

УДК 542.95(075.5)+542.2

## Параллельная реакция Уги в студенческих практикумах Урала и Москвы

М. А. Миронов, Е. В. Бабаев

*МАКСИМ АНАТОЛЬЕВИЧ МИРОНОВ* — кандидат химических наук, доцент кафедры технологии органического синтеза Уральского государственного технического университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (УГТУ). Область научных интересов: органический синтез, комбинаторная химия, мультикомпонентные реакции.

*ЕВГЕНИЙ ВЕНИАМИНОВИЧ БАБАЕВ* — доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории органического синтеза Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: методология органического синтеза, химия гетероциклов.

620002 Екатеринбург, ул. Мира, д. 19, УГТУ, факс (343)375-41-35, E-mail mironov@mail.ustu.ru

119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, тел. (495)939-30-20, E-mail babaev@org.chem.msu.ru

В 2000—2001 гг. в Уральском государственном техническом университете Екатеринбурга был разработан лабораторный практикум «Комбинаторная химия» для студентов третьего курса специальности «Биотехнология». Цель практикума состояла в развитии практических навыков в области параллельного синтеза и закрепления материала, который дается на лекциях по комбинаторной химии. Учитывая начальный уровень подготовки студентов, необходимо было подобрать простой и наглядный пример, демонстрирующий особенности параллельной технологии синтеза органических соединений. Реакция Уги является идеальным решением, так как позволяет получать библиотеки соединений без сложного оборудования и труднодоступных реактивов. Реагенты были подобраны так, чтобы выпадали осадки, для их параллельного отделения была использована центрифуга. Необходимо отметить, что реакция Уги используется в ряде практикумов в зарубежных университетах (например в Мюнхенском техническом университете).

Практическая работа в УГТУ была рассчитана на четыре занятия: вводный семинар и три практических занятия. Для студентов четвертого курса предлагается расширенный практикум из пяти практических занятий, которые требуют более высокого уровня начальной подготовки. В первой части статьи дается набор методик и инструкций, которые помогут включить реакцию Уги в любой лабораторный практикум по комбинаторной химии.

Примерно в те же годы начал работу спецпрактикум по комбинаторной химии в МГУ им. М.В. Ломоносова

для студентов-пятикурсников. Московская группа первоначально экспериментировала с учебными задачами по твердофазному синтезу [1, 2], а в качестве задачи по параллельному жидкофазному синтезу студентам предлагалась реакция восстановительного аминирования [3]. После появления в МГУ аппаратуры для параллельного фильтрования возник вопрос о подборе наглядной учебной задачи. После личной встречи руководителей практикумов (соавторов данной статьи) и обмена опытом московская группа предприняла попытку адаптировать уральскую методику для использования на аппарате SynCore. В этой работе в разное время принимали участие И. Длинных, Е. Белых, В. Алифанов. Во второй части публикации приведены итоги этого опыта. На наш взгляд, подобное сотрудничество может представлять интерес для других вузов страны.

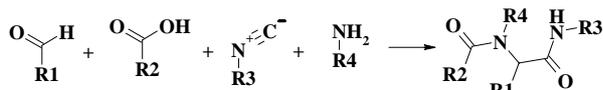
### Начальные сведения о реакции Уги

Перед началом практических занятий полезно провести семинар, посвященный методологии параллельного синтеза и использованию мультикомпонентных реакций (МКР). Мультикомпонентными называются реакции, проходящие при непосредственном смешении трех и более исходных реагентов, причем конечная структура должна включать фрагменты всех исходных компонентов.

Существуют различные классификации МКР, которые основаны на особенностях их механизма [4]. Главным преимуществом этого типа реакций является возможность получения огромного числа производных в одну стадию из простых и доступных исходных соеди-

нений. Необходимо отметить, что мультикомпонентные реакции широко используются для решения самых разнообразных практических задач, для поиска новых биологически активных соединений, катализаторов, новых материалов и т.д. Одной из самых популярных реакций этого типа является четырехкомпонентная конденсация Уги, открытая в 1960 г.

Реакция заключается во взаимодействии изоцианидов, карбонильных соединений, аминов и органических/неорганических кислот.



Конденсация Уги отличается огромным количеством доступных производных ( $10^4$ ), большой пластичностью (в настоящее время известно несколько десятков ее вариантов, открывающих доступ к скаффолдам (структурным основам) различного строения) и мягкими условиями проведения (комнатная температура), что идеально подходит для автоматического синтеза. Все эти преимущества привлекли внимание исследователей, работающих в области комбинаторной химии, а также фармацевтических компаний, ведущих поиск новых биологически активных веществ. В настоящее время опубликован обширный материал по самой реакции и практически полезным соединениям, обнаруженным с ее помощью. Для подготовки к семинару рекомендуется использовать обзоры [5—7].

#### Опыт проведения реакции Уги в студенческом практикуме в УГТУ

В качестве учебной задачи для студенческого практикума используется один из самых простых вариантов реакции Уги — получение производных аминокислот смешением ароматического изоцианида, алифатических кетонов, бензиламинов и фталилглицина (схема 1).

Данный вариант был выбран не случайно, он позволяет провести практическую работу с минимальными подготовительными стадиями, обеспечивает прекрасную воспроизводимость результатов, не требует использования дорогих или опасных реактивов. Использование фталилглицина дает возможность получать труднорастворимые производные, которые легко кристаллизуются и могут быть выделены параллельными методами в течение одной лабораторной работы. В свою очередь ароматические изоцианиды с полярными группами обладают низкой летучестью и отличаются практически полным отсутствием характерного запаха. Бензиламины и алифатические кетоны, которые должны обеспечить разнообразие боковых заместителей, — доступные и относительно недорогие реагенты. Необходимо отме-

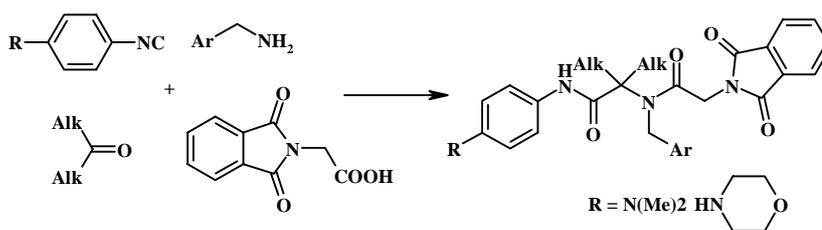


Схема 1

тить, что данный практикум разрабатывался для студентов-технологов, и не ставил целью дальнейшие испытания полученных соединений. Поэтому скаффолд, представленный на схеме 1, не имеет аналогов, проявивших биологическую активность. Для студентов других специальностей (например, медицинская химия) можно изменить целевое соединение, учитывая данные обзора [6]. При этом все методики, приведенные ниже, остаются без изменений.

*Практические навыки, получаемые при проведении работы.* В ходе работы студенты используют оборудование для параллельного синтеза: одно- и многоканальные микропипетки, платы для проведения реакций, шейкер. Если студенты ранее не встречались с этим оборудованием, необходимо провести небольшое вводное занятие. Полученные навыки могут быть использованы в отделах микроскейла фармацевтических и химических компаний, а также в любых аналитических лабораториях.

*Материалы и приборы.* Для проведения лабораторной работы необходимо подготовить следующий набор оборудования:

1. Пластиковые платы с отдельными тубами 8×12 (объем отдельной тубы 1 мл). В качестве примера можно привести платы Micronic или Falcon (рис. 1а). Ячеистые платы, используемые в аналитической химии, менее удобны.
2. Микропипетки фиксированного объема 50 или 100 мкл (как одноканальные, так и многоканальные, рис. 1б), а также набор наконечников к ним.

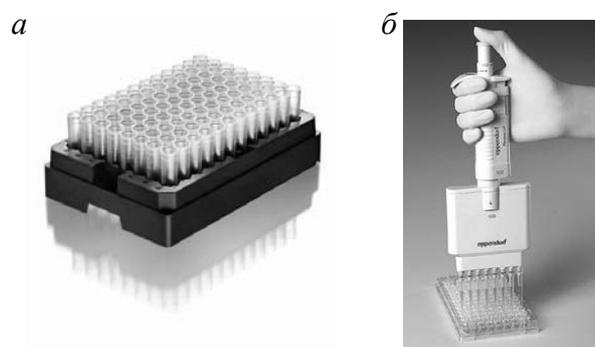


Рис. 1. Оборудование для проведения реакции Уги:

а — пластиковые платы с отдельными тубами; б — многоканальная пипетка

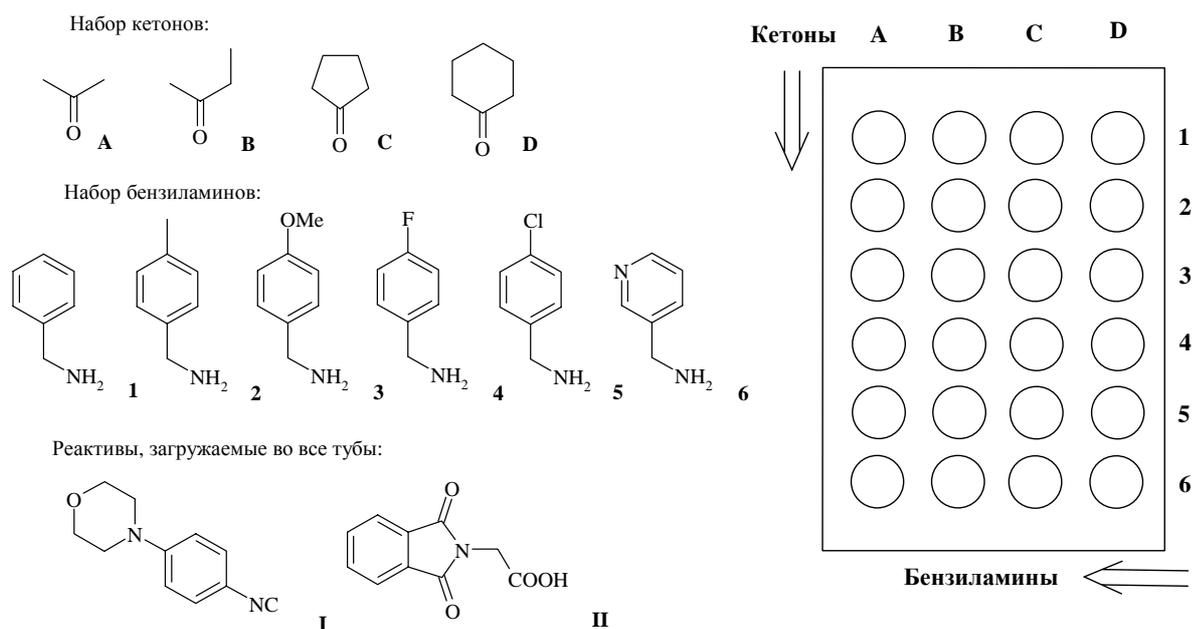


Схема 2.

3. Шейкер (может быть использована практически любая модель).

4. Лабораторная центрифуга с «swing-bucket» ротором. Центрифуги с угловым ротором менее удобны.

5. Набор для тонкослойной хроматографии или аналитический хроматограф.

6. Набор посуды для исходных растворов, весы и другое стандартное оборудование лабораторного практикума.

**Реактивы.** Для загрузки одной платы требуется около 500 мг каждого реагента или группы реагентов.

1. Фталилглицин получают сплавлением эквимольного количества фталевого ангидрида и глицина в фарфоровой чашке до образования однородной массы, затем кристаллизуют из смеси спирта с водой.  $T_{пл} = 198\text{ }^{\circ}\text{C}$  [8].

2. Изоцианид, например, 4-диметиламинофенилизотиоцианид получают по методике [9]. Суспензию 3,2 ммоль 4-диметиламинонитрозобензола в 40 мл этанола добавляют к раствору 3,2 ммоль 3-фенилизоксазол-5-она (может быть легко синтезирован из бензоилуксусного эфира и гидросиламина) в 20 мл этанола. Смесь нагревают на водяной бане 15 мин, охлаждают, осадок отфильтровывают. Полученное соединение нагревают в толуоле при  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  30 ч, отгоняют толуол, остаток возгоняют в вакууме при  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Общий выход 65—70%,  $T_{пл} 61\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Этот реактив можно заменить на другие ароматические изоцианиды: 4-морфолинилфенилизотиоцианид или 2,4-диметоксифенилизотиоцианид. Преимуществом данных

реактивов является высокая активность и отсутствие характерного запаха изоцианидов.

3. Набор замещенных бензиламинов (схема 2).

4. Набор кетонов (схема 2).

5. Метанол (если работа с метанолом не допускается, можно использовать смесь ацетонитрил/вода в соотношении 4:1).

#### Практическое выполнение работы

##### Занятие 1. Загрузка реактивов

Каждый студент или группа студентов получает распечатку базы данных, которая соответствует будущей библиотеке. Перед началом работы студенты должны написать уравнение реакций, приводящих к целевой структуре. На коллоквиуме, если он предшествует работе, можно подробно разобрать механизм реакции Уги. Затем студенты самостоятельно составляют таблицу загрузки исходных соединений, где изоцианид и кислота являются неизменяемыми, а бензиламины и кетоны — изменяемыми параметрами. При этом бензиламины получают цифровое, а кетоны — буквенное обозначение (схема 2, справа).

Следующим этапом является подготовка растворов исходных соединений. Концентрация всех растворов 1 ммоль/мл в метаноле. Всего получается 12 растворов: 1 изоцианида, 1 фталилглицина, 4 кетонов, 6 бензиламинов. Выбор кетонов и бензиламинов должен определяться возможностями каждой конкретной лаборатории. Наш опыт показывает, что практически любой набор позволяет получать производные аминокислот с хорошими выходами по приведенным ниже методикам. В

качестве рекомендации можно привести набор, представленный на схеме 2 слева.

Далее студенты приступают к загрузке всех исходных реагентов по 0,1 ммоль в платы с помощью микропитеток 100 мкл (50 мкл, если концентрация всех растворов 2 ммоль/мл). Загрузка производится строго в следующем порядке: 1) бензиламины, 2) кетоны, 3) изоцианид, 4) фталилглицин.

Необходимо отметить, что загружается только часть платы 4×6, причем загрузку лучше начинать от левого верхнего угла (туба А1). Все манипуляции с растворами должны проводиться под тягой. Если у студентов отсутствуют навыки обращения с микропитетками, рекомендуется провести практическое занятие перед тем, как приступать к загрузке реагентов. Полезно замерить время загрузки веществ с помощью многоканальных пипеток, чтобы оценить выигрыш времени по сравнению с традиционными методами.

После окончания загрузки платы закрывают, помещают в шейкер и перемешивают при комнатной температуре в течение 20 мин. Студенты должны визуально оценить эффективность перемешивания.

### Занятие 2. Выделение полученных продуктов

Все целевые соединения при правильной загрузке выпадают в осадок. В зависимости от конкретного набора реактивов, реакция полностью проходит за 4–6 ч. Поэтому второе практическое занятие рекомендуется проводить на следующий день. (Отметим, что длительное выдерживание образцов приводит к снижению выходов.)

Перед началом занятия необходимо провести инструктаж по работе с центрифугой, обсудить принципы ее работы.

Затем студенты готовят промывную жидкость — этанол/вода (3:1).



Рис. 2. Центрифуга с ротором для микроплат

Дальнейший ход работы зависит от типа центрифуги, наилучшим вариантом является центрифуга, снабженная специальным ротором для микроплат. Однако можно использовать практически любую модель, которая обеспечивает скорость вращения 3000–4000 об/мин (рис. 2). Влажные осадки в плате помещают в сушильный шкаф (< 50 °С) и выдерживают 5–6 ч.

### Занятие 3. Анализ полученных продуктов

При правильном проведении всех предыдущих операций чистота всех продуктов превышает 90%. Так как реакция во всех случаях протекает достаточно полно, выходы продуктов зависят, прежде всего, от их растворимости в промывной жидкости. Параллельная жидкофазная технология, представленная в этом примере, предусматривает одинаковые методики для выделения всех целевых соединений, что обеспечивает высокие скорости выделения, но не позволяет достигать максимальных выходов (см. табл. 1).

Таблица 1

Выходы целевых соединений (%), полученные группой студентов в 2004 г. (загрузка по схеме 2)

Кетоны	Бензиламины					
	1	2	3	4	5	6
А	49	48	41	55	62	46
В	54	67	60	65	73	51
С	76	81	66	68	77	58
Д	78	75	62	69	71	53

Студенты взвешивают осадки и определяют выходы целевых соединений, которые должны лежать в пределах 40–80%.

Затем студенты проводят анализ целевых соединений с помощью тонкослойной хроматографии (можно использовать аналитический хроматограф). Для ТСХ анализ образец каждого продукта растворяют в хлороформе, наносят на пластину и помещают в систему СНCl<sub>3</sub>/этанол (95:5). Хроматограммы наблюдают в лучах УФ лампы, записывают значение R<sub>f</sub>. Полноту протекания реакции оценивают по наличию или отсутствию пятна изоцианида. В качестве реперов могут быть использованы образцы, синтезированные предыдущей группой студентов. Более полный анализ примесей проводят с помощью ПМР спектроскопии (см. рис. 3, 4).

Как видно из табл. 1, более низкие выходы отмечаются для соединений, содержащих полярные группы, например 3-пиридинил или 4-метоксифенил. Проведенные исследования показывают, что часть целевого соединения удаляется вместе с промывной жидкостью. Соотношение вода/этанол в промывной жидкости влияет на выходы и чистоту получаемого соединения. При оптимизации задачи можно изменить это соотношение, для каждого ряда добиваясь максимального выхода.

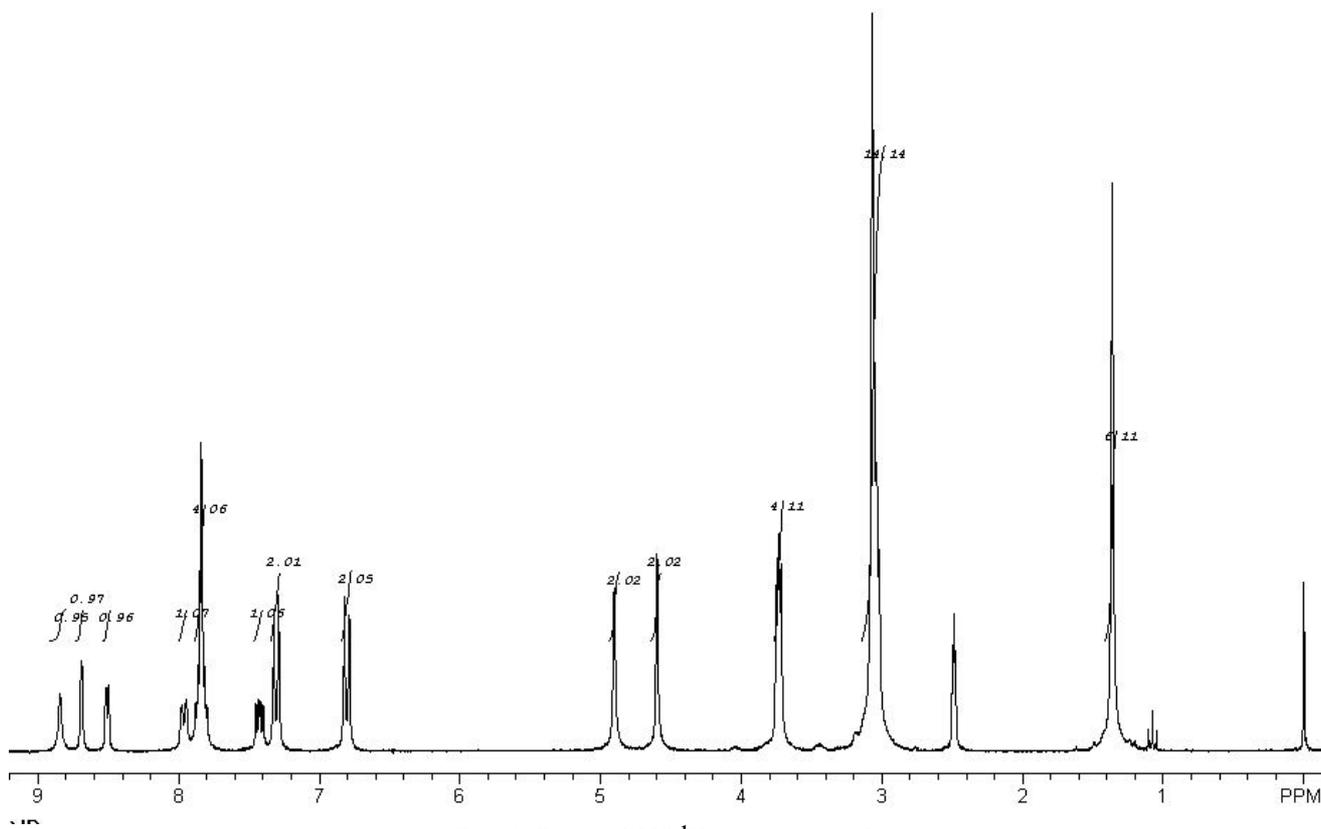


Рис. 3. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  соединения А6.

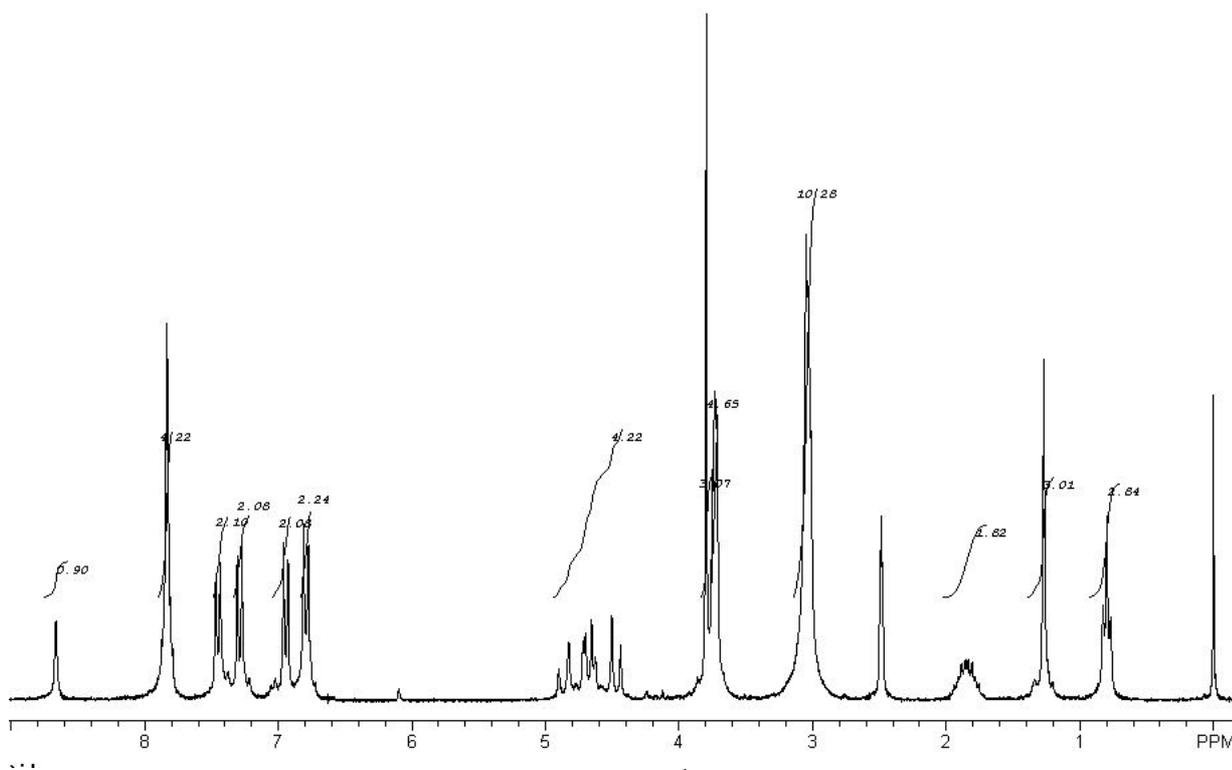


Рис. 4. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  соединения В3.

Для соединений, полученных студентами, снимали ПМР спектры. Дополнительные методы очистки не использовали.

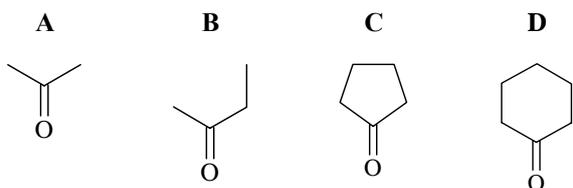
Соединение **А6**.  $T_{пл}$  275—276 °С, чистота >95%. В спектре (рис. 3) присутствуют сигналы этанола, что свидетельствует о недостаточном времени сушки. Данный спектр типичен для всей серии соединений. Сигналы боковых групп могут быть легко идентифицированы: 2 метиленовые группы в области 4,5—5,0 м.д., 2 метильные группы в области 1,0—1,5 м.д., четыре сигнала пиридила в области 7,4—8,8 м.д. Сигналы фталильного фрагмента регистрируются в области 7,8—8,0 м.д. в виде мультиплета 4 протонов. Фрагмент фенилморфолина имеет характерный набор из 4 сигналов (2 сигнала ароматической составляющей в области 6,6—7,4 м.д. и 2 сигнала алифатической части в области 3,0—3,7 м.д.), один из которых накладывается на воду. NH протон проявляется в виде слабополюсного сигнала в области 8,8—9,2 м.д.

Соединение **В3**.  $T_{пл}$  280—281 °С. Чистота данного соединения составляет ~90%. В качестве примесей (см. спектр ПМР на рис. 4) здесь присутствуют исходные соединения: изоцианид и фталилглицин. Сигналы могут быть отнесены по аналогии с предыдущим соединением. Отличием является неэквивалентность протонов метиленовых групп, что характерно для производных несимметричных кетонов.

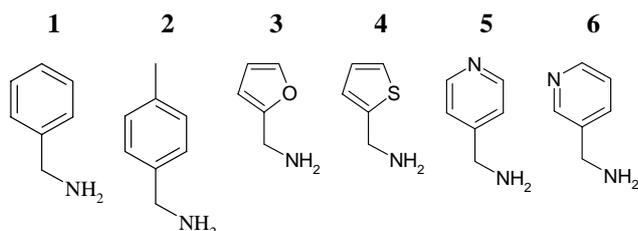
#### Вариант проведения задачи в МГУ

Данная задача впервые была предложена студентам химического факультета МГУ на спецпрактикуме по комбинаторной химии в 2006 г. Работа проводилась в приборе для параллельного синтеза SynCore.

*Реактивы, материалы и приборы.* Фталилглицин, 4-диметиламинофенилизотиоцианид, серия простейших кетонов:



серия различных бензиламинов:



органические растворители, прибор для параллельного синтеза SynCore.

#### Практическое выполнение работы

Студенты получают вариант, содержащий задачу синтеза одного соединения мультикомпонентной реакцией Уги. Все исходные реагенты загружаются в эквимолярном соотношении (1,0 ммоль).

#### Занятие 1. Загрузка компонентов

На специальную пробирку для SynCore наклеить этикетку согласно полученному варианту. Например, **В-3**, (**В** — кетон, **3** — бензиламин). В каждую пробирку в строгой последовательности внести 1 мл спиртового раствора амина, 1 мл раствора кетона, 2 мл раствора изонитрила (в вытяжном шкафу) и 1 мл раствора фталилглицина. Затем поместить пробирку в реакционный модуль SynCore для перемешивания на 4 ч.

#### Занятие 2. Выделение продуктов

Произвести параллельное фильтрование осадков в фильтрационном блоке SynCore (рис. 5а). Дважды промыть осадки смесью спирт/вода (3:1) в параллельном режиме (рис. 5б), затем поместить пробирки с осадками в вакуумный сушильный шкаф.

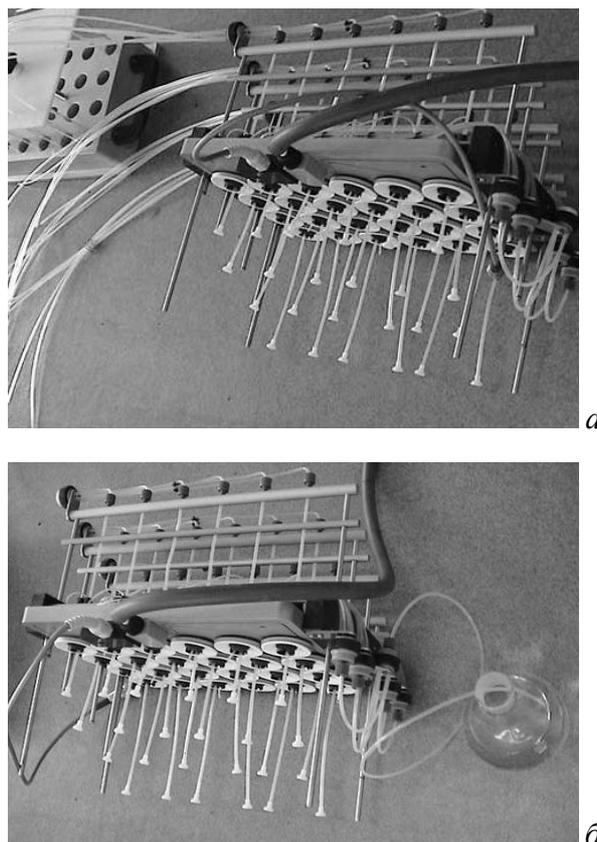


Рис. 5. Насадка для параллельного фильтрования 24 суспензий к аппарату SynCore.

а — При фильтровании к левой части насадки крепятся 24 пластиковые трубки, по которым передавливаются маточные растворы.

б — При промывании осадков к правой части насадки присоединяется источник промывочной жидкости.

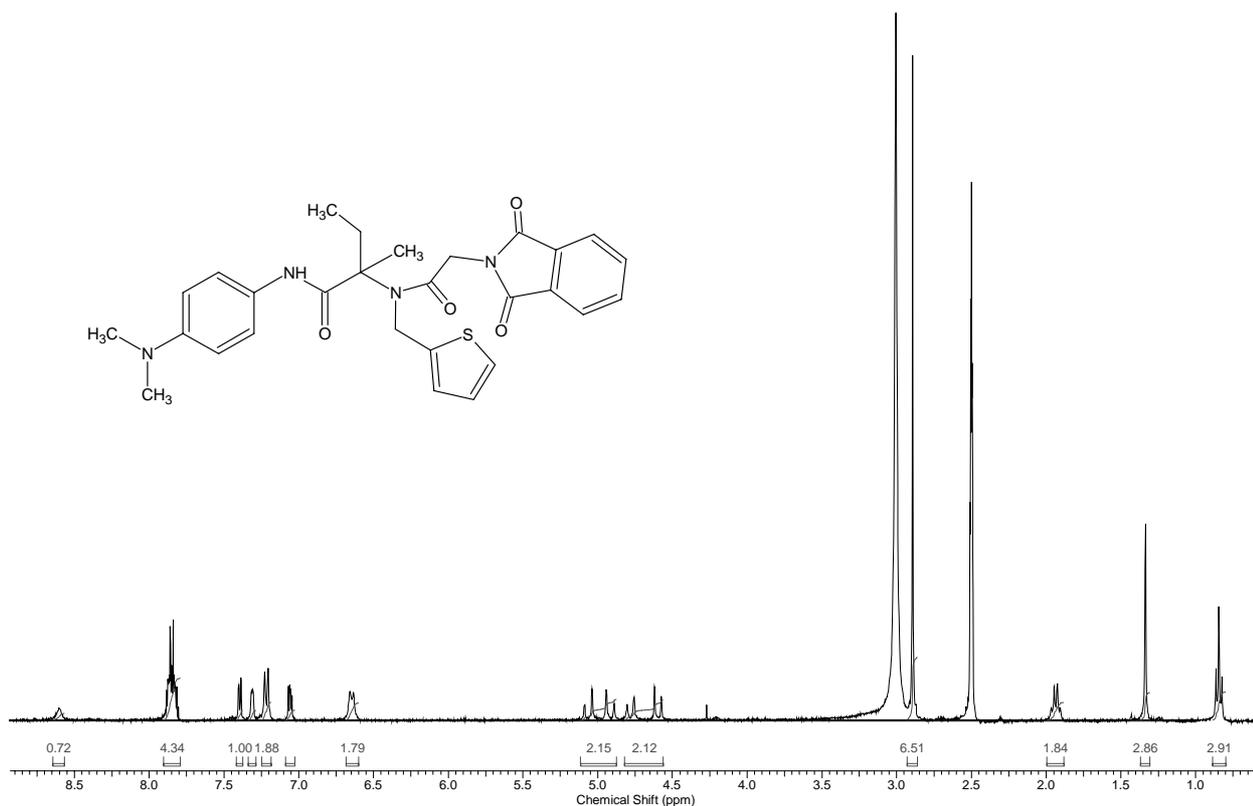


Рис. 6. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  одного из полученных продуктов

В отличие от задачи по восстановительному аминированию [3], где при фильтровании на SupCore собирались маточки, в данной задаче собирают и отделяют осадки, остающиеся в реакционном сосуде. При фильтровании (рис. 5а) через единый резиновый шланг во все 24 сосуда подается ток азота. В итоге маточный раствор перекачивается через 24 пластиковые трубки. Затем эти трубки заменяют герметичными заглушками, а систему присоединяют через единую пластиковую трубку к колбе с промывной жидкостью (рис. 5б). Для промывания сразу всех 24 осадков резиновый шланг подключается к источнику вакуума, и промывная жидкость из колбы равномерно поступает во все 24 сосуда. При необходимости включают шейкер и осадки суспендируют. Затем процедуру фильтрования повторяют требуемое число раз.

### Занятие 3. Оценка выхода и чистоты продукта

На чистый флакон наклеить этикетку с вариантом задания, затем взвесить. Перенести в него осадок, взвесить и рассчитать выход. Проанализировать чистоту полученного соединения методом ТСХ и отобрать пробы вещества для спектральных исследований.

Выходы продуктов в реакции Уги (%) приведены в табл. 2, а пример спектра одного из веществ — на рис. 6. Сопоставление с данными табл. 1 показывает, что выходы продуктов оказались чуть ниже, а чистота веществ примерно такая же, как в изначальном варианте УГТУ.

Таблица 2

Выходы целевых продуктов в реакции Уги (%)

Кетоны	Амины					
	1	2	3	4	5	6
<b>A</b>	40	11	32	42	50	23
<b>B</b>	*	10	*	6	11	20
<b>C</b>	38	10	43	41	28	32
<b>D</b>	25	—	54	38	20	9

\* Реакция не проводилась.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаев Е.В., Ермолатьев Д.С. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2009, т. 53, № 5, с. 42—56.
2. Бабаев Е.В. Там же, с. 57—72.
3. Иванова Н.В., Ткач Н.В., Белых Е.Н., Длинных И.В., Бабаев Е.В. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2009, т. 53, № 5, с. 105—115.
4. Multicomponent Reactions. Eds. J. Zhu, H. Bienayme. WILEY-VCH, Weinheim, 2005.
5. Ugi I., Dömling A. Angew. Chem. Int. Ed., 2000, v. 39, p.3168—3210.
6. Dömling A. Chem. Rev., 2006, v. 106, p.17—89.
7. Миронов М.А. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2009, т. 53, № 5, с. 116—132.
8. Гринштейн Дж., Виниц М. Химия аминокислот и пептидов. М.: Мир, 1967.
9. Wentrup C., Stutz U., Wollweber H-J. Angew. Chem., 1978, v.90, p.731—732.