<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-25-31>
УДК 547.732.7; 544.165

Оригинальная статья / Research article

Целенаправленный синтез и анализ биологически активных азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида

А. С. Чиряпкин*, И. П. Кодониди, М. В. Ларский

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПМФИ, филиал ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России), 357532, Россия, г. Пятигорск-32, пр. Калинина, д. 11

*Контактное лицо: Чиряпкин Алексей Сергеевич. E-mail: alexey.chirapkin@yandex.ru

ORCID: А. С. Чиряпкин – <https://orcid.org/0000-0001-8207-2953>; И. П. Кодониди – <https://orcid.org/0000-0003-1333-3472>; М. В. Ларский – <https://orcid.org/0000-0002-4406-7165>.

Статья поступила: 11.02.2021

Статья принята в печать: 20.04.2021

Статья опубликована: 25.05.2021

Резюме

Введение. Азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида являются ациклическими предшественниками биологически активных соединений (БАС) производных 5,6,7,8-тетрагидро-3Н-бензотеофено[2,3-*d*]пиримидин-4-она. В литературе приведены примеры этих групп соединений, обладающих различными фармакологическими свойствами, однако главным образом описано их цитостатическое действие. Эти данные и препаративная доступность позволяют судить о перспективности дальнейшего изучения и молекулярного конструирования в ряду азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида. Оптимизация методов синтеза и анализа веществ данного ряда, а также выявление закономерностей «структура-активность» представляют значительный интерес для медицинской химии и фармацевтической науки. Полученные соединения-лидеры позволят в дальнейшем разработать лабораторный регламент синтеза активной фармацевтической субстанции.

Цель. Осуществить прогноз и оптимизировать методику синтеза и анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) фармакологически активных азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида.

Материалы и методы. Прогноз биологической активности осуществлялся посредством веб-ресурса PASS Online. Синтез целевых азометинов проводился взаимодействием ароматических альдегидов с 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидом в среде этанола. Контроль прохождения реакции проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Определение родственных примесей осуществлялось методом ВЭЖХ. Анализ проводился в условиях изократического элюирования подвижной фазой ацетонитрил – вода (70:30).

Результаты и обсуждение. Прогноз биологической активности позволил предположить проявление цитостатической, противотуберкулезной и противовоспалительной активности у целевых азометинов. Анализ реакционной способности выявил влияние заместителей, содержащихся в ароматическом ядре альдегидов, на полноту прохождения реакции конденсации. Спектральные характеристики однозначно подтвердили строение продуктов, а результаты ВЭЖХ показали чистоту полученных веществ, которая составляет более 96 %.

Заключение. В результате проведенных исследований было обосновано строение перспективных азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида, оптимизирована их методика синтеза и анализа посредством ВЭЖХ. Результаты исследований позволяют в дальнейшем выявить соединения-лидеры с заданными фармакологическими свойствами и использовать полученные закономерности «структура-активность» в дальнейшем молекулярном конструировании БАС.

Ключевые слова: азометины, 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида, молекулярное конструирование, PASS, синтез азометинов, реакция присоединения – отщепления, ВЭЖХ

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. С. Чиряпкин произвел синтез, установление структуры и количественный анализ методом ВЭЖХ. И. П. Кодониди создал дизайн исследования, осуществил установление структуры полученных соединений и анализ реакционной способности исходных соединений. М. В. Ларский произвел изучение чистоты продуктов ВЭЖХ и интерпретацию полученных данных. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании статьи.

Благодарность. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90060.

Для цитирования: Чиряпкин А. С., Кодониди И. П., Ларский М. В. Целенаправленный синтез и анализ биологически активных азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(2):25–31. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-25-31>

Targeted Synthesis and Analysis of Biologically Active Azomethine Derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide

Alexey S. Chirapkin*, Ivan P. Kodonidi, Mikhail V. Larsky

Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinina av., Pyatigorsk-32, 357532, Russia

*Corresponding author: Alexey S. Chirapkin. E-mail: alexey.chirapkin@yandex.ru

ORCID: Alexey S. Chirapkin – <https://orcid.org/0000-0001-8207-2953>; Ivan P. Kodonidi – <https://orcid.org/0000-0003-1333-3472>; Mikhail V. Larsky – <https://orcid.org/0000-0002-4406-7165>.

Received: 11.02.2021

Revised: 20.04.2021

Published: 25.05.2021

© Чиряпкин А. С., Кодониди И. П., Ларский М. В., 2021

© Chirapkin A. S., Kodonidi I. P., Larsky M. V., 2021

Abstract

Introduction. Azomethine derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide are acyclic precursors of biologically active compounds derived from 5,6,7,8-tetrahydro-3H-benzothieno[2,3-d]pyrimidine-4-one. Examples of these groups of compounds with different pharmacological properties are given in the literature, but their cytostatic effect is mainly described. These data and the preparative availability allow us to judge the prospects for further study and molecular design in a number of azomethine derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide. Optimization of methods for the synthesis and analysis of substances of this series and the identification of structure-activity relationship are of considerable interest for medical chemistry and pharmaceutical science. The resulting leading compounds will allow us to further develop laboratory requirements for the synthesis of an active pharmaceutical substance.

Aim. To make a predict, optimize the synthesis conditions and develop a method for high performance liquid chromatography (HPLC) analysis of pharmacologically active azomethine derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide.

Materials and methods. The prediction of biological activity was carried out through the web resource PASS Online. The synthesis of the target azomethines was carried out by the interaction of aromatic aldehydes with 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide in an ethanol. The reaction was monitored by thin-layer chromatography (TLC). The determination of related impurities was done by HPLC. The analysis was carried out under the conditions of isocratic elution with a mobile phase of acetonitrile – water (70:30).

Results and discussion. The results of the prediction of the biological activity of the constructed structures suggest the manifestation of cytostatic, antitubercular and anti-inflammatory activity characteristic of all target azomethines. The analysis of the reactivity revealed the influence of substituents of aldehydes contained in the aromatic core on the completeness of the condensation reaction. The spectral characteristics clearly confirmed the structure of the products, and the HPLC results showed the purity of the obtained substances, which is more than 95 %.

Conclusion. As a result of the conducted studies, the structure of promising azomethine derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide was justified and the method of their synthesis and analysis by HPLC was optimized. In the future, the results of the research will allow us to identify the leading compounds with the specified pharmacological properties.

Keywords: azomethines, 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide, molecular design, PASS, synthesis of azomethines, addition – elimination reaction, HPLC

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Alexey S. Chiriapkin performed synthesis, structural determination and quantitative analysis by HPLC method. Ivan P. Kodonidi created research design, determination of the structure of the obtained compounds and analysis of the reactivity of the initial compounds. Mikhail V. Larsky studied of the purity of products by HPLC method and interpretation of the obtained results. All the authors participated in the discussion of the results and the writing of the article.

Acknowledgment. The reported study was funded by RFBR, project number 20-315-90060.

For citation: Chiriapkin A. S., Kodonidi I. P., Larsky M. V. Targeted synthesis and analysis of biologically active azomethine derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv* = Drug development & registration. 2021;10(2):25–31. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-25-31>

ВВЕДЕНИЕ

Азометины – это класс органических соединений, которые получаются в результате конденсации альдегидов с первичными ароматическими аминами. Особый интерес представляют азометины 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды в связи с их высокой биологической активностью. В настоящее время известны методики конденсации 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов с ароматическими альдегидами, приводящие к образованию соответствующих азометинов. Например, украинский коллектив ученых получал их путем взаимодействия 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов с соответствующими альдегидами в среде кипящего толуола. Эти структуры можно рассматривать как ациклические предшественники пиримидин-4-она. Дальнейшая их циклизация приводит к получению 2-замещенных производных 5,6,7,8-тетрагидро-3H-бензотиофено[2,3-d]пиримидин-4-она [1]. Производные этих групп соединений обладают цитостатической активностью [2], подавляют

рост опухолевых клеток [3], проявляют противовоспалительную активность [4]. Исследования производных тиофенопиримидина с различными сопряженными циклическими системами показали, что модификация 6,7,8-тетрагидро-3H-бензотиофено[2,3-d]пиримидин-4-она путем замены сопряженного циклогексана на 1-метилпиперидин приводит к увеличению противонкологических свойств у соединений в отношении рака молочной железы [5]. Установлено, что азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов ингибируют протеинкиназу G из *Mycobacterium tuberculosis* [6] и фактор роста фибробластов [7]. У азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов, полученных с использованием триэтилортоформата и 4-хлорбензальдегида, выявлены антибактериальные свойства в отношении *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* [8]. Стоит отметить, что азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов зачастую не выделяют как промежуточные продукты реакции получения их тиофе-

нопиримидинов [2, 5, 9], а данные соединения могут оказаться не менее биологически активными соединениями (БАС).

Таким образом, оптимизация методов синтеза уже полученных соединений, а также синтез новых представителей данного ряда, разработка методов их анализа и выявление закономерностей «структура-активность» представляют значительный интерес для медицинской химии и фармацевтической науки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прогноз. Структурные формулы моделируемых соединений были построены в программе BIOVIA Draw 17.2. Компьютерный прогноз биологической активности моделируемых соединений осуществлен посредством веб-ресурса PASS Online [10]. Результат был представлен в виде величины вероятности P_a «быть активным» для различных видов биологического действия у моделируемых соединений, максимальное возможное значение которого 100 %. Далее осуществлялся анализ полученных данных спектра биологической активности азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида с целью выбора наиболее вероятных видов биологического действия.

Анализ. Температуру плавления веществ ($T_{пл.}$) измеряли на приборе ПТП (М). Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили с использованием пластин Sorbfil для тонкослойной хроматографии. Ультрафиолетовые спектры (УФ-спектры) измеряли на приборе СФ-2000, а инфракрасные спектры (ИК-спектры) на ИК Фурье-спектрометре ФСМ 1201 (ООО «ОКБ Спектр», Россия). Протонные спектры ядерного магнитного резонанса (1H ЯМР-спектры) фиксировали на приборе Bruker Avance III 400 МГц (Bruker, Германия). Анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проводили на хроматографе «Стайер» (АО «Аквилон», Россия), снабженном УФ-детектором UVV-104M (АО «Аквилон», Россия).

Условия определения посторонних примесей в анализируемых образцах с помощью ВЭЖХ: хроматографическая колонка Luna C18 150 × 4,6 мм (Phenomenex, США) с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и воды для ВЭЖХ в объемном соотношении компонентов 70:30, продолжительность анализа 30 минут, температура колонки 25 °С, объем пробы 20 мкл, длина волны детектирования 210 нм. В указанных условиях проводили хроматографирование синтезированных и исходных веществ, а также подвижной фазы.

Приготовление испытуемых растворов. 0,01 г субстанции (точная навеска) растворяли в подвижной фазе, используя мерную колбу вместимостью 50 мл. Переносили 5 мл полученного раствора в мерную колбу вместимостью 25 мл, после чего объем раствора доводили до метки подвижной фазой. По-

лученный раствор фильтровали через нейлонный мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, после чего проводили анализ.

Синтез. Общая методика синтеза азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида. Смесь из 0,01 моля (1,92 г) соединения **1** и эквимолярного количества соответствующего альдегида (**2**) (в случае соединения **3e** 0,012 моля) растворяли при слабом кипячении в 30 мл 96%-го этилового спирта. Реакцию проводили при перемешивании в течение 30–60 минут. Целевой продукт реакции с ванилином дополнительно осаждали водой. При охлаждении реакционной среды образуется осадок, который отфильтровывали и очищали перекристаллизацией из этанола.

2-[бензилиденамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3a**).**

Продукт реакции представляет собой желтое мелкокристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 93 %. $R_f = 0,879$ [БУВ (бутанол-1 : уксусная кислота : вода) – 4:1:5]. $T_{пл.} = 195–198$ °С (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 205, 240, 289, 387 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3372 (NH), 3168 (NH), 1636 (C=O), 1616 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.85–1.66 (м, 4H, CH_2); 2.72 (к, $J = 7.4$ Гц, 4H, CH_2); 7.45 (с, 1H, ArH); 7.59–7.50 (м, 3H, ArH); 7.92 (дт, $J = 7.7$, 2.5 Гц, 2H, NH, ArH); 8.03 (с, 1H, NH); 8.54 (д, $J = 2.4$ Гц, 1H, N=CH).

2-[(2-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3b**).**

Продукт реакции представляет собой желтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 79 %. $R_f = 0,865$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 215–219$ °С (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 210, 241, 286, 384 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3283 (NH), 3186 (NH), 1647 (C=O), 1617 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$): δ , м.д.: 1.75 (дд, $J = 19.7$, 11.5 Гц, 4H, CH_2); 2.66 (дт, $J = 37.7$, 5.8 Гц, 4H, CH_2); 6.95 (т, $J = 7.8$ Гц, 2H, ArH); 7.46–7.34 (м, 1H, ArH); 7.53 (с, 1H, ArH); 7.69 (дд, $J = 7.7$, 1.8 Гц, 1H, NH); 7.90 (с, 1H, NH); 8.66 (д, $J = 2.4$ Гц, 1H, N=CH); 11.81 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, OH).

2-[(4-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3c**).**

Продукт реакции представляет собой светло-коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 74 %. $R_f = 0,851$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 229–233$ °С (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 206, 242, 306, 393 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3407 (NH), 3283 (NH), 1647 (C=O), 1597 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.85–1.62 (м, 4H, CH_2); 2.71 (дт, $J = 32.6$, 6.4 Гц, 4H, CH_2); 7.00–6.81 (м, 2H, ArH); 7.36 (с, 1H, ArH); 7.76–7.78 (д, $J = 8.2$ Гц, 2H, NH, ArH); 8.18 (с, 1H, NH); 8.41 (с, 1H, N=CH); 10.36 (с, 1H, OH).

2-[(4-гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3d).

Продукт реакции представляет собой желтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 80 %. $R_f = 0,853$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 223–225$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 204, 251, 302, 392 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3530 (ОН), 3372 (NH), 3171 (NH), 1628 (C=O), 1582 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.74 (дт, $J = 24.1$, 7.2 Гц, 4H, CH_2); 2.71 (дт, $J = 30.4$, 6.3 Гц, 4H, CH_2); 3.85 (д, $J = 3.2$ Гц, 3H, CH_3); 6.92 (дд, $J = 8.2$, 3.2 Гц, 1H, ArH); 7.46–7.33 (м, 2H, ArH); 7.48 (д, $J = 1.8$ Гц, 1H, NH); 8.29–8.04 (м, 1H, NH); 8.40 (д, $J = 2.9$ Гц, 1H, N=CH); 10.00 (с, 1H, OH).

2-[(3-гидрокси-4-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3e).

Продукт реакции представляет собой желтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 79 %. $R_f = 0,818$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 201–204$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 204, 252, 301, 394 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3461 (ОН), 3291 (NH), 3133 (NH), 1651 (C=O), 1597 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.81–1.67 (дт, $J = 24.1$, 7.2 Гц, 4H, CH_2); 2.72 (дт, $J = 28.7$, 6.3 Гц, 4H, CH_2); 3.86 (д, $J = 2.4$ Гц, 3H, CH_3); 6.89 (д, $J = 30.4$, 1H, ArH); 6.92 (дд, $J = 8.2$, 3.2 Гц, 1H, ArH); 7.47–7.31 (м, 2H, NH, ArH); 8.14 (с, 1H, NH); 8.37 (д, $J = 2.3$ Гц, 1H, N=CH); 9.49 (с, 1H, OH).

2-[(2-гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3f).

Продукт реакции представляет собой желтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 77 %. $R_f = 0,838$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 238–241$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 205, 220, 293, 387 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3457 (ОН), 3345 (NH), 3171 (NH), 16671 (C=O), 1605 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.92–1.59 (м, 4H, CH_2); 2.66 (дт, $J = 37.1$, 5.9 Гц, 4H, CH_2); 3.83 (с, 3H, CH_3); 6.90 (т, $J = 7.9$ Гц, 1H, CH); 7.12 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H, CH); 7.28 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H, CH); 7.52 (с, 1H, NH); 7.87 (с, 1H, NH); 8.66 (с, 1H, N=CH); 11.68 (с, 1H, OH).

2-[(2,4-дигидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3g).

Продукт реакции представляет собой желтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 71 %. $R_f = 0,831$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 207–211$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 205, 257, 297, 392 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3399 (ОН), 3360 (NH), 3164 (NH), 1640 (C=O), 1597 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.89–1.55 (м, 4H, CH_2); 2.64 (дт, $J = 29.1$, 5.9 Гц, 4H, CH_2); 6.31 (д, $J = 2.3$ Гц, 1H, ArH); 6.39 (дд, $J = 8.6$, 2.2 Гц, 1H, ArH); 7.43 (с, 1H, ArH); 7.50 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, NH); 7.87 (с, 1H, NH); 8.51 (с, 1H, N=CH); 10.31 (с, 1H, OH); 11.98 (с, 1H, OH).

2-[*n*-толилиметиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3h).

Продукт реакции представляет собой желтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 95 %. $R_f = 0,853$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 197–199$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 205, 242, 294, 383 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3384 (NH), 3183 (NH), 1636 (C=O), 1586 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.74 (дд, $J = 24.1$, 7.5 Гц, 4H, CH_2); 2.39 (д, $J = 2.4$ Гц, 3H, CH_3); 2.71 (дт, $J = 14.1$, 6.0 Гц, 4H, CH_2); 7.48–7.31 (м, 3H, ArH); 7.81 (дд, $J = 8.4$, 2.3 Гц, 2H, NH, ArH); 8.07 (с, 1H, NH); 8.50 (д, $J = 2.4$ Гц, 1H, N=CH).

2-[(4-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3i).

Продукт реакции представляет собой желтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 77 %. $R_f = 0,895$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 186–190$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 205, 243, 294, 383 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3372 (NH), 3183 (NH), 1640 (C=O), 1586 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.86–1.63 (м, 4H, CH_2); 2.71 (дт, $J = 29.8$, 6.3 Гц, 4H, CH_2); 3.85 (д, $J = 1.3$ Гц, 3H, CH_3); 7.15–7.03 (м, 2H, ArH); 7.39 (с, 1H, ArH); 7.94–7.79 (м, 2H, NH, ArH); 8.20–8.09 (м, 1H, NH); 8.45 (с, 1H, N=CH).

2-[(5-третбутил-2-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3k).

Продукт реакции представляет собой желтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 79 %. $R_f = 0,883$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 176–180$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 213, 243, 289, 390 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3411 (ОН), 3291 (NH), 3164 (NH), 1667 (C=O), 1605 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.29 (с, 9H, CH_3); 1.83–1.69 (м, 4H, CH_2); 2.65 (дд, $J = 38.9$, 6.2 Гц, 4H, CH_2); 6.88 (д, $J = 8.6$ Гц, 1H, ArH); 7.44 (дд, $J = 8.6$, 2.5 Гц, 1H, ArH); 7.54 (с, 1H, ArH); 7.70 (д, $J = 2.5$ Гц, 1H, NH); 7.88 (с, 1H, NH); 8.67 (с, 1H, N=CH); 11.66 (с, 1H, OH).

2-[(2-фурил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3l).

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 93 %. $R_f = 0,868$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 187–191$ °C (перекристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), λ_{max} : 205, 245, 307, 397 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3399 (NH), 3191 (NH), 1644 (C=O), 1613 (C=N) cm^{-1} . Спектр 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.85–1.65 (м, 4H, CH_2); 2.72 (дт, $J = 31.2$, 6.2 Гц, 4H, CH_2); 6.84–6.71 (м, 1H, ArH); 7.29 (дд, $J = 7.0$, 3.2 Гц, 1H, ArH); 7.41 (с, 1H, ArH); 8.12–7.99 (м, 1H, NH); 8.31 (д, $J = 16.3$ Гц, 2H, N=CH, NH).

2-[(5-метил-2-фурил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (3m).

Продукт реакции представляет собой желтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 88 %. $R_f = 0,868$ (БУВ – 4:1:5). $T_{пл.} = 175–177$ °C (пере-

кристаллизация из этанола). УФ-спектр (этанол), $\lambda_{\max}$: 205, 243, 313, 398 нм. ИК-спектр (вазелиновое масло): 3364 (NH), 3175 (NH), 1647 (C=O), 1613 (C=N) см^{-1} . Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6), δ , м.д.: 1.82–1.64 (м, 4H, CH_2); 2.41 (с, 3H, CH_3); 2.71 (дт, $J=36.5$, 6.2 Гц, 4H, CH_2); 6.42 (д, $J=3.4$ Гц, 1H, ArH); 7.20 (д, $J=3.5$ Гц, 1H, ArH); 7.38 (с, 1H, NH); 8.26 (д, $J=39.1$ Гц, 2H, $\text{N}=\text{CH}$, NH).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам прогноза биологической активности (таблица 1) все соединения характеризуются ингибирующей активностью тиол-протеазы. Известно, что цистеиновые протеазы вовлекаются в широкий ряд патологических процессов. Основными процессами являются сердечно-сосудистые заболевания, воспалительные процессы, вирусные заболевания и нарушения иммунологических процессов [11]. Практически все прогнозируемые азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды могут обладать выраженной противотуберкулезной активностью. Ингибирование фермента гистоновой деацетилазы SIRT1 III класса в раковых клетках показало выраженный противоопухолевый эффект на моделях рака у животных [12], соответственно можно ожидать цитостатические свойства исследуемых веществ, кроме фурил производных. Метаболические процессы организма можно регулировать путем влияния на усиление экспрессии гена HMGCS2. Прогнозируемое влия-

ние соединений на синтез белка Mcl-1 может оказывать противоопухолевое действие и использоваться для лечения миелолейкоза [13]. Вероятность проявления противовоспалительных свойств у моделируемых соединений значительно меньшая в отличие от предыдущих видов биологической активности, а производные азометинов, содержащие 2-гидрокси-3-метоксифенильный и фуриловые фрагменты, предположительно мало активны.

Синтез амидов протекает по классическому механизму нуклеофильного присоединения – отщепления, поэтому первая стадия подразумевает нуклеофильную атаку частично положительного атома углерода карбонильной группы. Дальнейшая стабилизация аддукта протекает отщеплением воды. Соответственно на прохождение первой стадии реакции должен влиять зарядовый контроль, т. е. величина частично положительного заряда на углероде альдегидной группы. В свою очередь, на его величину влияют заместитель ароматического ядра бензальдегидов. Снижение электронной плотности электронодонорными заместителями на атоме углерода альдегидной группы приводит к дезактивированию нуклеофильной атаки и, как следствие, уменьшению выходов целевого продукта.

Исходя из этого можно объяснить заниженные выходы в реакциях с участием бензальдегидов, содержащих ярко выраженные электронодонорные заместители, особенно в орто- и пара-положениях (рисунки 1, таблица 2).

Таблица 1. Результаты прогноза биологической активности веб-ресурса PASS Online

Table 1. Results of predict of the biological activity by the PASS Online web resource

Соединение Compound	Вид биологической активности Type of biological activity							
	Ингибитор тиол-протеазы Thiol protease inhibitor	Противотуберкулезная Antituberculous	Усилитель экспрессии HMGCS2 HMGCS2 expression enhancer	Антимикобактериальная Antimycobacterial	Ингибитор гистондеацетилазы SIRT1 Histone deacetylase SIRT1 inhibitor	Антагонист Mcl-1 Mcl-1 antagonist	Ингибитор гистондеацетилазы III класса Histone deacetylase class III inhibitor	Противовоспалительная Antiinflammatory
	Р _а – вероятность проявления активности, % The probability of activity, %							
3a	80,4	80,2	77,9	73,5	68,4	63,7	59,9	52,4
3b	79,9	83,5	81,9	77,3	63,5	64,1	62,6	52,1
3c	77,8	81,6	74,2	75,0	62,5	58,7	55,9	52,9
3d	74,0	82,5	68,2	74,0	51,5	54,8	47,7	52,7
3e	74,0	82,5	68,2	74,0	51,5	54,8	47,7	52,7
3f	77,5	80,9	78,3	75,1	54,2	63,3	54,9	47,4
3g	79,6	82,1	80,3	76,6	61,3	63,7	61,0	53,3
3h	79,0	80,3	75,1	74,0	62,1	60,4	56,3	52,7
3i	76,9	79,0	72,5	74,1	50,8	55,2	50,8	50,2
3k	78,0	78,4	75,8	69,3	52,7	51,2	57,0	57,7
3l	79,6	82,2	91,3	77,2	54,0	81,6	38,5	45,4
3m	77,8	67,7	86,3	55,7	46,4	72,2	39,9	47,2

Рисунок 1. Реакция взаимодействия 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксиамида с альдегидами

Figure 1. Reaction of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide with aldehydes

ВЭЖХ-анализ с детектированием при неспецифичной длине волны 210 нм показал удовлетворительное разделение синтезированных соединений и посторонних примесей.

В выбранных условиях определения соблюдались приемлемые характеристики хроматографических пиков всех целевых соединений: эффективность – от 5000 до 7900 теоретических тарелок, коэффициент асимметрии для соединений не превышает 1,5.

Предварительное изучение УФ-светопоглощения растворов синтезированных соединений и исходных веществ в подвижной фазе при 210 нм позволило заключить, что фактор отклика детектора в отношении потенциальных примесных соединений не выходит за границы диапазона 0,8–1,2. Это, в свою очередь, позволило использовать метод внутренней нормализации для оценки содержания целевых веществ и посторонних примесей в синтезированных субстанциях [14]. При расчете не учитывали площади пиков, полученных при хроматографировании подвижной фазы. Результаты оценки чистоты синтезированных субстанций представлены в таблице 2.

Как следует из представленных результатов, целевые соединения обладают высокой чистотой, что важно для проведения первичного фармакологического скрининга и создания лабораторного регламента получения активной фармацевтической субстанции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате компьютерного прогноза и последующего синтеза получен ряд азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксиамида. Высокие выходы продуктов, технологическая простота и экологическая безопасность позво-

ляют оценить перспективность использования оптимизированных условий синтеза азометиновых производных для получения активной фармацевтической субстанции.

Таблица 2. Результаты оценки чистоты анализируемых соединений методом ВЭЖХ

Table 2. Results of the evaluation of the purity of the analyzed compounds by HPLC

Соединение Compound	Выход, % Yield, %	Содержание целевого компонента, % Content of the target component, %	Относительное время удерживания пика основного соединения, мин The relative retardation time of the peak of the primary compound, min
3a	93	96,6	6,79
3b	79	98,0	2,06
3c	74	97,5	3,00
3d	80	99,1	3,52
3e	79	97,1	3,62
3f	77	96,2	3,01
3g	71	96,2	1,72
3h	95	99,5	9,09
3i	77	98,8	6,93
3k	79	98,7	6,06
3l	93	97,6	4,66
3m	88	98,8	6,02

Представляется целесообразным исследование фармакологической активности синтезированных соединений и дальнейшее изучение взаимосвязи «структура-активность» соединений данного ряда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dzhavakhishvili S. G., Gorobets N. Yu., Musatov V. I., Desenko S. M., Paponov B. V. Three possible products from the reactions of gewald's amide with aromatic aldehydes. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2008;45(2):573–577. DOI: 10.1002/jhet.5570450243.
2. Amawi H., Hussein N., Boddu S. H. S., Karthikeyan C., Williams F. E., Ashby C. R., Raman D., Trivedi P., Tiwari A. K. Novel Thienopyrimidine Derivative, RP-010, Induces β -Catenin Fragmentation and Is Efficacious against Prostate Cancer Cells. *Cancers*. 2019;11(5):711. DOI: 10.3390/cancers11050711.
3. Wang Y. D., Johnson S., Powell D., McGinnis J. P., Miranda M., Rabindran S. K. Inhibition of tumor cell proliferation by thieno[2,3-d]pyrimidin-4(1h)-one-based analogs. *Bioorganic and medicinal chemistry letters*. 2005;15(16):3763–3766. DOI: 10.1016/j.bmcl.2005.05.127.
4. Zhang Y., Luo L., Han C., Lv H., Chen D., Shen G., Wu K., Pan S., Ye F. Design, Synthesis, and Biological Activity of Tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidine Derivatives as Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*. 2017;22(11):1960. DOI: 10.3390/molecules22111960.
5. Ouyang L., Zhang L., Liu J., Fu L., Yao D., Zhao Y., Zhang S., Wang G., He G., Liu B. Discovery of a small-molecule bromodomain-containing protein 4 (BRD4) inhibitor that induces AMP-activated protein kinase-modulated autophagy-associated cell death in breast cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(24):9990–10012. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00275.
6. Missio A., Bacher G., Koul A., Choidas A., inventors; Axxima Pharmaceuticals AG., assignee. 4,5,6,7-Tetrahydrobenzo[B] thiophene derivatives and methods for medical intervention against mycobacterial infections. United States patent US 20090018149. 2009 Jan 15.
7. Zhu W., Chen H., Wang Y., Wang J., Peng X., Chen X., Gao Y., Li C., He Y., Ai J., Geng M., Zheng M., Liu H. Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Novel Multisubstituted Pyridin-3-amine Derivatives as Multitargeted Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(14):6018–6035. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00076.
8. El-Sharief A. M. Sh., Micky J. A. A., Shmeiss N. A. M. M., El-Gharieb G. Synthesis and Reactions of Some Tetrahydrobenzothieno[2,3-d] Pyrimidine Derivatives with Biological Interest. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*. 2003;178(3):439–451. DOI: 10.1080/10426500307912.
9. Ghayour F., Reza M., Shafiee M., Ghashang M. ZnO-CeO₂ nanocomposite: efficient catalyst for the preparation of thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-one derivatives. *Main Group Metal Chemistry*. 2018;41(1–2):21–26. DOI: 10.1515/mgmc-2017-0038.
10. Филимонов Д. А., Дружилловский Д. С., Лагунин А. А., Глоризова Т. А., Рудик А. В., Дмитриев А. В., Погодин П. В., Пороиков В. В. Компьютерное прогнозирование спектров биологической активности химических соединений: возможности и ограничения. *Биомедицинская химия: исследования и методы*. 2018;1(1):e00004. DOI: 10.18097/bmcr00004.
11. Leung-Toung R., Zhao Ya., Li W., Tam T., Karimian K., Spino M. Thiol Proteases: Inhibitors and Potential Therapeutic Targets. *Current Medicinal Chemistry*. 2006;13(5):547–581. DOI: 10.2174/092986706776055733.
12. Liu T., Liu P. Y., Marshall G. M. The Critical Role of the Class III Histone Deacetylase SIRT1 in Cancer. *Cancer Research*. 2009;69(5):1702–1705. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3365.
13. Song K.-A., Hosono Ya., Turner C., Jacob S., Lochmann T. L., Murakami Y., Patel N. U., Ham J., Hu B., Powell K. M., Coon C. M., Windle B. E., Oya Y., Koblinski J. E., Harada H., Levenson J. D., Souers A. J., Hata A. N., Boikos S., Yatabe Ya., Ebi H., Faber A. C. Increased Synthesis of MCL-1 Protein Underlies Initial Survival of EGFR-Mutant Lung Cancer to EGFR Inhibitors and Provides a Novel Drug Target. *Clinical Cancer Research*. 2018;24(22):5658–5672. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0304.
14. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Т. I. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018. С. 845–872. Доступно по: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html. Ссылка активна на 20.02.2021.

REFERENCES

1. Dzhavakhishvili S. G., Gorobets N. Yu., Musatov V. I., Desenko S. M., Paponov B. V. Three possible products from the reactions of gewald's amide with aromatic aldehydes. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2008;45(2):573–577. DOI: 10.1002/jhet.5570450243.
2. Amawi H., Hussein N., Boddu S. H. S., Karthikeyan C., Williams F. E., Ashby C. R., Raman D., Trivedi P., Tiwari A. K. Novel Thienopyrimidine Derivative, RP-010, Induces β -Catenin Fragmentation and Is Efficacious against Prostate Cancer Cells. *Cancers*. 2019;11(5):711. DOI: 10.3390/cancers11050711.
3. Wang Y. D., Johnson S., Powell D., McGinnis J. P., Miranda M., Rabindran S. K. Inhibition of tumor cell proliferation by thieno[2,3-d]pyrimidin-4(1h)-one-based analogs. *Bioorganic and medicinal chemistry letters*. 2005;15(16):3763–3766. DOI: 10.1016/j.bmcl.2005.05.127.
4. Zhang Y., Luo L., Han C., Lv H., Chen D., Shen G., Wu K., Pan S., Ye F. Design, Synthesis, and Biological Activity of Tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidine Derivatives as Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*. 2017;22(11):1960. DOI: 10.3390/molecules22111960.
5. Ouyang L., Zhang L., Liu J., Fu L., Yao D., Zhao Y., Zhang S., Wang G., He G., Liu B. Discovery of a small-molecule bromodomain-containing protein 4 (BRD4) inhibitor that induces AMP-activated protein kinase-modulated autophagy-associated cell death in breast cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(24):9990–10012. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00275.
6. Missio A., Bacher G., Koul A., Choidas A., inventors; Axxima Pharmaceuticals AG., assignee. 4,5,6,7-Tetrahydrobenzo[B] thiophene derivatives and methods for medical intervention against mycobacterial infections. United States patent US 20090018149. 2009 Jan 15.
7. Zhu W., Chen H., Wang Y., Wang J., Peng X., Chen X., Gao Y., Li C., He Y., Ai J., Geng M., Zheng M., Liu H. Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Novel Multisubstituted Pyridin-3-amine Derivatives as Multitargeted Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(14):6018–6035. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00076.
8. El-Sharief A. M. Sh., Micky J. A. A., Shmeiss N. A. M. M., El-Gharieb G. Synthesis and Reactions of Some Tetrahydrobenzothieno[2,3-d] Pyrimidine Derivatives with Biological Interest. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*. 2003;178(3):439–451. DOI: 10.1080/10426500307912.
9. Ghayour F., Reza M., Shafiee M., Ghashang M. ZnO-CeO₂ nanocomposite: efficient catalyst for the preparation of thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-one derivatives. *Main Group Metal Chemistry*. 2018;41(1–2):21–26. DOI: 10.1515/mgmc-2017-0038.
10. Filimonov D. A., Druzhilovskiy D. S., Lagunin A. A., Glorizova T. A., Rudik A. V., Dmitriev A. V., Pogodin P. V., Poroikov V. V. Computer-aided prediction of biological activity spectra for chemical compounds: opportunities and limitations. *Biomedical Chemistry: Research and Methods*. 2018;1(1):e00004. (In Russ.) DOI: 10.18097/bmcr00004.
11. Leung-Toung R., Zhao Ya., Li W., Tam T., Karimian K., Spino M. Thiol Proteases: Inhibitors and Potential Therapeutic Targets. *Current Medicinal Chemistry*. 2006;13(5):547–581. DOI: 10.2174/092986706776055733.
12. Liu T., Liu P. Y., Marshall G. M. The Critical Role of the Class III Histone Deacetylase SIRT1 in Cancer. *Cancer Research*. 2009;69(5):1702–1705. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3365.
13. Song K.-A., Hosono Ya., Turner C., Jacob S., Lochmann T. L., Murakami Y., Patel N. U., Ham J., Hu B., Powell K. M., Coon C. M., Windle B. E., Oya Y., Koblinski J. E., Harada H., Levenson J. D., Souers A. J., Hata A. N., Boikos S., Yatabe Ya., Ebi H., Faber A. C. Increased Synthesis of MCL-1 Protein Underlies Initial Survival of EGFR-Mutant Lung Cancer to EGFR Inhibitors and Provides a Novel Drug Target. *Clinical Cancer Research*. 2018;24(22):5658–5672. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0304.
14. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii [State Pharmacopoeia of Russian Federation]. XIV edition. V. I. Moscow: Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii; 2018. P. 845–872. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 20.02.2021. (In Russ.)