

На правах рукописи

Тюнева Инесса Валентиновна

**СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА  
РЯДА НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИОФЕНА**

Специальность 02.00.03 - органическая химия

**Автореферат**

диссертации на соискание учёной степени

кандидата химических наук

**Ярославль — 2004**

Работа выполнена в Ярославском государственном педагогическом университете им. К. Д. Ушинского на кафедре органической химии

Научный руководитель - доктор химических наук, профессор  
Дорогов Михаил Владимирович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор  
Казин Вячеслав Николаевич  
кандидат химических наук, доцент  
Кузнецов Михаил Михайлович

Ведущая организация - Ивановский государственный химико-технологический университет, г. Иваново

Защита состоится « 18 » июня <sup>В 16<sup>00</sup></sup> 2004 г. на заседании диссертационного совета К 212.002.01 в Ярославском государственном университете им. П.Г. Демидова по адресу: 150057, г. Ярославль, проезд Матросова,9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ярославского государственного университета им. П. Г. Демидова по адресу: 150000, г. Ярославль, ул. Полушкина роща, 1.

Автореферат разослан « 14 » мая 2004 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

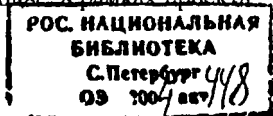


Швыркова Н. С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** На протяжении последних 30 лет фармацевтическая индустрия активно проводит поиск новых препаратов на основе соединений, содержащих в своей структуре тиофеновый фрагмент. Исследования в этой области привели к созданию эффективных лекарственных средств. Из литературных данных известны разнообразные субстанции, содержащие тиофеновый фрагмент - вещества с антиартритной активностью, физиологически активные вещества, препараты для лечения бронхиальной астмы, онкологических заболеваний и СПИДа, офтальмологические, противомикробные и психотропные средства. С другой стороны, известно, что для тиофена характерны такие свойства, как высокая устойчивость цикла к раскрытию, лёгкость введения различных заместителей путём проведения высокоселективных реакций электрофильного и нуклеофильного замещения, возможность проведения реакций присоединения по активным функциональным группам либо реакций отщепления "лишних" функциональных групп. Эти свойства продолжают создавать широкие исследовательские возможности для получения новых производных тиофена, которые могут обладать разнообразными фармакологически-значимыми видами активности.

Данная работа является частью научных исследований, проводимых на кафедре органической химии Ярославского государственного педагогического университета им. К.Д. Ушинского по теме "Разработка методов мультистадийного синтеза, изучение структуры и свойств оригинальных гетероциклических и карбоциклических соединений, пригодных для биохимических исследований" и выполненных в рамках договоров о научно-исследовательской работе с предприятием "Контакт-Сервис", г. Долгопрудный, Московской обл. (2000-2002 гг.), с химической компанией "Chemical Diversity Inc.", Сан-Диего, США (2003-2004 гг.) и в соответствии с Программой Министерства образования Российской Федерации "Научные исследования высшей школы по приоритетным направлениям науки и техники на 2003-2004 годы" в рамках проекта "Теоретиче-



ские основы получения функционализированных полиядерных ароматических соединений многоцелевого назначения" (договор о научно-исследовательской работе с Ярославским государственным университетом им. П. Г. Демидова).

### **Цели работы:**

1. Разработка методов получения, изучение строения и свойств ряда новых производных тиофена, удовлетворяющих современным требованиям медицинской органической химии и отличающихся широким структурным разнообразием за счёт варьирования фрагментов, связанных с тиофеновым циклом и реагентов, используемых на стадии комбинаторного синтеза.
2. Разработка метода виртуального отбора структур для первичного биологического тестирования, целенаправленный синтез отобранных соединений и испытания их биологической активности на определенной линии опухолевых клеток.

### **Научная новизна и практическая значимость работы**

Предложен ряд новых универсальных схем получения сульфопроизводных тиофена с возможностью использования широкого структурного разнообразия реагентов на стадиях промежуточного и комбинаторного синтеза.

Разработана схема получения 2-N-замещённых-5-нитротиофеинов, включающая стадии нитрования 2-бромтиофена и замещения атома брома в 2-бром-5-нитротиофене N-нуклеофилами гетероциклического строения.

Синтезировано 233 новых, ранее не описанных в литературе соединений - производных тиофена, которые идентифицированы совокупностью методов ЯМР<sup>1</sup>H-, ЯМР<sup>13</sup>C-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Отработана методика рационального виртуального отбора соединений для дальнейшего синтеза и испытания на определённый вид биологической активности. Синтезированные по результатам отбора соединения протестированы на проявление ингибиторной активности по отношению к Her-2 линии опухолевых клеток.

## **Публикации и апробация работы**

По теме работы опубликовано 5 статей в научных журналах и 3 тезисов докладов на российских и международных научных конференциях. Результаты работы были доложены на 4-ом Всероссийском симпозиуме по органической химии. "Органическая химия - упадок или возрождение?", Москва-Углич, 5-7 июля 2003; Международной конференции "Чтения Ушинского", Ярославль, март 2003; XL Всероссийской конференции по проблемам математики, информатики, физики, химии, Москва, 19-23 апреля 2004.

## **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработка методов получения новых производных тиофена, отличающихся большим структурным разнообразием за счет широкого варьирования реагентов на стадиях промежуточного и комбинаторного синтеза.
2. Доказательства строения синтезированных соединений.
3. Планирование синтеза новых производных тиофена с заданными свойствами на основе рациональных методов виртуального отбора и оценка их биологической активности как подтверждение актуальности исследований в выбранном синтетическом направлении.

## **. Структура работы**

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, химической и экспериментальной частей, выводов, списка использованной литературы и приложения. Работа изложена на 152 страницах, включает 34 схемы, 25 рисунков, 11 таблиц. Список литературы включает 120 источников.

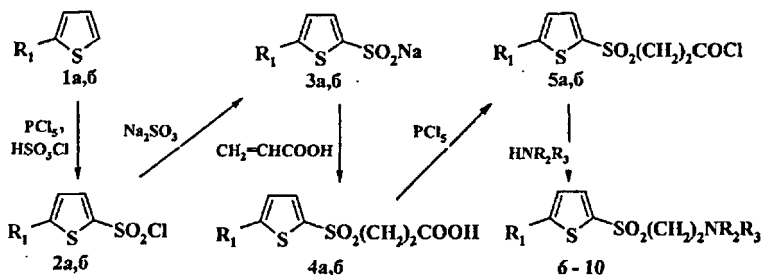
## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Разработка методов синтеза и строение ряда новых производных тиофена

В качестве исходных структур в данной работе выбраны тиофен и 2-бромтиофен - доступные коммерческие продукты, содержащиеся в торговых каталогах российских и зарубежных фирм — поставщиков органических соединений. Разработанные схемы синтеза направлены на получение соединений, отличающихся структурным разнообразием фрагментов, связанных с тиофеновым циклом и наличием активных функциональных групп. Применение разнообразных реагентов (первичных и вторичных аминов алифатического, жирноароматического, ароматического и гетероциклического строения) на стадии комбинаторного синтеза позволяет осуществлять получение широкого круга соединений - новых производных тиофена. При разработке схем учитывались требования, предъявляемые к химическим соединениям в рамках концепции "сходство с лидерами", согласно которым полученные соединения должны иметь определённые значения основных физико-химических дескрипторов, обладать значительным химическим разнообразием, минимальной токсичностью и канцерогенностью и не иметь множественной физиологической активности.

#### 1.1 (Тиофен-2-сульфонил)пропановые кислоты и их амидные производные

На схеме 1 представлена разработанная схема получения (тиофен-2-сульфонил)пропановых кислот **4a,b** и амидных производных **6-10**, заключающаяся в последовательном проведении сульфохлорирования тиофена **1a** (или 2-бромтиофена **1b**), получения соответствующих сульфатов **3a,b**, их взаимодействия с акриловой кислотой, превращения кислот **4a,b** в хлорангидриды **5a,b** и реакции последних с разнообразными первичными и вторичными аминами алифатического, жирноароматического, ароматического и гетероциклического строения.



$\text{R}_1 = \text{H}(\text{a}), \text{Br}(\text{b})$ .

$\text{HNR}_2\text{R}_3$  - первичные и вторичные амины алифатического, ароматического, жирноароматического и гетероциклического строения

Схема 1

Реакцию сульфохлорирования тиофена (2-бромтиофена) проводили в смеси хлорида фосфора (V) и хлорсульфоновой кислоты при температуре ниже 20 °С. Получение сульфидатов **3a,b** осуществлялось в водной среде при повышенной температуре с использованием сульфита натрия в качестве реагента и постоянном добавлении в реакционную массу раствора гидроксида натрия для поддержания реакционной среды на уровне  $\text{pH} > 8$ . Далее, для формирования сульфалканового фрагмента использовалась акриловая кислота. В данном случае, для проведения реакции необходима слабокислая среда, что достигалось путём добавления необходимого количества уксусной кислоты. Синтез кислот **4a,b** проводился при температуре 20 °С в течение 15 ч.

" Известно, что хлорангидриды карбоновых кислот являются эффективными ацилирующими агентами. В ходе апробирования различных методик установлено, что наиболее надёжным способом получения хлорангидридов кислот **4a,b** является обработка кислот хлоридом фосфора (V) в толуоле при повышенной температуре с последующей отгонкой растворителя. При осуществлении амидного синтеза с использованием аминов различного строения и различной основности установлено, что наиболее подходящей общей методикой, обеспечивающей высокую степень чистоты конечных продуктов и выход в 64-75 %, является проведение взаимодействия в среде осушенного ДМФА с добавлением пиридина. Использование пиридина объясняется тем, что данное соединение

является достаточным основанием для связывания хлороводорода, выделяющегося в процессе амидного синтеза. Наиболее эффективным соотношением реагентов, подобранным экспериментальным путём, является 10 %-ный избыток амина по отношению к хлорангидриду и, как минимум, двукратный (мольный) избыток пиридина по отношению к хлорангидридам 5а,б. В таблице 1 приведены результаты ряда амидных синтезов с использованием хлорангидридов 5а,б и различных аминов.

Таблица 1

Температура плавления и выход амидных производных кислот 4а,б

№	$\text{HNR}_2\text{R}_3$	Т пл., °С	Выход, %
<b>6а</b>	Циклогептиламин	104...5	75
<b>7а</b>	4-Метилбензиламин	117...9	67
<b>8б</b>	1-(5-Хлор-2-метилфенил)-пиперазин	134...5	78
<b>9а</b>	2,3-Диметилфениламин	131...3	63
<b>10б</b>	6-Метил-1,3-бензотиазол-2-амин	184...6	64

Строение синтезированных кислот **4а,б** и их амидных производных **6-10** подтверждены совокупными данными спектроскопии ЯМР. На основании данных ЯМР  $^1\text{H}$ -спектров были определены величины химических сдвигов (7,23-7,58 м.д. (H3), 6,78-7,25 м. д. (H4) и 6,90-7,78 м. д. (H5)) и значения констант спин-спинового взаимодействия ( $J_{3,4} = 3,2\text{-}4,5$  Гц,  $J_{4,5} = 4,2\text{-}5,2$  Гц) атомов водорода тиафенового фрагмента. Для полного установления структуры полученных соединений был снят двумерный корреляционный спектр  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  HSQC-соединения (6а), как наиболее типичного из данного ряда соединений (рис.1).

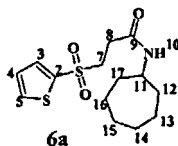


Рис. 1



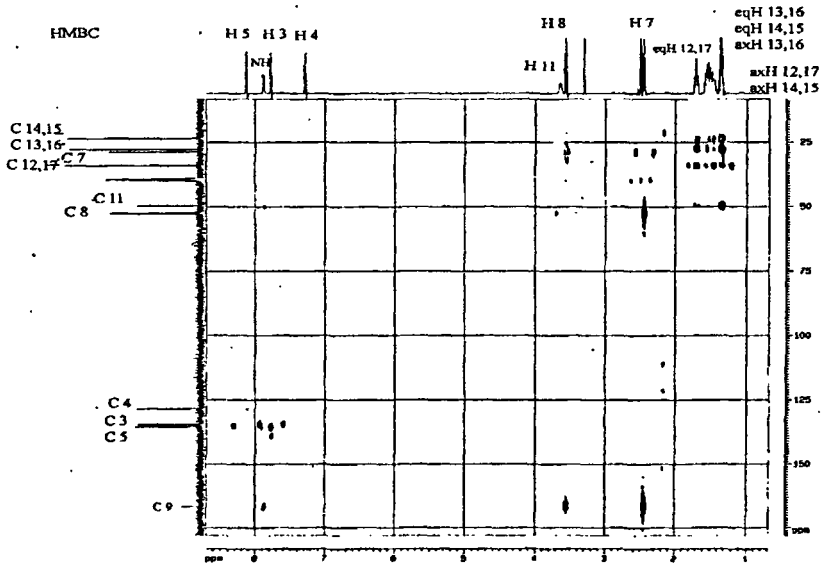
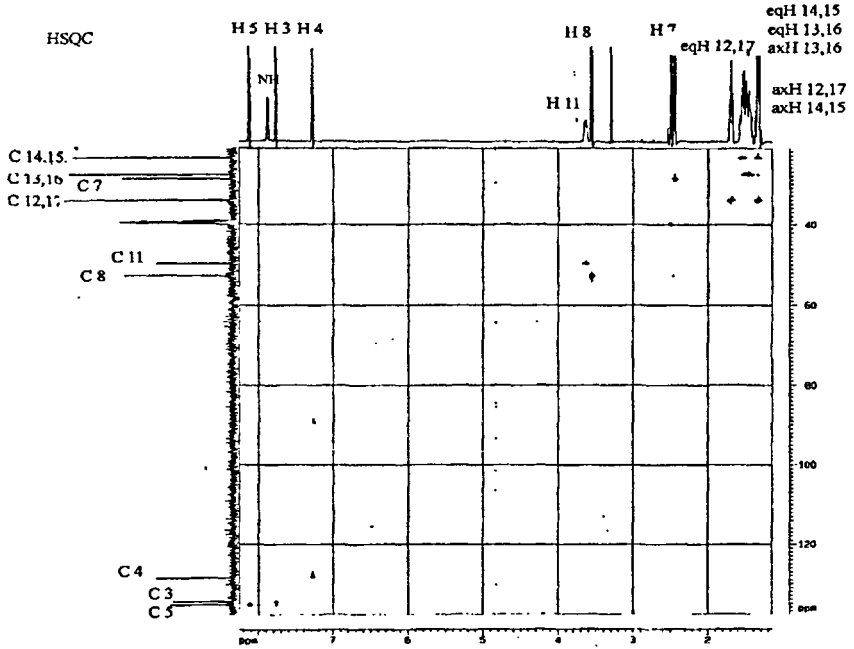


Рис.2. Двумерные  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  корреляционные спектры ЯМР для ба

По кросс-пикам спектра HSQC ба были точно определены значения химических сдвигов атомов водорода и углерода в тиофеновом фрагменте молекулы (рис.2).

Точное отнесение сигналов метиленовых протонов сульфопропанового фрагмента сделано на основании анализа кросс-пиков спектра HMBC (рис.2). Атом углерода метиленовой группы (C7) имеет только один интенсивный кросс-пик с протоном (H8), а атом углерода второй метиленовой группы (C8) содержит два сигнала, один из которых - интенсивный пик с протонами (H7), а другой - слабый сигнал с (H1). Поэтому наиболее сильнополюным триплетом (2,45 м.д) является сигнал метиленовой группы, связанной с сульфогруппой. Сигнал протонов метиленовой группы при карбонильной группе имеет значение 3,56 м.д.

Хлорангидриды 5а,б могут рассматриваться и как исходные соединения для иных вариантов структурной оптимизации. В частности, изучено взаимодействие хлорангидрида 5а с п-аминобензойной кислотой (схема 2).

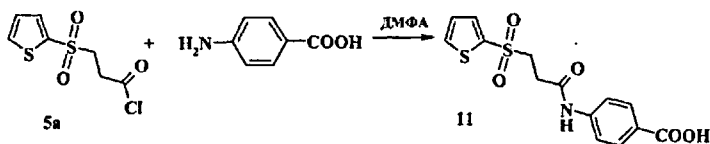


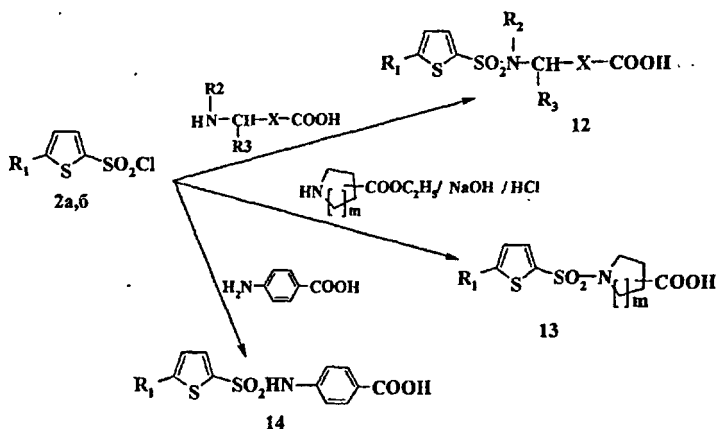
Схема 2

Установлено, что данная реакция гладко протекает в ДМФА при температуре 70 °С, а кислота 11 легко выделяется из водно-органической среды (выход 62%). Свободная карбоксильная группа в кислоте 11 также является потенциальным реакционным центром для амидного синтеза, приводящего к получению оригинальных структур, содержащих тиофеновый, сульфалкановый и аминокислотный фрагменты.

## 1.2 (Тиофен-2-сульфониламино)карбоновые кислоты и их амидные производные

Другой подход к синтезу новых производных тиофена заключается в получении (тиофен-2-сульфониламино)карбоновых кислот общих формул **12-14** (схема 3) на основе линейных алифатических аминокислот, сложных эфиров аминокислот гетероциклического строения и *p*-аминобензойной кислоты. На схеме 3 представлены три варианта получения кислот **12-14**.

По первому варианту осуществлено взаимодействие **2а,б** и девяти аминокислот линейного строения, содержащих разнообразные алифатические, циклоалифатические и ароматические фрагменты в основной цепи и в боковых ответвлениях (глицин, аланин,  $\alpha$ -аминомасляная кислота, валин, метионин, саркозин, фенилглицин, фенилаланин, 4-аминометилциклогексил-карбоновая кислота) и синтезировано 16 (тиофен-2-сульфониламино)-карбоновых кислот общей формулы **12**.



$\text{R}_1 = \text{H, Br. R}_2 = \text{H, алкйл-}. \text{R}_3 = \text{H, алкйл-, арил-}.$   
 $n = 0-2; m = 1,2. \text{X} = -(\text{CH}_2)_n-$  или цикло- $\text{C}_6$ .

Схема 3

Установлено, что хорошие выходы целевых кислот **12** достигаются при использовании общей методики, заключающейся во взаимодействии тиофен-

сульфохлоридов и аминокислот в водно-щелочной среде, содержащей двукратный (мольный) избыток гидроокиси натрия и 10 %-ный избыток аминокислоты по отношению к тиофен-2-сульфохлориду при температуре 30-60 °С с последующим выделением целевого продукта при создании в реакционной массе уровня pH 2-3. Очевидно, что роль основной среды в процессе реакции состоит в способствовании растворения реагента (аминокислоты) и в нейтрализации выделяющегося в процессе реакции хлороводорода.

Второй вариант получения тиофенсодержащих кислот (схема 3) предусматривает взаимодействие тиофенсульфохлоридов **2а,б** со сложными эфирами гетероциклических (пяти- и шестичленных) аминокислот. Образующиеся при этом (тиофен-2-сульфониламино)карбоновые кислоты общей формулы 13 представляют собой весьма оригинальные структуры, содержащие как тиофеновый и сульфамидный фрагменты, так и аминокислотный остаток гетероциклического строения.

Получение промежуточных эфиров протекает с выходом 51-67 % (в расчёте на исходный тиофен-2-сульфохлорид) в среде ДМФА, при комнатной температуре, 20 %-ном (мольном) избытке исходного аминоэфира и триэтиламина по отношению к тиофен-2-сульфохлоридам **2а,б** в течение 12-15 ч. При исследовании реакции взаимодействия тиофенсульфохлоридов **2а,б** со сложными эфирами циклических аминокислот использовался пиридин и триэтиламин. Во втором случае целевые продукты получались более высокой степени чистоты. В случае пиридина эти продукты были окрашены и не очищались даже при повторной перекристаллизации. Повышение температуры и сокращение времени данной реакции неуклошно приводило к снижению выхода целевых продуктов. Процедура выделения кислот 13 предусматривает предварительную обработку реакционной массы 5 %-ным раствором соляной кислоты (для удаления непрореагировавшего триэтиламина) с последующим кислотнo-щелочным гидролизом эфиров. В рамках второго варианта схемы 3 получено 6 кислот общей формулы 13.

Третий вариант получения (тиофен-2-сульфониламино)карбоновых кислот (схема 3) предусматривает использование в качестве исходной *n*-аминобензойной кислоты. 4-[(Тиофен-2-сульфонил)амино]бензойная кислота **14** получена в разбавленном водном растворе натриевой щёлочи при взаимодействии сульфохлорида и аминокислоты при температуре 60°C в течение 1 ч с выходом 60 % . В процессе реакции наблюдалось небольшое осмоление реакционной массы, поэтому выделение целевой кислоты проводилось обработкой реакционной массы 10 %-ным раствором соляной кислоты.

Строение полученных кислот общих формул **12-14** подтверждено данными ЯМР<sup>1</sup>H-спектроскопии.

Предлагаемый общий метод получения амидных производных кислот **12-14** имеет существенное отличие от представленного в разделе 1.1 способа активации карбоксильной группы через предварительное получение соответствующих хлорангидридов. В качестве реагента, активирующего карбоксильную группу, использован 1,1-карбонилдимидазол (КДИ). Выбор КДИ произведён по двум причинам. Во-первых, при использовании хлорида фосфора (V) или хлористого тионила для получения хлорангидридов кислот **12-14** возникали трудности с выделением целевых продуктов, так как наблюдалось сильное осмоление реакционной массы (вероятно из-за разрыва сульфамидной связи). Все попытки выделить твёрдые и чистые хлорангидриды сульфамидокислот **12-14** не приводили к положительным результатам. Во-вторых, КДИ способен образовывать реакционноспособные комплексы с карбоксильной группой кислот любого типа (ароматического, алифатического, гетероциклического), которые при взаимодействии с аминами вступают в реакцию переамидизации с образованием соответствующих амидов.

На схеме 4 представлен синтез активированного карбонилсодержащего интермедиата 12кди и его дальнейшее взаимодействие с различными первичными и вторичными аминами алифатического, жирноароматического, ароматического и гетероциклического строения с образованием соответствующих амидных производных. Установлено, что формирование карбонилимидазоль-

ных интермедиатов типа  $12_{\text{КДИ}}$  проходит, как правило, при температуре 50-60 °С в течение 1,5-2 ч в среде обезвоженного диоксана или ДМФА. Далее интермедиаты типа  $12_{\text{КДИ}}$  эффективно образуют амидную связь *in situ* в реакциях с аминами разнообразного строения, т.е. проявляют себя как реакционноспособные субстраты, например в синтезе амидов  $16$  (схема 4).

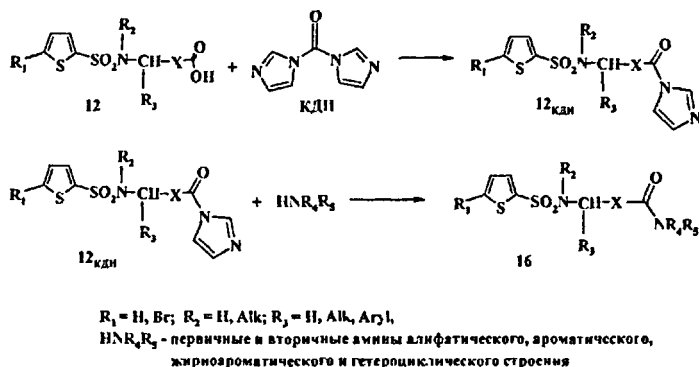


Схема 4

Условия взаимодействия интермедиатов типа  $12_{\text{КДИ}}$  с аминами зависимо некоторым образом от реакционной способности (основности) аминов. Взаимодействие интермедиатов с аминами низкой основности требует более длительного времени реакции. Время амидного синтеза составляло, как правило, 1-3 ч при температуре 60-100 °С. На схеме 4 приведён пример получения амидов на основе кислот общей формулы  $12$ . Имидазол, образующийся в процессе получения интермедиата, хорошо растворим в органической среде, что делает удобным выделение целевых амидов. Выход амидов общей формулы  $16$  составлял 44-82 %.

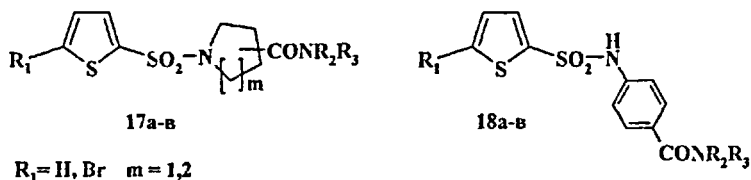


Рис.3

Как и в случае получения амидов общей формулы 16, для получения амидных производных **17а-в** и **18а-в** использовался КДИ (рис. 3, табл. 2).

Следует отметить, что синтез амидов **18а-г** в ДМФЛ при температуре ниже **100 °С** сопровождался очень низкими выходами. При увеличении времени и температуры на стадии образования интермедиата, увеличении температуры взаимодействия амина с интермедиатом с **100 °С** до 130-140 °С и увеличении времени реакции выход целевых продуктов увеличивался с 10- 25 % до 40-50 % (табл. 2). Очевидно, что карбонилимидазольный интермедиат - производное ароматической карбоновой кислоты 14 обладает более низкой реакционной способностью при взаимодействии с аминами, чем соответствующие производные алифатических карбоновых кислот 12,13 и требует более жестких условий амидного синтеза.

Таблица 2

Строение, температура плавления и выход амидов **17,18\***

Амид	Исходная кислота	$\text{HNR}_2\text{R}_3$	Выход, %	T пл., °С
<b>17а</b>	<b>13</b> ( $\text{R}_1=\text{H}$ , $m=2$ , COOH в пол. 3-)	2,3-Диметилфениламин	78	170...2
<b>17б</b>	<b>13</b> ( $\text{R}_1=\text{H}$ , $m=2$ , COOH в пол. 4-)	Циклогептиламин	85	152...3
<b>17в</b>	<b>13</b> ( $\text{R}_1=\text{Br}$ , $m=2$ , COOH в пол. 4-)	1-(5-Хлор-2-метилфенил)- пиперазин	73	164...6
<b>18а</b>	<b>14</b>	2,3-Диметилфениламин	48	206...8
<b>18б</b>	<b>14</b>	1-(5-Хлор-2-метилфенил)- пиперазин	43	195...7
<b>18в</b>	<b>14</b>	6-Метил-1,3-бензотиазол-2- амин	40	276...7

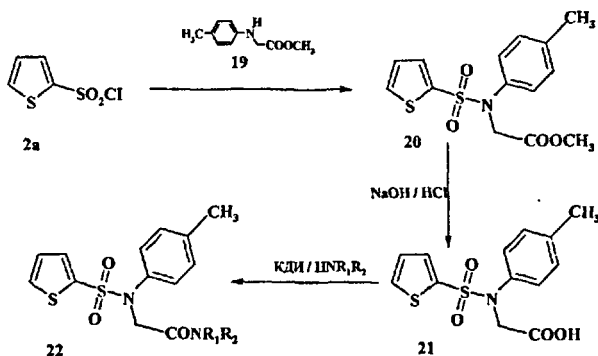
Условия проведения реакций.

Для амидов **17а-в**: ДМФА; образование интермедиата - 50-60 °С, 1 ч; взаимодействие интермедиата с аминами - 100 °С, 2-3-ч.

Для амидов **18а-в**: ДМФА; образование интермедиата - 60-80 °С, 2 ч; взаимодействие интермедиата с аминами - 130-140 °С, 3-4-ч.

### 1.3 [(Тиофен-2-сульфонил)фенил]аминоуксусные кислоты и их амидные производные

В качестве конкретного примера рассматривается схема получения [(тиофен-2-сульфонил)-*p*-толил]аминоуксусной кислоты 21 и её амидных производных 22 (схема 5). Основное структурное отличие кислоты 21 от кислот 4 и 12-14 состоит в том, что атом азота сульфамидной группы связан с двумя различными радикалами.



$R_1 = \text{H, Br; } \text{1NR}_2\text{R}_3$  - первичные и вторичные амины алифатического, ароматического, жирноароматического и гетероциклического строения

Схема 5

Первая стадия представленной схемы заключается во взаимодействии 2-тиофенсульfoxлорида 2a с метиловым эфиром *p*-толиламиноуксусной кислоты 19. Получение сульфамида 20 проводилось в присутствии 2,5-кратного (мольного) избытка пиридина с целью более полного связывания образующегося хлороводорода. В данном случае, использование пиридина обусловлено его более высокой основностью по сравнению с амином 19. Установлено, что использование триэтиламина приводит к протеканию конкурирующего процесса образования четвертичного соединения.

Для выделения целевого продукта проводили экстракцию с использованием дихлорметана и последующим упариванием растворителя. В результате упаривания образовывались кристаллы целевого сульфамида 20, анализ которых методом ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии свидетельствовал о высокой степени чис-

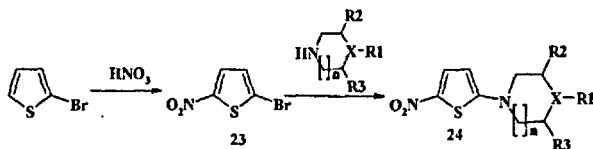


тоты продукта. Попытки дополнительной очистки 20 путём перекристаллизации приводили к значительной потере целевого продукта. Вторая стадия (щелочной гидролиз 20) проводилась при температуре 80 °С. После охлаждения реакционной массы, фильтрования от твёрдого осадка и обработки фильтрата 15%-ным раствором соляной кислоты получали кислоту **21** с выходом 67% (перекристаллизация из смеси изопропилового спирта и воды). Кислота **21** использовалась для получения библиотеки амидных производных **22а-о** путем последовательного взаимодействия с КДИ и аминами различного строения в условиях, аналогичных получению амидных производных **16-18**. Выход амидов **22** составил 50-70 % в расчёте на кислоту **21**.

Очевидно, что границы применимости **схемы 5** могут быть существенно расширены за счёт использования-различных сульфохлоридов, варьирования аминной компоненты и N-заместителя в амичоуксусных кислотах.

#### 1.4 Синтез и строение 2-бром-5-нитротиофена и его производных

В литературе отсутствуют данные по синтезу, строению и свойствам производных тиофена, имеющих азотсодержащие заместители в 2- и 5-положениях. В связи с этим, были изучены возможности селективного нитрования 2-бромтиофена до 2-бром-5-нитротиофена (**23**) и получение на его основе структурных аналогов 2-N-замещённых-5-нитротиофенов общей формулы **24** через замещение атома брома различными вторичными гетероциклическими аминами — морфолином, азепаном, производными пиперидина и пиперазина (Схема 6).



X = C, N, O; n = 1,2; R<sub>1</sub> = H, Alk, COOEt, Ph, CH<sub>2</sub>Ph, Py;  
R<sub>2</sub> = H, Me; R<sub>3</sub> = H, Me.

Схема 6

Нитрование 2-бромтиофена проводилось в 100 %-ной азотной кислоте, при использовании в качестве среды смесь уксусной кислоты и уксусного ангидрида. Изомерный состав продуктов нитрования оценивался на основании данных тонкослойной хроматографии с использованием в качестве элюента 0,5 %-ного раствора цимантрена в бензоле. Данный метод позволяет эффективно разделять изомерные и структурно аналогичные нитросоединения неароматического ряда, полосы которых имеют характерное синее окрашивание после облучения УФ светом элюированных хроматографических пластин.

Установлено, что чистота и выход соединения 23 зависит, прежде всего, от температуры реакции. Так, увеличение температуры реакции до 15 °С при соблюдении прочих условий нитрования, приводит по данным ТСХ к значительному увеличению количества побочных нитропродуктов и, как следствие, к снижению выхода целевого продукта на стадии его очистки.

Таблица 3

Результаты реакции нитрования 2-бромтиофена

Условия реакции*		Примесь побочных нитропродуктов на стадиях выделения и очистки**		Выход, %
		В экстракте	После кристаллизации в гелтане	
Температура реакции, °С	Соотношение HNO <sub>3</sub> : 2-бромтиофен (мол)			
15	1,0 : 1,0	+	+	73
5	1,1 : 1,0	+	+	70
0	1,0 : 1,0	+	-	55
0	1,1 : 1,0	+	-	67
0	1,2 : 1,0	+	+	70
-5	1,1 : 1,0	+	-	45

\* Раствор HNO<sub>3</sub> в 10 мл уксусной кислоты вводили в раствор 0,06 моль 2-бромтиофена в смеси 30 мл уксусной кислоты и уксусного ангидрида (3:2) в течение 30 мин.

\*\* Данные ТСХ

Кроме того, результаты нитрования зависят от мольного соотношения реагента и субстрата. Количество побочных нитропродуктов в экстракте (на

стадии выделения соединения 23) по данным ТСХ была минимальной при 10 %-ном (мольном) избытке азотной кислоты по отношению к 2-бромтиофену и возрастала с увеличением избытка азотной кислоты. Основные данные по нитрованию 2-бромтиофена приведены в таблице 3.

Далее была изучена возможность проведения взаимодействия 23 с вторичными аминами гетероциклического строения. Выбор реагентов-аминов определялся их высокой основностью, а следовательно, достаточно высокой активностью в реакциях типа  $S_N$ . Использованные методы замещения отличались способом связывания бромоводорода, выделяющегося в процессе реакции. Положительные результаты (выход 24 - 52-78 %) наблюдались при проведении реакции в избытке реагента-амина (метод А) или при проведении реакции в изопропиловом спирте и использовании карбоната калия в качестве кислотосвязывающего агента (метод Б). Результаты реакции нуклеофильного замещения представлены в таблице 4.

Таблица 4

Строение, температура плавления, метод получения и выход

2-М-замещённых-5-нитротиофенов

№	X	n	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	T пл., °C	Метод получения	Выход, %
24а	O	1	-	H	H	165...6	A	63
24б	C	2	H	H	H	87...9	A	78
24в	C	1	H	H	H	126...7	A	70
24г	C	1	Me	H	H	97...8	A	75
24д	C	1	COOEt	H	H	102...3	A	66
24е	C	1	H	Me	H	85...6	A	72
24ж	C	1	H	Me	Me	111...3	A	76
24з	N	1	Ph	H	H	177...9	Б	68
24и	N	1	COOEt	H	H	120...1	Б	60
24к	N	1	CH <sub>2</sub> Ph	H	H	167...8	Б	71
24л	N	1	(3-CF <sub>3</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	127...8	A	55
24м	N	1	3-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	142...3	A	57
24н	N	1	2Py	H	H	188...9	A	52

Строение полученных производных 2-бром-5-нитротиофена подтверждены совокупными данными ЯМР-спектроскопии.

2-N-Замещённые-5-нитротиофены 24 содержат в своей структуре нитро-группу, что может свидетельствовать об их потенциально высокой токсичности. Поэтому, синтезированные соединения рассматриваются, прежде всего, как перспективные промежуточные продукты. Возможные подходы к дальнейшей модификации 2-N-замещённых-5-нитротиофенов могут быть связаны с восстановлением нитрогруппы до аминогруппы и с последующим синтезом амидных производных.

## 2. Виртуальный анализ свойств и отбор соединений для синтеза

Виртуальный анализ свойств и отбор соединений для синтеза проводился в два этапа. Первый этап состоял в генерировании виртуальных библиотек амидных производных кислот 4, 11-14 и в расчёте основных физико-химических дескрипторов соединений. Для построения виртуальной библиотеки амидных производных кислот 4,11-14 использовался виртуальный массив из 350 первичных и вторичных аминов ароматического, жирноароматического, алифатического, алициклического и гетероциклического строения, имеющих разнообразные функциональные группы и показатель основности ( $pK_b$ ) в пределах от 1 до 14. Амины, использованные для построения виртуального массива, являются доступными коммерческими продуктами, содержащимися в торговых каталогах российских и зарубежных фирм - поставщиков органических соединений. На основании имеющихся исходных массивов была построена виртуальная библиотека амидных производных кислот 4, 11-14, содержащая 9100 соединений. Далее, для каждого соединения из сгенерированной виртуальной библиотеки был рассчитан набор дескрипторов: молекулярная масса соединения ( $MW$ ); логарифм распределения нейтральной формы вещества в системе 1-октанол - вода при pH 7,4 ( $\text{Log } D_{7,4}$ ); общее количество нетерминальных вращающихся связей ( $\text{Rot } B$ ); сумма доноров и акцепторов водородной связи ( $\text{Ha}+\text{Hd}$ ); показатель фракционной адсорбции ( $FA$ ). Генерирование виртуальных библиотек и расчёт физико-химических дескрипторов проводился с использо-

ванием модулей компьютерной программы **ChemoSoft™** (Chemical Diversity Labs, Inc.).

На базе рассчитанных дескрипторов соединений была проведена оценка влияния строения аминокислотных фрагментов, аминных остатков в амидных фрагментах и фрагментов, связанных с сульфогруппой на свойства изучаемых соединений.

Проведённый дескрипторный анализ позволил оценить основные фармако-кинетические свойства соединений с точки зрения требований современной концепции медицинской химии "сходство с лидерами", показать влияние структурных параметров на свойства соединений, провести визуализацию полученных результатов и выявить структуры, наиболее подходящие для первичных испытаний на различные виды биоактивности.

На основании данных виртуального анализа электронная библиотека (9100 соединений) проходила процедуру "фильтрации", в результате которого отсеивались соединения, имеющие неблагоприятный набор значений основных физико-химических дескрипторов (более двух дескрипторов не удовлетворяют требованиям концепции "сходство с лидерами") или ярко выраженное неблагоприятное влияние строения определённого фрагмента на какой-либо конкретный дескриптор. Таким образом, исходная электронная библиотека была сокращена до 2971 соединения.

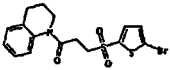
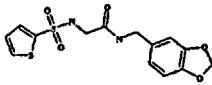
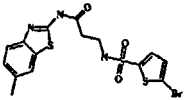
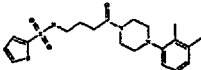
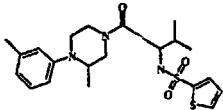
На втором этапе виртуального отбора был использован принцип максимально разнообразной выборки соединений. В рамках отдельных виртуальных библиотек (соответствующих определённой кислоте), все соединения, прошедшие первый этап отбора, были отсортированы в порядке уменьшения структурного разнообразия при помощи специального компьютерного алгоритма, реализованного в модуле *Diversity* программы **ChemoSoft™** (Chemical Diversity Labs, Inc., 2003). В ходе выполнения процедуры сортировки были отобраны первые 5 % наиболее репрезентативных и разнообразных соединений в пределах каждой комбинаторной библиотеки. В результате данных процедур была

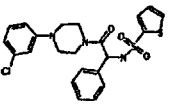
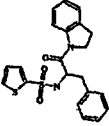
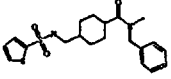
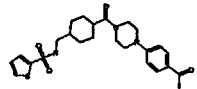
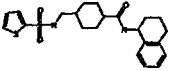
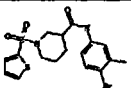
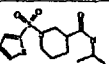
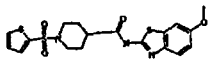
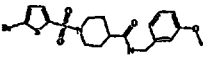
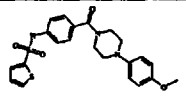
получена окончательная суммарная библиотека, состоящая из 162 амидных производных кислот общих формул 6-10,16-18.

### 3. Синтез соединений для биотестирования и результаты испытаний

Синтез соединений, выбранных на основе двустадийного виртуального отбора проводился согласно схемам и условиям реакций, представленных в разделах 1.1 и 1.2. Все синтезированные новые производные тиафена были протестированы на проявление ингибиторной активности по отношению к Her-2 линии опухолевых клеток. Строение, выход (на стадии амидного синтеза) и свойства некоторых соединений, проявивших наиболее высокую ингибиторную активность, представлены в таблице 5.

Таблица 5

№	Соединение	MW	Log D <sub>7,4</sub>	Т. пл., °С	Выход*, %	PI <sub>50</sub> , мкмол/л
1	2	3	4	5	6	7
40		414	3,19	136...7	63	7,24
56		354	1,76	105...6	65	5,92
69		460	2,80	134...5	63	8,69
70		422	2,19	100...1	49	12,33
78		436	2,77	180...2	85	6,89

1	2	3	4	5	6	7
111		476	3,91	194...5	68	6,30
116		413	3,96	169...171	75	7,27
128		407	3,58	181...2	71	3,69
131		490	3,19	188...190	75	1,63
132		433	4,36	193...4	74	6,93
143		443	3,41	173...4	67	4,05
146		316	3,78	180...1	80	10,43
161		437	4,02	185...7	64	2,74
173		473	3,13	134...6	78	10,56
182		458	4,08	192...4	75	6,77

\* Выход указан для стадии амидного синтеза

Биологические испытания были проведены ООО "Предприятие Контакт-Сервис" (г. Долгопрудный, Московская обл.). Установлено, что 8 из 162

протестированных соединений (5 %) оказывают очень высокую ингибиторную активность на развитие опухолевых клеток Нер-2 линии ( $PI_{50} = 1-5$  мкмол/л). 22 соединения (14 %) проявляют высокую активность ( $PI_{50} = 5-15$  мкмол/л). 51 соединение (31 %) характеризуются как умеренно активные ( $PI_{50} = 15-50$  мкмол/л), 39 соединений (24 %) как малоактивные ( $PI_{50} = 50-100$  мкмол/л). 42 соединения (26 %) практически не проявили ингибиторной активности на выбранной линии.

Установленный факт ингибиторного действия на рост и развитие опухолевых клеток является подтверждением актуальности исследований в выбранном синтетическом направлении и даёт основание рекомендовать синтезированные соединения для дальнейших испытаний.

## ВЫВОДЫ

1. Разработаны схемы получения ряда новых соединений на основе тиюфена: (тиофен-2-сульфонил)пропановых кислот, (тиофен-2-сульфониламино)-карбоновых кислот, [(тиофен-2-сульфонил)фенил]аминоуксусных кислот и их производных.
2. Разработана схема получения 2-N-замещённых-5-нитротиюфенов, включающая нитрование 2-бромтиюфена и последующее замещение атома брома в 2-бром-5-нитротиюфене N-нуклеофилами гетероциклического строения.
3. Характерной особенностью представленных схем является возможность формирования больших библиотек структурных аналогов — производных тиюфена за счёт варьирования фрагментов, связанных с тиюфеновым циклом и реагентов, используемых на стадии комбинаторного синтеза.
4. С использованием компьютерных методов виртуального отбора, основанных на результатах дескрипторного анализа и на принципе максимально разнообразной выборки, отобрано и далее синтезировано по разработанным схемам 162 соединения, предназначенных для первичного тестирования на определённый вид биологической активности.



5. Результаты, полученные в ходе испытаний синтезированных соединений на линии опухолевых клеток Нер-2, свидетельствуют о перспективности данных соединений в качестве потенциальных антиопухолевых лекарственных препаратов и об актуальности дальнейших исследований в выбранном синтетическом направлении.

Основное содержание диссертации опубликовано в работах:

1. Дорогое М.В., Савватеева Л.А., Тюнева И.В. Библиотека структурных гетероциклических аналогов, содержащих имидный и сульфонильный фрагменты // Ярослав. педагогический вестник. - 2002. - Вып. 2 (31). - С. 71-76.
2. Библиотека соединений, содержащих 2-тиенилсульфонильный фрагмент и обладающих улучшенными возможностями медицинско-химической оптимизации / И.В.Тюнева, С.И.Филимонов, М.В.Дорогов и др. // Изв. вузов. Химия и хим. технология. - 2003. - Т.46. Вып.8. - С. 77-83.
3. Тюнева И.В., Дорогов М.В., Нефёдов В.Л. Синтез 2-бром-5-нитротиофена и его производных через замещение атома брома N-нуклеософилами // Тез. докл. IV Всероссийского симпозиума по органической химии. "Органическая химия - упадок или возрождение?". Москва-Углич, 5-7 июля 2003. - Москва, 2003. - С. 170.
4. Изучение закономерностей и оптимизация оригинальных методов органического синтеза с целью расширения разнообразия актуальных хемотипов и скаффолдов, используемых в фармакологии и агрохимии / М.В. Дорогов, И.В. Тюнева, Е.Е. Шалыгина и др. // Тез. докл. Международ. конференции "Чтения Ушинского". Ярославль, март 2003. -Ярославль, 2003. - С. 100-103.
5. Синтез, строение и свойства ряда тиофенсодержащих сульфамидокислот / И.В. Тюнева, С.И. Филимонов, М.В. Дорогов и др. // Изв. вузов. Химия и хим. технология. - 2004. - Т. 47. Вып.1. - С. 142-145.
6. Синтез и свойства амидов 2-[4-метил-(2-тиенилсульфонил)фенил-амино]уксусной кислоты / И.В. Тюнева, С.И. Флимонов, М.В.Дорогов и др. // Изв. вузов. Химия и хим. технология. - 2004. Т. 47. Вып. 2. - С. 119-123.

7. Синтез 2-бром-5-нитротиофена и его производных через замещение атома брома вторичными циклоалифатическими аминами / И.В. Тюнева, В.А. Нефёдов, М.В. Дорогов и др. // Изв. вузов. Химия и хим. технология. - 2004. Т. 47. Вып. 2. - С. 131-134.

8. Тюнева И.В., Филимонов С.И., Дорогов М.В. Deskriptorный анализ и синтез амидных производных ряда тиофен-2-сульфамидокислот // Тез. докл XL Всероссийской научной конференции по проблемам математики, информатики, физики, химии и методики преподавания. 19-23 апреля 2004. - Москва, 2004. С. 109-111.



Подписано к печати 30.04.2004  
Формат 60x84 1/16. Бумага тип. №1.  
Печать ризографическая.  
Усл. печ. л. 1. Тираж 100.

Заказ №504

Типография Ярославского государственного  
педагогического университета имени К. Д. Ушинского  
150000, г. Ярославль, Которосльская наб., 44



№11187