|  |  |
| --- | --- |
| **РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯhttps://www.fips.ru/but2/RFP_LOGO.gifФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБАПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ** | (19) **RU** (11) [**2 817 082**](https://www1.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2817082&TypeFile=html)(13) **C1** |
|

|  |
| --- |
| (51) МПК |
| * [***C07C 227/12***(2006.01)](https://www1.fips.ru/publication-web/classification/mpk?view=detail&symbol=C07C)
* [***C07C 229/36***(2006.01)](https://www1.fips.ru/publication-web/classification/mpk?view=detail&symbol=C07C)
* [***C07C 227/28***(2006.01)](https://www1.fips.ru/publication-web/classification/mpk?view=detail&symbol=C07C)
* [***C07C 227/32***(2006.01)](https://www1.fips.ru/publication-web/classification/mpk?view=detail&symbol=C07C)
 |  |

|  |
| --- |
| (52) СПК |
| * ***C07C 227/12****(2024.01)*
* ***C07C 227/28****(2024.01)*
* ***C07C 227/32****(2024.01)*
 |  |

 |

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

|  |  |
| --- | --- |
| Статус: | действует (последнее изменение статуса: 10.04.2024) |
| Пошлина: | Установленный срок для уплаты пошлины за 3 год: с 23.09.2024 по 22.09.2025. При уплате пошлины за 3 год в дополнительный 6-месячный срок с 23.09.2025 по 22.03.2026 размер пошлины увеличивается на 50%. |

|  |  |
| --- | --- |
| (21)(22) Заявка: [**2023124455**](https://www1.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPATAP&DocNumber=2023124455&TypeFile=html)**, 22.09.2023**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:**22.09.2023**Дата регистрации:**09.04.2024**Приоритет(ы):(22) Дата подачи заявки: **22.09.2023**(45) Опубликовано: [**09.04.2024**](https://www1.fips.ru/ofpstorage/Doc/IZPM/RUNWC1/000/000/002/817/082/%D0%98%D0%97-02817082-00001/document.pdf) Бюл. № [**10**](https://www1.fips.ru/ofpstorage/BULLETIN/IZPM/2024/04/10/INDEX_RU.HTM)(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **Юфряков В.С. ХИМИКО-ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ // Доклад об основных результатах НИР, 2022, с. 13-14. Юфряков В.С. ПОЛУЧЕНИЕ СТЕРЕОМЕРОВ РЯДА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ // Веснянка-2022, Сборник тезисов докладов, 2022, с. 80-81. Tong J.H. et al. Resolution of Ring-Substituted Phenylalanines by the Action****of α-Chymotrypsin on their Ethyl Esters // Can. J. Biochem. 49, 1971, р. 881-887. Phillips R. S. et al. Synthesis of l-tyrosine from phenol and S-(o-nitrophenyl)-l-cysteine catalysed by tyrosine phenol-lyase I // Enzyme and microbial technology, 1989, 11 (2), p. 80-83. Nagasawa Т. et al. Syntheses of 1-Tyrosine-Related Amino Acids by Tyrosine Phenol-lyase of Citrobacter intermedius I // European Journal of Biochemistry, 1981, 117 (1), p. 33-40.**Адрес для переписки:**119334, Москва, ул. Вавилова, 28, стр. 1, ИНЭОС РАН, отдел интеллектуальной собственности** | (72) Автор(ы):**Кочетков Константин Александрович (RU),Горунова Ольга Николаевна (RU),Быстрова Наталия Анатольевна (RU),Цветикова Марина Анатольевна (RU),Юфряков Вячеслав Сергеевич (RU),Удод Артем Валерьевич (RU)**(73) Патентообладатель(и):**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН) (RU)** |

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ 5-ФТОР-L-ДОФА**

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к области химии и фармацевтики, к получению фторсодержащих аминокислот, конкретно к способу получения 5-фтор-L-ДОФА (5-фтор-L-3,4-дигидроксифенилаланина). Способ включает получение 3-фтор-L-тирозина из 2-фторфенола, пировиноградной кислоты и аммиака с участием фермента тирозинфеноллиазы из Citrobacter freundii, нитрование 3-фтор-L-тирозина концентрированной азотной кислотой, которое дает 5-нитро-3-фтор-L-тирозин, восстановление последнего оловом в соляной кислоте до 5-амино-3-фтор-L-тирозина, взаимодействие 5-амино-3-фтор-L-тирозина с нитритом бария в серной кислоте при охлаждении льдом в присутствии CuSO4 в среде инертного газа и последующий гидролиз полученного диазосоединения с образованием 5-фтор-L-ДОФА. Техническим результатом изобретения является обеспечение способом синтеза целевого продукта в мягких условиях с высокой стереоселективностью и высоким выходом. 1 з.п. ф-лы, 4 пр.

Настоящее изобретение относится к органической химии и медицине, в частности к фторсодержащим аминокислотам, а именно к способу получения 5-фтор-L-ДОФА формулы



Изобретение наиболее успешно может быть использовано в фармацевтической промышленности для получения диагностических препаратов, применяемых при нейродегенеративных заболеваниях либо для получения аналогов физиологически активных пептидов, содержащих необычные аминокислоты [R. Chirakal, N. Vasdev, М-С. Asselin, G.J. Schrobilgen and С. Nahmias. The Effect of Aromatic Fluorine Substitution of in L-DOPA on the in Vivo Behaviour of [18F]5-Fluoro-L-DOPA in Human Brain. J. Fluorine Chem. (2002), 115, 33-39].

3,4-Дигидрокси-L-фенилаланин (или 3-гидрокси-L-тирозин), также известный как ДОФА или леводопа, (CAS No. 59-92-7) - известное лекарственное средство, применяемое при лечении болезни Паркинсона [Машковский М.Д. Противопаркинсонические дофаминергические препараты // Лекарственные средства. - 14-е изд., перераб., испр. и доп. - М: ООО "Издательство Новая Волна", 2002. - Т. 1. - С. 140-144. - 540 с.].

Введение фтора в биоактивные молекулы для улучшения их физико-химических и фармакологических свойств представляет собой одно из перспективных направлений в дизайне новых лекарственных средств [Е.Р. Gillis, K.J. Eastman, et al, J. Med. Chem. (2015), 58 (21), 8315-8359; J. Wang, M. Sanchez-Rosello, et al, Chem. Rev. 2014, 114, 2432-2506; B.E. Smart. Fluorine substituent effects (on bioactivity). J. Fluorine Chem., (2001), 109(1), 3-11].

Монофторированные производные ДОФА являются биоактивными соединениями и представляют особый интерес для исследования распределения лекарственного вещества в организме и оценки состояния пациента (для диагностического скрининга ряда болезней, в том числе болезни Паркинсона) посредством позитронно-эмиссионной томографии (PET) [М. Monclus, С. Masson, A. Luxen. Asymmetric synthesis of fluorinated L-tyrosine and meta-L-tyrosines. J. Fluorine Chem., (1995), 70(1), 39-43. doi: 10.1016/0022-1139(94)03085-e].

Наиболее известным монофторированным производным ДОФА является 6-[18F]фтор-L-ДОФА, который используется в качестве нейротрейсера с широким спектром применения и может быть получен из 2-фтортирозина [М. Pretze, С. Wangler, В. Wangler. 6-[18F]Fluoro-L-DOPA: A Weil-Established Neurotracer with Expanding Application Spectrum and Strongly Improved Radiosyntheses. Biomed Research International, Volume 2014, Article ID 1-12, 2014:674063. doi: 10.1155/2014/674063; R.N. Krasikova. Nucleophilic Synthesis of 6-1-[18F]FDOPA. Is Copper-Mediated Radiofluorination the Answer? Molecules, 2020, 25(19), 4365; doi: 10.3390/molecules25194365]. Известны другие подходы к получению 5- и 6-фторированных производных ДОФА, например прямое фторирование аминокислот [F. Fuchtner and J. Steinbach. Efficient synthesis of the 18F-labelled 3-O-methyl-6-[18F]fluoro-L-DOPA. Applied Radiation and Isotopes, (2003), 58(5), 575-578].

Известно, что электрофильное фторирование L-ДОФА газообразным фтором [18F]F2 в ледяной уксусной кислоте, содержащей 10% TFA или муравьиной кислоты, позволяет получать [18F]5-фтор-L-ДОФА в количествах, приемлемых для биохимических и клинических исследований [R. Chirakal, N. Vasdev, G.J. Schrobilgen and С.Nahmias. Radiochemical and NMR Spectroscopic Investigation of the Solvent Effect on the Direct Electrophilic Fluorination of [18F]5-Fluoro-L-DOPA. J. Fluorine Chem., (1995), 99, 87-94].

Способы получения 5-фтор-L-ДОФА (1) (CAS No. 76936-91-9) и других фторированных производных ДОФА в ряде случаев базируются на получении соответствующего фторпроизводного тирозина и последующих его превращениях до образования целевого продукта [G. Firnau, S. Sood, R. Pantel, and E.S. Garnatt. Phenol Ionization in Dopa Determines the Site of Methylation by Catechol-O-Methyltransferase. Mol. Pharmacol. 19: 130-133 (1980);].

Асимметрический синтез промежуточного фторированного L-тирозина осуществляют алкилированием L-трети-бутил-2-(трет-бутил)-3-метил-4-оксо-1-имидозалилкарбоксилата 3-фторгидроксибензилбромидом, предварительно полученным в две стадии из соответствующего фторбензальдегида [М. Monclus, С. Masson, A. Luxen. Asymmetric synthesis of fluorinated L-tyrosine and meta-L-tyrosines. J. Fluorine Chem., (1995), 70(1), 3-43. doi:10.1016/0022-1139(94)03085-e].

Известно, что 3-фтор-L-тирозин (3) может быть получен из фторфенола (2) с использованием бактериальной тирозинфенол-лиазы [Nagasawa Т. et al. Syntheses of 1-Tyrosine-Related Amino Acids by Tyrosine Phenol-lyase of Citrobacter intermedius I/European Journal of Biochemistry. - 1981. - 117 (1), 33-40].

В работе [Phillips R. S. et al. Enzymatic synthesis and biochemical reactions of fluorinated analogues of L-tyrosine and L-dopa. Amino Acids. - Springer, Dordrecht, 1990. C. 166-172] рассматривается способ синтеза 3-фтортирозинов из соответствующего фторфенола, пировиноградной кислоты и аммиака с участием фермента тирозинфенол-лиазы из Citrobacter freundii. Однако авторы пришли к выводу, что наличие фтора в 3-м положении ароматического фрагмента тирозина замедляет его дальнейшее окисление кислородом воздуха, с целью получения 5-фтор-L-ДОФА.

Способ получения тирозинфенол-лиазы описан в работе [Phillips R. S., Ravichandran K., Von Tersch R. L. Synthesis of l-tyrosine from phenol and S-(o-nitrophenyl)-l-cysteine catalysed by tyrosine phenol-lyase I/Enzyme and microbial technology. 1989. Т. 11. №. 2. C. 80-83). Способ основан на выращивании бактерий Citrobacter freundii в питательной среде, содержащей, в пересчете на литр, 10 г ферментативного гидролизата казеина, 2 г кислотного гидролизата казеина, 5 г экстракта дрожжей, 1 г L-тирозина и 0,05 г пиридоксина гидрохлорида. Впоследствии клетки разрушают, и после центрифугирования выделяют необходимый фермент. Для получения тирозина используют 0,1 М фосфатного буфера при различных концентрациях, 4 мМ фенола и 0,1 ед/мл тирозинфенол-лиазы. Получение фторсодержащих производных тирозина осуществляют аналогичным способом.

Известен способ получения 5-фтор-L-ДОФА, который включает получение хирального глицинового синтона из коммерчески доступного хирального реагента сультама Оппольцера и стереоселективное алкилирование полученного глицинового синтона 5-фтор-3,4-диметоксибензилхлоридом в условиях межфазного переноса. Полученный продукт гидролизуют сначала соляной кислотой для разложения основания Шиффа, затем гидроокисью лития для удаления хирального вспомогательного реагента и наконец деметилируют с использованием НВг и переходом к 5-фтор-L-ДОФА [W.-P. Deng, K.A. Wong and K.L. Kirk, Convenient syntheses of 2-, 5- and 6-fluoro- and 2,6-difluoro-L-DOPA, Tetrahedron: Asymmetry, 13 (2002) 1135-1140].

К недостаткам данного способа относится многостадийность процесса, который, кроме разделения, выделения и очистки промежуточных соединений, включает семь химических стадий, в том числе и предварительное получение 5-фтор-3,4-диметоксибензилхлорида из вератрола, состоящее из трех стадий: фторирования с низким выходом, последующего восстановления и замещения спиртовой группы на хлор. Кроме того, для осуществления такого способа необходимо использовать дорогой хиральный вспомогательный реагент - сультам Оппольцера, который после завершения процесса необходимо регенерировать.

Известен химико-ферментативный способ получения 5-фтор-L-ДОФА, согласно которому 3-фтор-L-тирозин (3) получают с выходом 63% ферментативным синтезом из о-фторфенола (2), пировиноградной кислоты и аммиака с использованием фермента тирозинфенол-лиазы из Citrobacter freundii, а последующее окисление тирозина 3 с использованием фермента тирозиназы приводит к образованию 5-фтор-L-ДОФА с небольшим выходом [Phillips R.S., et al. Enzymatic synthesis and biochemical reactions of fluorinated analogues of L-tyrosine and L-dopa. Amino Acids. - Springer, Dordrecht, 1990. C. 166-172]. Показано, что наличие фтора в 3-м положении ароматического фрагмента тирозина резко замедляет реакцию его дальнейшего окисления кислородом воздуха для получения 5-фтор-L-ДОФА, и, кроме того, при окислении имеет место процесс высвобождения фторид-иона, что приводит к побочной реакции внутримолекулярной циклизации с образованием 5,6-дигидрокси-2-карбоксииндола.

Недостатками способа являются крайне низкий выход целевого соединения 1 и образование побочного продукта внутримолекулярной циклизации.

Известны способы получения рацемического 5-фтор-D,L-ДОФА, из которого можно получать [8F]5-фтор-L-ДОФА или, расщепляя 5-фтор-D,L-ДОФА, выделять индивидуальные оптические изомеры [G. Firnau, С. Nahmias, S. Garnett. Synthesis of 3,4-Dihydroxy-5-fluoro-DL-phenylalanine and 3,4-Dihydroxy-5-[18F]fluoro-DL-phenylalanine. J. Med. Chem., 1973, vol. 16, No.4, 416-418; G. Firnau, S. Sood, R. Pantel, and E.S. Garnatt. Phenol Ionization in Dopa Determines the Site of Methylation by Catechol-O-Methyltransferase. Mol. Pharmacol. 19: 130-133 (1980); M. Argentini, C. Wiese, R. Weinreich. Syntheses of 5-fluoro-D/L-dopa and [8F]5-фтор-L-ДОФА. J. Fluorine Chem., (1994), vol. 68, 141-144].

Известен способ получения 5-фтор-L-ДОФА из 3-фтортирозина (3), состоящий из нескольких стадий, который позволяет получать целевой продукт в граммовых количествах [G. Firnau, S. Sood, R. Pantel, and E.S. Garnatt. Phenol Ionization in Dopa Determines the Site of Methylation by Catechol-O-Methyltransferase. Mol. Pharmacol. 19: 130-133 (1980)].

3-Фтортирозин (3) подвергают взаимодействию с концентрированной азотной кислотой, получая продукт нитрования - 3-нитро-5-фтортирозин (с выходом 40%), последний восстанавливают, используя палладий на угле, в 3-амино-5-фтортирозин, который выделяют в виде сульфата. 3-Амино-5-фтортирозин диазотируют и затем разлагают фотохимически (УФ-облучение), получая 5-фтор-D,L-ДОФА, который выделяют из реакционной смеси полупрепаративной ВЭЖХ с выходом 56%. Целевой продукт 5-фтор-L-ДОФА (1) получают расщеплением 5-фтор-D,L-ДОФА на оптические изомеры известными приемами [Tong, J.H., et al. Resolution of ring-substituted phenylalanines by the action of a-chymotrypsin on their ethyl esters. Can. J. Biochem. 49: 887-881 (1971)]. Этот способ был принят за прототип, так как по нескольким существенным признакам он близок к заявленному способу: с исходным фтортирозином 3 осуществляется та же последовательность превращений, что и в способе по настоящему изобретению: нитрование 3-фтортирозина (3), восстановление полученного нитропроизводного 4, диазотирование 3-амино-5-фтортирозина (5).

Недостатками способа-прототипа являются низкий выход целевого продукта 5-фтор-L-ДОФА, необходимость расщепления полученного рацемического 5-фтор-D,L-ДОФА на оптические изомеры и трудоемкое выделение промежуточного 3-амино-5-фтортирозина.

Задача настоящего изобретения - разработка способа получения лабильного 5-фтор-L-ДОФА, позволяющего получать целевой продукт с высоким выходом и высокой стереоселективностью в мягких условиях и минимизировать образование побочных продуктов.

Технический результат - способ получения энантиомерно чистого 5-фтор-L-ДОФА с высоким выходом в мягких условиях, позволяющий упростить трудоемкое выделение целевого продукта.

Поставленная задача решается заявленным химико-ферментативным способом получения энантиомерно чистого 5-фтор-L-ДОФА (1), который включает:

(а) взаимодействие о-фторфенола (2), пировиноградной кислоты и аммиака в присутствии тирозинфенол-лиазы из Citrobacter freundii с образованием 3-фтор-L-тирозина (3);

(б) нитрование 3-фтор-L-тирозина (3) концентрированной азотной кислотой, приводящее к получению 5-нитро-3-фтор-L-тирозина (4);

(в) восстановление соединения 4 оловом в соляной кислоте до 5-амино-3-фтор-L-тирозина (5) и

(г) диазотирование 5-амино-3-фтор-L-тирозина (5) нитритом бария в серной кислоте при 0°С в присутствии CuSO4 в среде инертного газа, например азота, и последующий гидролиз полученного диазосоединения в инертной атмосфере с образованием целевого продукта -5-фтор-L-ДОФА.



Способ по изобретению, представленный выше, позволяет получать энантиомерно чистый целевой продукт 1 с высоким выходом в мягких условиях и малыми затратами по сравнению с известными способами.

В заявленном способе на стадии (а) из о-фторфенола (2), пировиноградной кислоты и аммиака получают энантиомерно чистый 3-фтор-L-тирозин (3) с выходом 96%, используя живую клеточную культуру Citrobacter freundii. Авторам настоящего изобретения удалось получить соединение 3 с выходом 96%, что существенно выше, чем выход, указанный в работе [Phillips R. S. et al. Enzymatic synthesis and biochemical reactions of fluorinated analogues of L-tyrosine and L-dopa //Amino Acids. - Springer, Dordrecht, 1990. -C. 166-172].

На стадии (б) осуществляют нитрование полученного 3-фтор-L-тирозина (3) концентрированной азотной кислотой, которое приводит к образованию 3-фтор-5-нитро-L-тирозина (4) с выходом 91%.

На стадии (в) соединение 4, растворяют в концентрированной соляной кислоте и восстанавливают оловянной пылью; после удаления олова в виде сульфида получают 3-амино-5-фтор-Е-тирозин (5) с выходом 88%.

Последний этап (стадия г) заключается в диазотировании L-3-амино-5-фтортирозина (5) с последующим гидролизом диазосоединения водой без его выделения.

При проведении диазотирования азотистую кислоту получают реакцией нитрита бария с серной кислотой. Для генерации азотистой кислоты был выбран нитрит бария, так как при взаимодействии с серной кислотой он дает нерастворимый осадок сульфата бария, что упрощает выделение целевого продукта. Азотистую кислоту используют в эквимолярном соотношении к аминофтортирозину 5, при этом реакция диазотирования протекает селективно по ароматической аминогруппе. Гидролиз промежуточного соединения дает целевой продукт - 5-фтор-L-ДОФА (1).

Трудоемкая стадия расщепления 5-фтор-D,L-ДОФА, которая является неотъемлемой частью способа-прототипа, в заявляемом способе исключается, так как на стадии (г) после гидролиза получают нужный оптический изомер 5-фтор-L-ДОФА (1) с выходом 68%, тогда как выход 5-фтор-D,L-ДОФА в способе-прототипе составляет 56%, т.е. выход нужного оптического изомера 5-фтор-L-ДОФА после расщепления рацемата составит не более 28%.

ДОФА и его производные, как известно, легко окисляются действием кислорода воздуха в ДОФА-хинон. Использование инертной атмосферы позволило авторам исключить побочную реакцию образования хинона без применения ингибиторов. Результаты ЯМР исследования показывают, что в реакционной смеси отсутствует примесь окисленного соединения. Следует отметить, что использование 5-фтор-3-аминотирозина (5) в заявляемом способе позволило избежать побочной реакции окисления фтор-ДОФА в хинон.

Для предотвращения возможного окисления фтор-ДОФА в фтор-ДОФА-хинон реакцию замещения аминогруппы на гидроксильную проводят в инертной атмосфере азота, в отличие от других известных способов, где используют восстановитель. Для полного осаждения ионов меди в виде CuS в течение нескольких часов через раствор пропускали газообразный H2S, при этом возможное окисление продукта также не наблюдалось, поскольку данные ЯМР 13С указывают на отсутствие в растворе продукта окисления: 5-фтор-ДОФА-хинона. При проведении диазотирования азотистая кислота получалась по реакции нитрита бария с серной кислотой. Данные реагенты были выбраны для того, чтобы при их взаимодействии образовывался нерастворимый сульфат бария, что существенно упростило процедуру очистки реакционной смеси от неорганических ионов. Азотистую кислоту надо использовать строго в эквимолярном соотношении по отношению к аминотирозину для того, чтобы диазотирование происходило селективно по ароматической аминогруппе.

Способ по изобретению позволяет получать необходимый продукт 5-фтор-L-ДОФА (1) в мягких условиях с высокими выходами и малыми затратами на выделение целевого продукта по сравнению с аналогами.

Преимуществами заявленного способа являются высокая стереоселективность процесса, высокие выходы целевого продукта, отсутствие трудоемкой стадии расщепления 5-фтор-D,L-ДОФА, необходимой для получения нужного оптического изомера, устранение неоднозначной реакции окисления промежуточного соединения, приводящей к образованию побочных продуктов.

Изобретение иллюстрируется приведенными ниже примерами.

Пример 1. Получение 3-фтор-L-тирозина (3)

Смесь 1,6 г пирувата калия, 24 г ацетата аммония и 3,2 г о-фторфенола (2) загружают в колбу с 2,4 г свежевыращенных клеток Citrobacter freundii в 1,6 л фосфатного буфера (рН 8), добавляют 1,5 мл раствора пиридоксальфосфата (с концентрацией 4×10-4моля) и по каплям прибавляют раствор аммиака до достижения рН раствора 8,2. Свежевыращенные клетки бактерий Citrobacter freundii (содержащих фермент тирозинфеноллиазу) получают в питательной среде, содержащей, в пересчете на литр, 10 г ферментативного гидролизата казеина, 2 г кислотного гидролизата казеина, 5 г экстракта дрожжей, 1 г L-тирозина и 0,05 г пиридоксина гидрохлорида. Раствор встряхивают на качалке при 30°С в течение 12 часов. Контроль окончания реакции методом ТСХ в аминокислотном буфере (3-фтортирозин Rf=0,2), проявление нингидрином. Реакционную смесь центрифугируют, отделяя клетки.

Полученный раствор упаривают на роторном испарителе до объема 200 мл. По мере упаривания продукт 3 выпадает в виде белого осадка. Осадок отделяют фильтрованием. Раствор, полученный после отделения осадка продукта 3, наносят на колонку с КУ-2 в Н+форме. Колонку промывают водой до нейтральной реакции. Продукт 3 элюируют 5% раствором NH3 и упаривают с выделением дополнительного количества продукта. Получено 5,45 г (96%) 3-фтор-L-тирозина (3). Т. пл. 260°С.[α]D -5.9° (HCl, 20°С). Литературные данные: Т. пл. 260-261°С. [α]D -5.7° (HCl, 26°С) [С. Niemann, J. Am. Chem. Soc. (1946), 68, 1671].

Пример 2. Получение 3-нитро-5-фтор-L-тирозина (4)

3-Фтортирозин 3 (10 г) добавляют к 40 мл воды, взвесь охлаждают льдом и медленно обрабатывают 27 мл конц. HNO3 при перемешивании. Получают прозрачный коричневатый раствор. При дальнейшем стоянии температура раствора повышается до комнатной и начинают выпадать желтые кристаллы. При температуре 25°С осаждение заканчивается через 4 часа. Кристаллы отфильтровывают, растворяют в небольшом количестве горячей воды и добавляют конц. NH3 до рН 5-6. Немедленно выпадает свободный 3-нитро-5-фтор-L-тирозин (4). Его отфильтровывают, промывают холодной водой и перекристаллизовывают из горячей воды (обесцвечивают активированным углем). Для облегчения кристаллизации добавляют этанол. Выход 3-нитро-5-фтор-L-тирозина (4) 11,2 г (91%) 1Н ЯМР (300 МГц, D2O, ТМС): 7.16, 7.51 (2 с, 2Н, Ar), 3.95 (м, 1H, Ar-R-CH), 3.20 (м, 1На, Ar-СНаНв), 3.15 (м, 1НВ, Ar-СНаНв); ее >97% (ВЭЖХ).

Пример 3. Получение 3-амино-5-фтор-L-тирозина (5)

3-Нитро-5-фтортирозин 4 (100 г) растворяют в 400 г конц. HCl + 350 мл воды. Раствор доводят до кипения и обрабатывают 180 г оловянной пыли. После прекращения выделения водорода раствор отфильтровывают, фильтрат упаривают в вакууме для удаления избытка HCl и остаток растворяют в воде. Через раствор пропускают H2S для полного осаждения олова в виде сульфида. Последний отфильтровывают, кипятят с водой, и вновь упаривают в вакууме до небольшого объема, добавляют 2н раствор KOH до рН ~ 6.5 и охлаждают раствор. Выпадают кристаллы 3-амино-5-фтор-L-тирозина (5), которые промывают ледяной водой и перекристаллизовывают из горячей воды в присутствии активированного угля . (OCl, 4н HCl). Выход: 8,4 г (88%).

1Н ЯМР (300 МГц, D2O, ТМС): 6.76, 6.84 (2 с, 2Н, Ar), 3.75 (м, 1H, Ar-R-CH), 3.10 (м, 1На, Ar-СНаНв), 3.05 (м, 1НВ, Ar-СНаНв); ее >96% (ВЭЖХ).

Пример 4. Получение 5-фтор-L-3,4-дигидроксифенилаланина (1)

В трехгорлую колбу, снабженную обратным холодильником и капилляром для N2, вносят 2,85 г (0,0114 моль) CuSO4⋅5H2O, растворенного в 12 мл воды, и нагревают.3-Амино-5-фтортирозин 5 (0,40 г, 0,0019 моль) растворяют в 3,2 мл холодной 17% серной кислоты (0,0042 моль H2SO4). Отдельно растворяют 0,234 г (0,00095 моль) Ba(NO2)2⋅H2O в 3 мл воды и полученный раствор по каплям приливают к растворенной смеси, содержащей аминокислоту 5, при охлаждении колбы льдом. Выпадает большое количество BaSO4, и смесь сразу (без фильтрования) выливают в кипящий раствор CuSO4. Цвет раствора немедленно изменяется на темно-красный. Весь процесс проводят в токе азота. Через несколько минут нагрев прекращают и колбу охлаждают. Отфильтровывают BaSO4, затем через фильтрат пропускают H2S в течение 2,5 часов, после чего отфильтровают CuS на фильтре Шотта с фильтровальной бумагой и получают желтый раствор с рН ~ 1-2). Добавляют по каплям раствор Ва(ОН)2 и доводят значение рН раствора до 5, концентрируют раствор в вакууме и оставляют при +5°С в холодильнике. Раствор частично кристаллизуется, кристаллы коричневого цвета отфильтровывают. Из раствора дополнительно выделяют при упаривании и экстракции этанолом небольшое количество кристаллов, которые объединяют с ранее выделенными.

Выход целевого продукта 1 (на стадии (г)): 0,27 г (68%).  (с 0.5, 1н HCl).

1Н ЯМР (D2O, DCl): 6.70-6.80 (2Н, м, Ar) 4.05 (1H, дд, СН), 3.95 (3Н, с, ОН), 3.20 (1H, дд, СН2), 3.15 (1Н, дд, СН2). Лит. данные:  (с 0.32, 1 М HCl). 1Н NMR (D2O, DCl): 6.75-6.85 (2Н, м) 4.00 (1H, дд, 5.7, 8.1), 3.92 (3Н, с), 3.25 (1H, дд, 5.4, 14.7), 3.11 (1Н, дд, 7.8, 14.7) [W.-P. Deng, K.A. Wong, K.L. Kirk, Tetrahedron: Asymmetry (2002) 13, 1135-1140].

Формула изобретения

1. Способ получения 5-фтор-L-ДОФА, включающий:

(а) взаимодействие о-фторфенола, пировиноградной кислоты и аммиака, в присутствии фермента тирозинфеноллиазы из Citrobacter freundii с образованием 3-фтор-L-тирозина;

(б) нитрование 3-фтор-L-тирозина концентрированной азотной кислотой, которое дает 5-нитро-3-фтор-L-тирозин;

(в) восстановление последнего оловом в соляной кислоте до 5-амино-3-фтор-L-тирозина;

(г) взаимодействие 5-амино-3-фтор-L-тирозина с нитритом бария в серной кислоте при охлаждении льдом в присутствии CuSO4 в среде инертного газа и последующий гидролиз полученного диазосоединения с образованием целевого продукта - 5-фтор-L-ДОФА.

2. Способ по п. 1, в котором в качестве инертного газа используют азот.