

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ  
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ  
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ  
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 65, №3, 2012 Химический журнал Армении

УДК 547.787

СИНТЕЗ ТИОХОЛИНОВЫХ ЭФИРОВ N-ЗАМЕЩЕННЫХ  
АМИНОКИСЛОТ С ПОМОЩЬЮ  
1-(o-НИТРОФЕНИЛСУЛЬФОНИЛОКСИ)БЕНЗОТРИАЗОЛА

И. Р. КАРАПЕТЯН

Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии  
НАН Республики Армения  
Институт тонкой органической химии им. А.Л. Мнджояна  
Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26  
E-mail: inna-karapetyan@mail.ru

Поступило 30 VII 2012

Разработан новый одностадийный метод синтеза тиохолиновых эфиров N-замещенных аминокислот из соответствующих кислот и 2-(диметиламино)тиоэтанола. При этом в качестве конденсирующего реагента применен 1-(o-нитрофенилсульфонилокси)бензотриазол. Метод состоит из двух этапов ( активации карбоксильной группы N-замещенной аминокислоты в виде оксibenзотриазолового эфира и взаимодействия активированного эфира с 2-(диметиламино)тиоэтанолом. Полученные таким образом 2-(диметиламино)тиоэтиловые эфиры превращены в четвертичные аммониевые соли. Исследован ферментативный и спонтанный гидролиз синтезированных тиохолиновых эфиров.

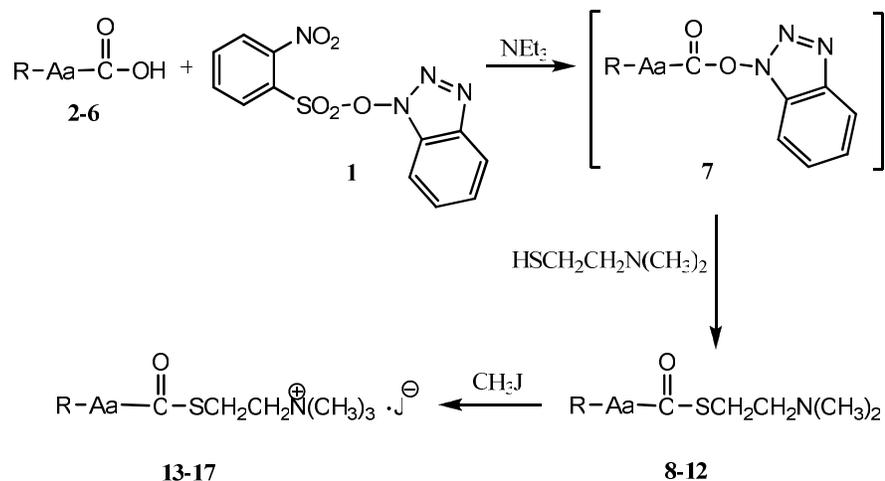
Табл.1, библи. ссылок 12.

Область применения тиоэфиров карбоновых кислот, в том числе аминокислот, довольно большая. В органическом синтезе они применяются при получении альдегидов [1], кетонов [2], лактонов [3], сложных эфиров [4] и пептидов [5,6]. С другой стороны, тиохолиновые эфиры карбоновых кислот представляют практический интерес в качестве физиологически активных веществ [7-9].

Ранее была установлена пригодность 1-(o-нитрофенилсульфонилокси)бензотриазола (1) для синтеза амидов и пептидов [10], а также 2-(диметиламино)этиловых эфиров аминокислот [11]. Целью настоящей работы является исследование возможности применения в синтезе 2-(диметиламино)тиоэтиловых эфиров N-замещенных аминокислот в качестве перэтерифицирующего реагента 1. Взаимодействие N - замещенных

аминокислот (**2-6**) с реагентом **1** осуществлено в присутствии эквимолярных количеств триэтиламина при комнатной температуре, приведшее уже через 1 ч к образованию оксибензотриазоловых эфиров, которые в случае N-фталилглицина (**7**) выпадают в осадок. Синтез 2-(диметиламино)тиоэтиловых эфиров (**8-12**) проводили двумя путями: без выделения активированного эфира (А), с выделением и очисткой последнего (Б). Путь А является сравнительно более экономичным, при этом выходы 2-(диметиламино)тиоэфиров **8-12** удовлетворительны и колеблются в пределах 64-82%. На примере 2-(диметиламино)тиоэтилового эфира N-фталилглицина (**8**) показано, что способ синтеза его по пути Б обеспечивает достаточно высокий выход (88%). Исследование реакционной смеси оксибензотриазолового эфира N-фталилглицина (**7** R=Pht, Aa=Gly) и 2-(диметиламино)тиоэтанола в соотношении 1:1 в ацетонитриле методом ТСХ («Silufol UV-254», хлороформ(бензол(метанол, 9:1:1) показало, что активированный эфир **7** полностью расходуется через 24 ч.

Синтезированные аминотиоэфиры **8-12** взаимодействием с йодистым метилом превращены в йодметилаты **13-17**.



R-Aa = **1,7, 8, 13** Pht-Gly; **2,9,14** Pht-DL-Val; **3,10,15** Bz-Gly;  
**4,11,16** Bz-DL-Val; **5,12,17** 4-MeOBz-DL-Phe

Строение синтезированных соединений подтверждено данными ИК-, ЯМР <sup>1</sup>H спектральных методов и элементным анализом, чистота установлена хроматографически.

Учитывая то обстоятельство, что синтезированные соединения являются потенциальными лигандами АХЭ, БУХЭ и ХР, изучен спонтанный (рН 7.6) и ферментативный гидролиз йодметилатов 2-(диметиламино)тиоэфиров **13-17**. Полученные данные приведены в таблице, из которой видно, что все тиоэфиры подвергаются спонтанному гидролизу в фосфатном буфере и по скорости гидролиза в основном превосходят ацетилтиохолин (АТХ). Однако скорость гидролиза синтезированных

веществ под действием ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) уступает скорости гидролиза АТХ. Отметим, что в случае тиохолинового эфира N-фталил-DL-валина (**14**) АХЭ не влияет на скорость гидролиза. Тот же эффект, но под действием обоих ферментов, наблюдается у тиоэфира N-(*p*-метоксибензоил)-DL-фенилаланина (**17**).

Таким образом, установлена пригодность 1-(*o*-нитрофенилсульфонилок-си)бензотриазола в синтезе 2-(диметиламино)этилтиоэфиров N-замещенных аминокислот. Показано, что некоторые из синтезированных эфиров являются субстратами как АХЭ, так и БуХЭ.

Таблица

#### Скорость спонтанного и ферментативного гидролиза тиохолиновых эфиров

Соединение	Скорость гидролиза при рН 7.6, $10^{-7}$ моль/с	Скорость ферментативного гидролиза при рН 7.6, $10^{-7}$ моль/с	
		АХЭ	БуХЭ
<b>13</b>	0.034	0.087	0.034
<b>14</b>	0.017	0	0.8
<b>15</b>	0.034	0.087	0.017
<b>16</b>	0.27	0.087	0.017
<b>17</b>	0.261	0	0
АТХ	0.015	0.847	1.17

#### Экспериментальная часть

ИК-спектры сняты на приборе "FTIR NEXUS" в вазелиновом масле, спектры ЯМР  $^1\text{H}$  – на спектрометре "Varian Mercury – 300" в DMSO-d<sub>6</sub>. ТСХ проведена на пластинках "Silufol UV-254" в системах хлороформ(бензол(метанол, 9:1:1 (А) и пропанол(вода, 7:3 (Б), проявитель – УФ-лучи, пары йода.

**Синтез реагента 6 осуществлен по методу [10].**

**Общий метод синтеза 2-(диметиламино)этилтиоэфиров N-замещенных аминокислот (8-12).** А) К раствору 0.006 моля N-замещенной аминокислоты и 0.83 мл (0.006 моля) триэтиламина в 15 мл ацетонитрила добавляют 1.9 г (0.006 моля) реагента 1 и реакцию смесь оставляют при комнатной температуре. В случае N-фталилглицина выпадает осадок активированного эфира. Через 1 ч добавляют 0.85 г (0.006 моля) гидрохлорида 2-(диметиламино)-1-тиоэтанола и 0.83 мл (0.006 моля) триэтиламина. Реакционную смесь оставляют при комнатной температуре на 24 ч, отгоняют растворитель, к остатку добавляют 50 мл хлороформа. Полученный раствор промывают 3% раствором карбоната калия (2(10 мл), водой (3×15 мл) и высушивают над хлоридом кальция. После удаления раство-

рителя получают 2-(диметиламино)этилтиоэфир соответствующей кислоты.

**2-(Диметиламино)этилтиоэфир N-фталилглицина (8).** Выход 80.1%, маслообразное вещество,  $R_f$  0.43 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1778, 1713 (СО-имидн.) 1700 (СО-тиоэфирн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 2.20 (с, 6H,  $NMe_2$ ); 3.42 (т, 2H,  $CH_2N$ ); 3.06 (т, 2H,  $CH_2S$ ); 4.58 (с, 2H,  $CH_2$ ); 7.88 (к, 4H, *o*-замещ. $C_6H_4$ ). Найдено, %: С 57.71; Н 5.63; N 9.32.  $C_{14}H_{16}N_2O_3S$ . Вычислено, %: С 57.51; Н 5.52; N 9.58.

**2-(Диметиламино)этилтиоэфир N-фталил-DL-валина (9).** Выход 82.9%, маслообразное вещество,  $R_f$  0.64 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1780, 1720 (СО-имидн.) 1695 (СО-тиоэфирн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 0.86 и 1.14 (дд, 6H,  $CH_3CCH_3$ ); 2.78 (м, 1H, CH); 3.20 (с, 6H,  $NMe_2$ ); 3.34 (т, 2H,  $CH_2N$ ); 3.48 (т, 2H,  $CH_2S$ ); 4.52 (д, 1H, CH); 7.98 (к, 4H, *o*-замещ. $C_6H_4$ ). Найдено, %: С 61.09; Н 6.83; N 8.02.  $C_{17}H_{22}N_2O_3S$ . Вычислено, %: С 61.04; Н 6.64; N 8.37.

**2-(Диметиламино)этилтиоэфир N-бензоилглицина (10).** Выход 73.6%, маслообразное вещество,  $R_f$  0.27 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1710 (СО-тиоэфирн.), 1652 (СО-амидн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 2.22 (с, 6H,  $NMe_2$ ); 3.40 (т, 2H,  $CH_2N$ ); 3.66 (т, 2H,  $CH_2S$ ); 4.50 (с, 2H,  $CH_2$ ); 7.84 (к, 4H, *o*-замещ. $C_6H_4$ ). Найдено, %: С 58.79; Н 6.61; N 10.32.  $C_{13}H_{18}N_2O_2S$ . Вычислено, %: С 58.61; Н 6.82; N 10.51.

**2-(Диметиламино)этилтиоэфир N-бензоил-DL-валина (11).** Выход 77.8%, маслообразное вещество,  $R_f$  0.41 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1700 (СО-тиоэфирн.), 1648 (СО-амидн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 1.0 (д, 6H,  $CH_3CCH_3$ ); 2.30 (м, 1H, CH); 2.74 (с, 6H,  $NMe_2$ ); 3.10 (т, 2H,  $CH_2N$ ); 3.60 (т, 2H,  $CH_2S$ ); 4.52 (т, 1H, CH); 7.40-7.98 (м, 5H,  $C_6H_5$ ); 8.70 (д, 1H, NH). Найдено, %: С 62.59; Н 7.64; N 9.22.  $C_{16}H_{24}N_2O_2S$ . Вычислено, %: С 62.29; Н 7.85; N 9.08.

**2-(Диметиламино)этилтиоэфир N-4-метоксибензоил-DL-фенилаланина (12).** Выход 64.9%, т.пл. 128-130°C,  $R_f$  0.52 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1704 (СО-тиоэфирн.), 1680 (СО-амидн.); 3290 (NH амидн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 2.22 (с, 6H,  $NMe_2$ ); 2.56 (т, 2H,  $CH_2N$ ); 2.90 (т, 2H,  $CH_2S$ ); 4.80 (к, 1H, CH); 6.90 и 7.80 (дд, 4H, *p*-замещ.  $C_6H_4$ ); 7.10-7.30 (м, 5H,  $C_6H_5$ ); 8.60 (д, 1H, NH). Найдено, %: С 65.51; Н 6.62; N 7.06.  $C_{21}H_{26}N_2O_3S$ . Вычислено, %: С 65.25; Н 6.79; N 7.25.

**Б) Синтез 2-(диметиламино)этилтиоэфир N-фталилглицина (8).** Смесь 0.97 г (0.003 моля) оксибензотриазолового эфира N-фталилглицина (7) [11], 0.42 мл (0.003 моля) триэтиламина и 0.42 г (0.003 моля) гидрохлорида 2-(диметиламино)-1-тиоэтанола оставляют при комнатной температуре на 24 ч. За ходом реакции следят методом ТСХ (система А). На хроматограмме через 24 ч наблюдается полное отсутствие пятна, соответствующего соединению 7 ( $R_f$  0.85), одновременно проявляется и увеличивается пятно, соответствующее 2-(диметиламино)этилтиоэфиру 8 при  $R_f$  0.23 (1-оксибензотриазол в этой системе проявляется при  $R_f$  0.10). Обработку проводят аналогично вышеописанному способу А. Выход 88.5%.

**Йодметилаты 2-(диметиламино)этилтиоэфиров N-замещенных аминокислот (13-17).** К раствору 0.005 моля 2-(диметиламино)тиоэтилового эфира N-замещенной аминокислоты в 20 мл ацетона добавляют 0.52 мл (0.0075 моля) йодистого метила и реакционную смесь оставляют при комнатной температуре на 24 ч. Выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола.

**Йодметилат 2-(диметиламино)этилтиоэфира N-фталилглицина (13).** Выход 72.6%, т.пл. 250-253°C.  $R_f$  0.73 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1768, 1725 (СО-имидн.), 1695 (СО-тиоэфирн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 3.22 (с, 9H, NMe<sub>3</sub>); 3.36 (т, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3.52 (т, 2H, CH<sub>2</sub>S); 4.602 (с, 2H, CH<sub>2</sub>); 7.90 (к, 4H, *o*-замещ.С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Найдено, %: J 29.50. C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>J. Вычислено, %: J 29.21.

**Йодметилат 2-(диметиламино)этилтиоэфира N-фталил-DL-валина (14).** Выход 79.8%, т.пл. 192-195°C.  $R_f$  0.74 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1781, 1723 (СО-имидн.), 1695 (СО-тиоэфирн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 0.82 и 1.12 (дд, 6H, CH<sub>3</sub>CCH<sub>3</sub>); 2.80 (м, 1H, CH); 3.22 (с, 9H, NMe<sub>3</sub>); 3.30 (т, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3.50 (т, 2H, CH<sub>2</sub>S); 4.58 (д, 1H, CH); 7.95 (к, 4H, *o*-замещ.С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Найдено, %: J 26.41. C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>J. Вычислено, %: J 26.63.

**Йодметилат 2-(диметиламино)этилтиоэфира N-бензоилглицина (15).** Выход 78.3%, т.пл. 211-214°C.  $R_f$  0.76 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3265 (NH-амидн.), 1684 (СО-тиоэфирн.), 1650 (СО-амидн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 3.22 (с, 9H, NMe<sub>3</sub>); 3.30 (т, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3.48 (т, 2H, CH<sub>2</sub>S); 4.20 (д, 2H, CH<sub>2</sub>); 7.40-7.96 (м, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 9.08 (т, 1H, NH). Найдено, %: J 31.40. C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SJ. Вычислено, %: J 31.08.

**Йодметилат 2-(диметиламино)этилтиоэфира N-бензоил-DL-валина (16).** Выход 68.6%, т.пл. 193-196°C.  $R_f$  0.72 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3232 (NH-амидн.), 1705 (СО-тиоэфирн.), 1650 (СО-амидн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 1.2 (д, 6H, CH<sub>3</sub>CCH<sub>3</sub>); 2.32 (м, 1H, CH); 3.24 (с, 9H, NMe<sub>3</sub>); 3.30 (т, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3.49 (т, 2H, CH<sub>2</sub>S); 4.48 (т, 1H, CH); 7.40-7.96 (м, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 8.2 (д, 1H, NH). Найдено, %: J 28.39. C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SJ. Вычислено, %: J 28.17.

**Йодметилат 2-(диметиламино)этилтиоэфира N-4-метоксибензоил-DL-фенилаланина (17).** Выход 70.6%, т.пл. 204-206°C.  $R_f$  0.68 (Б). ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3295 (NH-амидн.), 1684 (СО-тиоэфирн.), 1630 (СО-амидн.). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 3.16 (т, 2H, CH<sub>2</sub>N); 3.26 (с, 9H, NMe<sub>3</sub>); 3.50 (т, 2H, CH<sub>2</sub>S); 3.82 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O); 4.80 (к, 1H, CH); 5.80 (д, 2H, CH<sub>2</sub>); 6.90 и 7.82 (дд, 4H, *l*-замещ. С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.12-7.30 (м, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 8.8 (д, 1H, NH). Найдено, %: J 24.09. C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>SJ. Вычислено, %: J 23.89.

**Спонтанный и ферментативный гидролиз тиохолиновых эфиров N-замещенных аминокислот.** Исследования проводились модифицированным методом [12] в условиях pH 7.6 (0.25 М фосфатный буфер) и при концентрации тиохолиновых эфиров, равной  $1 \cdot 10^{-4}$  М. Количества АХЭ и БуХЭ во всех экспериментах одинаковы.

**N-ՏԵՂԱԿԱԿԱՑ ԱՄԻՆԱԹՈՒՆԵՐԻ ԹԻՈԽՈԼԻՆԱՑԻՆ ԷՍԹԵՐՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԸ 1-(o-ՆԻՏՐՈՆՖԵՆԻԼՍՈՒԼՖՈՆԻԼՕՔՍԻ)ԲԵՆՏՐԻԱԶՈԼԻ ՕԳՆՈՒԹՅԱՄԲ**

**Ի. Ռ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ**

Մշակված է N-տեղակալված ամինաթթուների թիոխոլինային էսթերների սինթեզի նոր եղանակ որպես կոնդենսացնող ռեագենտ կիրառելով 1-(o-նիտրոֆենիլսուլֆոնիլօքսի)բենտրիազոլը: Պրոցեսն ընթանում է երկու փուլով՝ N-տեղակալված ամինաթթվի կարբոքսիլային խմբի ակտիվացմամբ օքսիբենտրիազոլային էսթերի ձևով և ակտիվացված էսթերի փոխազդեցությունը 2-(դիմեթիլամինա)թիոէթանոլի հետ: Այս եղանակով ստացված 2-(դիմեթիլամինա)թիոէթանոլային էսթերները վեր են ածվել չորրորդային ամոնիումային աղերի: Հետազոտված են սինթեզված թիոխոլինային էսթերների սպոնտան և ֆերմենտային հիդրոլիզները:

**SYNTHESIS OF THIOCHOLINE ESTERS OF N-SUBSTITUTED AMINO ACIDS USING 1-(o-NITROPHENYLSULFONYLOXI)BENZOTRIAZOLE**

**I. R. KARAPETYAN**

The Scientific Technological Centre  
of Organic and Pharmaceutical Chemistry NAS RA  
A.L. Mnjoyan Institute of Fine Organic Chemistry  
26, Azatutyan Str., Yerevan, 0014, Armenia  
E-mail: inna-karapetyan@mail.ru

A new method for the synthesis of thiocholine esters of N-substituted amino acids from the corresponding acids and 2-(dimethylamino)thioethanol has been worked out. As the condensing reagent was used 1-(o-nitrophenylsulfonyloxi)benzotriazole. This method consists of two steps: activation of the carboxyl group of N-substituted amino acid as oxibenzotriazolic ester, and reacting the activated ester with 2-(dimethylamino)thioethanol. Resulted in this way 2-(dimethylamino)thioethyl esters were converted into quaternary ammonium salts. The enzymatic and spontaneous hydrolysis of synthesized thiocholine esters was studied.

**ЛИТЕРАТУРА**

- [1] *Fukuyama T., Lin S.C., Li L.* // J. Am. Chem. Soc., 1990, v. 112, p. 7050.
- [2] *Tokuyama H., Yokoshima S., Fukuyama T.* // Tetrahedron Lett., 1998, v. 39, p. 3189.
- [3] *Masamune S., Schilling W.* // J. Am. Chem. Soc., 1975, v. 97, p. 3515.
- [4] *Masamune S., Hayase Y., Schilling W., Chan W.K., Bates G.S.* // J. Am. Chem. Soc., 1977, v. 99, p. 6756.
- [5] *Kurosu M.* // Tetrahedron Lett., 2000, v. 41, №5, p. 591.
- [6] *Haase Ch., Rohde H., Seitz O.* // Angew. Chem. Int. Ed., 2008, v. 47, №36, p. 6807.
- [7] *Yamada M., Marui Y., Hayashi H., Miki Y., Takemura Sh.* // Clinical Chemistry, 2001, v. 47, №11, p. 1962.
- [8] *Kim Y.B., Jung C.H., Chio S.J., Seo W.J., Cha S.H., Sok D.E.* // Biochem. J., 1992, v. 284, p. 153.
- [9] *Lorand L., Chou C-H.J., Simpson I.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, v. 69, №9, p. 2645.
- [10] *Топузян В.О., Мартирося М.С.* // ЖОрХ, 1991, т. 27, вып. 11, с. 2418.
- [11] *Топузян В.О., Хачванкян Г.Ю., Шахбазян Л.В., Герасимьян Д.А.* // Хим.-фарм. ж., 1997, т. 31, №1, с. 25.
- [12] *Ellman G.L., Coutney K.D., Andres V. Jr and Feather-Stone R.M.* // Biochem. Pharmacol., 1961, v. 7, p. 88.