гидрохлорида глицина, наблюдается сигнал непрореагировавшей фосфинистой кислоты, что свидетельствует о снижении в этом случае скорости реакции.

Вместе с тем было найдено, что при молярном соотношении фосфинит: параформ:глицин:гидрохлорид глицина 1:1:1:0.5 реакция приводит к образованию смеси продуктов моно- и бисфосфорилметилирования с преобладанием последнего - 78% по данным ЯМР $^{31}\text{P}\{-^1\text{H}\}$.

Опираясь на полученные экспериментальные данные, мы успешно осуществили синтез аминфосфиноксидов **II** и **III** в системах диоктилфосфинистая



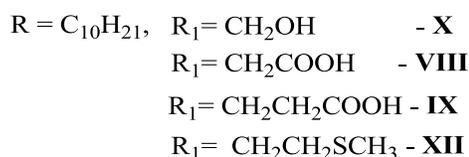
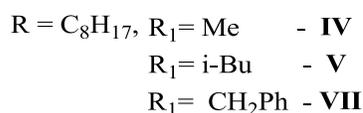
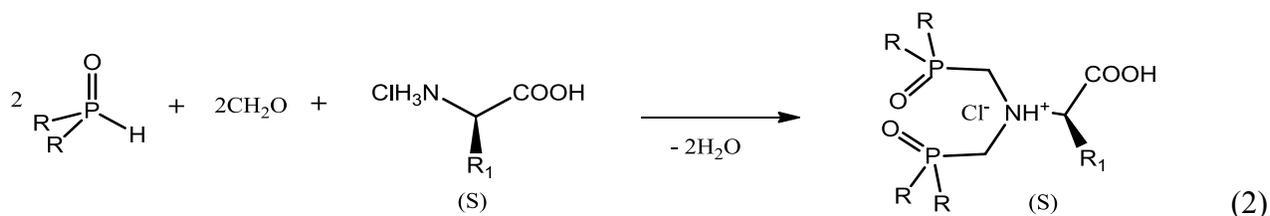
кислота-параформ-β-аланин и дидецилфосфинистая кислота-параформ-N,N-иминодиуксусная кислота с соотношением 2:2:1 и 1:1:1, соответственно, в присутствии гидрохлоридов выбранных аминокислот в количестве 50 мол. %.

Соединение **II** было выделено в виде желтоватого аморфного вещества, которое было дважды перекристаллизовано из ацетона; выход после очистки составил 86%. Аминфосфиноксид **III** был выделен в виде желтого масла и был очищен перекристаллизацией его динатревой соли из этилацетата. Выход соединения **III** после перевода его из динатриевой соли в основную форму с помощью соляной кислоты составил 81%.

Структура полученных соединений подтверждена методами ЯМР ^1H , $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ и масс-спектрометрии. Спектры ЯМР ^1H соединений **I** и **III** отличаются лишь соотношением интенсивностей сигналов метиленовых протонов аминфосфиноксидного и аминуксусного фрагментов. В спектре ЯМР ^1H кислоты **II** сигналы протонов октильных заместителей регистрируются в области от 0.8 до 1.9 м.д. Сигналы атомов углерода октильных заместителей в спектре ЯМР $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ проявляются в диапазоне от 14.1 до 31.8 м.д. Сигнал метиленовых протонов PCH_2N представляет собой дублет при 3.03 м.д. с КССВ спектре 4 Гц, а в углеродном спектре - дублет атома углерода при 53.72 м.д. с КССВ 79 Гц. Метиленовая группа аминпропионового фрагмента, связанная с атомом азотом, дает в спектре ЯМР ^1H триплетный сигнал с химическим сдвигом 2.53 м.д. и с $^3J_{\text{NH}}=8$ Гц. Та же группа, связанная с карбоксильным углеродом, проявляется в виде триплета при 3.15 м.д. и аналогичной КССВ; в спектре ЯМР $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ эти группы характеризуются синглетами 31.64 и 54.37 м.д. соответственно.

С целью получения переносчиков с различающейся стерической загруженностью α -углеродного атома мы применили разработанную нами методику четырехкомпонентной реакции Кабачника-Филдса для введения фосфиноксидного фрагмента в структуру (S)- α -аланина и (S)-лейцина, однако в этих случаях происходит образование хроматографически неразделяемой смеси продуктов.

Проведение реакции в аналогичной системе с участием (S)-аланина в присутствии цеолитов с размером пор 4Å, привело исключительно к образованию α -гидроксидиоктилфосфиноксида.



Для оптимизации условий синтеза N-фосфорилметилованных аминокислот мы осуществили взаимодействие диоктилфосфинита, параформа и гидрохлоридов (S)- α -аланина и (S)-лейцина в кипящем ацетонитриле (схема 2). Реакции проходят в течение 3 часов с образованием гидрохлоридов соединений **IV** и **V**, о чем свидетельствует проявление в спектрах ЯМР ³¹P-¹H} реакционных смесей сигналов в области 63.25 и 57.47 м.д. В обоих спектрах обнаруживаются также сигналы слабой интенсивности несвязанных в гидрохлорид бисаминофосфиноксидов при 49.1 и 49.03 м.д., соответственно.

При использовании этого же подхода были успешно получены аминоксифосфиноксиды из (S)-валина, (S)- β -фенил- α -аланина, (S)-аспарагиновой кислоты, (S)-глутаминовой кислоты, (S)-метионина, (S)-серина, (S)-треонина, (S)-пролина и простейшего дипептида - глицилглицина. Реакцию с использованием гидрохлорида (S)-пролина, содержащего вторичный атом азота, проводили с эквимолярным соотношением реагентов. Синтезированные α -аминофосфиноксиды были выделены в чистом виде при использовании препаративной флеш-хроматографии на сухой колонке при использовании в качестве неподвижной фазы силикагеля с малым размером частиц (5-40 мкм) и градиентного элюирования. Некоторые свойства полученных N-фосфорилметилованных аминокислот представлены в таблице 1.

В спектрах ЯМР ³¹P-¹H} реакционных смесей всех N-фосфорилметилованных аминокислот, кроме (S)-валина и (S)-треонина, регистрировались сигналы в области 49-50 м.д. и 59-61 м.д. Сигналы атома фосфора производных (S)-валина и (S)-треонина смещены в область 65-66 м.д. Анализ интенсивностей сигналов метиленовых протонов RCH₂N, проявляющихся в области 3.20 м.д., и сигналов метиленового протона NCHCOO, регистрируемых при 3.52 м.д. для **VI** и 3.83 для **XI** в спектрах ЯМР ¹H, которые соотносятся как 2:1, а также наличие в масс-

спектрах пиков катионов с m/z 426.3111 и 484.3535 Да свидетельствует о том, что реакции с этими аминокислотами приводят к введению лишь одного фосфиноксидного фрагмента. Наблюдаемый в этих реакционных системах характер замещения метилефосфорильными группами у атома азота, очевидно, вызван стерическим влиянием изопропильной и α -гидроксиэтильной групп у α -атома углерода аминокислоты, которые заслоняют атом азота и препятствуют введению второго фосфиноксидного фрагмента.

Таблица 1. Свойства N-фосфорилметилированных аминокислот

№	Выход, %	$\delta(^{31}\text{P})^a$, м.д.	R_f^b	$T_{пл}$	№	Выход, %	$\delta(^{31}\text{P})$, м.д.	R_f	$T_{пл}$
I	84	49.1	0.48	масло	XI	93	52.9	0.21	масло
II	86	49.5	0.51	98	XII	90	48.9	0.55	масло
III	81	53.3	0.17	масло	XIII	94	53.2	0.32	масло
IV	92	49.2	0.54	масло	XIV	89	49.6	0.47	масло
V	95	49.0	0.56	масло.	XV	85	53.0	0.22	172
VI	94	48.8	0.24	масло	XVI	93	49.2	0.52	81
VII	87	49.3	0.52	105	XVII	92	53.3	0.29	масло
VIII	91	49.4	0.47	масло	XVIII	94	53.6	0.14	масло
IX	93	49.3	0.46	масло	XIX	90	52.5	0.12	масло
X	95	49.1	0.51	масло	XX	93	53.1	0.21	масло

^a – в CDCl_3 после очистки; ^b – элюент ацетон-гексан 4:6.

Спектры ЯМР полученных оптически активных N-фосфорилметилированных аминокислот имеют сложный вид вследствие отсутствия у молекул, в отличие от соединений **I-III**, **XIV**, **XVI** и **XIX** C_2 -симметрии. По этой причине, как фосфорилметильные группы, так и заместители у атома фосфора диастереотопны между собой, и метиленовые протоны октильных и децильных заместителей в спектрах ЯМР ^1H проявляются в виде четырех групп мультиплетов при 1.8 м.д. (CH_2P), 1.7 м.д. ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 1.5 м.д. ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$), 1.35 м.д. ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{P}$) (рис. 1); остальным метиленовым протонам соответствует сигнал 1.28 м.д., а протонам метильных групп триплет при 0.89 м.д. с $^3J_{\text{HH}}=4$ Гц. Метиновые или метиленовые протоны, находящиеся между карбоксильной и аминогруппой, проявляются в области 4.1 м.д. в виде синглетов (соединения **I**, **III**, **XIV**, **XIX**), дублета (**VI**), триплетов (**V**, **VII**, **VIII**, **IX**, **X**, **XII**, **XVIII**, **XX**) или квадруплетов (**IV**, **XV**, **XVII**) с $^3J_{\text{HH}} 8$ Гц. Хиральность атома углерода в аминокислотном фрагменте приводит к диастереотопности геминальных протонов метиленовой группы аминфосфиноксидного остова в соединениях (**IV-XIII**, **XV**, **XVII**, **XVIII**, **XX**). Образованная этими протонами и фосфором АВХ система проявляется в спектрах в виде дублета дублетов с КССВ $^2J_{\text{HH}}=12$ и $^2J_{\text{HP}}=4$ Гц.

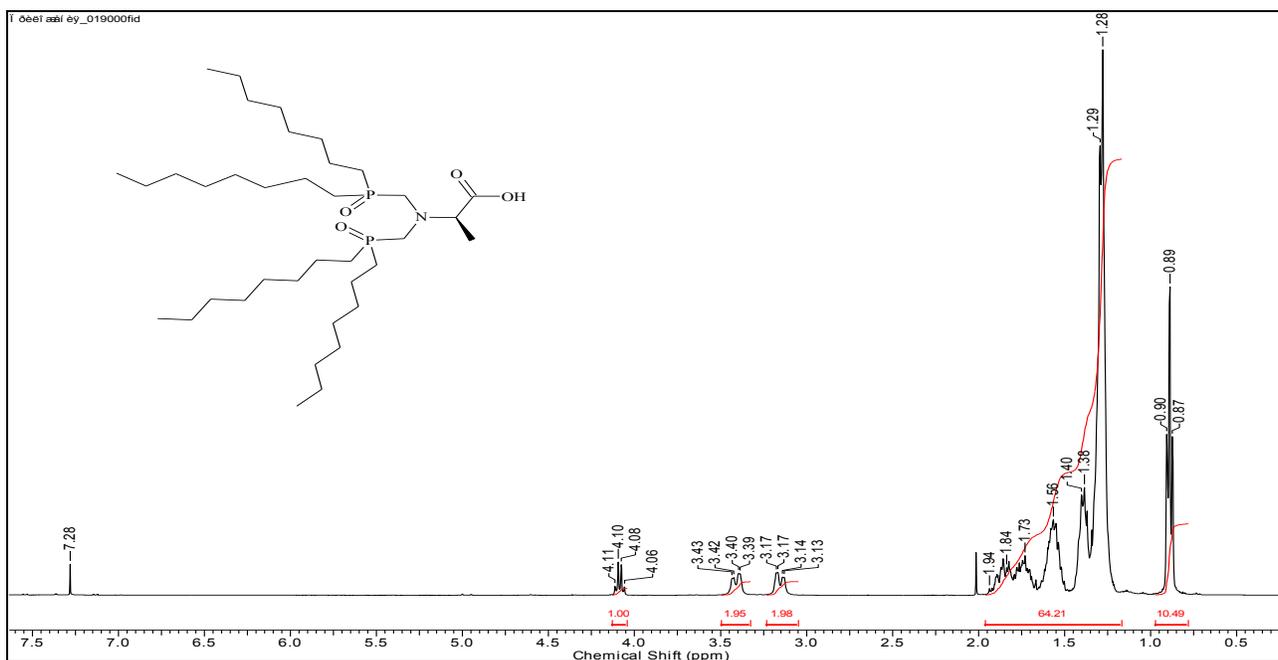


Рис. 1. Спектр ЯМР ^1H соединения IV (CDCl_3 , 400 МГц)

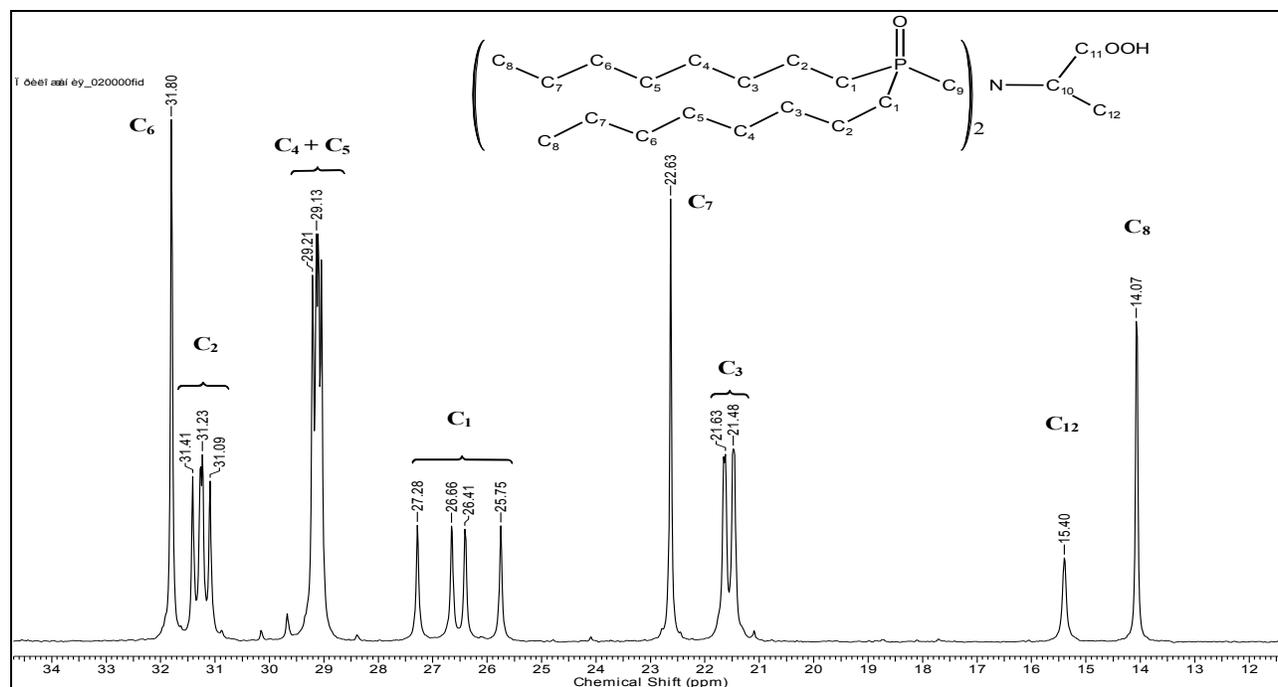


Рис. 2. Фрагмент спектра ЯМР ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ соединения IV (CDCl_3 , 100МГц)

В спектрах ЯМР ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ проявляются отдельные сигналы всех ядер углерода заместителей у атома фосфора в области от 14 до 32 м.д. (рис. 2). Поскольку, в соединениях с хиральным атомом углерода IV-XIII, XV, XVII, XVIII, XX, октильные и децильные заместители магнитно неэквивалентны, сигналы трех наиболее приближенных к фосфору ядер углерода углеводородных заместителей проявляются в виде двух отдельных дублетов с убывающей разницей в химических сдвигах. Постепенное слияние сигналов вплоть до того, что остальные

ядра проявляются в виде синглетов, вероятно, связано с увеличением легкости их конформационных взаимопревращений.

Теоретически, реализованные условия синтеза не могли способствовать рацемизации ни исходных аминокислот, ни аминокислотных фрагментов в структуре полученных АФС. Тем не менее, для проверки оптической чистоты были проанализированы спектры ЯМР ^{31}P и ^1H диастереомерной соли соединения **IV** с (R)- α -метилбензиламином. В спектрах ЯМР ^{31}P обнаруживается лишь один сигнал при 48.52 м.д.; в спектре ЯМР ^1H этого же образца при 0.87 м.д. проявляется триплет метильных протонов, в области 1.25-1.86 м.д. - четыре группы мультиплетов метиленовых протонов октильных групп при 3.15 и 3.41 м.д. и два дублета дублетов метиленовых протонов аминфосфиноксидного остова. Сигнал метинового протона (S)-N,N-бис[(диоктилфосфорил)метил]-2-аминопропаноата при 4.09 м.д., метинового протона при 3.91 м.д. и трех групп мультиплетов ароматических протонов (R)- α -метилбензиламмония в области 7.27-7.63 м.д. симметричны, без уширения, что позволяет сделать вывод о конфигурационной однородности полученного соединения.

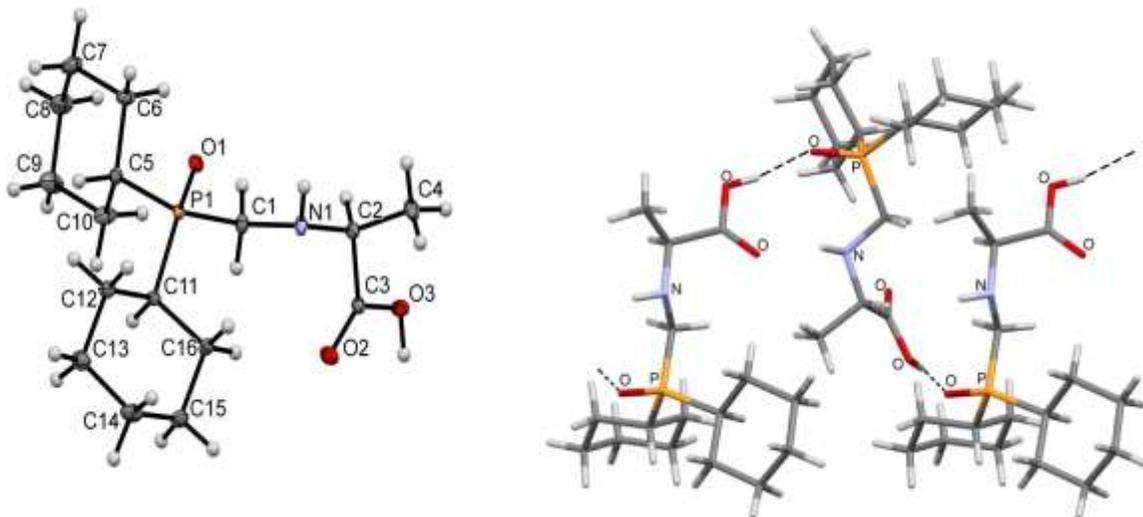


Рис. 3 Молекулярная структура соединения **VI** и геометрия его молекулярного ансамбля полученная по результатам РСА

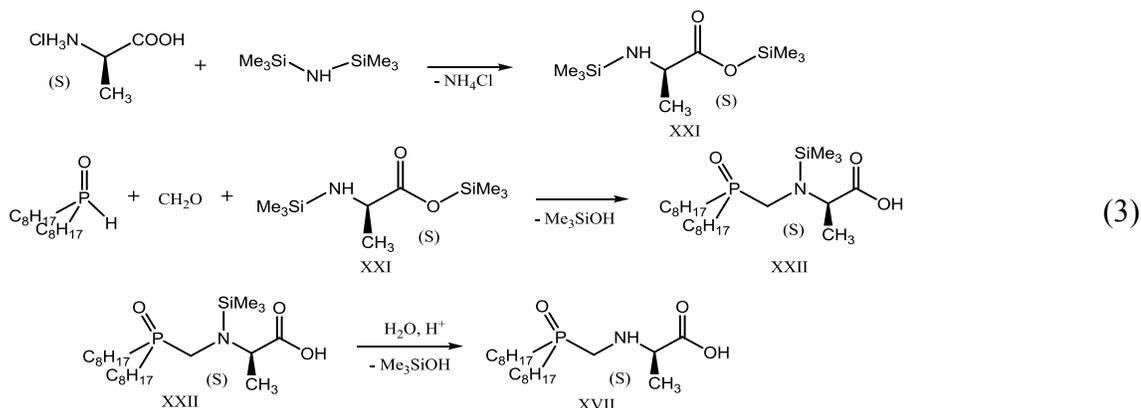
С целью получения кристаллических веществ, подходящих для рентгеноструктурного анализа, мы осуществили взаимодействие дициклогексилфосфинистой кислоты с параформом и гидрохлоридом (S)- α -аланина, которое привела к единственному продукту - соединению **XV**, выделенному из реакционной массы в виде белого кристаллического вещества ($T_{\text{пл}}$ 172 °С), геометрия молекулы и кристаллическая решетка которого была установлена методом рентгеноструктурного анализа. Образование продукта монозамещения, как и в случае соединения **VI**, связано со стерическими препятствиями, на этот раз – со стороны объемных циклогексильных заместителей фосфиноксидного фрагмента.

В кристалле молекулы соединения (**XV**) образуют межмолекулярные водородные связи между карбоксильной и фосфорильной группами с параметрами O...O 2.589(1), O-H 0.85(2) Å и

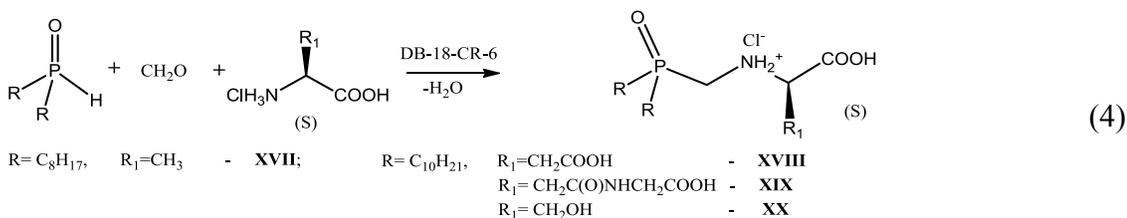
$\angle\text{O}-\text{H}\dots\text{O}$ 169.3(1)°, формируя одномерные цепочки вдоль кристаллографической оси *b* (рис. 16). Кроме того, в кристалле наблюдаются очень слабые взаимодействия N-H...O – расстояние N...O на 0.1 Å больше суммы Ван-дер-Ваальсовых радиусов азота и кислорода.

С целью анализа молекулярной структуры методом РСА N-фосфорилметилованной аминокислоты с ациклическими заместителями у атома фосфора по схеме 2 был осуществлен синтез соединения **XVI**, который выделен в виде белого аморфного вещества. Из его раствора в ацетоне через несколько месяцев удалось выделить хорошо сформированные кристаллы, однако расшифровка рентгеноструктурных данных для этих кристаллов, оказалась невозможной вследствие их разупорядоченности их структуры.

Еще одним из способов получения аминокислот с одним фосфиноксидным фрагментом был нами реализован с использованием триметилсилильного производного (S)- α -аланина. Триметилсилиловый эфир N-триметилсиллил-(S)- α -аланина (**XXI**), полученный кипячением в бензоле гидрохлорида (S)- α -аланина с избытком гексаметилдисилазана, взаимодействием с эквимолярными количествами диоктилфосфинита и параформа был превращен в соединение **XXII** (схема 3), выделенное из раствора в виде белого аморфного вещества. Триметилсилильная группа была легко удалена от атома азота экстракцией бензольного раствора продукта **XXII** разбавленной соляной кислотой, что позволило выделить целевой α -аминофосфиноксид **XVII**.



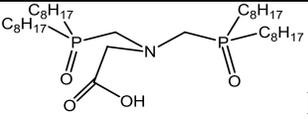
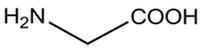
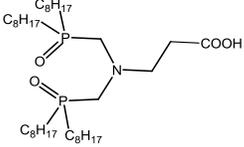
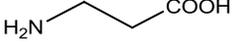
Нами был найден еще один вполне удобный вариант синтеза монофосфорилированных аминокислот, основанный на трехкомпонентном взаимодействии диоктилфосфинистой кислоты, параформа и гидрохлорида (S)- α -аланина в бензоле в присутствии 5 мол % дибензо-18-краун-6 (схема 4), которое после нагревания в течение 6 часов приводило к полному завершению реакции. Разработанный нами подход был применен для получения в аналогичных условиях соответствующих N-фосфорилметилованных производных (S)-аланина (**XVII**), (S)-аспарагиновой кислоты (**XVIII**), глицилглицина (**XIX**) и (S)-серина (**XX**).



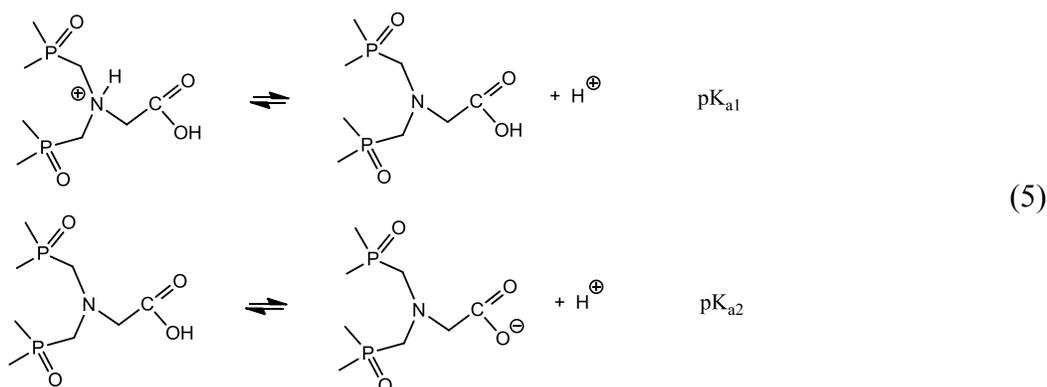
2.3 Константы ионизации некоторых N-фосфорилметилированных аминокислот

Понимание механизмов экстракции и установление взаимосвязи между структурой и мембранно-транспортными свойствами переносчиков невозможно без оценки констант ионизации координационных центров, участвующих в протолитическом равновесии. Исходя из этого, для соединений **I** и **II**, а также для их прекурсоров, нами были определены константы диссоциации сопряженной кислоты методом потенциометрического титрования раствором соляной кислоты в среде 50% водного раствора пропан-2-ола. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Константы ионизации соединений **I** и **II**

Соединение	pK_{BH^+}	Соединение	pK_{BH^+}
 I	$pK_{a1} < 2$ $pK_{a2} 5.02$		$pK_{a1} 2.34$ $pK_{a2} 9.58$
 II	$pK_{a1} < 2$ $pK_{a2} 5.42$		$pK_{a1} 3.60$ $pK_{a2} 10.19$

Диссоциация протонированных форм изученных нами соединений протекает в соответствии со схемой 5.



Представленные в таблице 2 результаты свидетельствуют о том, что pK_{a1} , соответствующие диссоциации аммониевого протона, находятся ниже пределов экспериментального определения (< 2), что связано с высокой кислотностью аммониевого центра вследствие сильного акцепторного влияния двух геминальных метиленфосфорильных групп. Подобное явление нами ранее наблюдалось для дифосфорилированных аминов, в которых величина pK_a находится ниже диапазона потенциометрического определения кислотно-основных свойств и составляет по оценкам авторов около 1.8. Сопоставляя между собой полученные значения кислотной диссоциации фосфорилированных и нефосфорилированных аминокислот, можно прийти к заключению, что введение к атому азота акцепторных метиленфосфорильных группировок в большей мере сказывается на основности близко расположенного аминного центра, нежели на кислотности карбоксильного фрагмента. Значительное понижение основности и кислотности позволяет полагать, что в отличие от природных аминокислот, бифосфорилированные аминокислоты в свободном состоянии находятся в неионной форме.

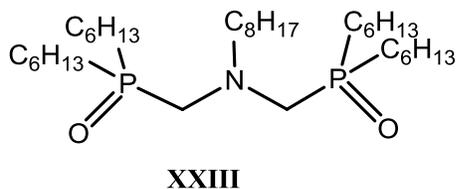
2.4 Мембранная экстракция органических кислот N-фосфорилметилированными аминокислотами

Экстракция жидкими мембранами является весьма эффективным методом концентрирования и разделения органических и неорганических субстратов, привлекательным своей высокой селективностью и большими степенями извлечения целевых соединений из сильно разбавленных растворов, а также возможностью реализации процесса в проточном режиме. Развитие метода мембранной экстракции главным образом определяется совершенствованием технологического исполнения, подборкой оптимальных условий экстракции-реэкстракции и поиском эффективных мембранных переносчиков. Поскольку эффективность трансмембранного переноса прямым образом обусловлена устойчивостью и свойствами образующихся в мембранной фазе комплексов, для дизайна селективных к определенным субстратам переносчиков важным является изучение влияния структурных факторов на характеристики массопереноса.

Используя синтезированные липофильные фосфорилированные аминокислотные переносчики, мы изучили процессы трансмембранного переноса ряда полифункциональных кислых субстратов - щавелевой кислоты и серии структурно похожих гидроксикислот, отличающихся друг от друга наличием «дополнительных» гидроксидных или карбоксильных групп, - гликолевой, глутаровой, лимонной, (S)-яблочной, (S,S)-винной, (R,R)-винной, (S)-глутаминовой и (S)-аспарагиновой кислот - через жидкие липофильные поддерживаемые мембраны, импрегнированные 0.1 М растворами аминокислотных переносчиков. Чтобы исключить сольватационные эффекты и испарение, в качестве мембранного растворителя в большинстве случаев использовали неполярный додекан. Для соединений (II, III, VI, VIII, XIII, XIX) вследствие их невысокой растворимости в додекане потребовалось применение смеси додекана и 1,2-дихлорбензола в соотношении 4:1. Для полноценного заполнения пор полимерной матрицы мембранной фазой, пропитку мембран осуществляли в вакууме водоструйного насоса (при 15-20 мм. рт. ст.) при нагревании раствора переносчика до 50°C.

Концентрация всех субстратов в отдающей фазе кроме (S)-аспарагиновой кислоты составляла 0.1 моль/л. Аспарагиновая кислота использовалась в виде 0.35М раствора ввиду ее плохой растворимости в воде. В качестве принимающей фазы использовалась бидистиллированная вода. Такие условия проведения мембранной экстракции предполагает реализацию пассивного транспорта, обусловленного градиентом концентрации.

Для сравнения мембранно-транспортных свойств полученных N-фосфорилметилированных аминокислот со свойствами α -аминофосфиноксидов мы также измерили потоки данных субстратов для соединения XXIII, который согласно данным, полученным в нашей лаборатории,



продемонстрировал исключительно высокую эффективность и селективность в процессах мембранной экстракции как кислых субстратов, так и трехзарядных ионов редких и рассеянных металлов.

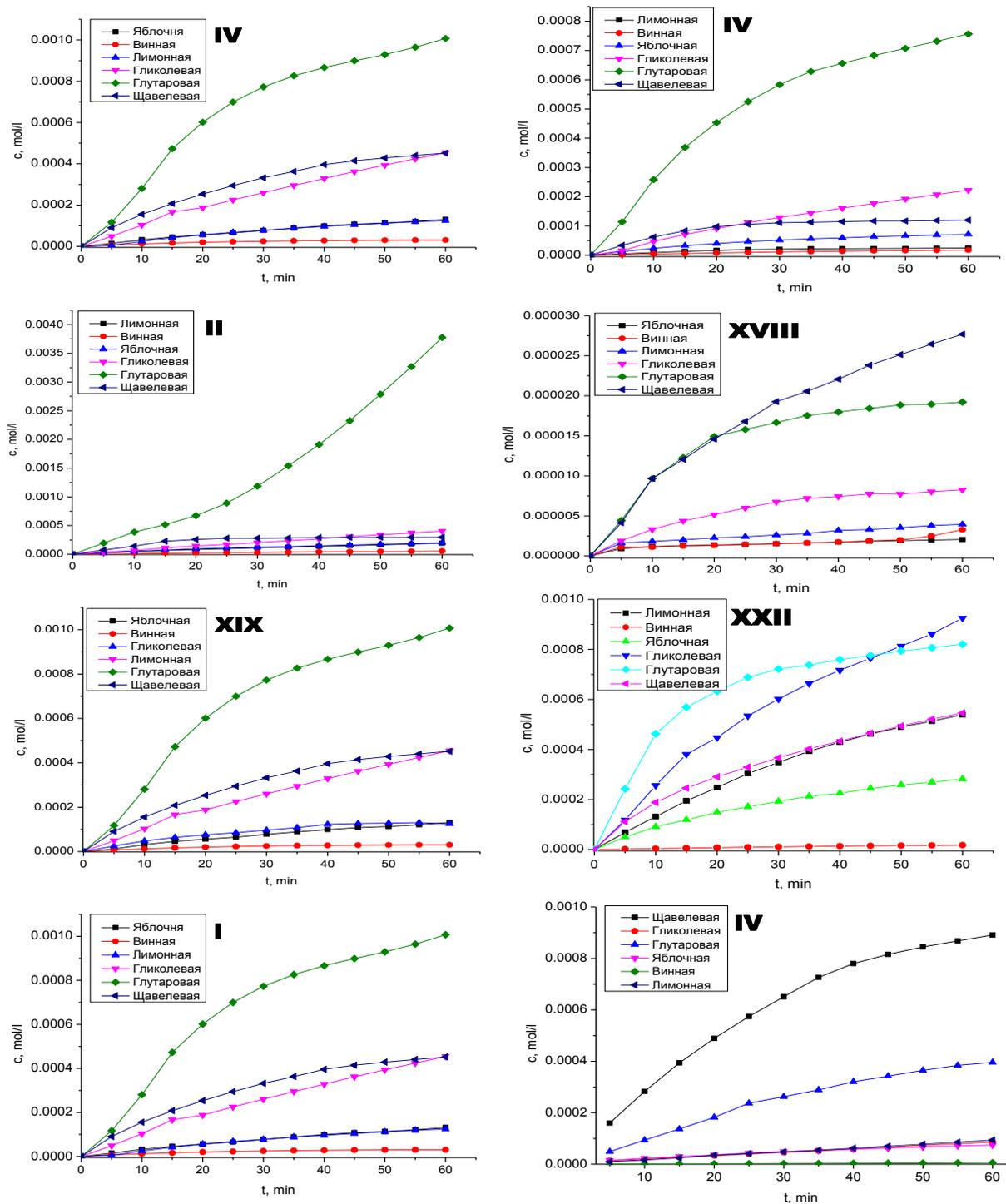


Рис. 4. Кинетические кривые экстракции щавелевой гликолевой, лимонной, яблочной, винной и глутаровой кислот N-фосфорилметилованными переносчиками I, II, IV, VI, X, XVIII, XIX, XXIII

Изменение концентрации субстратов в принимающей фазе регистрировалась кондуктометрически в течение 60 мин. Для каждой пары переносчик-субстрат проводили по три эксперимента. Полученные в результате пересчета от электропроводности к концентрации и усреднения кинетические кривые экстракции для N-фосфорилметилованных аминокислот **I, II, IV, VI, X, XVIII, XIX, XXIII** приведены на рис. 4.

Таблица 3. Трансмембранные потоки щавелевой, гликолевой, (S)-глутаминовой и (S)-аспарагиновой кислот индуцированные N-фосфорилметилованными аминокислотами

Переносчик	Поток ($\cdot 10^6$), моль/(мин \times м 2)			
	Щавелевая кислота	Гликолевая кислота	(S)-глутаминовая кислота	(S)-аспарагиновая кислота
IV	321 \pm 9	69.5 \pm 0.6	<1	<1
XVII	227 \pm 7	48.6 \pm 0.9	<1	<1
X	286 \pm 13	15.4 \pm 1.4	<1	<1
VI	185 \pm 23	20.5 \pm 1.7	<1	<1
II	510 \pm 21	34.3 \pm 1.1	<1	1.5 \pm 0.6
III	6.6 \pm 0.4	< 1	<1	<1
XVIII	10.2 \pm 1.0	1.5 \pm 0.6	<1	<1
VIII	38.9 \pm 1.7	5.5 \pm 1.2	<1	<1
I	418 \pm 8	77.3 \pm 1.8	<1	0.9 \pm 0.3
XIX	225 \pm 5	84.2 \pm 3.1	<1	<1
XXIII	209.7 \pm 8.72	37.7 \pm 3.8	<1	<1

Таблица 4. Трансмембранные потоки глутаровой, (S)-яблочной, (R,R)- и (S,S)-винных и лимонной кислот индуцированные N-фосфорилметилованными аминокислотами

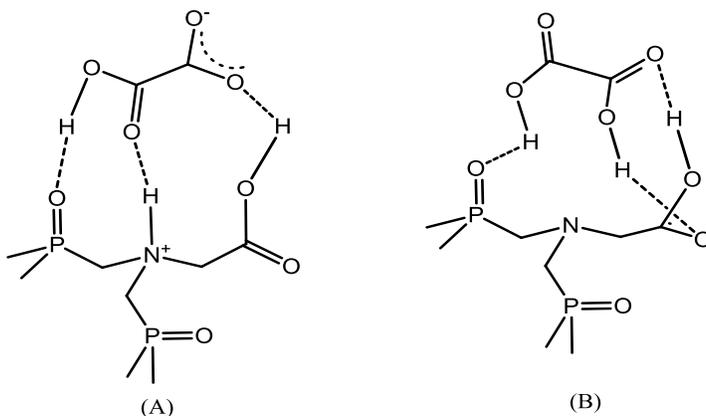
Переносчик	Поток ($\cdot 10^6$), моль/(мин \times м 2)				
	Глутаровая кислота	(S)-яблочная кислота	(R,R)-винная кислота	(S,S)-винная кислота	Лимонная кислота
IV	228 \pm 13	33.5 \pm 3.4	5.2 \pm 0.7	7.0 \pm 0.5	69.4 \pm 1.9
XVII	172 \pm 8	18.7 \pm 1.8	2.4 \pm 0.5	2.7 \pm 0.4	4.6 \pm 0.6
X	147 \pm 15	17.8 \pm 2.1	1.1 \pm 0.3	1.6 \pm 0.5	20.3 \pm 1.9
VI	116 \pm 10	9.7 \pm 0.8	1.5 \pm 0.6	1.3 \pm 0.4	2.7 \pm 0.5
II	1870 \pm 38	53.7 \pm 1.8	13.5 \pm 0.9	14.0 \pm 1.0	57.3 \pm 3.4
III	< 1	<1	<1	<1	< 1
XVIII	8 \pm 1	<1	<1	<1	< 1
VIII	21.5 \pm 2.1	<1	<1	<1	< 1
I	287 \pm 11	41.2 \pm 2.3	8.9 \pm 0.5	9.1 \pm 0.7	72.6 \pm 2.6
XIX	443 \pm 15	42.4 \pm 2.6	4.0 \pm 0.8	3.7 \pm 0.7	38.0 \pm 2.1
XXIII	112.3 \pm 17.4	825.0 \pm 80.4	4.9 \pm 2.4	-	238.0 \pm 22.4

На основании экспериментальных данных методом наименьших квадратов в программе VisualMNC 2006D рассчитывались уравнения регрессии, на основании которых вычисляли значения скоростей переноса (потоки) для каждой пары переносчик-субстрат. Для нелинейных зависимостей для расчета потоков использовали значения, соответствующие начальному линейному участку кривой, где обратный транспорт практически отсутствует. Усредненные значения скорости переноса приведены в таблицах 3 и 4.

Изучение мембранной экстракции N-фосфорилметилованными аминокислотами позволило обнаружить, что большинство из них весьма эффективно переносят щавелевую и глутаровую кислоты. В целом достаточно высокие потоки зарегистрированы для гликолевой, яблочной и лимонной кислот. Значительно хуже переносится оба диастереомера винной кислоты. Транспорт дикарбоновых аминокислот в выбранных условиях не регистрируется.

Учитывая, что скорость трансмембранного массопереноса зависит от множества факторов - устойчивости Н-комплексов, их гидрофильно-липофильного баланса, соотношения скоростей их образования и распада, и, принимая во внимание, что при связывании субстратов полифункциональными переносчиками по стерическим или электронно-зарядовым причинам способны участвовать не все центры координации, из получаемых экспериментальных результатов обычно не удается вывести простых взаимозависимостей между структурой переносчика (или переносимого комплекса) и величинами потоков переноса.

Тем не менее, в ряде случаев удается выявить некоторые тенденции изменения эффективности трансмембранного переноса при вариации структуры экстрагента. Так, при анализе результатов изучения транспорта щавелевой кислоты такого рода зависимости явно прослеживаются. Значительный трансмембранный перенос щавелевой кислоты вероятно обусловлен



тем, что достаточно сильная щавелевая кислота, как это происходит при ее взаимодействии с фосфилами, протонирует атом азота аминокислотной группы N-фосфорилметилованных аминокислот, при этом оксалат-ион вступает в водородное связывание с карбоксильной группой аминокислотного фрагмента. Вторая карбоксильная группа щавелевой кислоты вероятнее всего образует водородную связь с электродонорной фосфиноксидной группой (комплекс А). Однако нельзя исключить и возможность неучастия атома азота в водородном связывании по причине сильного снижения его основности вследствие акцепторного влияния двух электроотрицательных заместителей – метилфосфорильной и метилкарбоксильной групп. В таком случае перенос щавелевой кислоты осуществляется с участием комплекса В, в котором одна из карбоксильных групп субстрата связана с фосфорильным кислородом, а другая

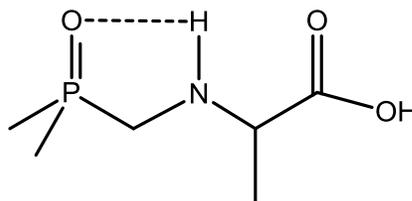
проявляет свойства и донора и акцептора протона, образуя диводородный комплекс с карбоксильной группой фосфорилированной аминокислоты.

Каждое из этих предположений не противоречит факту значительно меньшей скорости переноса гликолевой кислоты, в структуре которой вместо второй карбоксильной находится гидроксильная группа, склонная образовывать менее прочные водородные связи. Уменьшение потока в этом случае так же можно было бы связать со снижением кислотности субстрата при переходе от щавелевой к гликолевой кислоте. Однако величины потоков еще более слабой глутаровой кислоты ненамного отличаются от этой же характеристики скорости переноса щавелевой кислоты. Вместе с тем, вопрос о возможности образования комплексов переноса (А) или (В), а также и одновременно обоих типов требует специального изучения. К сожалению, не оказалось возможным изучить строение этих комплексов методами ЯМР вследствие их недостаточной растворимости в неполярных растворителях (CCl_4 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{CD}_3$). Изучение же строения в более полярных растворителях (CD_2Cl_2 , CDCl_3 , CD_3OD , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$), в которых оба компонента растворяются в количествах необходимых для регистрации ЯМР сигналов не являлось бы достоверным, поскольку такая смена полярности среды может сильно отразиться на строении комплексов мембранного переноса.

Наличие гидроксильной группы в структуре субстрата обеспечивает более слабый транспорт (S)-яблочной кислоты в отличие от глутаровой, в которой эта функциональная группа отсутствует. По-видимому, основные центры переносчиков наиболее предпочтительно связывают кислую карбоксильную группу, в то время как неассоциированная с переносчиком гидроксильная группа вступает в водородное связывание с молекулами воды в отдающей фазе, понижая тем самым липофильность образуемого комплекса и усложняя его переход в жидкую мембрану. Эти же причины, скорее всего, обуславливают слабый перенос диастереомеров винной кислоты, содержащих две карбоксильные группы.

Те же самые факторы, по-видимому, ответственны за относительно низкие величины массопереноса, которые демонстрируют переносчики (III, VIII, XVIII): наличие двух карбоксильных групп в структуре этих экстрагентов снижает их липофильность, что затрудняет диффузию образуемых ими комплексов в процессе мембранного переноса с их участием.

Сравнивая потоки переноса моно- (XVII, XVIII) и бисфосфорилметилированных аминокислот (IV, VIII), можно заметить, что эффективность переноса последними значительно выше, нежели их монофосфорилированными аналогами. Поскольку, по стерическим причинам одновременно обе фосфорильные группы не могут принимать участие в связывании субстратов, вероятной причиной наблюдаемого различия является образование внутримолекулярной водородной связи фосфиноксидной группы с протоном вторичной аминогруппы, которая осложняет образование комплекса переносчик-субстрат.



Существенное влияние на мембранно-транспортные свойства оказывает заместитель у α -атома углерода аминокислотного фрагмента. Сопоставляя характеристики мембранного переноса парами соединений **I** и **IV**, а также **VI** и **XVII**, можно заметить уменьшение скорости транспорта при введении в указанную позицию аминокислотного остова «дополнительной» метильной группы.

Лучший перенос, среди изученных объектов, зарегистрирован для соединения **II**, который для большинства субстратов почти в два раза выше, чем для его изомера **IV**. Поскольку основность обсуждаемых соединений, как мы показали выше, отличается незначительно, то это связано с тем, что расположение аминогруппы в β -положении пространственно более благоприятно для взаимодействия с субстратами. Рекордная величина потока глутаровой кислоты свидетельствует о комплементарности молекул переносчика (**II**) к молекулам данного субстрата.

Используя полученные данные, мы осуществили мембранную экстракцию эквимольной смеси глутаровой, щавелевой и яблочной кислот соединением **II** в аналогичных условиях в течение 3 часов. Содержание субстратов в принимающей фазе оценивали методом ВЭЖХ-МС. Усредненная кинетическая кривая, полученная из трех независимых экспериментов, представлена на рис. 5.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой степени извлечения глутаровой кислоты (31.3%) из выбранной модельной смеси, даже в условиях пассивного транспорта, тогда как степень извлечения щавелевой кислоты составляет 1.6%, а яблочной 1.7%. Применение такой экстракционной системы позволяет сконцентрировать глутаровую кислоту до существенных величин в один этап.

Представленные в настоящем исследовании результаты показывают перспективность использования липофильных аминокислотных переносчиков на основе природных аминокислот в процессах мембранной экстракции кислых субстратов - синтетических и природных, соответствуя при этом принципам «зеленой химии» и расширяя тем самым ассортимент экологически приемлемых экстрагентов природных хиральных субстратов.

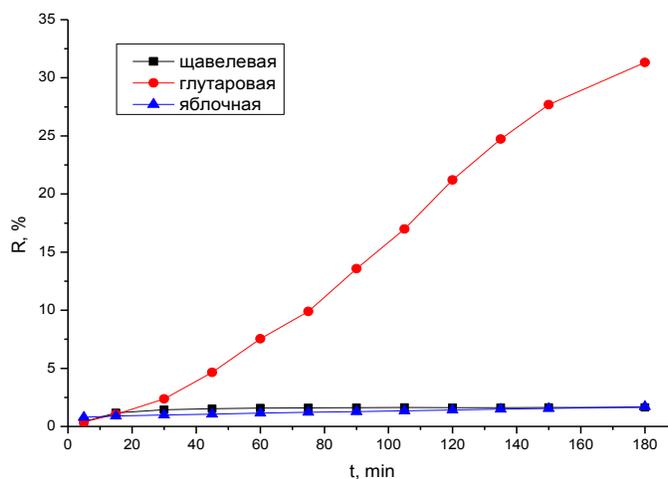


Рис. 5. Кинетическая кривая экстракции щавелевой, глутаровой и яблочной кислот из их смеси переносчиком **II**

Заключение

По результатам выполненных исследований можно сформулировать следующие выводы:

1. Разработан эффективный подход к синтезу липофильных N,N-бисфосфорилметилованных производных аминокислот на основе трехкомпонентной реакции Кабачника-Филдса в системе диалкилфосфинит с длинноцепочечными углеводородными заместителями у атома фосфора – параформ – гидрохлорид аминокислоты, проводимой в ацетонитриле. Обнаружено, что в отличие от глицина, (S)- α - и β -аланина, (S)-лейцина, (S)-серина, (S)-метионина, глицилглицина, (S)-аспарагиновой и (S)-глутаминовой кислот, взаимодействие с (S)-валином и (S)-треонином в выбранных условиях приводит к образованию их производных с одной метилфосфиноксидной группой.

2. Предложена и реализована методика селективного одностадийного введения одной метилфосфиноксидной группы в структуру аминокислот, основанная на проведение реакции Кабачника-Филдса между диалкилфосфинитом с длинноцепочечными углеводородными заместителями у атома фосфора, параформом и гидрохлоридами аминокислот в толуоле в присутствии эфира дибензо-18-краун-6.

3. Синтезированы 20 новых моно- и бисфосфорилметилованных производных природных аминокислот на основе: глицина, (S)- α - и β -аланина, (S)-валина, (S)-лейцина, (S)- β -фенил- α -аланина, (S)-серина, (S)-треонина, (S)-пролина, (S)-метионина, глицилглицина, (S)-глутаминовой и (S)-аспарагиновой кислоты, структуры которых установлены комплексом физических и физико-химических методов анализа – ЯМР ^{31}P , ^1H , ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и элементного анализа.

4. По данным рентгеноструктурных исследований кристалла 2-(S)-N-(дициклогексилфосфорил)метиламинопропановой кислоты, установлено, что в результате фосфорилирования природной аминокислоты происходит сохранение хирального центра субстрата; в кристалле обнаруживается межмолекулярная ассоциация за счет водородных связей между группами P=O и HOOC, а так же NH^+ и O=C.

5. Изучены кислотно-основные свойства N,N-бис(диоктилфосфорил)метилованных производных глицина и β -аланина. Сопоставлением констант диссоциации кислот, сопряженных соответствующим фосфорилметилованным и нефосфорилметилованным аминокислотам, показано, что величины кислотной диссоциации карбоксильной группы снижаются в бисфосфорилированных производных глицина на 2.7 порядка, β -аланина на 1.8 порядка по сравнению с аминокислотами-прекурсорами, а значения pK_{BH^+} аммониевого центра находится ниже пределов экспериментального определения (меньше 2). Показано, что изменения показателей кислотности природных аминокислот в результате фосфорилирования связано со значительным электроноакцепторным влиянием фосфорильной группы.

6. Определены скорости трансмембранного переноса щавелевой, гликолевой, глутаровой, (S)-яблочной, (R,R)- и (S,S)-винной, лимонной кислот через жидкие поддерживаемые мембраны

впервые синтезированными липофильными N-фосфорилметилированными аминокислотами в условиях пассивного транспорта. Обнаружено, что наибольшую эффективность полученные переносчики демонстрируют при извлечении щавелевой и глутаровой кислот. В среднем на порядок ниже потоки переноса гликолевой, (S)-яблочной и лимонной кислот. Мембранный транспорт винных кислот мало эффективен, а перенос глутаминовой и аспарагиновой кислот в выбранных условиях практически не обнаруживается.

7. Установлена высокая скорость переноса глутаровой кислоты через жидкие поддерживаемые мембраны N,N-бис[(диоктилфосфорил)метил]- β -аланином. Методом ВЭЖХ-МС показана способность селективного извлечения синтезированным переносчиком в условиях пассивного транспорта глутаровой кислоты из эквимолярной смеси со щавелевой и яблочной кислотами.

Основное содержание работы отражено в следующих публикациях

1. Cherkasov, R.A. Synthesis of α -aminophosphine oxides with chiral phosphorus and carbon atoms / R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov, S.A. Koshkin // Phosphorus, Sulfur, and Silicon – 2011. – V.186, Iss.4. – P.782-784.

2. Черкасов, Р. А. Синтез и кислотно-основные свойства аминоксфиноксидов на основе природных аминокислот / Р. А. Черкасов А. Р. Гарифзянов, С. А. Кошкин, Н. В. Давлетшина // Журнал общей химии – 2012. – Т. 82, Вып. 8. – С. 1392-1393.

3. Черкасов, Р.А. Синтез (S)-2-[(диоктилфосфорил)метиламино]пропионовой кислоты на основе триметилсилил 2-(триметилсилиламино)пропаноата / Р.А. Черкасов, А.Р. Гарифзянов, С.А. Кошкин // Журнал органической химии – 2013. – Т. 49, Вып. 4. – С. 639.

4. Кошкин, С.А. Синтез новых фосфорилметильных производных аминокислот и пространственная структура 2-[(S)-N-дициклогексилфосфорилметиламино]пропановой кислоты / С.А. Кошкин, А.Р. Гарифзянов, Н.В. Давлетшина, О.Н. Катаева, Д.Р. Исламов, Р.А. Черкасов, А.О. Колодяжная, О.И. Колодяжный, М.С. Валеева // Журнал органической химии – 2014. – Т. 50, Вып. 4. – С. 607-609.

5. Кошкин, С.А. Мембранный транспорт органических кислот N-метилфосфорилированными аминокислотами / С.А. Кошкин, А.Р. Гарифзянов, Н.В. Давлетшина, М.С. Валеева, Р.А. Черкасов // Журнал общей химии – 2014. – Т. 84, Вып. 11. – С. 1930-1931.

6. Koshkin, S.A. The synthesis and the membrane-transport properties N-methylphosphorylated amino acids / S.A. Koshkin, R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov // XXVIth International Chugaev Conference on Coordination Chemistry. – Kazan, 2014 – P.503.

7. Koshkin, S.A. The synthesis and the membrane – transport properties of the optically active α -aminophosphine oxide derived from the amino acids / S.A. Koshkin, R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov, N.V. Davletshina, M.S. Valeeva // International symposium dedicated to the 90th anniversary of academician Mark Vol'pin. – Moskow, 2013. – P.119.

8. Cherkasov, R.A. The synthesis and the membrane-transport properties of chiral aminophosphonates and aminophosphine oxides derived from natural amino acids / R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov, S.A. Koshkin, N.V. Davletshina, M.C. Valeeva, O.I. Kolodiazhnyi, I.O. Yaremchuk // International Conference on Topical Problems of Organometallic and Coordination Chemistry. – N.Novgorod, 2013. – P.17.

9. Cherkasov, R.A. The synthesis of functionalized aminophosphine oxides from amino acids / R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov, S.A. Koshkin // 19th International Conference on Phosphorus Chemistry. Book of Abstracts. – Rotterdam, 2012. – P.63.

10. Cherkasov, R.A. The liquid and membrane extraction of rare and trace metals by new bis(dialkylphosphinylmethyl)alkylamino extractants / R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov, S.V. Leont'eva, R.R. Davletshin, N.V. Kurnosova, S.A. Koshkin // 19th EuCheMS International Conference on Organometallic Chemistry. – Toulouse, 2011. – P.29.

11. Koshkin, S.A., Synthesis and membrane transport properties of optical active α -aminophosphine oxides / R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov, S.A. Koshkin // International Congress on organic Chemistry dedicated to the 150-th anniversary of Butlerov's Theory of Chemical Structure of Organic Compounds – Kazan, 2011. – P.92.

12. Cherkasov, R.A. The synthesis of N-methylphosphinylated amino acids via the three component Kabachnik-Fields reaction and their membrane-transport properties towards some organic acids / R.A. Cherkasov, S.A. Koshkin, A.R. Garifzyanov, N.V. Davletshina, M.S. Valeeva // The 20th international conference on phosphorus chemistry – Dublin, 2014. – P. 158.

13. Cherkasov, R.A. Synthesis of aminophosphine oxides with chiral phosphorus and carbon atoms / R.A. Cherkasov, A.R. Garifzyanov, S.A. Koshkin // 18th International Conference on Phosphorus Chemistry. Book of Abstracts. – Wroclaw, 2010. – P.87.

14. Кошкин, С.А. Синтез α -аминофосфиноксидов содержащих хиральные атомы фосфора и углерода / С.А. Кошкин, А.Р. Гарифзянов, Р.А. Черкасов // IX Научная конференция молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра Казанского государственного университета «Материалы и технологии XXI века» – Казань, 2009. – С. 52.