

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ВОЛГОГРАДСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*



Чиряпкин Алексей Сергеевич

**Целенаправленный синтез и взаимосвязь структура-активность  
конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических  
предшественников**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание учёной степени

кандидата фармацевтических наук

**Научный руководитель:**

доктор фармацевтических наук, доцент  
Кодониди Иван Панайотович

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук,  
профессор, член-корреспондент РАН  
Тюренков Иван Николаевич

Пятигорск – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	6
ГЛАВА 1. СПОСОБЫ СИНТЕЗА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИН-4-ОНА И ИХ АЦИКЛИЧЕСКИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	16
1.1. Способы синтеза конденсированных производных пириимидин-4-она и их ациклических предшественников .....	16
1.1.1. Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1- бензотиофен-3-карбоксамиды .....	16
1.1.2. Синтез производных тиено[2,3-d]пириимидин-4(3 <i>H</i> )-она .....	19
1.1.3. Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3 <i>H</i> )-она .....	29
1.2. Биологическая активность конденсированных производных пириимидин-4-она и их ациклических предшественников .....	36
1.2.1. Биологическая активность производных тиено[2,3-d]пириимидин- 4(3 <i>H</i> )-она и их ациклических предшественников .....	36
1.2.2. Биологическая активность производных 6,7-диметоксихиназолин-4- она.....	40
Выводы к главе 1.....	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	45
2.1. Оборудование, программное обеспечение и методы исследования .....	45
2.2. Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1- бензотиофен-3-карбоксамиды .....	58
2.3. Синтез 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3- d]пириимидин-4(3 <i>H</i> )-она .....	66
2.4. Синтез амидов 2-амино-4,5-диметоксибензойной кислоты .....	73
2.5. Синтез 2-алкил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-онов .....	73
2.6. Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3 <i>H</i> )-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов .....	75

2.7. Синтез натриевых солей азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида .....	81
2.8. Синтез натриевых солей 2-замещённых тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3 <i>H</i> )-она .....	85
ГЛАВА 3. ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ .....	88
3.1. Обоснование выбора биомишеней посредством сетевой фармакологии для молекулярного конструирования церебропротекторных средств .....	88
3.2. Логико-структурный подход к модификации скаффолда и отбору фармакофорных фрагментов .....	93
3.3. Хемоинформационный анализ фармакологических свойств прогнозируемых соединений посредством веб-сервиса PASS .....	97
3.4. Прогноз антихолинэстеразной активности методом молекулярного докинга .....	102
3.5. Прогноз противовирусной активности методом молекулярного докинга .....	107
3.6. Прогноз противовоспалительной активности методом молекулярного докинга .....	115
3.7. Прогноз противомикробной активности методом молекулярного докинга .....	118
3.8. Прогноз ГАМК-ергической активности методом молекулярного докинга .....	121
3.9. Прогноз антитирозиновой активности методом молекулярного докинга .....	125
Выводы к главе 3 .....	130
ГЛАВА 4. СИНТЕЗ ЦЕЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ .....	131
4.1. Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида .....	131
4.2. Синтез 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3 <i>H</i> )-она .....	141

4.3. Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3 <i>H</i> )-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов .....	148
4.4. Синтез натриевых солей азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды и 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидро-бензо[4,5]тиено[2,3- <i>d</i> ]пиримидин-4(3 <i>H</i> )-она .....	156
4.5. Определение чистоты синтезированных соединений методом ВЭЖХ ..	161
Выводы к главе 4 .....	165
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА И ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРА–АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ .....	166
5.1. Результаты фармакологических исследований и качественные соотношения структура-активность .....	166
5.1.1. Изучение антихолинэстеразной активности .....	166
5.1.2. Изучение антиамилоидной активности .....	169
5.1.3. Изучение церебропротекторной активности производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3 <i>H</i> )-она на модели ишемии головного мозга.....	172
5.1.4. Ингибирующая активность главной протеазы (M <sub>pro</sub> ) и папаино-подобной протеазы (PL <sub>pro</sub> ) SARS-CoV-2, полученных БАС .....	172
5.1.5. Изучение противовоспалительной активности .....	177
5.1.6. Изучение антимикробной активности .....	179
5.1.7. Изучение антитирозиновой активности .....	182
5.1.8. Оценка острой токсичности .....	184
5.2. Количественные соотношения структура-активность .....	185
5.2.1. Количественные соотношения структура–антихолинэстеразная активность .....	186
5.2.2. Количественные соотношения структура–антиамилоидная активность .....	189
5.2.3. Количественные соотношения структура–противовирусная активность .....	192

5.2.4. Количественные соотношения структура–антитирозиназная активность .....	195
Выводы к главе 5.....	199
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ .....	201
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	203
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	204
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	205
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	206
ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	227
ПРИЛОЖЕНИЕ Б .....	228
ПРИЛОЖЕНИЕ В .....	229
ПРИЛОЖЕНИЕ Г .....	230
ПРИЛОЖЕНИЕ Д .....	231
ПРИЛОЖЕНИЕ Е .....	232

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Поиск новых биологически активных соединений (БАС) с целью разработки высокоэффективных лекарственных средств для лечения заболеваний, в том числе социально значимых, является важной задачей фармацевтической науки [1, 55]. Наиболее перспективными базисными структурами (скаффолдами) выступают конденсированные производные пиримидина [13, 46]. Среди них имеются вещества, которые оказывают, например, противомикробное [156], противовирусное [70], анальгетическое [124], противовоспалительное [89], противосудорожное [154] и противоопухолевое действия [128]. Путём модификации базисных структур и введением фармакофорных фрагментов представляется возможным получать новые соединения с заданной биологической активностью. Особый интерес представляют ациклические предшественники пиримидинов, которые следует рассматривать в качестве перспективных БАС, обладающих более высокой конформационной подвижностью [13, 55].

Появление новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 привело к пандемии и оказало существенные нагрузки, главным образом, на систему здравоохранения. На данный момент не существует специфических лекарственных препаратов с доказанной клинической эффективностью для терапии данного заболевания [139]. Создание противокоронавирусных лекарственных средств, обладающих высокой эффективностью и низкой токсичностью, является одной из наиболее значимых задач современной фармацевтической науки.

Лечение патологических процессов центральной нервной системы (ЦНС) занимает важное место в клинической практике нейродегенеративных заболеваний, проявляющихся холинергической недостаточностью [7, 22]. В соответствии с этим фармакологической ценностью обладают вещества, ингибирующие фермент ацетилхолинэстеразу. Также перспективной группой БАС

церебропротекторного действия считаются соединения, снижающие образование бета-амилоидных частиц [75].

Другим направлением разработки и создания социально значимых лекарственных средств является поиск новых нестероидных противовоспалительных БАС, ингибирующих циклооксигеназу-2 (ЦОГ-2) [66].

В настоящее время вследствие развития резистентности к антимикробным лекарственным препаратам у патогенных микроорганизмов требуется получение новых веществ с бактерицидными и/или бактериостатическими свойствами [35].

Из вышеизложенного следует, что актуальной задачей исследования является поиск новых высокоэффективных и безопасных фармацевтических субстанций с выраженным противовирусным, церебропротекторным, противовоспалительным и антибактериальным действием в сочетании с низкой токсичностью.

### **Степень её разработанности**

Литературные данные указывают на значительное количество научных работ по синтезу и исследованию биологической активности производных пиримидин-4-она и изучению их взаимосвязи структура-активность. Однако только в последние десятилетия начинали исследование производных 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она, а информация об их ациклических предшественниках – азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов крайне недостаточна. Вследствие этого на сегодняшний день поиск соединений-лидеров в этих группах веществ требует фундаментальных исследований. Препаративно доступным перспективным рядом БАС, обладающих технологическими и экономическими преимуществами в получении активной фармацевтической субстанции, являются производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащие остатки аминокислот и пептидов, но информация о них в научной литературе практически отсутствует.

## Цель и задачи

Целью работы является молекулярное конструирование и целенаправленный синтез конденсированных производных пиримидин-4(3*H*)-она и их ациклических предшественников, а также изучение взаимосвязи структура-активность для полученных рядов соединений.

Для реализации поставленной цели необходимо решение следующих задач:

1. Посредством сетевой фармакологии обосновать выбор белковых мишеней для молекулярного конструирования церебропротекторных лекарственных средств.
2. Осуществление дизайна *in silico* наиболее перспективных производных пиримидин-4(3*H*)-она и их ациклических предшественников для их целенаправленного синтеза.
3. Изучить *in silico* сродство моделируемых соединений к участкам связывания с белковыми мишенями посредством метода молекулярного докинга и оценить возможные энергии взаимодействия лиганд-белок.
4. Модифицировать метод синтеза 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-*d*]пиримидин-4(3*H*)-онов и их ациклических предшественников для целенаправленного получения наиболее перспективных прогнозируемых структур.
5. Модифицировать метод синтеза производных 6,7-диметоксихиназолин4(3*H*)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов.
6. Для получения водорастворимых БАС синтезировать натриевые соли гидроксифенильных производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов и 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-*d*]пиримидин-4(3*H*)-она.
7. Синтезировать ряд БАС и с помощью современных методов анализа, таких как  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-, ИК-спектроскопия и масс-спектрометрия, подтвердить строение и установить степень чистоты целевых продуктов методом ВЭЖХ.
8. Посредством фармакологического скрининга выявить соединения-лидеры, обладающие выраженной церебропротекторной, противовирусной, противомикробной, противовоспалительной и антигиперлипидемической активностью в ходе фармакологического скрининга.



9. Исследовать качественные и количественные взаимосвязи структура-активность с построением QSAR-моделей в рядах синтезированных соединений.

### Научная новизна

Результаты проведённого вычислительного эксперимента методом молекулярного докинга обладают научной новизной и позволяют осуществлять прогноз антихолинэстеразной, противовирусной, противовоспалительной, противомикробной и антитирозиновой активности среди производных тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она и соответствующих им ациклических предшественников, а также производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов.

Посредством компьютерного расчёта электронной плотности на углероде карбонильной группы объяснена реакционная способность арильных альдегидов в формировании азометинового фрагмента 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов. Достоверность такого подхода подтверждена достаточно значимым коэффициентом корреляции с экспериментальными значениями выходов целевых продуктов.

Впервые осуществлён синтез ряда ранее не описанных в литературе азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов, 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она и их натриевых солей, а также производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она. Предложено использовать в качестве скаффолда для молекулярного конструирования ядро 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она и 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с целью целенаправленного синтеза высокоэффективных ингибиторов главной протеазы (M<sub>pro</sub>) и папаино-подобной протеазы (PL<sub>pro</sub>) SARS-Cov-2.

## Теоретическая и практическая значимость работы

Разработаны методы моделирования структур с противовирусной, противовоспалительной, противомикробной, антихолинэстеразной и антигепатоцитозной активностью посредством хемоинформатики и молекулярного докинга. Это позволяет определить сходство виртуальных соединений с белковыми мишенями, а также даёт возможность предположить молекулярные механизмы реализации ими фармакологического действия.

Модифицированы методики синтеза 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она, азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов, а также производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов. Предложенные методики синтеза могут применяться для получения новых активных фармацевтических субстанций.

По результатам первичного фармакологического скрининга выявлены соединения-лидеры, обладающие противовирусной, антихолинэстеразной, противоамилоидной, противовоспалительной, противомикробной и антигепатоцитозной активностью, которые рекомендуются для углубленного фармакологического изучения. Для ряда соединений-лидеров исследована острая токсичность, которая позволяет отнести их к практически нетоксичным соединениям.

Изучена взаимосвязь структура-активность в рядах синтезированных соединений, что позволило сформировать математические модели изучаемых видов фармакологических активностей. Построенные QSAR-модели можно применять для хемоинформационного моделирования новых БАС, содержащих в своей основе схожие скаффолды.

Результаты, полученные в ходе данной работы, применяются в учебном процессе на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии и на кафедре патологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ. Методология молекулярного конструирования БАС, целенаправленного синтеза, идентификации и проведения

фармакологического скрининга конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников используются в исследованиях, выполняемых в рамках реализации научного проекта № 20-315-90060 от 1 сентября 2020 г., при предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий, в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации (Москва).

### **Методология и методы исследования**

В работе использованы логико-структурный подход молекулярного конструирования БАС и *in silico* прогноз биологической активности виртуальных структур. Применены основные методы и приёмы органического синтеза и представления о реакционной способности органических соединений, позволяющие получать воспроизводимые и однозначные результаты. Для характеристики полученных соединений использовался комплекс физико-химических и спектральных методов анализа.

### **Положения, выносимые на защиту**

- молекулярное конструирование биологически активных соединений, обладающих противовирусной, антихолинэстеразной, противоамилоидной, противовоспалительной, противомикробной и антитирозиновой активностью;
- синтез наиболее перспективных прогнозируемых 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она, азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов и производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками аминокислот и дипептидов;
- модификация метода синтеза производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов;

- синтез натриевых солей гидроксифенильных производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида и 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3- d]пиримидин-4(3*H*)-она;
- установление строения и чистоты полученных соединений такими современными физико-химическими методами анализа, как  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-, ИК-спектроскопией и масс-спектрометрией, ВЭЖХ-анализ;
- выявление качественных и количественных соотношений структура-активность целевых соединений и построение прогностических математических моделей.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пункту 1 паспорта научной специальности и паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, конкретно пунктам 3 и 4 паспорта научной специальности.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов обеспечена тщательностью проведения эксперимента и использованием современных физико-химических методов исследования. Результаты фармакологических исследований согласуются с данными предварительного прогноза биологической активности. Полученные экспериментальные значения статистически обработаны посредством пакетов прикладных программ Statistica и StatPlus. Использованное оборудование сертифицировано. Полученные результаты экспериментов воспроизводимы.

Основные результаты работы доложены и вынесены на обсуждение в сборнике научных трудов «Наука. Исследования. Практика: сборник избранных статей по материалам международной научной конференции» (Санкт-Петербург,

2020); в сборнике «Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXII и XXIII международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера, посвященной 125-летию со дня основания Томского политехнического университета (Томск, 2021 и 2022); в сборнике «MedChem-Russia 2021. 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, 2021); на 74-ой и 75-ой международной научно-практической конференции «Во имя жизни и здоровья», сборник «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов» (Пятигорск, 2021 и 2022); на VII, X и XI международной научно-практической конференции «Беликовские чтения» (Пятигорск, 2018, 2021 и 2022).

Апробация диссертации проведена на расширенном заседании кафедры органической химии совместно с проблемной комиссией Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 5 от 28.09.2023 г.

### **Личный вклад**

Автором лично осуществлены все этапы экспериментальных исследований и оформление диссертации: анализ литературных данных; постановка цели и задач работы; компьютерное конструирование и прогнозирование фармакологических свойств целевых соединений; синтез наиболее перспективных 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она, азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов и производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она; подтверждение строения синтезированных соединений, а также выявление взаимосвязи структура-активность. Подготовлены публикации по теме диссертации.

### **Внедрение результатов в практику**

Результаты изучения противовирусной активности новых 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она внедрены в научно-исследовательскую практику кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (акт внедрения б/н от 20 мая 2022 г.).

Результаты изучения церебропротекторной активности новых производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками аминокислот и дипептидов внедрены в научно-исследовательскую практику кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (акт внедрения б/н от 23 мая 2022 г.).

Результаты изучения противовоспалительной активности новых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды и 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она внедрены в научно-исследовательскую практику кафедры патологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (акт внедрения б/н от 23 мая 2022 г.).

Результаты изучения антитирозиновой активности производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды и 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она внедрены в научно-исследовательскую практику кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (акт внедрения б/н от 20 мая 2022 г.).

### **Связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ по проблеме «Изыскание и изучение новых лекарственных средств». Диссертационное

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

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 29 научных работ, в том числе 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России; 6 статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus; иные публикации по результатам исследования – 18. Получен 1 патент на изобретение и опубликована 1 монография.

### **Структура и объём диссертации**

Диссертационная работа изложена на 237 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, четырёх глав собственных исследований, заключения, списка литературных источников, списка принятых сокращений и 6 приложений. Список литературы включает 172 источника, из них 112 на иностранных языках. Работа содержит 51 таблицу, 59 рисунка и 42 схемы.

## **ГЛАВА 1. СПОСОБЫ СИНТЕЗА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИН-4-ОНА И ИХ АЦИКЛИЧЕСКИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

В литературных источниках сформирована обширная база данных о способах синтеза конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников. В данном обзоре излагаются методики синтеза производных 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4-она и их азометиновых предшественников, а также производных 6,7-диметоксихиназолин-4-она. Приведены сведения о фармакологических свойствах этих групп биологически активных соединений, что позволяет критически оценить современные подходы синтеза и определить препаративные задачи исследования.

### **1.1. Способы синтеза конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников**

#### **1.1.1. Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1- бензотиофен-3-карбоксамида**

Получение азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида (**1.3**) в большинстве случаев осуществляется двумя способами (схема 1.1). В первом случае (метод А) их получали путём взаимодействия 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида (**1.1**) с соответствующими альдегидами (**1.2**) в среде кипящего толуола в течение 15 минут. Во втором варианте (метод Б) синтеза используют микроволновое облучение при температуре 150°C в течение 5 минут. Облучение проводили в герметичном флаконе Emrys, в который помещали смесь 2-амино-4,5,6,7-



тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид (**1.1**) с альдегидом (**1.2**) в среде пиридина и изопропилового спирта. После охлаждения смеси образуется продукт реакции в виде жёлтого кристаллического осадка (**1.3**), который отфильтровывали и промывали этанолом [169]. Использование микроволнового облучения и токсичных растворителей усложняет процесс синтеза, что является главными недостатками этого метода.

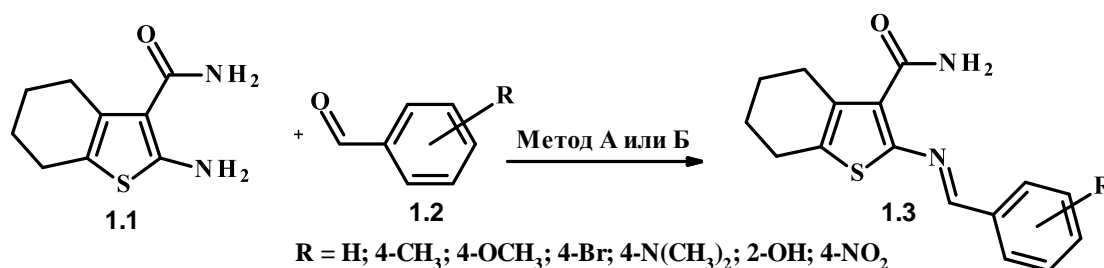


Схема 1.1 – Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды **1.3** по методу А и Б

Оригинальным методом получения азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды (**1.5**) является взаимодействие исходного вещества (**1.1**) с 4-хлорбензальдегидом (**1.4**) в этаноле под действием основного катализа. В качестве катализатора применяли триэтиламин при кипячении реакционной среды в течение 6 часов с выходом целевого продукта 60% (схема 1.2) [150].

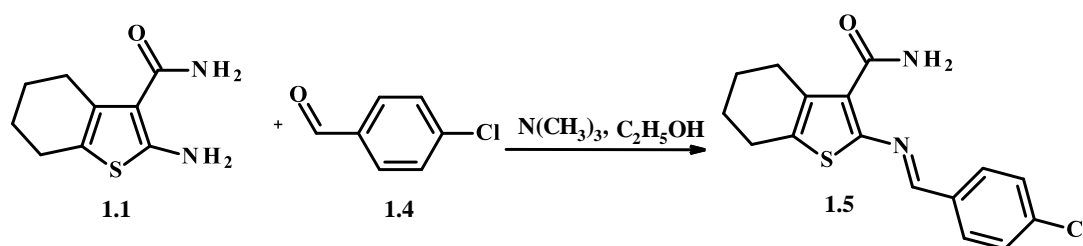


Схема 1.2 – Синтез азометинового производного 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды **1.5** в этаноле при основном катализе

Эти же авторы предложили осуществить взаимодействие 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды (**1.1**) с триэтилортоформиатом (**1.6**) в среде уксусного ангидрида при нагревании в течение 4 часов с выходом продукта

(1.7) 90% (схема 1.3) [150]. Недостатком метода в первом случае является невысокий выход фенилпроизводных азометинов в отличие от азометинов, содержащих простую эфирную связь.

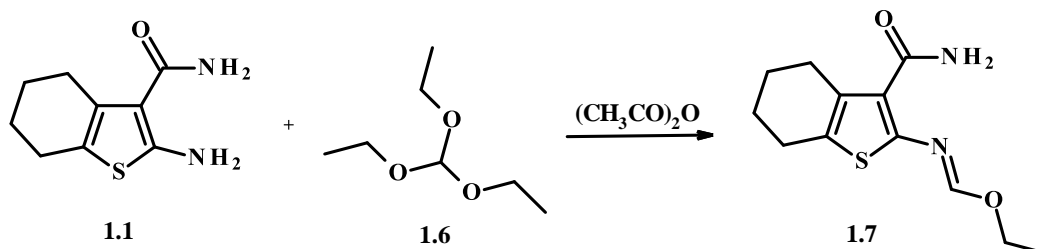


Схема 1.3 – Синтез азометинового производного 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды 1.7, используя триэтилортоформат

Оригинальный синтез азометиновых производных с арильными заместителями Kumar с соавторами осуществляли взаимодействием производного тиеноаминоамида (1.1) с альдегидами (1.8) в изопропиловом спирте с прибавлением каталитических количеств ледяной уксусной кислоты (схема 1.4). Согласно опубликованным данным выход продуктов реакций (1.9) является небольшим, однако препаративно эта методика достаточно доступна [153].

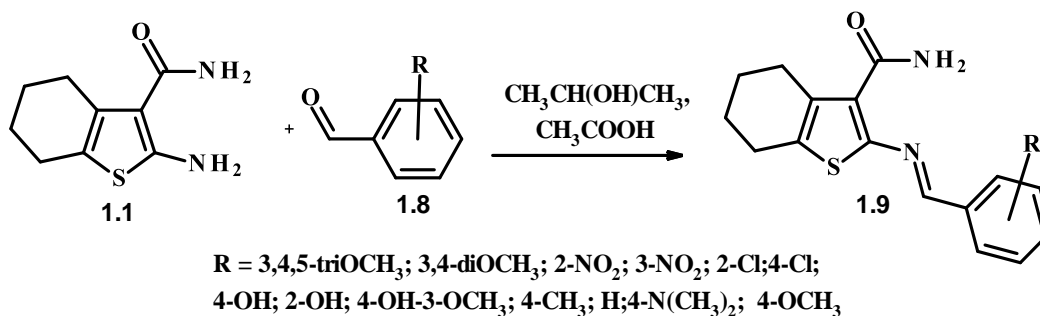


Схема 1.4 – Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды 1.9 в изопропиловом спирте с прибавлением каталитических количеств ледяной уксусной кислоты

### 1.1.2. Синтез производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она

Известен метод получения производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (**1.11**) взаимодействием суспензии гетероциклического амина (**1.1**) с ароматическими альдегидами (**1.10**) под действием кислотного катализа. Кислую среду обеспечивали добавлением концентрированной соляной кислоты при перемешивании в течение 12 часов при температуре 80°C (схема 1.5). Выходы целевых продуктов, особенно содержащих электронно-акцепторные группы, являются достаточно высокими [166]. Однако строгое выдерживание температуры реакционной среды в течение продолжительного времени является определённым недостатком данной методики.

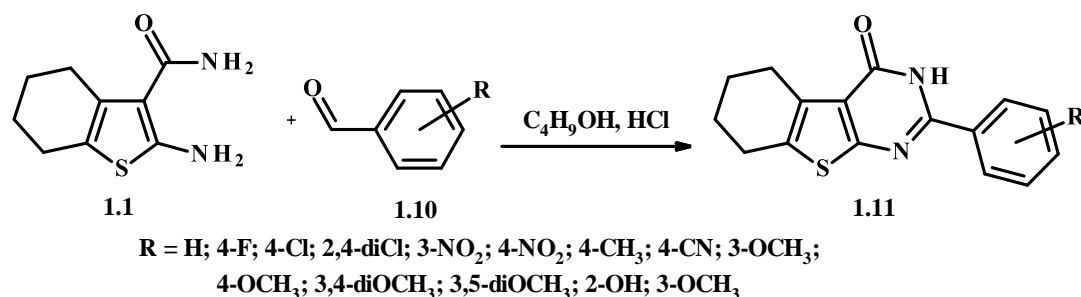


Схема 1.5 – Синтез производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (**1.11**) под действием кислотного катализа

Для синтеза аналогичных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-онов (**1.13**) используют в качестве катализатора наноккомпозит ZnO-CeO<sub>2</sub>. К суспензии тиеноаминоамида (**1.1**) и альдегида (**1.12**) добавляют наноккомпозит ZnO-CeO<sub>2</sub> и нагревают смесь при 140°C в течение 1-2,5 часа (схема 1.6). Выход целевых продуктов является практически количественным. Например, выход продукта взаимодействия с 4-бромбензальдегидом достигает 95% [106]. Однако следует отнести к недостатку данного метода использование достаточно дорогого катализатора, который явно усложняет процесс синтеза в случае его масштабирования, необходимого при выявлении перспективных биологически активных соединений.

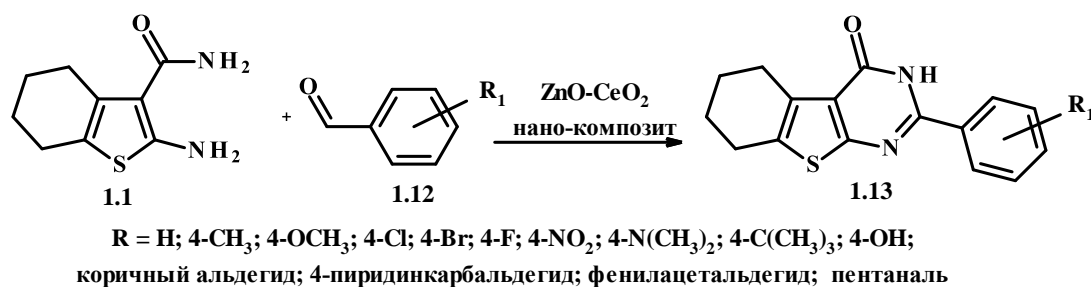


Схема 1.6 – Синтез производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (1.13) при добавлении нанокompозита ZnO-CeO<sub>2</sub>

Получали 2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.15**) путём взаимодействия 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида (**1.1**) с альдегидами (**1.14**) в среде ДМФА и пиперидина при нагревании в течение 20-30 минут (схема 1.7). Наибольший выход наблюдался в случае использования 4-метоксибензальдегида – 80%, минимальный выход составляет 65%, если в реакцию вводить бензальдегид [169]. Негативным моментом является использование пиперидина, который относится к высокотоксичным соединениям.

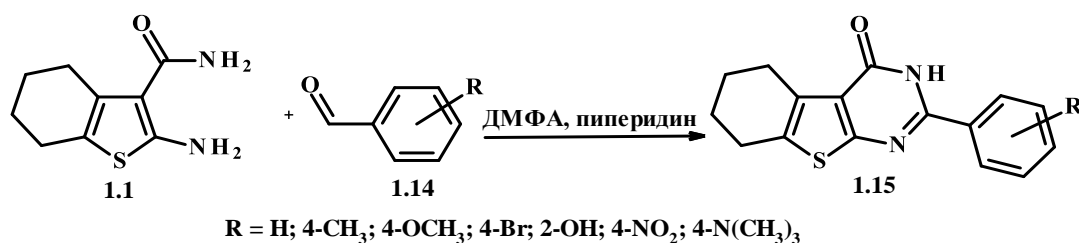


Схема 1.7 – Синтез производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (1.15) в среде диметилформаида и пиперидина

Предложен способ получения аналогичных арилпроизводных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.18**) взаимодействием исходного сложного гетероциклического эфира (**1.16**) с нитрилами (**1.17**) в растворе диоксана путём его насыщения газообразным хлороводородом (схема 1.8). Реакционную среду выдерживают при температуре 100°C в течение 6-12 часов, и после её охлаждения до комнатной температуры выделяют твердый продукт изменением изотонической силы раствора в ходе прибавления бикарбоната натрия [92]. Сложность этого

процесса обуславливается насыщением реакционной среды сухим хлороводородом.

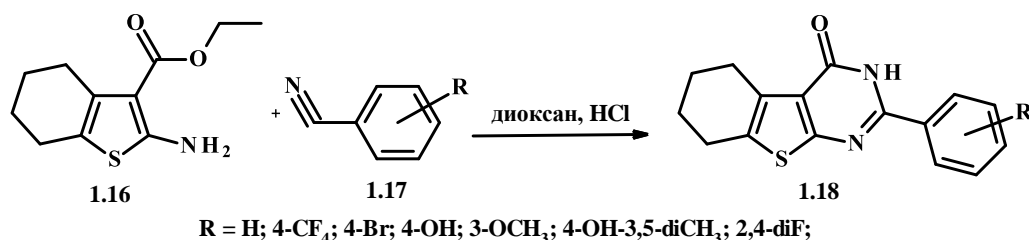


Схема 1.8 – Синтез производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.18) в среде диоксана, насыщенной газообразным хлороводородом

Представлена модификация синтеза тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-онов (1.20) из соответствующего аминокарбоксилата (1.16), которая заключается в его взаимодействии с нитрилами (1.19) в среде диоксана (схема 1.9) [89]. Преимуществом этой методики является использование хлороводородной кислоты, что приводит к увеличению выхода целевых продуктов.

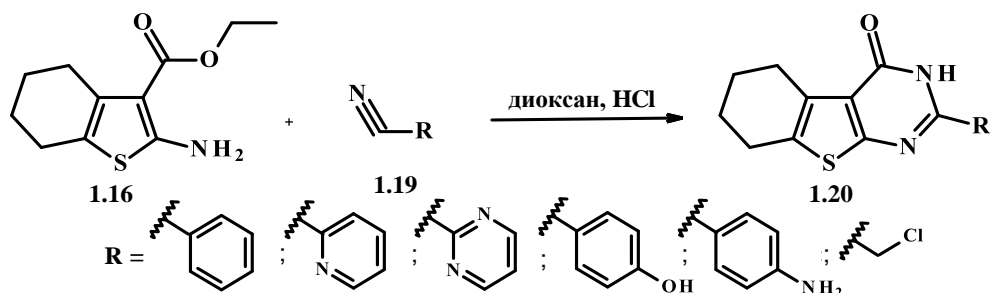


Схема 1.9 – Синтез производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.20) с нитрилами в среде диоксана

Оригинальным подходом синтеза конденсированных производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.22) из 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксиамида (1.1) и альдегидов (1.21) является использование в качестве реакционной среды метанола и каталитических количеств соляной кислоты (схема 1.10) [118].

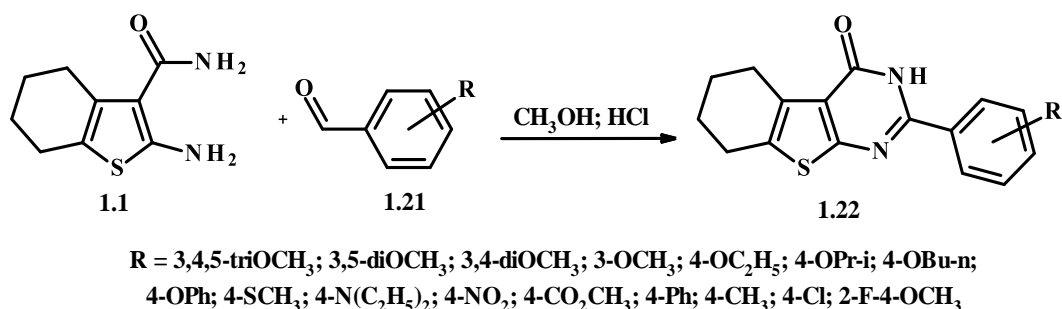


Схема 1.10 – Синтез производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.22) в среде метанола с добавлением соляной кислоты

Интересный способ синтеза конденсированного производного тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она с фрагментом пиперидина в положении 2 (**1.25**) осуществляется взаимодействием исходного циклического соединения, содержащего тионную группу (**1.24**), с пиперидином (**1.23**) (схема 1.11). Выход такого единичного соединения является практически эквивалентным. Этот способ открывает большие возможности в синтезе NH-насыщенных гетероциклических систем [108].

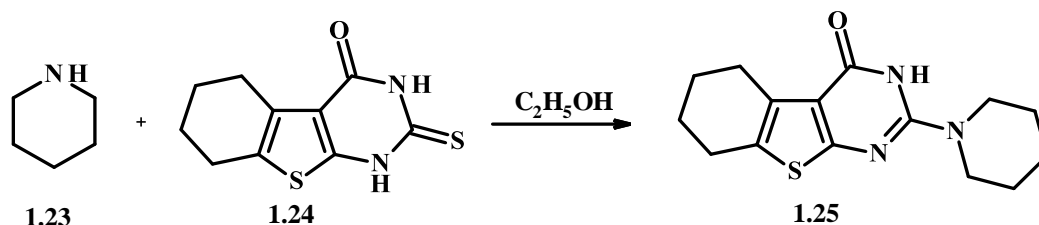


Схема 1.11 – Синтеза конденсированного производного тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она с фрагментом пиперидина

Осуществлён синтез тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она со структурным фрагментом хромона (**1.28**) с выходом равным 82% (схема 1.12). Целевое соединение синтезировали в результате взаимодействия 4-оксохромон-2-карбальдегида (**1.26**) с 2-метил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-оном (**1.27**) в среде хлортриметилсилана и ДМФА. Реакцию проводили 12 часов при температуре 100°C [127]. Отрицательным моментом в данной методике является нагревание в реакционной среде, содержащей ДМФА.

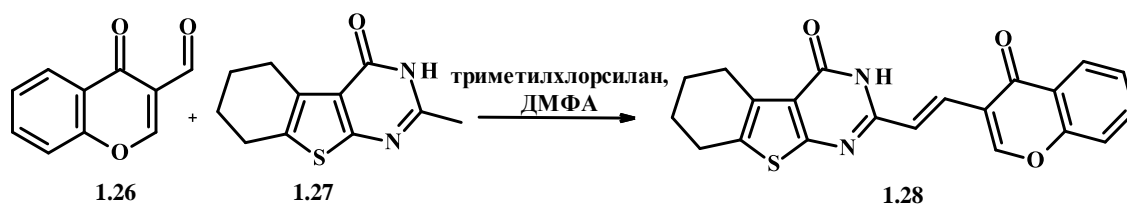


Схема 1.12 – Синтез производного тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (1.28) со структурным фрагментом хромона

Предложен интересный способ получения 2-гетерильных и аминоктанольных производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.30**) путём взаимодействия тетразольного производного тиокарбосилата (**1.29**) с аминосоединениями (схема 1.13). Само производное тетразола (**1.29**) синтезировали в ходе реакции этил-2-амино-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбосилата (**1.16**) с триэтилортоформиатом и азидом натрия в среде уксусной кислоты [126].

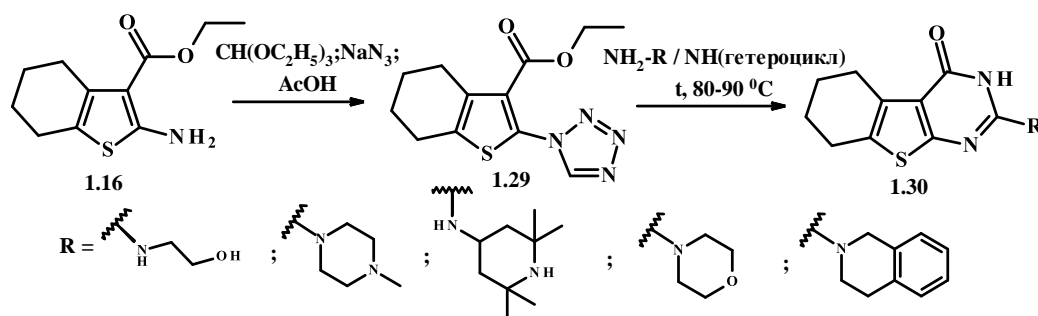


Схема 1.13 – Синтез 2-гетерильных и аминоктанольных производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (1.30)

Осуществлён синтез 3-амино-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.32**) из производного 2-амино-3-карбэтокситиофена (**1.16**) через интермедиат (**1.31**), который получали взаимодействием этил-2-амино-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбосилата (**1.16**) с уксусным ангидридом и триэтоксиметаном (схема 1.14). Циклизация в *N*-аминопроизводное (**1.32**) проводилась взаимодействием с гидратом гидразина. Далее гетероциклическое аминопроводное конденсировали с альдегидами в среде этанола и уксусной кислоты, что приводило к образованию целевых 3-замещённых тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.33**) [89]. Этот метод широко

используется для введения фурильного фрагмента, однако применение уксусного ангидрида, который является прекурсором, ухудшает возможность масштабирования данного процесса с целью разработки лабораторного регламента.

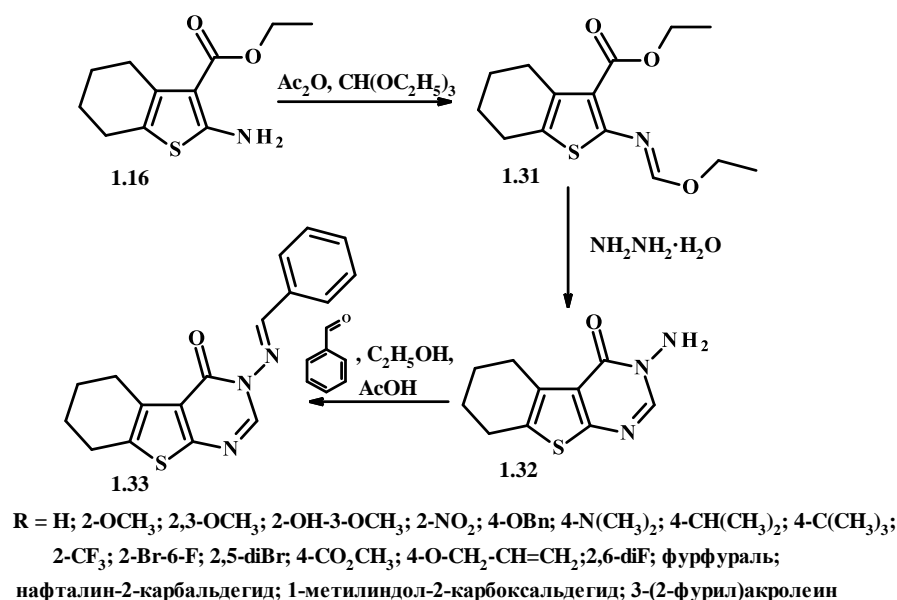


Схема 1.14 – Синтез 3-замещённых тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.33)

3-N-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.36) синтезировали взаимодействием NH-тиенопиримидина (1.34) с арилбороновыми кислотами (1.35) при добавлении Cu(OAc)<sub>2</sub> и Et<sub>3</sub>N в среде 1,2-дихлорэтана в течение 1-2 часов (схема 1.15). Полученную смесь очищали с помощью колоночной хроматографии [79]. Использование арилбороновых кислот позволяет расширить препаративные возможности данного метода, однако применение катализатора и колоночной хроматографии усложняет процесс синтеза производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она.

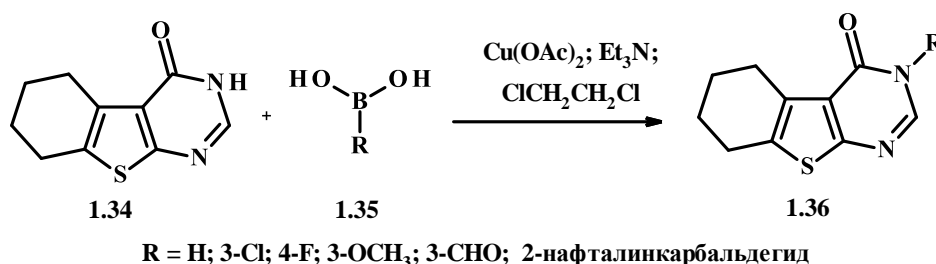


Схема 1.15 – Синтез 3-N-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.36)



Удачной методикой получения 3-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.39**) является сплавнение *N*-формил-*o*-аминоэфира (**1.37**) с соответствующим ароматическим амином (**1.38**) при температуре 175-180°C в течение 5 часов (схема 1.16). Выходы целевых продуктов варьируются от 30 до 70% [120], что является неудовлетворительной характеристикой для разработки методики синтеза активной фармацевтической субстанции.

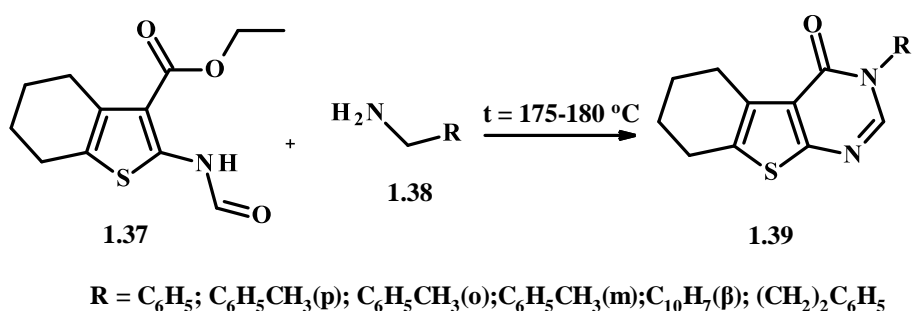


Схема 1.16 – Синтез 3-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.39**)

Получение триазольных производных с одновременным формированием дополнительного пиперидинового фрагмента (**1.41**) осуществлялось взаимодействием исходного соединения (**1.34**) и производного триазола (**1.40**). Реакция протекала в течение 12 часов в среде трет-бутанола с добавлением метилата натрия (схема 1.17). В случае введения в структуру молекулы арильного заместителя с атомом фтора во втором или четвертом положении фенильного фрагмента выход продукта реакции составляет менее 60% [29].

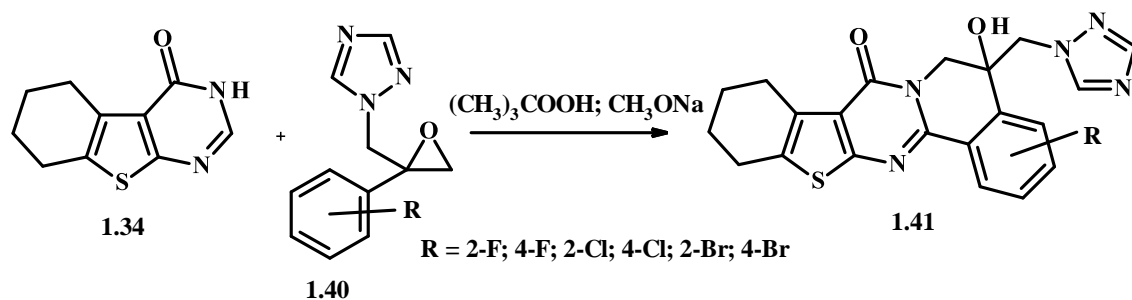


Схема 1.17 – Синтез триазольных производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она с пиперидиновым фрагментом (**1.41**)

Согласно международному патенту оригинальное получение N-алкил-2-гетерилпроизводного тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.43**) осуществляется взаимодействием алкиламида (**1.16**) и 2-тиофенкарбоновой кислоты (**1.42**) в среде 1,2-дихлорэтана в присутствии оксихлорида фосфора в течение 24 часов (схема 1.18) [27]. Использование высокотоксичного оксихлорида фосфора, а также длительное прохождение реакции осложняют использование данного метода для синтеза 2-гетерилпроизводных.

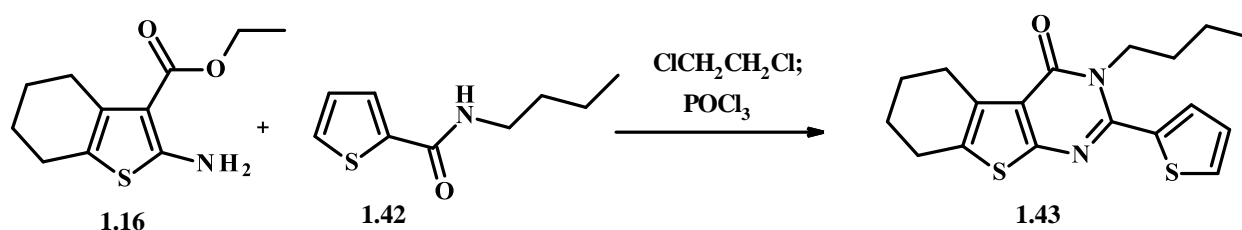


Схема 1.18 – Синтез N-алкил-2-гетерилпроизводного тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.43**)

Четырехстадийный синтез N-конформационно подвижных гетероциклических производных (**1.48**) осуществляется взаимодействием интермедиата (**1.45**), получаемого конденсацией из соответствующего сложного эфира (**1.44**) (схема 1.19). Дальнейшая циклоконденсация проводится путём основного катализа в среде этанола (**1.46**). Третья стадия протекает тозилацией циклизованного продукта (**1.46**) в среде пиридина и метансульфонилхлорида. Целевые N-гетерилпроизводные (**1.48**) образуются взаимодействием NH-гетероциклических систем и их гидроксилпроизводных с тозилированным производным (**1.47**) в среде ДМФА в присутствии безводного карбоната калия при температуре 100°C [74].

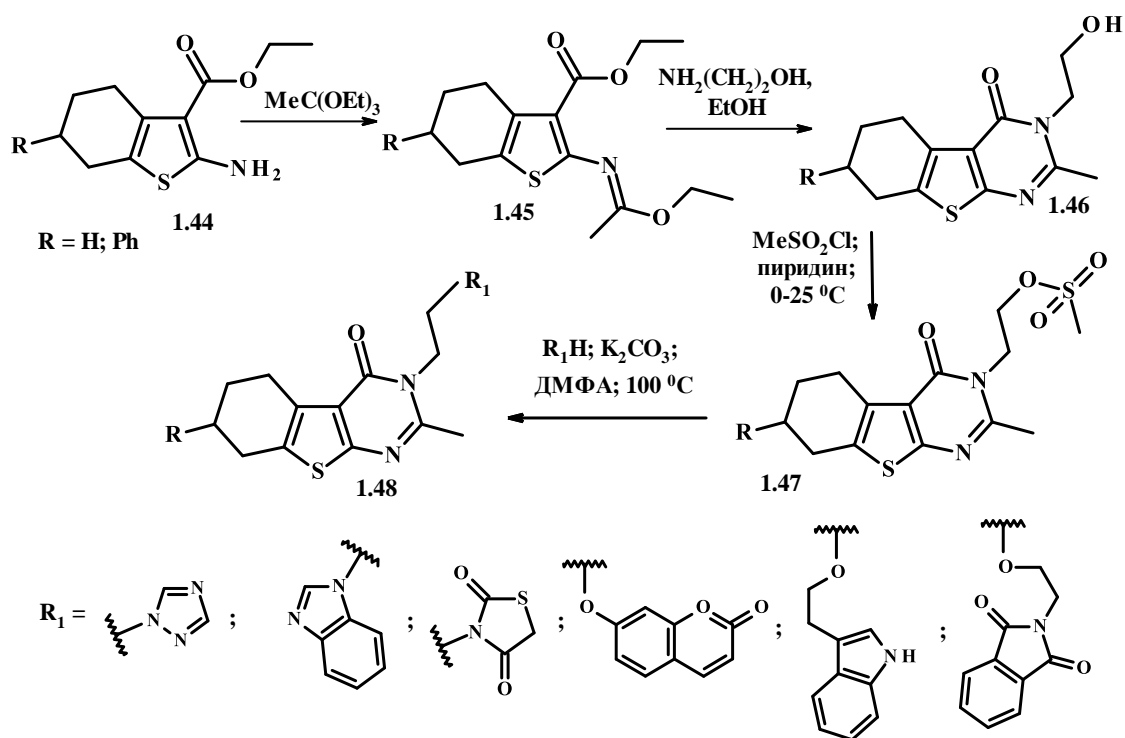


Схема 1.19 – Синтез N-конформационно подвижных гетероциклических производных (1.48)

Иной способ получения 2,3-замещённых тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (1.50) заключается через образование сераорганического соединения (1.49), образующегося из сложного эфира (1.16) в среде толуола при температуре 115°C в течение 72 часов. Далее оно (1.49) взаимодействует со структурами общей формулой  $\text{XCH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}_1$  в среде ацетонитрила при каталитическом количестве карбоната цезия в течение 3 часов (схема 1.20). Выходы целевых продуктов варьируются от 9 до 88% [109]. Применение карбоната цезия и низкие выходы продуктов реакций значительно уменьшают широту использования данной методики.

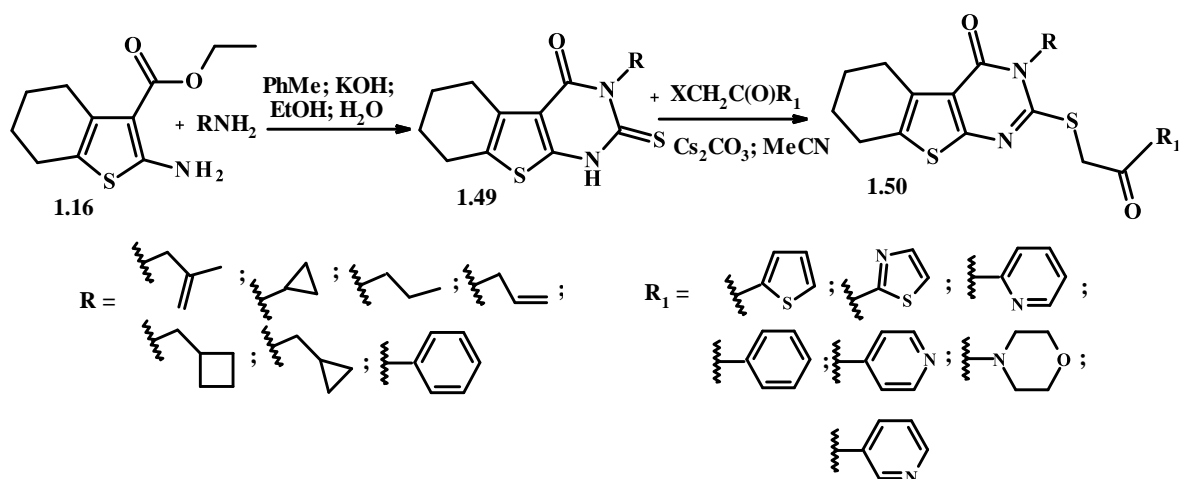


Схема 1.20 – Синтез 2,3-замещённых тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.50)

Другим четырёхстадийным синтезом производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.54) является использование аналогичного сложного эфира (1.16), как исходного соединения. Этот процесс протекает через формирование промежуточного пиримидина (1.51) с последующим из него получением интермедиата (1.52), переходящего в гидразинпроизводное (1.53). В результате к соединению 1.53 добавляют соответствующий изотиоционат (схема 1.21). Выходы целевых продуктов реакций не превышают 62% [144].

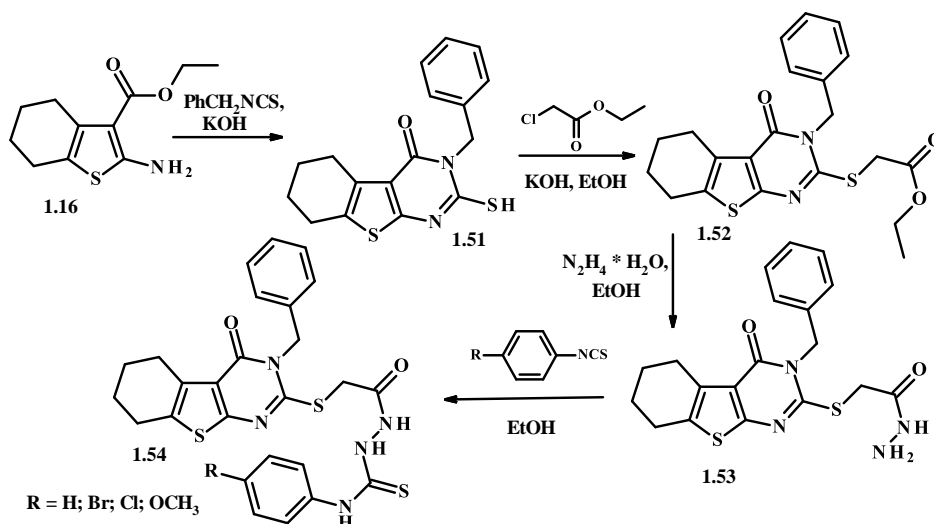


Схема 1.21 – Синтез 2,3-замещённых тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1.54)

### 1.1.3. Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она

Особый интерес для поиска высокоэффективных и безопасных лекарственных средств представляют производные 6,7-диметоксихиназолин-4-она.

Описан двухстадийный способ синтеза производных 6,7-диметоксихиназолин-4-она (**1.57**) из 6,7-диметоксианраниламида (**1.55**), который основан на образовании 2-амидных производных (**1.56**), получаемых ацилированием по аминогруппе при добавлении карбоновых кислот и тионилхлорида (схема 1.22). Далее циклоконденсация протекает в результате основного катализа в этиленгликоле под воздействием микроволнового излучения [85]. Высокие выходы получаемых продуктов являются положительной стороной, однако использование специального оборудования усложняет данный процесс.

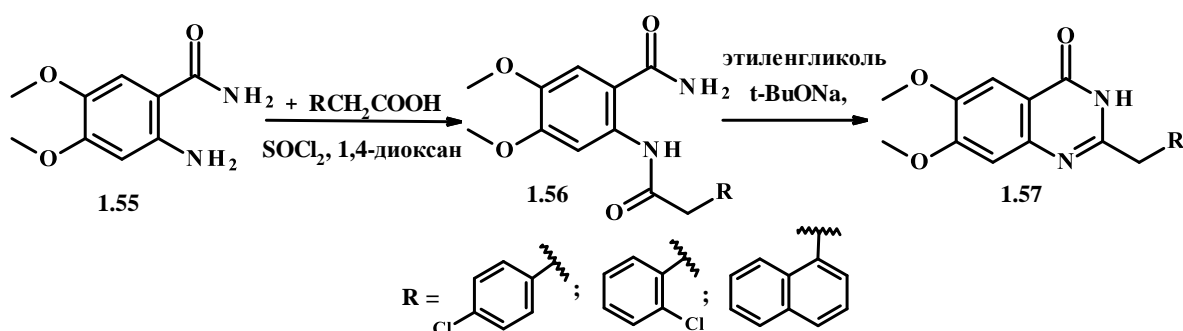


Схема 1.22 – Двухстадийный способ синтеза производных 6,7-диметоксихиназолин-4-она (**1.57**)

Стирилпроизводные 6,7-диметокси-2-метил-хиназолин-4(3H)-она (**1.60**) синтезировали при воздействии микроволнового облучения на смесь 2-метил-производного 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она (**1.58**) и соответствующего ангидрида (**1.59**). Процесс протекает при температуре 190°C в течение 90 минут (схема 1.23). Выходы продуктов реакций варьируются от 55 до 88% [91], однако требуется применение специальной аппаратуры.

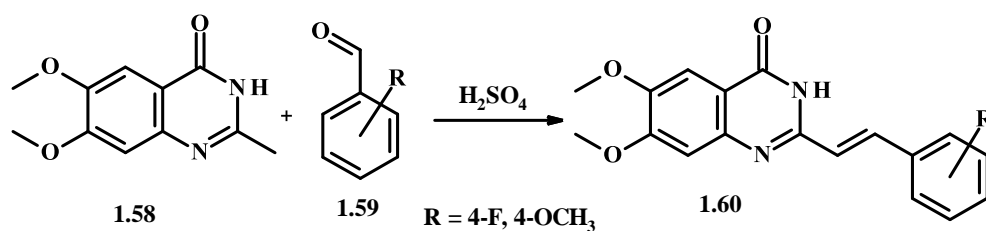


Схема 1.23 – Синтез стирилпроизводных 6,7-диметокси-2-метил-хиназолин-4(3*H*)-она (1.60) при воздействии микроволнового облучения

Интересный способ синтеза 2-алкилпроизводных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**1.63**) осуществляется взаимодействием 2-аминобензонитрила (**1.61**) с алифатическими спиртами (**1.62**) в присутствии  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , трис[2-(дифенил-фосфино)этил]фосфина и  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  в течение 36 часов при температуре 150°C (схема 1.24). Продукт реакции очищали с помощью колоночной хроматографии. Выход целевых продуктов около 67% [80]. Недостатками приведённого метода синтеза является наличие специального аппаратного обеспечения, дорогих катализаторов и реагентов, длительность проведения синтеза и способ очистки целевых веществ.

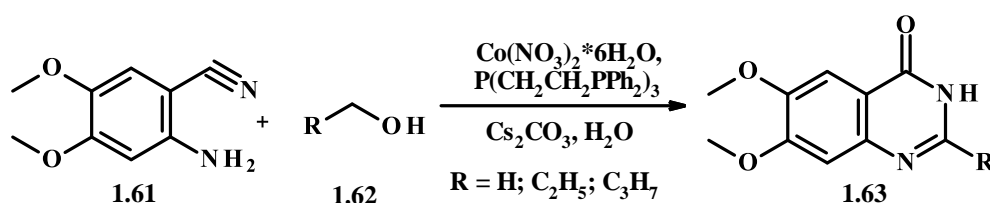


Схема 1.24 – Синтеза 2-алкилпроизводных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (1.63) в присутствии  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , трис[2-(дифенил-фосфино)этил]фосфина и  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$

Синтез нового производного 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**1.65**) проводили взаимодействием соединения **1.64** с 6,7-диметоксианраниламидом (**1.55**) с добавлением  $\text{NEt}_3$  и  $\text{ClCO}_2\text{Et}$  в среде сухого тетрагидрофурана (схема 1.25). К реакционной смеси добавляли 10%-ый водный раствор щёлочи и метанола, далее кипятили 30 минут. Выход целевого соединения составил 53% [145].

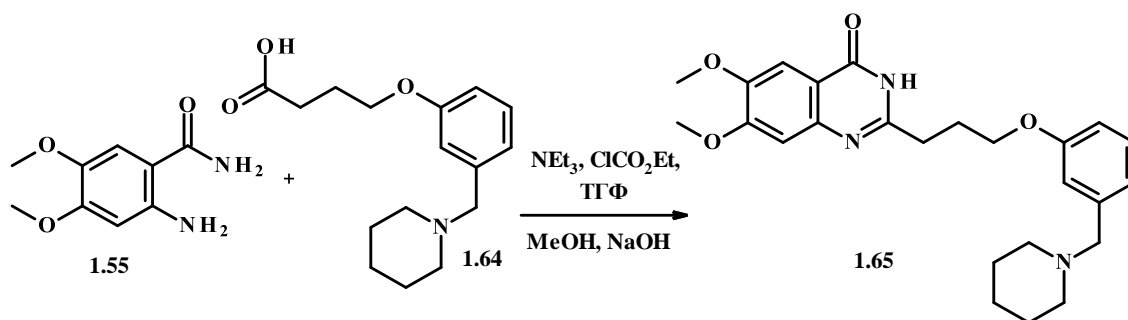


Схема 1.25 – Синтез нового производного 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (1.65) с добавлением  $\text{NEt}_3$  и  $\text{ClCO}_2\text{Et}$  в среде сухого тетрагидрофурана

Взаимодействие 4,5-диметоксиантраниловой кислоты (1.66) с бутаноилхлоридом при добавлении ацетата аммония приводит к формированию производного 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (1.67) с алифатическим заместителем во втором положении пиримидинового гетероцикла (схема 1.26) [86]. Границы использования этой методики сужаются вследствие применения галогенангидридов карбоновых кислот.

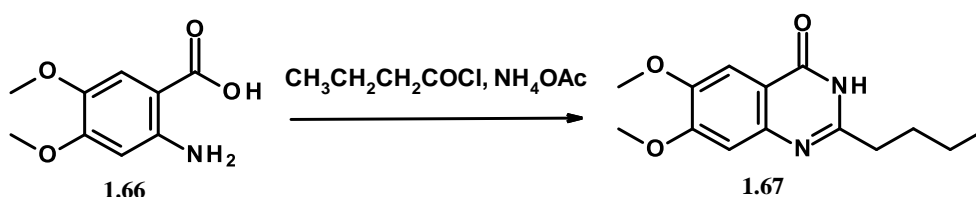


Схема 1.26 – Синтез производного 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (1.67) с алифатическим заместителем в пиримидиновом гетероцикле

Получение *N*-замещённых гетероциклических производных хиназолинона (1.70) проводили взаимодействием хлорпроизводного (1.69) с 1,2,3,4-тетрагидроизохиназолина гидрохлоридом в среде ДМФА при добавлении карбоната калия при температуре 85°C в течение 8 часов. Галогенпроизводное (1.69) синтезировали путём добавления к *NH*-гетероциклической системе (1.68) 1-бromo-3-хлорпентана или 1-бromo-4-хлорбутана с гидридом натрия (схема 1.27). Выходы составляли 71-72% [148].

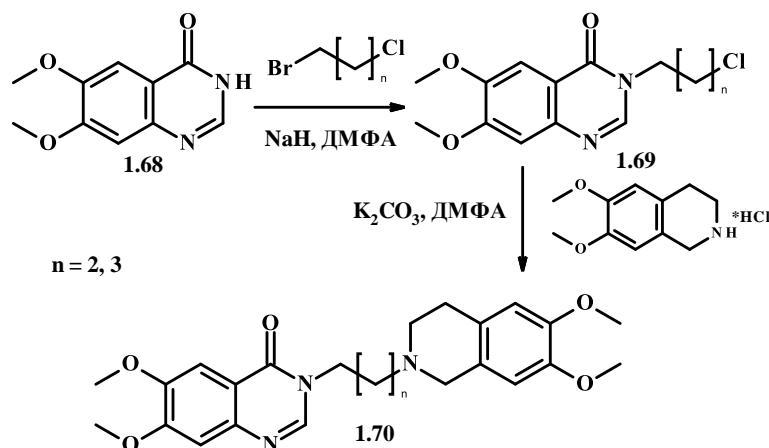


Схема 1.27 – Синтез N-замещённых гетероциклических производных хиназолинона (1.70)

Известен стереоселективный синтез (3S)-6,7-диметокси-3-(1-фенилаллил)хиназолин-4-она (1.72) в результате взаимодействия 6,7-диметоксихиназолинона (1.68) и метил-1-фенилаллилкарбаната (1.71). Реакция проводилась в условиях родиевого катализа и фосфинового лиганда в среде 1,2-дихлорэтана и ацетонитрила при температуре  $80^\circ\text{C}$  в течение 24 часов (схема 1.28). Выход целевого соединения равняется 92% [172]. Положительной стороной этой методики является осуществление стереоселективного продукта, что является важным направлением в современной фармации.

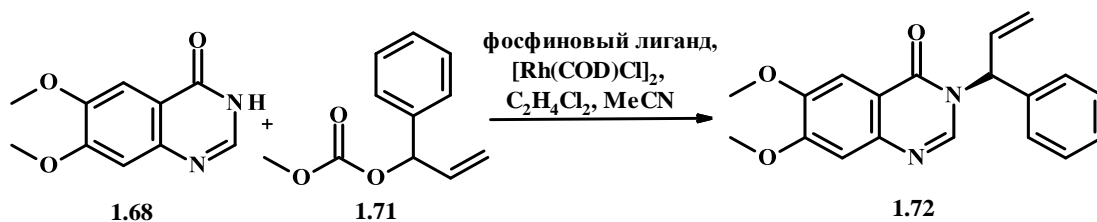


Схема 1.28 – Стереоселективный синтез (3S)-6,7-диметокси-3-(1-фенилаллил)хиназолин-4-она (1.72)

Разработан способ синтеза N-арилзамещённых (1.74), который основан на взаимодействии NH-хиназолинона (1.68) с арилбороновыми кислотами (1.73) (схема 1.29). Процесс протекает в течение 26-60 часов, что является негативным моментом этой методике [90]. Реакция проходит при добавлении в качестве катализатора ангидрида меди и триэтиламина в среде дихлорметана. Выходы целевых соединений составляют 60-72%.



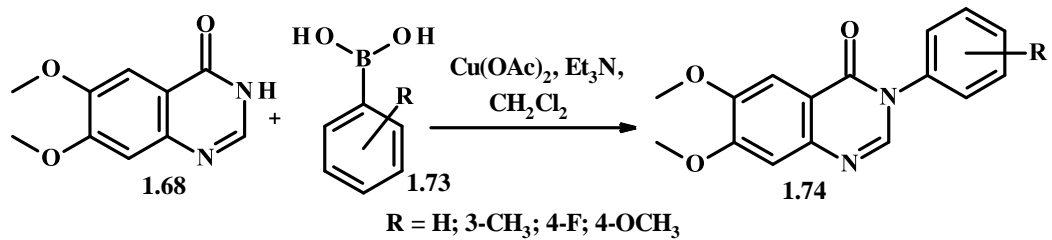


Схема 1.29 – Синтеза N-арилзамещённых (1.74), основанный на взаимодействии NH-хиназолинона (1.68) с арилбороновыми кислотами (1.73)

Осуществлен трёхстадийный синтез 2-стирилпроизводных 3-[3-(диметиламино)пропил]-6,7-диметокси-2-метил-хиназолин-4-она (1.77). В качестве интермедиата использовался 2-метил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он (1.75), который образуется циклоконденсацией из 6,7-диметоксианранилаевой кислоты при добавлении уксусного ангидрида (1.66). Далее получали N-замещённый продукт (1.76) путём замещения гетероциклического кислорода на азот. Собственно реакция синтеза целевых продуктов протекала взаимодействием ароматических альдегидов по СН-кислотному центру соединения 1.76. Этот процесс осуществлялся кипячением реакционной смеси в течение 12 часов (схема 1.30). Выходы целевых продуктов варьировались от 40 до 64% [94]. Использование прекурсора и полнота прохождения реакция являются недостатками рассматриваемого метода.

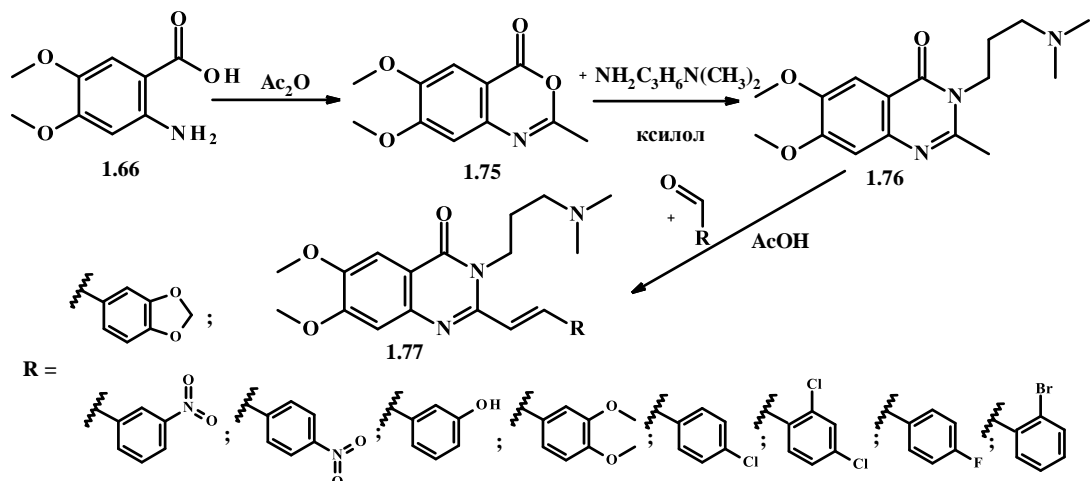


Схема 1.30 – Трёхстадийный синтез 2-стирилпроизводных 3-[3-(диметиламино)пропил]-6,7-диметокси-2-метил-хиназолин-4-она (1.77).

Рассматриваются два подхода синтеза N-фенилпроизводных 6,7-диметоксихиназолин-4-она (**1.79**, **1.80**) (схема 1.31). Следует отметить, что в качестве исходной структуры в обоих случаях используется 2-йод-4,5-диметокси-N-фенил-бензамид (**1.78**). Применение бензиламина приводит к формированию дифенилпроизводного (**1.79**), а 3-фенилпроп-2-ен-1-амин необходим для синтеза уже стирильного фрагмента (**1.80**). Потребность в целом ряде катализаторов и создание атмосферы кислорода значительно снижают границы использования этих методов [152].

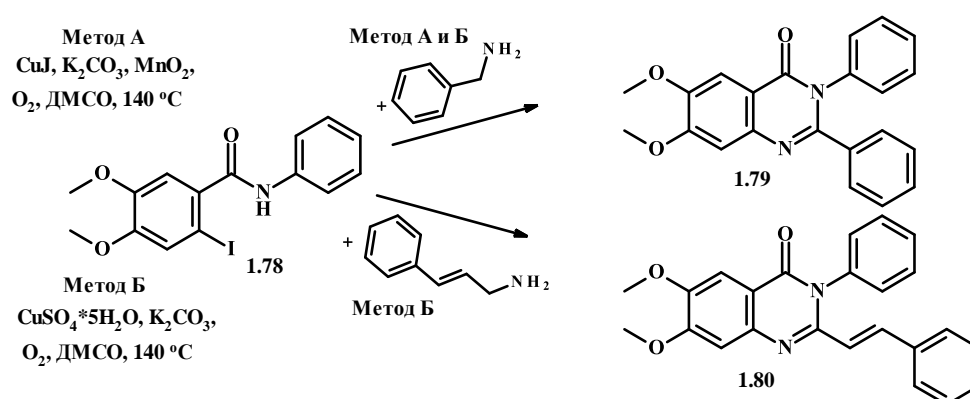


Схема 1.31 – Синтез N-фенилпроизводных 6,7-диметоксихиназолин-4-она (**1.79**, **1.80**)

Получение с помощью реакции циклоконденсации производных 6,7-диметоксихиназолина (**1.83**) проводили взаимодействием йодсодержащего ациклического предшественника (**1.81**) и аминопроизводного (**1.82**) (схема 1.32). Выходы продуктов варьировались от 35 до 73%. Недостатком данной методики является использование целого ряда катализаторов и продолжительность реакции, составляющая 24 часа [143].

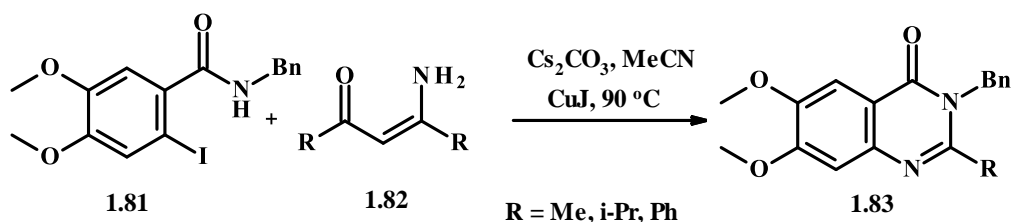


Схема 1.32 – Синтез производных 6,7-диметоксихиназолина (**1.83**), используя йодсодержащего ациклического предшественника (**1.81**)

На схеме 1.33 представлен многостадийный синтез производных 6,7-диметоксихиназолинона с фрагментом гидразина (**1.88**). На первом этапе осуществлялось взаимодействие 4,5-диметоксиантраниловой кислоты (**1.66**) с бензилизотиоцианатом (**1.84**). Далее синтезировали промежуточное сераорганическое соединение (**1.85**) и структуру, содержащую сложноэфирную связь (**1.86**). Взаимодействие **1.86** с гидразином приводит к формированию интермедиата (**1.87**), который ацилировали хлорангидами карбоновых кислот с образованием целевых продуктов (**1.88**) [155].

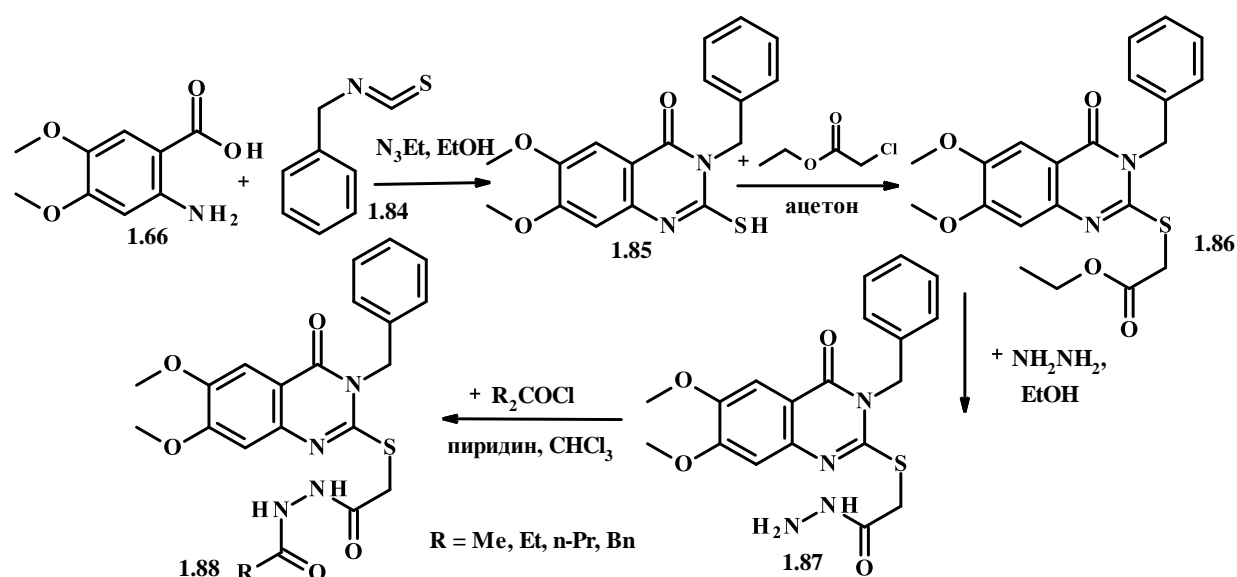


Схема 1.33 – Многостадийный синтез производных 6,7-диметоксихиназолинона с фрагментом гидразина (**1.88**)

Одним из наиболее удачных методов синтеза винилпроизводных 6,7-диметокси-3-(*o*-толил)-2-[2-(2-пиридил)винил]хиназолин-4-она (**1.90**), позволяющего использовать достаточно доступные реактивы, является трёхстадийный способ на основе 6,7-диметоксиантранилавой кислоты (**1.66**) (схема 1.34). В качестве интермедиатов выступают 2-метил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он (**1.75**) и получаемое из него *N*-арилпроизводное (**1.89**). Целевое соединение (**1.90**) получали реакцией конденсации с 2-пиридиновым альдегидом [72].

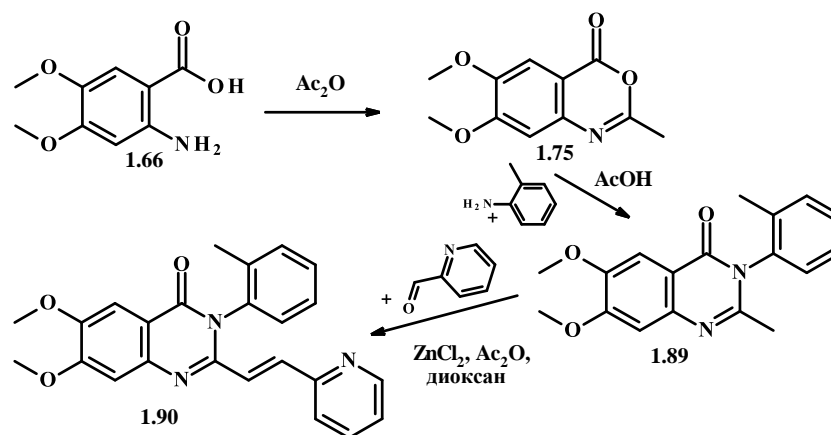


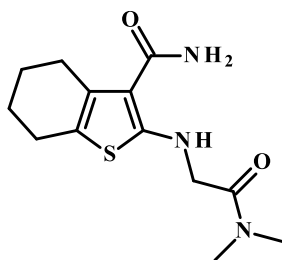
Схема 1.34 – Синтез виниленпроизводных 6,7-диметокси-3-(о-толил)-2-[2-(2-пиридил)винил]хиназолин-4-она (1.90)

## 1.2. Биологическая активность конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников

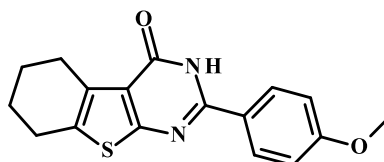
### 1.2.1. Биологическая активность производных 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она и их ациклических предшественников

Для азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды характерна ингибирующая активность в отношении протеинкиназы G из *Mycobacterium tuberculosis* [24], и описаны антибактериальные свойства по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonasa eruginosa* и *Escherichia coli* [150].

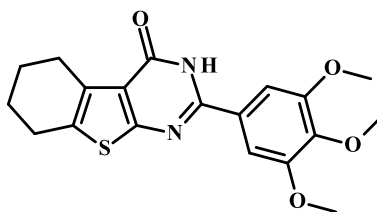
Амид 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды (**1.91**) обладает ингибирующим действием на циклин-зависимую киназу 4, что обуславливает его противораковую активность [25].

**1.91**

Производное тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она с метоксифенильным заместителем (**1.92**) может быть эффективным для лечения рака предстательной железы на поздних стадиях, так как оно индуцирует апоптоз и ингибирует активность Wnt/ $\beta$ -катенинового пути в клетках предстательной железы [128].

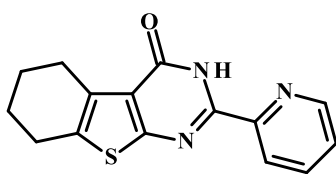
**1.92**

На основе результатов скринингового анализа в отношении изогенных клеточных линий P21 (P21-профицитные клетки и P21-дефицитные клетки) установлено, что тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-оны подавляют рост опухолевых клеток толстой кишки человека. Среди изучаемых соединений наиболее активным оказалось вещество **1.93**, содержащее триметоксифенильный фрагмент [118].

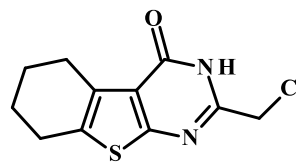
**1.93**

В ходе фармакологического исследований выявлена способность 2-замещённых тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1.94** и **1.95**) ингибировать продукцию медиаторов воспаления. Они значительно снижали секрецию воспалительных цитокинов в клетках RAW264.7, а также ингибировали

циклооксигеназу-2, что позволяет рассматривать их в качестве эффективных противовоспалительных веществ [89].

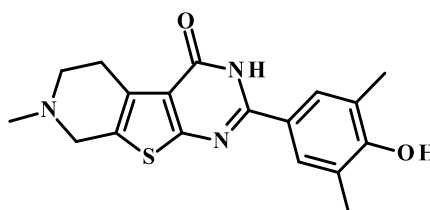


1.94



1.95

Медико-биологические исследования производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она с различными сопряженными циклическими системами показали, что 5,6,7,8-тетрагидробензотеофено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (**1.96**) характеризуется способностью взаимодействовать с 5'АМФ-активируемой протеинкиназой. Ингибирование 5'АМФ-активируемой протеинкиназы приводит к активации каскадов биохимических реакций AMPK-mTOR-ULK1-модулированных аутофагических путей в клетках рака молочной железы, что обуславливает их гибель [92].

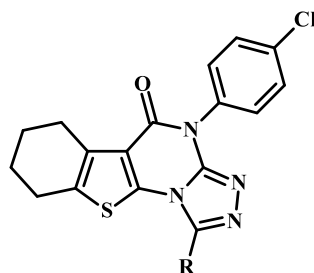


1.96

Четвертичные соли ряда 2-алкилтиозамещенных производных тиено[2,3-d]пиримидин-4-она проявляли выраженную спазмолитическую активность в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [147]. Некоторые тиено[2,3-d][1,2,4]-триазоло[4,3-a]пиримидин-5-оны и 6-изопропил-5-(2-оксо-пропил)-3H-тиено[2,3-d]пиримидин-4-оны оказывают выраженную противосудорожную активность [119].

Фармакологический скрининг производных тиено[2,3-d]пиримидин-4-она, сконденсированных с ядром триазола (**1.97**), выявил наличие у них психотропных свойств. Эти соединения угнетают центральную нервную систему и проявляют

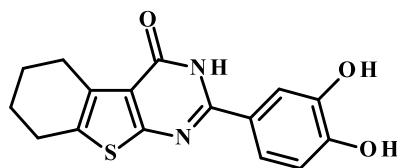
миорелаксантное и противосудорожное действие, сопоставимое с диазепамом [154].



R = CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, n-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>, NH<sub>2</sub>, SH

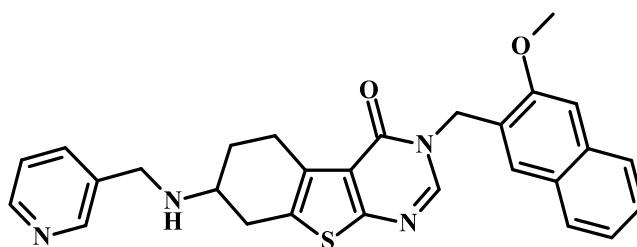
### 1.97

Разработан эффективный ингибитор протеинкиназы АКТ<sub>1</sub>, основу которого составляет ядро тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она, содержащее диметоксифенильный заместитель (**1.98**), что позволяет рассматривать его в качестве эффективного соединения для лечения острого лейкоза [101].



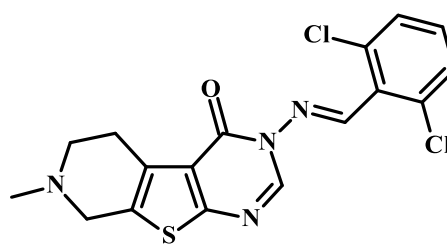
### 1.98

N-замещённое производное тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она с фрагментом пиридина (**1.99**) обладает выраженным нейропротекторным действием на модели паркинсонической гибели клеточной линии нейрональных клеток N27, индуцированных лактацистином, что открывает новые возможности поиска соединений для терапии болезни Паркинсона [164].



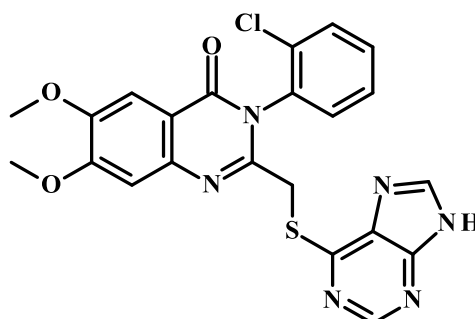
### 1.99

Исследование антимикробной активности производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она выявили, что структура с 2,6-дихлорфенильным заместителем (**1.100**) обладает высоким антибактериальным действием [156].

**1.100**

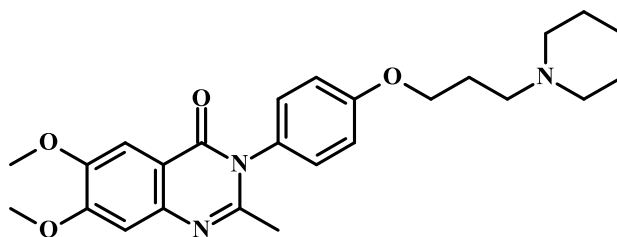
### 1.2.2. Биологическая активность производных 6,7-диметоксихиназолин-4-она

Производное 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащее в своей структуре ядро пурина (**1.101**), ингибирует фермент фосфатидилинозитол-3-киназу, который участвует в биохимических процессах развития рака. Лекарственным препаратом, широко применимый в медицинской практике, среди ингибиторов фосфатидилинозитол-3-киназы является вортманнин [26].

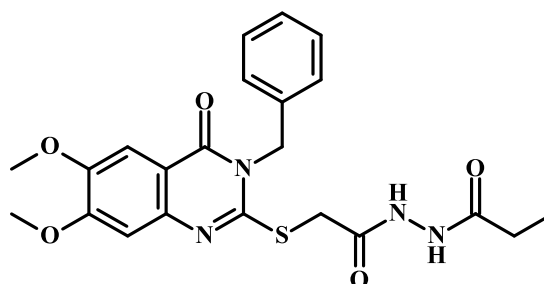
**1.101**

Установлена способность производного 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащего простую эфирную связь с пиперидином (**1.102**), ингибировать  $H_3$ -гистаминовый рецептор, что может быть использовано для профилактики или терапии метаболических заболеваний, при нарушениях работы кровеносной и нервной системы [28].

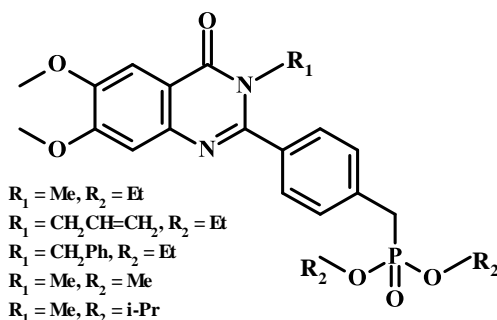


**1.102**

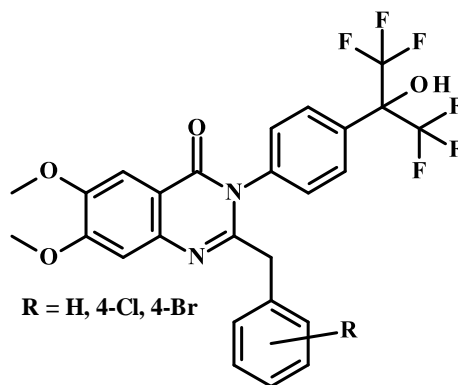
В ходе исследований противосудорожной активности новых 2-замещённых хиназолинонов установлено, что производное (**1.103**) многократно активнее используемого препарата вальпроата натрия. Предварительные результаты молекулярного докинга этой структуры в отношении ГАМК<sub>A</sub>-рецептора позволили выявить у данного соединения свойства агониста ГАМК-ергической системы [155].

**1.103**

Получен новый ряд 2,3-замещённых 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она с 4-[(диэтоксифосфорил)метил]фенильной группой (**1.104**), снижающих уровень триглицеридов и общего холестерина. В ходе фармакологических исследований выявлена решающая роль ядра хиназолинона на проявление биологической активности [146].

**1.104**

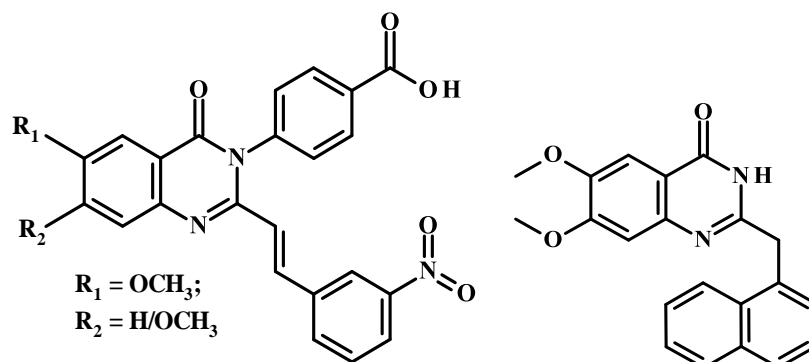
Доказаны с помощью фармакологических исследований агонистические свойства фторпроизводных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**1.105**) на печёночные X- $\beta$ -рецепторы человека (LXR- $\beta$ ) [31]. Подтверждено, что синтетические агонисты LXR- $\beta$  облегчают течение атеросклероза и обладают противовоспалительными свойствами при изучении на доклинических моделях животных [98].



**1.105**

Предложено использовать конфигурационные  $\pi$ -диастеромеры (E)-3-фенил-2-стирилхиназолин-4-она (**1.106**) в качестве селективных антагонистов N-метил-D-аспартат ионотропных глутаматных рецепторов, что приводит к активации центральной нервной системы [136].

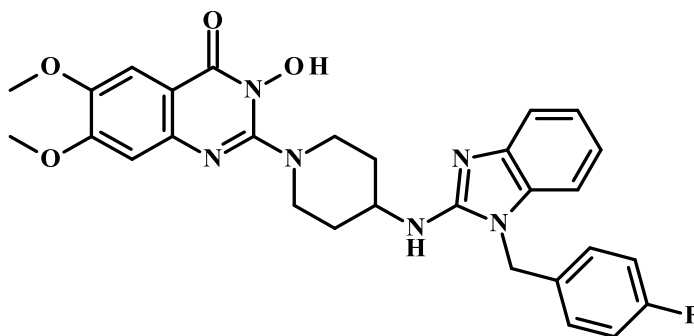
Фармакологические исследования 2-нафталинпроизводного 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**1.107**) выявили у него цитотоксическую активность на клеточных линиях Hct116p53p/p и hct116p53 рака толстого кишечника и линия раковых клеток яичников HEY, устойчивых к цисплатину [85].



**1.106**

**1.107**

Способность 2-гетерил-3-гидроксипроизводного 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**1.108**) ингибировать активность  $H_1$ - гистаминового рецептора человека позволяет судить о перспективности создания на его основе новой группы соединений для лечения астмы и других аллергических состояний [30].

**1.108**

## Выводы к главе 1

В ходе проведённого анализа литературных данных по синтезу конденсированных производных пиримидин-4-она, а также их ациклических предшественников, установлено, что существующие методики обладают значительными недостатками. Получение производных тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она и 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она требует применение различных дорогостоящих катализаторов, токсичных растворителей, длительного проведения синтеза, а в некоторых случаях целевые продукты образуются с низким выходом. Из научных источников следует, что азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды, их циклические производные – тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-оны мало изучены, а данные о производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащих остатки нейроактивных аминокислот и дипептидов, практически отсутствуют. Исходя из этого, можно обосновать актуальность и практическую значимость исследований данных групп гетероциклических соединений.

Модификация методик синтеза конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников позволит расширить препаративную доступность получения активной фармацевтической субстанции на их основе.

Разнообразие проявляемых видов биологической активности этих групп соединений, а именно влияния на ЦНС, цитостатические, противовоспалительные, антимикробные и противоаллергические свойства, позволяют осуществлять поиск и создание высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов.

Таким образом, молекулярное конструирование конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников позволит получить и исследовать новые соединения-лидеры с заданной фармакологической активностью.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Оборудование, программное обеспечение и методы исследования

#### *In silico* исследования

Прогноз биологической активности виртуальных структур осуществлялся посредством веб-ресурса Way2Drug PASS-online. Результаты прогноза приводятся в виде списка всех возможных для данного соединения видов биологической активности с указанием вероятности их проявления ( $P_a$ ) в долях единицы [82].

Молекулярный докинг проводился в свободно распространяемой программе Autodock 4.0 [73]. Молекулярное моделирование осуществлялось с учетом конформационной подвижности лигандов, торсионные углы которых были установлены и заданы в данной программе. Заряды всех атомов моделируемой системы рассчитаны алгоритмом гастейгера (Gasteiger algorithm). В программе был задан поиск 200 энергетически выгодных конформаций образования молекулярного комплекса изучаемых соединений с белковой мишенью с использованием ламарковской скоринговой функцией подсчёта энергии взаимодействия (Lamarckian GA 4.2). Расстояние между точками сетки составляло 0,375 ангстрема. Трёхмерные модели рецепторов и ферментов для вычислительных экспериментов брали из базы данных виртуальных структур RCSB Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) [165].

Виртуальные структуры моделируемых соединений были построены в программе HyperChem 8.0.4, а затем геометрически оптимизированы методом молекулярной механики с использованием метода MM+ [76]. Окончательная оптимизация геометрии виртуальных структур рассчитывалась в программе ORCA 4.1 с использованием метода теории функционала плотности (UB3LYP) и базового набора 6-311G\*\*. Преобразование формата *hin* в *pdb*, необходимого для молекулярного моделирования, было выполнено в программе Open Babel 2.4.1 [131].

В качестве мишени для осуществления прогнозирования антитирозиназной активности использована тирозиназа гриба *Garicus bisporus* с идентификационным номером 2Y9X [84], в структуре которой находится ингибитор данного фермента – трополон. Заряды для двух атомов меди в сайте связывания фермента заданы вручную и составляют +2. Областью вычислительного эксперимента является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x = -9,985$ ,  $y = -27,898$ ,  $z = -40,690$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$ ,  $y$  и  $z$  равно 44.

В случае изучения антихолинэстеразной активности была выбрана ацетилхолинэстераза человека с идентификационным номером 4EY7 [142] с её ингибитором донепезилом. Областью вычислительного эксперимента является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x = -13,98$ ;  $y = -43,97$ ;  $z = 27,89$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$ ,  $y$  и  $z$  равно 46.

Прогноз противовоспалительной активности проводился с использованием человеческой циклооксигеназы-2 с идентификационным номером 5IKT [132]. В этом комплексе находится ингибитор данного фермента – толфенамовая кислота. Областью вычислительного эксперимента является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x = 165,42$ ,  $y = 185,74$ ,  $z = 192,38$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$ ,  $y$  и  $z$  равно 46.

Мишенью осуществления молекулярного докинга для прогнозирования противомикробной активности является дигидрофолат-редуктаза организма *Escherichia coli* с идентификационным номером 6CXK [163]. В этом комплексе находится дигидрофолат, который используется ферментом для синтеза тетрагидрофолата. Областью вычислительного эксперимента является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x = 5,33$ ,  $y = -1,22$ ,  $z = 5,56$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$ ,  $y$  и  $z$  равно 40.

Для прогнозирования противовирусной активности использовались главная протеаза (идентификационный номер 7K6D [110]) и папаино-подобная (идентификационный номер 7LBR [87]) протеаза SARS-Cov-2. Областью вычислительного эксперимента для главной протеазы является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x = 9,664$ ,  $y = 1,911$ ,  $z = 22,528$ . Количество

точек в измерениях по осям  $x$ ,  $y$  и  $z$  равно 46. В случае папаино-подобной протеазы областью моделирования также является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x = 2,285$ ,  $y = 14,435$ ,  $z = 34,815$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$  и  $z$  равно 46, а по оси  $y$  составляет 52.

В случае прогнозирования ГАМК-ергической активности использовалась виртуальная модель ГАМК<sub>A</sub>-рецептора с  $\gamma$ -аминомасляной кислотой с идентификационным номером 6D6U [140]. Областью вычислительного эксперимента является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x = 151,50$ ;  $y = 164,17$ ;  $z = 114,72$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$ ,  $y$  и  $z$  равно 44. Также применялся аналогичный рецептор с включённым в него диазепамом (6X3X [141]), областью вычислительного эксперимента которого является куб. Его центр находится по следующим координатам:  $x = 145,90$ ;  $y = 122,40$ ;  $z = 122,35$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$ ,  $y$  и  $z$  равно 44.

Среднеквадратическое отклонение (СКО) для валидационной оценки предложенной методики проведения молекулярного докинга рассчитано с использованием местоположения лиганда в активном сайте виртуальной белковой мишени, установленного рентгеноструктурным методом, и его местоположения в соответствии с данными молекулярного докинга. Расчет СКО производился в соответствии с уравнением [36]:

$$\text{СКО} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N r_i^2}$$

где СКО - среднеквадратичное отклонение, Å;  $N$  – количество атомов в молекуле;  $r_i$  - расстояние между соответствующими атомами  $i$ , Å.

### **Физико-химические, аналитические и спектральные измерения**

Ультрафиолетовые спектры получали на приборе СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). Спектры ИК измерены при помощи ИК фурье-спектрометра ФСМ 1201 (ОКБ «Спектр», Россия). Спектры  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР регистрировали на базе Института

элементоорганических соединений Российской Академии наук им. А.Н. Несмеянова и Ставропольского государственного медицинского университета на приборе Bruker Avance III 400 МГц (Bruker, США) при 20°C в ДМСО-d<sub>6</sub> и хлороформе-d. В качестве внутреннего стандарта использовали гексаметилдисилоксан.

Масс-спектры высокого разрешения были зарегистрированы на базе Института органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН на масс-спектрометре Bruker maXis QTOF (Bruker, США) (квадрупольный/времяпролетный масс-анализатор), оснащённым источником ионизации электрораспылением (ИЭР) в режиме положительных ионов (заземленная игла распыления, высоковольтный капилляр – 4500 В; разность потенциалов с защитным экраном спрея –500 В). Диапазон сканирования 90 – 1200 m/z. Внутренняя калибровка осуществлялась при помощи низкоконцентрированного калибровочного раствора «Tuning mix» (Agilent Technologies). Ввод образцов проводили с помощью шприца Hamilton RN 1750 (Швейцария) на 500 мкл. Скорость потока при вводе контролировали шприцевым насосом (3 мкл/мин). Азот использовали в качестве газа-распылителя (1.0 бар) и газа осушителя (4.0 л/мин, 200°C). Данные обрабатывали с использованием программного пакета Bruker Data Analysis 4.0 [16].

Температуры плавления соединений определяли в запаянных с одного конца стеклянных капиллярах с помощью прибора ПТП(М) (ПАО «Химлаборприбор», Россия) и аппарата для определения точки плавления SMP30 (Stuart, Великобритания).

Отсутствие примесей и получение  $R_f$  для синтезированных соединений определяли методом тонкослойной хроматографии на пластинах «Sorbfil»: тип сорбента - силикагель СТХ-1А, зернение 5-17 мкм, толщина слоя 110 мкм, связующее силиказоль, тип подложки ПЭТ-Э.



**Условия определения посторонних примесей в анализируемых образцах с помощью ВЭЖХ для азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида**

Хроматограф «Стайер» (АО «Аквилон», Россия), снабженный УФ-детектором UVV-104M (АО «Аквилон», Россия). Хроматографическая колонка Luna C18 150 x 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°C, объем пробы 20 мкл, длина волны детектирования 210 нм. Для соединения **11a** в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и 0,5% муравьиной кислоты в объемном соотношении компонентов 80:20. В указанных условиях проводили хроматографирование синтезированных и исходных веществ, а также подвижной фазы [6].

Для приготовления испытуемых растворов брали 0,01 г соединения (точная навеска) и 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 [6].

**Условия определения посторонних примесей в анализируемых образцах с помощью ВЭЖХ для 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она**

Хроматограф Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), снабженный УФ-детектором VD-3000. Хроматографическая колонка Luna C18(2) 150 x 4,6 мм (Phenomenex, США) с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,5 % муравьиной кислоты в объемном соотношении компонентов 65:35, продолжительность анализа 30 минут, температура колонки 30°C, объем пробы 20 мкл, длина волны детектирования 210 нм. В случае **10b** и **11b** в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и 0,5% муравьиной кислоты в

объемном соотношении компонентов 80:20. В указанных условиях проводили хроматографирование синтезированных и исходных веществ, а также подвижной фазы [6].

Для приготовления испытуемых растворов брали 0,01 г соединения (точная навеска) и растворяли в ацетонитриле, используя мерную колбу вместимостью 100 мл. Переносили 5 мл полученного раствора в мерную колбу вместимостью 10 мл, после чего объем раствора доводили до метки ацетонитрилом [6].

### **Условия определения посторонних примесей в анализируемых образцах с помощью ВЭЖХ для производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она**

Хроматограф Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), снабженный УФ-детектором VD-3000. Хроматографическая колонка Luna C18(2) 150 x 4,6 мм (Phenomenex, США) с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза для **1с, 2с, 5с, 6с, 9с и 11с**: смесь ацетонитрила и 0,5% муравьиной кислоты в объемном соотношении компонентов 20:80. Подвижная фаза для **3с, 4с, 7с, 8с, 10с, 12с и 13с**: смесь ацетонитрила и 0,5% муравьиной кислоты в объемном соотношении компонентов 35:65. Продолжительность анализа 30 минут, температура колонки 30°C, объем пробы 20 мкл, длина волны детектирования 210 нм. В указанных условиях проводили хроматографирование синтезированных и исходных веществ, а также подвижной фазы [6].

Для приготовления испытуемых растворов брали 0,01 г соединения (точная навеска) и растворяли в ацетонитриле, используя мерную колбу вместимостью 100 мл. Переносили 1 мл полученного раствора в мерную колбу вместимостью 10 мл, после чего объем раствора доводили до метки подвижной фазой [6].

## Фармакологические исследования

### Определение антихолинэстеразной активности

Активность ацетилхолинэстеразы определяли модифицированным методом Элмана. Анализируемая среда содержала 20  $\mu$ л раствора ацетилхолинэстеразы (3,2 Ед /л), 25  $\mu$ л раствора исследуемых соединений в различных концентрациях (30 мг/мл, 15 мг/мл, 7,5 мг/мл, 3,75 мг/мл и 1,875 мг/мл) и калий-фосфатный буферный раствор в объеме до 300  $\mu$ л. В качестве эталонного вещества использовали индивидуальное вещество - донепезил (КРКА, Словения) в аналогичных концентрациях. Смесь инкубировали в течение 5 минут. Реакцию начинали добавлением хлорида ацетилхолина (25 мкл, 0,02 М раствора) и 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислоты (25 мкл, 0,02 М раствора). Поглощение смеси регистрировали через 5 минут при 412 нм с помощью микропланшетного спектрофотометра Infinite F50 (Tecan, Австрия). Испытания проводились трехкратно.  $IC_{50}$  (мг/мл) рассчитывали с помощью пробит-анализа. Данные представлены в виде  $M \pm SEM$  (среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего значения). Статистические различия оценивали на уровне значимости  $p < 0,05$  методом ANOVA с пост-тестом Тьюки [96].

### Определение антиамилоидной активности

Фрагмент А $\beta$  1-42 был получен от Sigma-Aldrich (Германия). Референт GV-971 был предоставлен компанией Hunan warrant pharm. (Китай). Процесс агрегации амилоидных частиц оценивали в реакции взаимодействия А $\beta$  с конго-красным. 25 мкл раствора исследуемых соединений в диметилсульфоксиде (конечная концентрация составляет 20 мг/мл, в качестве эталонного соединения использовался GV-971 в аналогичной концентрации) смешивали с 225 мкл 20 мм раствора красного конго в фосфатном буферном растворе. Полученную смесь инкубировали при комнатной температуре. Затем регистрировали оптическую

плотность образцов при длинах волн 540 нм и 405 нм. после девяти дней инкубации. Количество агрегатов Аβ рассчитывали по формуле на 9-й день эксперимента:

$$A\beta = \frac{A540}{4780} - \frac{A405}{6380} - A405BL/8620$$

где: A405BL - поглощение раствора красного конго при длине волны 405 нм;

A540 и A405 - поглощение раствора, содержащего исследуемые вещества, при длинах волн 540 нм и 405 нм соответственно. Разницу между соединениями оценивали методом ANOVA с пост-тестом Тьюки [117].

### **Изучение церебропротекторной активности производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она на модели ишемии головного мозга**

Модель ишемии головного мозга. Исследование выполнено на 84 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Животные были получены из питомника лабораторных животных «Рапполово» и содержались в стандартных условиях вивария. Исследование соответствовало общепринятым нормам работы с лабораторными животными, изложенным в Директиве ЕС 63/2010. Всего было сформировано 14 групп по 6 особей в каждой. В качестве референс-препарата использовали этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС, «Мексидол», ФАРМАСОФТ, Россия) в дозе 100 мг/кг, перорально. Церебральную ишемию у крыс воспроизводили путем необратимой правосторонней окклюзии средней мозговой артерии по методу Tamura A. (1981). Животных анестезировали внутрибрюшинным введением хлоралгидрата в дозе 350 мг/кг, область ниже и правее глаза депилировали, рассекали кожу и мягкие ткани. Далее бором проделывали трепанационное отверстие над местом пересечения артерии с обонятельным трактом, затем артерию коагулировали электрокоагулятором. Восстанавливали топографию мягких тканей, рану ушивали. Шов обрабатывали 10% раствором повидон-йода. Исследуемые вещества и препарат сравнения

вводили перорально, в течении 3-х суток с момента моделирования ишемии. После чего оценивали изменение зоны некроза головного мозга [4, 100].

Определение зоны некроза головного мозга. Для оценки размера зоны некроза головного мозга использовали трифенилтетразолия хлорид, аналитическим сигналом которого является изменение его интенсивности окраски. Животных декапитировали, вскрывали черепномозговую коробку и извлекали головной мозг. Затем отсекали мозжечок и разделяли полушария по центральной борозде. Оба полушария взвешивали, затем по отдельности гомогенизировали и помещали в бюксы. К гомогенату добавляли 10 мл 1% раствора трифенилтетразолия хлорида в фосфатном буфере (рН 7,4). Бюксы инкубировали на водяной бане при температуре 37°C 20 минут. После чего пробы центрифугировали в режиме 5000 RPM/10 мин и удаляли супернатант. К осадку добавляли 3 мл фосфатного буфера и 3 мл охлажденного хлороформа. Встряхивали 2 мин. Полученную смесь инкубировали в течение 15 мин при 4°C, встряхивая каждые 5 мин по 30 с. Повторно центрифугировали в аналогичном режиме и измеряли оптическую плотность против чистого хлороформа при 492 нм [4, 100]. Расчет зоны некроза производили по следующей формуле и выражали в процентах от общей массы полушарий:

$$x = 100 - \frac{\varepsilon_1 M_1 + \varepsilon_2 M_2}{\varepsilon_1 (M_1 + M_2)} 100$$

где  $x$  - размер зоны некроза в процентах от общей массы головного мозга;  
 $\varepsilon_1$  - оптическая плотность образца неповрежденного полушария головного мозга;  
 $\varepsilon_2$  - оптическая плотность образца поврежденного полушария головного мозга;  
 $M_1$  - масса неповрежденного полушария;  $M_2$  - масса поврежденного полушария.

Статистическая обработка. Данные выражали в виде  $M \pm SEM$ . Нормальность распределения оценивали в тесте Шапиро-Уилка. Сравнение групп средних осуществляли методом однофакторного дисперсионного анализа с постобработкой Ньюмена-Кейсла при  $p < 0,05$ . Статистический анализ выполнен с применением программного пакета «STATISTICA 6.0».

### **Оценка ингибирующей активности соединений в отношении главной протеазы (Mpro) SARS-Cov-2**

20 мг исследуемого соединения растворяли в ДМСО до получения маточного раствора с концентрацией 1 мг/мл. Далее готовили серию двукратных разведений (растворитель – ДМСО) с конечным содержанием исследуемого соединения 500 мкг/мл; 250 мкг/мл; 125 мкг/мл; 62,5 мкг/мл; 31,25 мкг/мл; 15,625 мкг/мл и 7,8125 мкг/мл. В микропланшет вносили 20 мкМ Mpro SARS-Cov-2 (Sigma-Aldrich) в объеме 100 мкл, добавляли 100 мкл раствора двукратных разведений исследуемого соединения. Полученную смесь инкубировали 10 минут при температуре 37 °С, после чего в анализируемую среду вносили хромогенный пептидный субстрат Thr-Ser-Ala-Val-Leu-Gln-pNA (Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 40 мкМ и повторно инкубировали 20 минут в аналогичном температурном режиме. Параллельно ставили контрольную пробу с раствором ДМСО+ Mpro SARS-Cov-2 + субстрат и холостую пробу с водой для инъекций. Оптическую плотность полученных смесей регистрировали при 405 нм с использованием системы микропланшетного ридера Infinite F50 (Tecan, Австрия). Степень ингибирования ферментативной активности рассчитывали по разнице оптической плотности опытной/контрольной и холостой проб в %. На основании полученных результатов строили кривую зависимости «ингибирующая активность – logC» и рассчитывали коэффициент полуингибиции (IC<sub>50</sub>) в мкМ/мл методом пробит-анализа. Все тесты выполнены в триплетном варианте с расчетом M±SEM (среднее±стандартная ошибка среднего) [88].

### **Оценка ингибирующей активности соединений в отношении папаино-подобной протеазы (PLpro) SARS-Cov-2**

20 мг исследуемого соединения растворяли в ДМСО до получения маточного раствора с концентрацией 1 мг/мл. Далее готовили серию двукратных разведений (растворитель – ДМСО) с конечным содержанием исследуемого

соединения 500  $\mu\text{г/мл}$ ; 250  $\mu\text{г/мл}$ ; 125  $\mu\text{г/мл}$ ; 62,5  $\mu\text{г/мл}$ ; 31,25  $\mu\text{г/мл}$ ; 15,625  $\mu\text{г/мл}$  и 7,8125  $\mu\text{г/мл}$ . В микропланшет вносили 20  $\mu\text{M}$  PLpro SARS-Cov-2 (Sigma-Aldrich) в объеме 10  $\mu\text{л}$ , добавляли 10  $\mu\text{л}$  раствора двукратных разведений исследуемого соединения. Полученную смесь инкубировали 10 минут при температуре 37  $^{\circ}\text{C}$  после чего в анализируемую среду вносили хромогенный субстрат PLpro Ubiquitinated substrate (Bioscience) в конечной концентрации 20  $\mu\text{M}$  и доводили до 200  $\mu\text{л}$  буферным раствором 20 мМ HEPES pH 6,0 + 0,4 мМ ЭДТА+ 1 мМ дитиотреитол + 1% глицерин. Полученную смесь повторно инкубировали 60 минут в аналогичном температурном режиме. Параллельно ставили контрольную пробу с раствором ДМСО + PLpro SARS-Cov-2 + субстрат и холостую пробу с водой для инъекций. Оптическую плотность полученных смесей регистрировали при 450 нм с использованием системы микропланшетного ридера Infinite F50 (Tecan, Австрия). Степень ингибирования ферментативной активности рассчитывали по разнице оптической плотности опытной/контрольной и холостой проб в %. На основании полученных результатов строили кривую зависимости «ингибирующая активность –  $\log C$ » и рассчитывали коэффициент полуингибиции ( $IC_{50}$ ) в  $\mu\text{M/мл}$  методом пробит-анализа. Все тесты выполнены в триплетном варианте с расчетом  $M \pm SEM$  (среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего) [112].

### **Определение противовоспалительной активности**

Изучение противовоспалительной активности синтезированных соединений проводили на модели острого экссудативного воспаления, вызванного субплантарным введением 2% раствора формалина в правую лапку в объеме 0,05 мл [37]. Исследуемые вещества вводили в дозе 50 мг/кг однократно перорально в виде водной суспензии за один час до введения формалина и при курсовом введении один раз в течение пяти суток. Доза 50 мг/кг выбрана исходя из раннего изучения противовоспалительных свойств производных пиримидина и их предшественников, где она оказалась наиболее оптимальной в данном количестве [20, 38, 40]. В качестве референтного средства использовали «Диклофенак»

(таблетки 50 мг, STADA. Вводили в дозе 50 мг/кг). Эксперименты проводили на мышах-самцах линии Balb/C весом 32,0-36,0 г. Животные, полученные из питомника ФГУП «ПЛЖ Рапполово», содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении: температура окружающего воздуха  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , относительная влажность  $65\pm 5\%$ . Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики и проверялись на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Рассчитывали среднее значение ( $M$ ) и стандартные ошибки среднего ( $m$ ). Для нормального распределения в качестве параметрического критерия использовали критерий Стьюдента, а в случаях ненормального распределения в качестве непараметрического критерия – U-критерий Манна-Уитни.

### **Изучение противомикробной активности**

Оценка антибактериальной активности производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотеофен-3-карбоксамида проводилась в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus* MP1988, *Escherichia coli* 89 (ГБУЗ АО «ГКБ №3 им. С. М. Кирова», г. Астрахань).

Штаммы, выделенные из клинического материала, культивировали на селективных питательных средах. Идентификация микроорганизмов проводилась с помощью стрипов для биохимической идентификации API 20E, API Staph (bioMérieux, Франция). Для культивирования штаммов использовали простые и селективные питательные среды: мясо-пептонный бульон (МПБ), мясо-пептонный агар (МПА), среду Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия).

В работе использовали: бокс микробиологической безопасности (БМБ-II-«Ламинар-С»-1,2, Россия), центрифуга (СМ-6М, Франция), термостат (Memmert, Германия), денситометр (DEN-1 Biosan, Россия), счётчик колоний лабораторный (СКМ-1, Россия), чашки Петри, пробирки, бактериологические петли, механические дозаторы, наконечники для дозаторов.



Использовали метод серийных разведений. Создавали ряды с концентрациями изучаемых соединений: 128 мкг/мл; 64 мкг/мл; 32 мкг/мл; 16 мкг/мл; 8 мкг/мл; 4 мкг/мл; 2 мкг/мл; 1 мкг/мл; 0,05 мкг/мл; 0,025 мкг/мл. Контролем служили пробирки, содержащие мясо-пептонный бульон (МПБ) без добавления соединения и микроорганизмов (контроль стерильности среды), с внесёнными микроорганизмами, без добавления веществ и препаратов (положительный контроль), а также ряды серийных разведений препаратов сравнения: цефтриаксон и левомецетин (в отношении *E. coli*); цефтриаксон и моксиграм (в отношении *S. aureus*).

Для приготовления взвеси бактерий использовали соответствующую однодневную культуру: 0,05 мл суспензии бактерий (0,5 по McFarland), которую вносили в каждую пробирку, включая положительный контроль. Посевы инкубировали в течение суток при температуре +37 °С, оценивали наличие роста, далее пробирки центрифугировали 10 минут при 1500 об/мин. Удаляли супернатант, осадок отмывали стерильным физиологическим раствором. Из каждой пробирки на питательную среду, соответствующую культуре, высевали 0,02 мл содержимого осадка для определения жизнеспособности культуры. Инкубировали сутки ( $t=+37$  °С), далее проводили подсчёт выросших колоний с помощью счетчика колоний ручным методом. На основании полученных результатов рассчитывали минимальные подавляющие концентрации соединений (МПК) [8].

### **Изучение антитирозиновой активности**

Активность тироминазы определяли согласно методу, описанному Маруна, 2012. Изучаемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) до конечной концентрации 1000 мкг/мл. Данный маточный раствор разбавляли 50 мМ калий - фосфатным буфером (рН 6.5) с получением двукратных разведений (500 мкг/мл, 250 мкг/мл; 125 мкг/мл и 62.5 мкг/мл). Койевая кислота, гидрохинон и молочная кислота в аналогичном диапазоне концентраций использовались в качестве

эталонов сравнения. Гидрохинон и койевая кислота были получены от Hunan Warrant pharmaceuticals (КНР), молочная кислота была предоставлена Sigma-Aldrich (Германия). Ход анализа: в 96-луночный планшет вносили по 70  $\mu$ л каждого серийного разведения и добавляли  $\mu$ л 30 тирозиназы (333 ЕД / мл в фосфатном буфере). Полученную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. После инкубации добавляли 110  $\mu$ л субстрата (2 мМ раствор L-тирозина) в каждую лунку и повторно инкубировали. Оптическую плотность реакционных смесей регистрировали при 492 нм с помощью планшетного-ридера Infinite F50 (Tecan). Все тесты выполнены в триплетном варианте. На основании полученных данных методом пробит анализа рассчитывали показатель  $IC_{50}$  в моль/мл. Данные выражали в виде  $M$  (среднее значение)  $\pm$ SEM (стандартная ошибка среднего), межгрупповые сравнения проводили методом ANOVA с пост-обработкой Ньюмена-Кейлса [121].

### **Изучение острой токсичности**

Острую токсичность оценивали при пероральном введении методом «Up and Down», предполагающим проведение двух тестов: тест предельно переносимой дозы и основное тестирование (проводится в случае наличия летальности при проведении теста предельной дозы) [129].

В качестве биологической модели при изучении острой токсичности п использовали мышей-самцов линии Balb/c массой 20-22 грамма, содержащихся в стандартных условиях вивария при температуре воздуха  $22\pm 2$  °C, относительной влажности  $60\pm 5\%$  и 12-ти часовой смене суточного цикла.

### **2.2. Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид**

Смесь из 0,01 моля (1,92 г) 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид и эквимолярного количества соответствующего альдегида (в случае

соединения **3e** 0,012 моля) растворяют при слабом кипячении в 30 мл 96%-ого этилового спирта. Реакцию проводят при перемешивании в течение 30-60 минут. В случае соединений **12a-15a** и **19a** используемые для их синтеза альдегиды предварительно растворяют в минимальном количестве 96%-ого этилового спирта при слабом кипячении, и затем полученный раствор добавляют к раствору 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид. При охлаждении реакционной среды образуется осадок, который отфильтровывают и очищают перекристаллизацией из 96%-го спирта этилового. Целевой продукт реакции с ванилином дополнительно осаждают водой [54, 57, 62, 65, 134, 149].

### **2-[Бензилиденамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (1a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое мелкокристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 93%. Тпл. = 196-197°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 205, 240, 289, 387. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3372 (NH), 3168 (NH), 1636 (C=O), 1616 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.85 – 1.66 (м, 4H,  $CH_2$ ); 2.72 (кв,  $J = 7.4$  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 (2a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 79%. Тпл. = 217-218°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,91$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 210, 241, 286, 384. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3283 (NH), 3186 (NH), 1647 (C=O), 1617 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , 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 (3а)**

Продукт реакции представляет собой светло-коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 74%. Тпл. = 229-230°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,91$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 206, 242, 306, 393. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3407 (NH), 3283 (NH), 1647 (C=O), 1597 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , 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 (4а)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 80%. Тпл. = 224-225°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 204, 251, 302, 392. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3530 (OH), 3372 (NH), 3171 (NH), 1628 (C=O), 1582 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , 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). МСВР (ИЭР): вычислено для  $C_{17}H_{18}N_2O_3S$   $[M+H]^+$ :  $m/z$  331,1111, найдено:  $m/z$  331,1118.

**2-[(3-Гидрокси-4-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (5а)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 79%. Тпл. = 202-203°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 204, 252, 301, 394. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3461 (OH), 3291 (NH), 3133 (NH), 1651 (C=O), 1597 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , 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). МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 331,1111, найдено: m/z 331,1124.

**2-[(2-Гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (6a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 77%. Тпл. = 239-240°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,91 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 205, 220, 293, 387. ИК-спектр (вазелиновое масло), ν, см<sup>-1</sup>: 3457 (OH), 3345 (NH), 3171 (NH), 16671 (C=O), 1605 (C=N). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.92 – 1.59 (м, 4H, CH<sub>2</sub>); 2.66 (дт, J = 37.1, 5.9 Гц, 4H, CH<sub>2</sub>); 3.83 (с, 3H, CH<sub>3</sub>); 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). МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 331,1111, найдено: m/z 331,1107.

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

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 71%. Тпл. = 208-209°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,93 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 205, 257, 297, 392. ИК-спектр (вазелиновое масло), ν, см<sup>-1</sup>: 3399 (OH), 3360 (NH), 3164 (NH), 1640 (C=O), 1597 (C=N). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.89 – 1.55 (м, 4H, CH<sub>2</sub>); 2.64 (дт, J = 29.1, 5.9 Гц, 4H, CH<sub>2</sub>); 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). МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 317,0954, найдено: m/z 317,0947.

**2-[п-Толилиметиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (8a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 95%. Тпл. = 198-199°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,91 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 205, 242, 294, 383. ИК-спектр (вазелиновое масло), ν, см<sup>-1</sup>: 3384 (NH), 3183 (NH), 1636 (C=O), 1586 (C=N). Спектр

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.74 (дд,  $J = 24.1, 7.5$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.39 (д,  $J = 2.4$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2.71 (дт,  $J = 14.1, 6.0$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 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,  $\text{N}=\text{CH}$ ).

**2-[(4-Метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (9a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 77%. Тпл. = 187-188°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 205, 243, 294, 383. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3372 (NH), 3183 (NH), 1640 (C=O), 1586 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.86 – 1.63 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.71 (дт,  $J = 29.8, 6.3$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 3.85 (д,  $J = 1.3$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 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,  $\text{N}=\text{CH}$ ).

**2-[(5-Трет-бутил-2-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (10a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 79%. Тпл. = 178-179°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,95$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 213, 243, 289, 390. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3411 (ОН), 3291 (NH), 3164 (NH), 1667 (C=O), 1605 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.29 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1.83 – 1.69 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.65 (дд,  $J = 38.9, 6.2$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 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,  $\text{N}=\text{CH}$ ); 11.66 (с, 1H, ОН). МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  357,1631, найдено:  $m/z$  357,1634.

**2-[(3,5-Ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (11a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 85%. Тпл. = 262-263°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 206, 250, 313, 393. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3454 (ОН), 3228 (NH), 2947 ( $\text{Csp}_3\text{-H}$ ), 1641 (C=O), 1593 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.42 (с, 18H,  $\text{CH}_3$ ), 1.83 – 1.63 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ),

2.66 (т, J = 6.4 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.75 (т, J = 6.0 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.49 (д, J = 3.0 Гц, 1H, ArH), 7.72 (д, J = 1.8 Гц, 2H, ArH, NH), 7.80 (д, J = 1.7 Гц, 1H, NH), 8.27 (с, 1H, OH), 8.45 (с, 1H, N=CH). Спектр <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 22.64, 23.07, 25.40, 26.56, 30.47, 34.98, 126.66, 126.90, 128.24, 130.35, 136.32, 139.49, 152.00, 158.53, 158.66, 165.56. МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 413,2257, найдено: m/z 413,2253.

**2-[(2-Гидрокси-5-нитрофенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (12a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 88%. Тпл. = 220-221°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,95 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 204, 308, 393. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3372 (OH), 3188 (NH), 2932 (Csp<sub>3</sub>-H), 1646 (C=O), 1601 (C=N). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.85 – 1.68 (м, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.60 (т, J = 6.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.72 (т, J = 6.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.13 (д, J = 9.2 Гц, 1H, ArH), 7.63 (с, 1H, ArH), 7.89 (с, 1H, ArH), 8.24 (дд, J = 9.1, 2.9 Гц, 1H, NH), 8.70 (д, J = 2.9 Гц, 1H, NH), 8.79 (с, 1H, N=CH), 12.99 (с, 1H, OH).

**2-[(5-Бром-2-гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (13a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 95%. Тпл. = 225-226°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,95 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 203, 227, 294, 394. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3402 (OH), 3296 (NH), 3199 (NH), 2931 (Csp<sub>3</sub>-H), 1657 (C=O), 1597 (C=N). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.84 – 1.68 (м, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.60 (т, J = 6.0 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.71 (т, J = 6.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.85 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.24 (д, J = 2.3 Гц, 1H, ArH), 7.57 – 7.47 (м, 2H, ArH, NH), 7.82 (с, 1H, NH), 8.62 (с, 1H, N=CH), 11.72 (с, 1H, OH). Спектр <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 22.41, 23.11, 25.19, 25.35, 56.83, 110.37, 117.99, 121.75, 124.08, 132.77, 133.18, 134.88, 147.33, 148.97, 149.64, 155.39, 165.75. МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 409,0216, найдено: m/z 409,0196.

**2-[(5-Бром-2-гидрокси-3-метилфенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (14a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 93%. Тпл. = 222-223°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,96$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 203, 218, 292, 394. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3462 (ОН), 3354 (NH), 2931 ( $\text{Csp}_3\text{-H}$ ), 1676 (C=O), 1593 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.70-1.82 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.27 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.56 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.71 (т,  $J = 6.3$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.48 (д,  $J = 2.1$  Гц, 1H, ArH), 7.54 (д,  $J = 2.1$  Гц, 1H, ArH), 7.62 (с, 1H, NH), 7.79 (с, 1H, NH), 8.57 (с, 1H, N=CH), 12.91 (с, 1H, OH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 20.01, 22.36, 23.14, 24.78, 25.32, 109.97, 120.46, 129.97, 132.41, 133.19, 134.25, 134.28, 136.70, 145.56, 154.20, 157.60, 165.88. МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  393,0267, найдено:  $m/z$  393,0270.

**2-[(3,5-Дибром-2-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (15a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 92%. Тпл. = 227-228°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 203, 222, 294, 394. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3429 (ОН), 3292 (NH), 3192 (NH), 2931 ( $\text{Csp}_3\text{-H}$ ), 1653 (C=O), 1604 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.84 – 1.68 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.56 (т,  $J = 6.1$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.71 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.65 (д,  $J = 2.1$  Гц, 1H, ArH), 7.81 (с, 1H, ArH), 7.91 (дд,  $J = 15.4, 2.4$  Гц, 2H, NH), 8.62 (с, 1H, N=CH), 13.28 (с, 1H, OH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.32, 23.10, 24.76, 25.35, 110.64, 111.55, 122.14, 134.09, 134.16, 134.36, 134.96, 137.42, 145.04, 155.76, 156.36, 165.76. МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  458,9195, найдено:  $m/z$  458,9206.

**2-[(2-Фурилметиленамино)-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (16a)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 93%. Тпл. = 187-188°C (перекристаллизация из



этанола).  $R_f = 0,95$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 205, 245, 307, 397. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3399 (NH), 3191 (NH), 1644 (C=O), 1613 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.85 – 1.65 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.72 (дт,  $J = 31.2, 6.2$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 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 (17a)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 88%. Тпл. = 176-177°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 205, 243, 313, 398. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3364 (NH), 3175 (NH), 1647 (C=O), 1613 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.82 – 1.64 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.41 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2.71 (дт,  $J = 36.5, 6.2$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 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, N=CH, NH).

**2-[(5-Йод-2-фурил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (18a)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 94%. Тпл. = 139-140°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,90$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 206, 323, 407. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3394 (NH), 3244 (NH), 2943 ( $\text{Csp}_3\text{-H}$ ), 1657 (C=O), 1630 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.81 – 1.64 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.68 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.74 (т,  $J = 6.1$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.99 (д,  $J = 3.5$  Гц, 1H, ArH), 7.16 (д,  $J = 3.5$  Гц, 1H, ArH), 7.41 (с, 1H, NH), 8.16 (с, 1H, NH), 8.20 (с, 1H, N=CH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.54, 23.01, 25.45, 26.36, 101.02, 122.07, 123.88, 130.08, 131.81, 136.50, 143.28, 150.61, 156.21, 165.38.

**2-[[5-(4-Нитрофенил)-2-фурил]метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид (19a)**

Продукт реакции представляет собой бордовое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 91%. Тпл. = 206-207°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,91$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 204, 346, 434. ИК-

спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3442 (NH), 2928 ( $\text{Csp}_3\text{-H}$ ), 1676 ( $\text{C=O}$ ), 1633 ( $\text{C=N}$ ). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $\text{d}_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.70-1.81 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.74 (дт,  $J = 25.4, 6.4$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 7.43 (д,  $J = 3.7$  Гц, 2H, ArH), 7.58 (д,  $J = 2.1$  Гц, 1H, ArH), 8.06 (д,  $J = 1.9$  Гц, 1H, ArH), 8.07 (д,  $J = 2.1$  Гц, 1H, ArH), 8.40 – 8.29 (м, 4H, ArH, NH,  $\text{N=CH}$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $\text{d}_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.55, 23.01, 25.54, 26.43, 113.55, 121.68, 124.97, 125.01, 125.11, 125.61, 130.39, 132.53, 135.22, 136.77, 143.81, 147.27, 150.54, 152.60, 154.59, 165.27.

### 2.3. Синтез 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она

Суспензию, содержащую 0,08 моля азометинового производного 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид в 10-20 мл ледяной уксусной кислоте, растворяют при кипячении в течение 30-60 минут. Затем добавляют 1,0 мл ДМСО и кипятят 60 минут. После охлаждения из реакционной среды выделяется целевой продукт, который отфильтровывают. В фильтрате содержится дополнительное количество продукта реакции, и при добавлении охлаждённого 0,1 М раствора хлорида натрия он выделяется. Осадки объединяют, высушивают и перекристаллизовывают из ледяной уксусной кислоты [41, 59, 63, 78, 158].

#### 2-Фенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (1b)

Продукт реакции представляет собой светло-жёлтое мелкокристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 96%. Тпл. = 266-267°C (перекристаллизация из ЛУК).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 203, 331. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1659 ( $\text{C=O}$ ). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $\text{d}_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.80 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.75 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2.92 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 7.63 – 7.40 (м, 3H, ArH); 8.12 (д,  $J = 7.5$  Гц, 2H, ArH); 12.53 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $\text{d}_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.23; 22.95; 25.02; 25.79; 121.35; 128.10; 129.15; 131.33; 131.84; 132.39; 132.96; 152.56; 159.29; 163.47.

**2-(2-Гидроксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (2b)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 86%. Тпл. = 312-313°C (перекристаллизация из ЛУК).  $R_f = 0,95$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 213, 356. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1655 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.85 – 1.66 (м, 4H,  $CH_2$ ); 2.83 (дт,  $J = 55.5, 6.2$  Гц, 4H,  $CH_2$ ); 7.09 – 6.84 (м, 2H, ArH); 7.42 (т,  $J = 7.8$  Гц, 1H, ArH); 8.11 (д,  $J = 8.1$  Гц, 1H, ArH); 12.04 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}C$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.17; 22.92; 24.95; 25.72; 111.32; 117.07; 117.92; 119.95; 129.30; 131.34; 132.87; 133.57; 157.98; 158.21; 158.97; 159.34.

**2-(4-Гидроксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (3b)**

Продукт реакции представляет собой светло-жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 83%. Тпл. = 298-299°C (перекристаллизация из ЛУК).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 204, 338. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3415 (ОН), 1643 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.79 (дт,  $J = 13.9, 7.3$  Гц, 4H,  $CH_2$ ); 2.73 (д,  $J = 6.2$  Гц, 2H,  $CH_2$ ); 2.89 (д,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $CH_2$ ); 6.87 (д,  $J = 8.3$  Гц, 2H, ArH); 8.01 (д,  $J = 8.3$  Гц, 2H, ArH); 10.17 (с, 1H, ОН); 12.26 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}C$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.26; 22.98; 24.96; 25.80; 115.88; 120.48; 122.92; 129.93; 131.19; 131.86; 152.54; 159.35; 160.97; 163.93.

**2-(4-Гидрокси-3-метоксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (4b)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 72%. Тпл. = 279-280°C (перекристаллизация из ЛУК).  $R_f = 0,95$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 206, 341. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3462 (ОН), 1643 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.87 – 1.70 (м, 4H,  $CH_2$ ); 2.73 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $CH_2$ ); 2.90 (т,  $J = 5.5$  Гц, 2H,  $CH_2$ ); 3.88 (с, 3H,  $CH_3$ ); 6.88 (д,  $J = 8.4$  Гц, 1H, ArH); 7.68 (дд,  $J = 8.4, 2.2$  Гц, 1H, ArH), 7.74 (д,  $J = 2.2$  Гц, 1H, ArH), 9.78 (с, 1H, ОН); 12.30 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}C$  ЯМР (101 МГц,

ДМСО-d<sub>6</sub>),  $\delta$ , м.д.: 22.25; 22.98; 24.97; 25.81; 56.22; 111.53; 115.89; 120.51; 121.81; 123.08; 131.21; 131.92; 148.01; 150.38; 152.44; 159.40; 163.91. МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 329,0954, найдено: m/z 359,0945.

**2-(3-Гидрокси-4-метоксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (5b)**

Продукт реакции представляет собой светло-жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 75%. Тпл. = 294-295°C (перекристаллизация из ЛУК). R<sub>f</sub> = 0,91 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 207, 341. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 3457 (ОН), 1646 (C=O). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>),  $\delta$ , м.д.: 1.79 (кв, J = 7.4 Гц, 4H, CH<sub>2</sub>); 2.73 (т, J = 6.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.90 (т, J = 6.2 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.84 (д, J = 1.6 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>); 7.02 (д, J = 8.4 Гц, 1H, ArH); 7.70 – 7.56 (м, 2H, ArH); 9.34 (д, J = 1.6 Гц, 1H, OH); 12.28 (с, 1H, NH). Спектр <sup>13</sup>C ЯМР (100,6 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>),  $\delta$ , м.д.: 22.25; 22.98; 24.97; 25.79; 56.13; 112.03; 115.00; 119.72; 120.68; 124.71; 131.24; 132.08; 146.94; 151.11; 152.38; 159.31; 163.77. МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 329,0954, найдено: m/z 359,0948.

**2-(2-Гидрокси-3-метоксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (6b)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 80%. Тпл. = 298-299°C (перекристаллизация из ЛУК). R<sub>f</sub> = 0,92 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 205, 357. ИК-Спектр (KBr),  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 3468 (ОН), 1664 (C=O). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>),  $\delta$ , м.д.: 1.98 – 1.62 (м, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.91 – 2.78 (м, 4H, CH<sub>2</sub>), 3.86 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.92 (т, J = 8.1 Гц, 1H, ArH), 7.16 (д, J = 7.9 Гц, 1H, ArH), 7.70 (д, J = 8.9 Гц, 1H, ArH), 11.68 (с, 1H, OH), 12.16 (с, 1H, NH). МСВР (ИЭР): вычислено для C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z 329,0954, найдено: m/z 359,0955.

**2-(2,4-Дигидроксифенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (7b)**

Продукт реакции представляет собой темно коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 88%. Тпл. = 267-268°C (перекристаллизация из ЛУК). R<sub>f</sub> = 0,93 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 215, 357. ИК-спектр

(KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3421 (OH), 1646 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.90 – 1.72 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.72 (т,  $J = 5.7$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2.88 (т,  $J = 5.6$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 6.47 – 6.35 (м, 2H, ArH); 8.04 (д,  $J = 7.1$  Гц, 1H,); 10.23 (с, 1H, OH); 11.91 (с, 1H, OH); 12.38 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.18; 22.95; 24.90; 25.74; 103.65; 106.68; 108.69; 120.26; 130.42; 131.30; 131.77; 152.98; 158.20; 160.45; 161.71; 162.62. МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  315,0798, найдено:  $m/z$  315,0804.

**2-(*p*-Толил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-*d*]пиримидин-4(3H)-он (8b)**

Продукт реакции представляет собой светло-жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 90%. Тпл. = 277-278°C (перекристаллизация из ЛУК).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 207, 336. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1647 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, хлороформ- $d$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.88 (с, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.46 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2.83 (т,  $J = 5.7$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.00 (т,  $J = 6.3$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.41 (д,  $J = 7.9$  Гц, 2H, ArH); 7.91 (д,  $J = 7.9$  Гц, 2H, ArH); 12.34 (с, 1H, NH).

**2-(4-Метоксифенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-*d*]пиримидин-4(3H)-он (9b)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 85%. Тпл. = 271-272°C (перекристаллизация из ЛУК).  $R_f = 0,95$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 203, 339. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 1659 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.85 (д,  $J = 46.9$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.82 (д,  $J = 60.5$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 3.94 – 3.72 (м, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 7.06 (д,  $J = 8.6$  Гц, 2H, ArH); 8.12 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H, ArH); 12.38 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.25; 22.98; 24.98; 25.80; 55.94; 114.54; 120.74; 124.52; 129.82; 131.23; 132.21; 152.25; 159.33; 162.28; 163.77.

**2-(5-Трет-бутил-2-гидроксифенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-*d*]пиримидин-4(3H)-он (10b)**

Продукт реакции представляет собой светло-жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 89%. Тпл. = 285-286°C (перекристаллизация

из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 214, 356. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3486 (ОН), 1647 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.31 (д,  $J = 1.7$  Гц, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1.81 (дт,  $J = 12.2, 6.3$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.76 (кв,  $J = 6.7, 6.3$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2.94-2.87 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 6.95 (дд,  $J = 8.6, 1.7$  Гц, 1H, ArH); 7.47 (дт,  $J = 8.7, 2.1$  Гц, 1H, ArH); 8.09 (д,  $J = 2.1$  Гц, 1H, ArH); 12.05 (с, 1H, ОН); 12.38 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 19.03; 22.19; 22.94; 24.98; 25.77; 31.72; 34.59; 56.59; 114.79; 117.64; 121.19; 125.26; 130.95; 131.42; 132.78; 142.17; 153.19; 156.29; 158.46; 161.53. МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  355,1475, найдено:  $m/z$  355,1475.

**2-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (11b)**

Продукт реакции представляет бежевое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 85%. Тпл. = 293-294°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 207, 337. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3620 (NH), 3447 (ОН), 1649 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.44 (с, 18H,  $\text{CH}_3$ ), 1.87 – 1.71 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.72 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.90 (т,  $J = 5.9$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.60 (с, 1H, ОН), 7.84 (с, 2H, ArH), 12.50 (с, 1H, NH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 22.26, 23.00, 24.96, 25.83, 35.21, 56.49, 120.46, 123.47, 131.14, 131.72, 139.13, 153.64, 157.60, 159.56, 164.00.

**2-(2-гидрокси-5-нитрофенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (12b)**

Продукт реакции представляет жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 88%. Тпл. = 285-286°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 220, 370. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3466 (ОН), 1657 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.90 – 1.57 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.78 (т,  $J = 5.9$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.91 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.12 (д,  $J = 9.1$  Гц, 1H, ArH), 8.25 (дд,  $J = 9.2, 2.9$  Гц, 1H, ArH), 8.92 (д,  $J = 2.9$  Гц, 1H, ArH), 12.84 (с, 1H, NH).

**2-(5-бром-2-гидрокси-3-метокси-фенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (13b)**

Продукт реакции представляет коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 95%. Тпл. 322-323°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 215, 235, 282. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3455 (ОН), 1657 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.86 – 1.72 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.77 (т,  $J = 6.1$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.89 (т,  $J = 6.1$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.88 (с, 3H,  $CH_3$ ), 7.30 (с, 1H, ArH), 7.84 (с, 1H, ArH), 11.84 (с, 1H, ОН), 12.27 (с, 1H, NH).

**2-(3-бром-2-гидрокси-5-метилфенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (14b)**

Продукт реакции представляет коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 93%. Тпл. 287-288°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 210, 390. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3458 (ОН), 1658 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.86 – 1.70 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.28 (с, 3H,  $CH_3$ ), 2.78 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.91 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 7.60 (с, 1H, ArH), 8.07 (с, 1H, ArH), 12.93 (с, 1H, NH), 13.24 (с, 1H, ОН).

**2-(3,5-дибром-2-гидроксифенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (15b)**

Продукт реакции представляет коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 92%. Тпл. 290-291°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,94$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 211, 389. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3429 (ОН), 1653 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.88 – 1.72 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.78 (т,  $J = 5.9$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.89 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 7.94 (д,  $J = 2.4$  Гц, 1H, ArH), 8.44 (д,  $J = 2.3$  Гц, 1H, ArH), 13.04 (с, уш., 2H, ОН, NH).

**2-(2-Фурил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (16b)**

Продукт реакции представляет тёмно-коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 90%. Тпл. = 257-258°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,91$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 218, 264, 345. ИК-спектр (вазелиновое масло),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1659 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО-

d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.86 – 1.62 (м, 4Н, CH<sub>2</sub>); 2.82 (дт, J = 56.8, 6.3 Гц, 4Н, CH<sub>2</sub>); 6.74 (д, J = 3.5 Гц, 1Н, ArH); 7.59 (д, J = 3.5 Гц, 1Н, ArH); 7.98 (с, 1Н, ArH); 12.51 (с, 1Н, NH). Спектр <sup>13</sup>С ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 22.21; 22.91; 25.00; 25.78; 113.12; 114.80; 121.32; 131.49; 132.88; 144.25; 146.04; 146.97; 158.64; 163.06.

**2-(5-Метил-2-фурил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3Н)-он (17b)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 92%. Тпл. = 261-262°C (перекристаллизация из ЛУК). R<sub>f</sub> = 0,90 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 216, 280, 348. ИК-спектр (вазелиновое масло), ν, см<sup>-1</sup>: 1644 (C=O). Спектр <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.86 – 1.64 (м, 4Н, CH<sub>2</sub>); 2.37 (с, 3Н, CH<sub>3</sub>); 2.88 (т, J = 6.1 Гц, 2Н, CH<sub>2</sub>); 2.74 (т, J = 5.5 Гц, 2Н, CH<sub>2</sub>); 6.35 (д, J = 3.5 Гц, 1Н, ArH); 7.49 (д, J = 3.5 Гц, 1Н, ArH); 12.35 (с, 1Н, NH). Спектр <sup>13</sup>С ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 13.98; 22.22; 22.93; 24.98; 25.79; 109.54; 116.15; 120.93; 131.44; 132.45; 144.24; 144.38; 156.52; 158.69; 163.27.

**2-(5-йод-2-фурил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3Н)-он (18b)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 79%. Тпл. = 297-298°C (перекристаллизация из ЛУК). R<sub>f</sub> = 0,92 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 218, 283, 353. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3436 (NH), 1649 (C=O). Спектр <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1.84 – 1.74 (м, 4Н, CH<sub>2</sub>), 2.75 (т, J = 6.1 Гц, 2Н, CH<sub>2</sub>), 2.88 (т, J = 6.2 Гц, 2Н, CH<sub>2</sub>), 6.97 (дд, J = 3.5, 1.6 Гц, 1Н, ArH), 7.51(т, J = 5.8 Гц, 1Н, ArH), 12.51 (с, 1Н, NH). Спектр <sup>13</sup>С ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 22.20, 22.89, 25.02, 25.76, 98.87, 121.46, 131.53, 133.22, 141.37, 143.14, 150.73, 158.55, 162.77.

**2-[5-(4-нитрофенил)-2-фурил]-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3Н)-он (19b)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 78%. Тпл. = 314-315 °С (перекристаллизация из ЛУК). R<sub>f</sub> = 0,91 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 204, 219, 399. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3447 (NH), 1645 (C=O). Спектр <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.:



1.85 – 1.71 (м, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.75 (кв, J = 3.9, 2.3 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.91 (т, J = 5.6 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.53 (д, J = 3.7 Гц, 1H, ArH), 7.60 (д, J = 3.8 Гц, 1H, ArH), 8.35 – 8.25 (м, 4H, ArH), 12.84 (с, 1H, NH). Спектр <sup>13</sup>С ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 22.19, 22.88, 25.05, 25.80, 113.03, 116.85, 121.65, 124.70, 125.76, 131.65, 133.27, 135.32, 143.75, 147.07, 147.33, 154.00, 158.65, 162.98.

#### 2.4. Синтез амидов 2-амино-4,5-диметоксибензойной кислоты

Суспензию 0,05 моля (9,85 г) 2-амино-4,5-диметоксибензойной кислоты в 35 мл 10%-го раствора гидроксида натрия растворяют при перемешивании. Далее прикапывают эквимольное количество соответствующего хлорангидрида в условиях перемешивания реакционной смеси в течение 30-40 минут. Образовавшийся осадок отфильтровывают и промывают водой. Очистку продуктов реакции осуществляют перекристаллизацией из 96%-го спирта этилового [77].

##### 2-ацетиамидо-4,5-диметоксибензойная кислота

Продукт реакции представляет собой серое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 77%. Тпл. 136-137°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,78 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 231, 261, 324. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3487 (ОН), 3375 (NH), 1657(C=O), 1624 (C=O), 999 (C-O).

##### 2-бензамидо-4,5-диметокси-бензойная кислота

Продукт реакции представляет собой серое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 91%. Тпл. 237-238°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,80 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 202, 242, 308. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3450 (ОН), 3157 (NH), 1676 (C=O), 1649 (C=O), 995 (C-O).

#### 2.5. Синтез 2-алкил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-онов

Суспензию 0.03 моля (5,91 г) 2-амино-4,5-диметоксибензойной кислоты растворяют при слабом кипячении в 25 мл соответствующего ангидрида в течение

5 часов. Для синтеза 2-метил- и 2-фенил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-она используется суспензия 0,03 моля амида 2-амино-4,5-диметоксибензойной кислоты в 25 мл пропионового ангидрида, которую растворяют в течение 3 часов. Реакционную смесь выдерживают сутки в нормальных условиях, что приводит к выделению целевого продукта. Перекристаллизацию сырца осуществляют из 96%-го спирта этилового [77].

#### **2-метил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход 86%. Тпл. 226-227°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,87$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 236, 271. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1734 (C=O), 1024 (C-O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.12 (t,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 3.78 (д,  $J = 20.3$  Гц, 6H,  $CH_3$ ), 7.42 (с, 1H, ArH), 8.33 (с, 1H, ArH).

#### **2-этил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 90%. Тпл. 142-143°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,87$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 242, 275. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1736 (C=O), 1026 (C-O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.23 (т,  $J = 7.5$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 2.67 (кв,  $J = 7.4$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.87 (с, 3H,  $CH_3$ ), 3.92 (с, 3H,  $CH_3$ ), 7.07 (с, 1H, ArH), 7.37 (с, 1H, ArH).

#### **2-пропил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 84%. Тпл. 184-185°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,88$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 238, 271. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 1742 (C=O), 1018 (C-O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 0.93 (т,  $J = 7.4$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 1.71 – 1.57 (м, 2H,  $CH_2$ ), 2.35 (т,  $J = 7.3$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.76 (с, 3H,  $CH_3$ ), 3.81 (с, 3H,  $CH_3$ ), 7.42 (с, 1H, ArH), 8.33 (с, 1H, ArH). Спектр  $^{13}C$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 14.00, 18.74, 55.96, 55.99, 103.43, 107.59, 113.13, 137.42, 143.74, 153.61, 169.83, 171.46.

### **2-изопропил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 75%. Тпл. 214-215°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,88$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 237, 271. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1739 (C=O), 1012 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.17 (дд,  $J = 6.9, 1.0$  Гц, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 2.56 (квд,  $J = 6.9, 1.1$  Гц, 1H, CH), 3.76 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.81 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.43 (д,  $J = 1.0$  Гц, 1H, ArH), 8.35 (д,  $J = 1.1$  Гц, 1H, ArH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 19.74, 36.95, 55.95, 55.99, 103.39, 107.61, 113.13, 137.57, 143.73, 153.64, 169.93, 175.33.

### **2-фенил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 96%. Тпл. 194-195°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,83$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 202, 225, 263, 320. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1740 (C=O), 1019 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 3.90 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.95 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.21 (с, 1H, ArH), 7.45 (с, 1H, ArH), 7.61 (дкв,  $J = 14.4, 6.6$  Гц, 3H, ArH), 8.15 (д,  $J = 8.1$  Гц, 2H, ArH).

## **2.6. Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов**

Смесь из 0,01 моля соответствующего 2-алкил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-она и 0,01 моля аминокислоты или дипептида растворяют при слабом кипячении в 10-15 мл ледяной уксусной кислоте. Затем добавляют 0.5 мл ДМФА и проводят реакцию 1,5 часа. Реакционную смесь выдерживают сутки, и далее отфильтровывают и промывают водой образовавшийся осадок. Перекристаллизацию сырца осуществляют из 96%-го спирта этилового [43, 77].

### **2-(6,7-диметокси-2-этил-4-оксо-хиназолин-3-ил)уксусная кислота (1с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 75%. Тпл. 263-264°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,71$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 242. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3437

(ОН), 1682 (C=O), 1610 (C=O), 1011 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.25 (т,  $J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.75 (кв,  $J = 7.3$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.83 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.10 (с, 1H, ArH), 7.40 (с, 1H, ArH), 13.24 (с, 1H, COOH). МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  293,1132, найдено:  $m/z$  293,1137.

**2-[[2-(2-этил-6,7-диметокси-4-оксо-хиназолин-3-ил)ацетил]амино]уксусная кислота (2с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 70%. Тпл. 266-267°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,70$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 242. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3410 (ОН), 3298 (C=O), 1736 (C=O), 1659 (C=O), 1612 (C=O), 1013 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.24 (т,  $J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.73 (кв,  $J = 7.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.80 (д,  $J = 5.6$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.91 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.82 (с, 2H, ArH), 7.08 (с, 1H, ArH), 7.39 (с, 1H, ArH), 8.63 (т,  $J = 5.7$  Гц, 1H, NH), 12,72 (с, 1H, COOH). МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  350,1347, найдено:  $m/z$  350,1350.

**2-[[2-(2-этил-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3-ил)ацетил]амино]-4-метил-пентановая кислота (3с)**

Продукт реакции представляет собой бежевое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 89%. Тпл. 225-226°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,88$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 241. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3419 (ОН), 3309 (NH), 1732 (C=O), 1661 (C=O), 1612 (C=O), 1009 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 0.86 (д,  $J = 6.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.92 (д,  $J = 6.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.12 (т,  $J = 7.5$  Гц, 1H, CH), 1.24 (т,  $J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.62 – 1.49 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.70 (кв,  $J = 8.1, 7.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.24 (тд,  $J = 8.9, 5.8$  Гц, 1H, CH), 4.95 – 4.69 (м, 2H,  $\text{CH}_3$ ), 7.08 (с, 1H, ArH), 7.40 (с, 1H, ArH), 8.63 (д,  $J = 7.9$  Гц, 1H, NH), 12,65 (с, 1H, COOH).

**2-[[2-(2-этил-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3-ил)ацетил]амино]-3-(1H-индол-3-ил)пропановая кислота (4с)**

Продукт реакции представляет собой бежевое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 73%. Тпл. 265-266°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,86$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 228, 239, 271. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3383 (NH), 1730 (C=O), 1661 (C=O), 1641 (C=O), 1013 (C-O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.14 (т,  $J = 7.2$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 3.05 (дд,  $J = 14.7, 8.7$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.22 (дд,  $J = 14.6, 4.9$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.85 (с, 3H,  $CH_3$ ), 3.91 (с, 3H,  $CH_3$ ), 4.53 (тд,  $J = 8.3, 4.8$  Гц, 1H, CH), 4.91 – 4.61 (м, 2H,  $CH_2$ ), 7.00 (т,  $J = 7.4$  Гц, 1H, ArH), 7.07 (д,  $J = 7.6$  Гц, 2H, ArH), 7.19 (д,  $J = 2.5$  Гц, 1H, ArH), 7.35 (д,  $J = 8.0$  Гц, 1H, ArH), 7.39 (с, 1H, ArH), 7.56 (д,  $J = 7.7$  Гц, 1H, ArH), 8.68 (д,  $J = 8.0$  Гц, 1H, NH), 10.91 (д,  $J = 2.5$  Гц, 1H, NH), 12,79 (с, 1H, COOH). МСВР (ИЭР): вычислено для  $C_{25}H_{26}N_4O_6$   $[M+H]^+$ :  $m/z$  479,1925, найдено:  $m/z$  479,1935.

**2-(6,7-диметокси-4-оксо-2-пропил-хиназолин-3-ил)уксусная кислота (5с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 58%. Тпл. 234-235°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,77$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 241. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3431 (OH), 1713 (C=O), 1676 (C=O), 1007 (C-O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 0.99 (т,  $J = 7.4$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 1.83 – 1.69 (м, 2H,  $CH_2$ ), 2.74 – 2.66 (м, 2H,  $CH_2$ ), 3.87 (с, 3H,  $CH_3$ ), 3.92 (с, 3H,  $CH_3$ ), 4.82 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.09 (с, 1H, ArH), 7.40 (с, 1H, ArH), 13,25 (с, 1H, COOH). Спектр  $^{13}C$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 14.12, 19,81, 36.17, 45.17, 56.15, 56.44, 105.57, 108.05, 112.96, 143.62, 148.84, 155.21, 155.74, 160.97, 170.16.

**2-[[2-(2-пропил-6,7-диметокси-4-оксо-хиназолин-3-ил)ацетил]амино]уксусная кислота (6с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 78%. Тпл. 247-248°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,74$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 242. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3439 (OH), 3338 (NH), 1740 (C=O), 1662 (C=O), 1641 (C=O), 1011 (C-O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 0.99 (т,  $J = 6.7$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 1.84 – 1.71 (м, 2H,  $CH_2$ ),

2.68 (т, J = 7.5 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.83 – 3.78 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.88 (д, J = 20.3 Гц, 6H, CH<sub>3</sub>), 4.82 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.07 (с, 1H, ArH), 7.39 (с, 1H, ArH), 8.65 (т, J = 5.8 Гц, 1H, NH), 12,80 (с, 1H, COOH). Спектр <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 14.12, 19.65, 35.95, 41.26, 45.28, 56.13, 56.41, 105.72, 108.00, 113.10, 143.63, 148.70, 155.08, 156.09, 161.01, 167.86, 171.54.

**2-[[2-(2-пропил-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3-ил)ацетил]амино]-4-метил-пентановая кислота (7с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 69%. Тпл. 236-237°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,87 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 240. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3520 (ОН), 3308 (NH), 1678 (C=O), 1655 (C=O), 1614 (C=O), 1007 (C-O). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 0.86 (д, J = 6.5 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.92 (д, J = 6.6 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.98 (т, J = 7.4 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.61 – 1.49 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.67 (дт, J = 12.9, 8.0 Гц, 1H, CH), 1.82 – 1.72 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.63 (т, J = 7.6 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.86 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.91 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.30 – 4.20 (м, 1H, CH), 4.82 (кв, J = 17.0 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.07 (с, 1H, ArH), 7.40 (с, 1H, ArH), 8.64 (д, J = 8.0 Гц, 1H, NH), 12.72 (с, 1H, COOH). Спектр <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 14.12, 19.64, 21.66, 23.34, 24.80, 36.00, 45.04, 50.91, 56.14, 56.41, 105.74, 108.00, 113.08, 143.62, 148.71, 155.08, 156.04, 160.99, 167.44, 174.31.

**2-[[2-(2-пропил-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3-ил)ацетил]амино]-3-(1H-индол-3-ил)пропановая кислота (8с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 57%. Тпл. 272-273°C (перекристаллизация из этанола). R<sub>f</sub> = 0,84 (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол), λ<sub>max</sub>, нм: 229, 239, 271 нм. ИК-спектр (KBr), ν, см<sup>-1</sup>: 3381 (NH), 1730 (C=O), 1662 (C=O), 1641 (C=O), 1009 (C-O). Спектр <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 0.91 (т, J = 7.4 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.76 – 1.60 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.47 (дд, J = 7.6, 2.7 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.25 – 3.01 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.86 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.91 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.52 (тд, J = 8.2, 5.0 Гц, 1H, CH), 4.77 (кв, J = 16.9 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.00 (т, J = 6.9 Гц, 1H, ArH), 7.06 (с, 1H, ArH), 7.12 – 7.07 (м, 1H, ArH), 7.20 (д, J = 2.4 Гц, 1H, ArH), 7.41 – 7.30 (м, 2H, ArH), 7.56 (д, J = 7.8 Гц, 1H, ArH), 8.70 (д, J = 7.9 Гц, 1H,

NH), 10.93 (с, 1H, NH), 12.83 (с, 1H, COOH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 14.07, 19.61, 27.58, 35.86, 45.16, 53.71, 56.14, 56.41, 105.72, 107.99, 110.12, 111.85, 113.06, 118.63, 118.86, 121.39, 124.12, 127.67, 136.54, 143.62, 148.69, 155.07, 156.06, 160.98, 167.26, 173.57.

**2-[[2-(2-изопропил-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3-ил)ацетил]амино]уксусная кислота (9с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 61%. Тпл. 219-220°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,86$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 239. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3425 (ОН), 3298 (NH), 1732 (C=O), 1662 (C=O), 1614 (C=O), 1007 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.24 (д,  $J = 6.6$  Гц, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 3.06 – 2.92 (м, 1H, CH), 3.82 (д,  $J = 5.7$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.87 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.07 (с, 1H, ArH), 7.40 (с, 1H, ArH), 8.66 (т,  $J = 5.9$  Гц, 1H, NH), 12.68 (с, 1H, COOH). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 21.69, 31.88, 41.26, 45.08, 56.15, 56.43, 105.72, 108.05, 113,10, 143.65, 148.76, 155.16, 160.82, 161.09, 167.93, 171.46.

**2-[[2-(2-изопропил-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3-ил)ацетил]амино]-4-метил-пентановая кислота (10с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 50%. Тпл. 220-221°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,91$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 241. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3414 (ОН), 3309 (NH), 1736 (C=O), 1678 (C=O), 1657 (C=O), 1007 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 0.86 (дд,  $J = 6.5, 1.9$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.92 дд,  $J = 6.6, 1.9$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.17 (дд,  $J = 6.9, 2.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.23 (д,  $J = 4.5$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.63 – 1.49 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.73 – 1.65 (м, 1H, CH), 3.02 – 2.89 (м, 1H, CH), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.31 – 4.20 (м, 1H, CH), 4.89 (кв,  $J = 14.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.07 (д,  $J = 1.9$  Гц, 1H, ArH), 7.42 (дд,  $J = 13.1, 1.9$  Гц, 1H, ArH), 8.64 (д,  $J = 8.0$  Гц, 1H, NH), 12.72 (с, 1H, COOH). МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  364,1503, найдено:  $m/z$  364,1513.

**2-(6,7-диметокси-2-метил-4-оксо-хиназолин-3-ил)уксусная кислота (11с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 72%. Тпл. 215-216°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,72$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 242. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3431 (ОН), 1678 (C=O), 1610 (C=O), 1011 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.25 (тд,  $J = 7.3, 1.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.83 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.10 (т,  $J = 1.5$  Гц, 1H, ArH), 7.40 (кв,  $J = 6.3$  Гц, 1H, ArH), 13.26 (с, 1H, COOH).

**2-(6,7-диметокси-4-оксо-2-фенил-хиназолин-3-ил)уксусная кислота (12с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 66%. Тпл. 281-282°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,86$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 247, 295. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3437 (ОН), 1716 (C=O), 1676 (C=O), 1005 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 3.91 (д,  $J = 2.1$  Гц, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 4.53 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.21 (с, 1H, ArH), 7.49 (с, 1H, ArH), 7.55 (с, 5H, ArH), 13.18 (с, 1H, COOH). МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  341,1132, найдено:  $m/z$  341,1133.

**2-(6,7-диметокси-4-оксо-2-фенил-хиназолин-3-ил)пропановая кислота (13с)**

Продукт реакции представляет собой белое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 62%. Тпл. 202-203°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,91$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 246, 302. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3419 (ОН), 1715 (C=O), 1670 (C=O), 1026 (C-O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 2.59 (т,  $J = 7.7$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.90 (д,  $J = 3.7$  Гц, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 4.06 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.16 (с, 1H, ArH), 7.49 (с, 1H, ArH), 7.57 – 7.50 (м, 3H, ArH), 7.63 (дд,  $J = 6.8, 2.9$  Гц, 2H, ArH), 12.34 (с, 1H, COOH). МСВР (ИЭР): вычислено для  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z$  355,1288, найдено:  $m/z$  355,1294.



## 2.7. Синтез натриевых солей азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид

К суспензии 0,005 моля азометинового производного 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид в 50 мл 96%-го спирте этилового добавляют 2-х кратный избыток метилата натрия по отношению к солеобразующему фенольному гидроксилу и кипятят реакционную смесь в течение 30 минут. Затем раствор упаривают до 15-20 мл. Образовавшийся осадок отфильтровывают, высушивают и очищают перекристаллизацией из 96%-го спирта этилового [64].

### 2-[(2-Гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид натриевая соль (1d)

Продукт реакции представляет собой оранжевое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 78%. Тпл. = 201-202°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 209, 241, 287, 385. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3403 (NH), 3245 (NH), 1651 (C=O), 1613 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.84 – 1.66 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.66 (дт,  $J = 22.4, 5.8$  Гц, 4H,  $CH_2$ ), 6.97 – 6.85 (м, 2H, ArH), 7.36 (тд,  $J = 7.8, 7.2, 1.8$  Гц, 1H, ArH), 7.49 (с, 1H, ArH), 7.69 (дд,  $J = 7.8, 1.8$  Гц, 1H, NH), 8.00 (с, 1H, NH), 8.69 (с, 1H, N=CH).

### 2-[(4-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид натриевая соль (2d)

Продукт реакции представляет собой оранжевое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 52%. Тпл. = 171-172°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 203, 230, 307, 393. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3404 (NH), 3160 (NH), 1647 (C=O), 1593 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.73–1.61 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.42 (т,  $J = 6.2$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.57 (кв,  $J = 5.5, 4.2$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 6.19 (д,  $J = 8.5$  Гц, 1H, ArH), 6.52 (с, 1H, ArH), 6.90 (с, 1H, ArH), 7.02 (с, 1H, ArH), 7.38 (д,  $J = 8.5$  Гц, 1H, NH), 7.99 (с, 1H, NH), 8.93 (д,  $J = 4.0$  Гц, 1H, N=CH).

**2-[(4-Гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид натриевая соль (3d)**

Продукт реакции представляет собой красное кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 59%. Тпл. = 287-288°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 204, 252, 302, 401. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3434 (NH), 3283 (NH), 1663 (C=O), 1586 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.76 – 1.61 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.57 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.78 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.64 (с, 3H,  $CH_3$ ), 6.12 (д,  $J = 8.4$  Гц, 1H, ArH), 7.05 – 6.95 (м, 2H, ArH), 7.08 (с, 1H, NH), 7.94 (с, 1H, NH), 9.05 (д,  $J = 4.2$  Гц, 1H, N=CH).

**2-[(3-Гидрокси-4-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид натриевая соль (4d)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 57%. Тпл. = 264-265°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 205, 251, 301, 395. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3395 (уш., NH), 1644 (C=O), 1617 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.81 – 1.66 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.65 (д,  $J = 6.4$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.79 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.71 (с, 3H,  $CH_3$ ), 6.67 (д,  $J = 15.0$  Гц, 2H, ArH), 6.78 (с, 1H, ArH), 7.33 (с, 1H, NH), 8.15 (с, 1H, NH), 8.58 (с, 1H, N=CH).

**2-[(2-Гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамид натриевая соль (5d)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 52%. Тпл. = 371-372°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 219, 263, 379. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3403 (уш., NH), 1644 (C=O), 1605 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.83 – 1.63 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.61 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.77 (т,  $J = 6.1$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.66 (с, 3H,  $CH_3$ ), 6.05 (дт,  $J = 51.4, 7.8$  Гц, 1H, ArH), 6.60 (дт,  $J = 7.5, 2.0$  Гц, 1H, ArH), 6.87 (дд,  $J = 8.1, 1.8$  Гц, 1H, ArH), 7.08 (дд,  $J = 8.3, 1.6$  Гц, 1H, NH), 8.51 (с, 1H, NH), 8.81 (с, 1H, N=CH).

**2-[(2,4-Дигидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензо-  
тиофен-3-карбоксамида натриевая соль (6d)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 54%. Тпл. = 198-199°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 219, 264, 379. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3411 (уш., NH), 1659 (C=O), 1601 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.81 – 1.63 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.71 – 2.58 (м, 4H,  $CH_2$ ), 5.99 (с, 1H, ArH), 6.07 (д,  $J = 7.9$  Гц, 1H, ArH), 7.22 (с, 1H, ArH), 7.31 (д,  $J = 8.7$  Гц, 1H, NH), 8.21 (с, 1H, NH), 8.47 (д,  $J = 32.8$  Гц, 1H, N=CH).

**2-[(5-Трет-бутил-2гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-  
тетрагидробензотиофен-3-карбоксамида натриевая соль (7d)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 43%. Тпл. = 166-167°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,95$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 213, 243, 289, 390. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3414 (NH), 3171 (NH), 1667 (C=O), 1597 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.27 (с, 9H,  $CH_3$ ), 1.85 – 1.63 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.76 – 2.58 (м, 4H,  $CH_2$ ), 6.86 (д,  $J = 8.7$  Гц, 1H, ArH), 7.40 (дд,  $J = 8.7, 2.6$  Гц, 1H, ArH), 7.51 (с, 1H, ArH), 7.69 (д,  $J = 2.6$  Гц, 1H, NH), 8.04 (с, 1H, NH), 8.70 (с, 1H, N=CH).

**2-[(3,5-дитертбутил-4-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-  
тетрагидробензотиофен-3-карбоксамида натриевая соль (8d)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 37%. Тпл. = 209-210°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,96$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 206, 251, 313, 394. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3453 (NH), 3237 (NH), 1647 (C=O), 1597 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.41 (с, 18H,  $CH_3$ ), 1.82 – 1.63 (м, 4H,  $CH_2$ ), 2.65 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 2.76 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 7.44 (с, 1H, ArH), 7.68 (с, 2H, ArH, NH), 8.37 (д,  $J = 14.2$  Гц, 2H, NH, N=CH).

**2-[(2-Гидрокси-5-нитрофенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамида натриевая соль (9d)**

Продукт реакции представляет собой красное кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 55%. Тпл. = 290-291°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,96$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 204, 399, 453. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3468 (уш., NH), 1667 (C=O), 1597 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.83 – 1.59 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.65 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.77 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.17 (д,  $J = 9.7$  Гц, 1H, ArH), 7.33 (с, 1H, ArH), 7.79 (дд,  $J = 9.7, 3.4$  Гц, 1H, ArH), 8.42 (д,  $J = 3.1$  Гц, 1H, NH), 8.64 (д,  $J = 6.9$  Гц, 2H, NH, N=CH).

**2-[(5-бром-2-гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамида натриевая соль (10d)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 61%. Тпл. = 249-250°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,95$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 204, 228, 391. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3426 (уш., NH), 1663 (C=O), 1596 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.83 – 1.65 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.90 – 2.60 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 3.68 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.71 (дд,  $J = 25.3, 2.6$  Гц, 1H, ArH), 7.26 – 7.18 (м, 1H, ArH), 7.73 (д,  $J = 2.7$  Гц, 1H, NH), 8.63 (с, 1H, NH), 8.68 (с, 1H, N=CH).

**2-[(3-бром-2-гидрокси-5-метилфенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамида натриевая соль (11d)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 68%. Тпл. = 354-355°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,97$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 215, 388. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3426 (уш., NH), 1636 (C=O), 1593 (C=N). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.74 (тт,  $J = 17.5, 6.4$  Гц, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 2.90 – 2.60 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 3.69 (д,  $J = 7.7$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 6.71 (дд,  $J = 25.3, 2.6$  Гц, 1H, ArH); 7.26 – 7.18 (м, 1H, ArH); 7.73 (д,  $J = 2.7$  Гц, 1H, NH); 8.63 (с, 1H, NH); 8.68 (с, 1H, N=CH).

**2-[(3,5-дибром-2-гидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксамида натриевая соль (12d)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 53%. Тпл. = 362-363°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,97$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 206, 390, 470. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3434 (уш., NH), 1655 (C=O), 1605 (C=N). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.78 – 1.65 (м, 4Н,  $CH_2$ ), 2.79 – 2.61 (м, 4Н,  $CH_2$ ), 7.22 (с, 1Н, ArH), 7.53 – 7.33 (м, 2Н, ArH, NH), 8.65 (д,  $J = 14.4$  Гц, 2Н, NH, N=CH).

**2.8. Синтез натриевых солей 2-замещённых тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она**

К суспензии 0,005 моля тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она в 50 мл 96%-го спирте этилового добавляют 2-х кратный избыток метилата натрия по отношению к солеобразующему фенольному гидроксилу и кипятят реакционную смесь в течение 30 минут. Затем раствор упаривают до 15-20 мл. Образовавшийся осадок отфильтровывают, высушивают и очищают перекристаллизацией из 96%-го спирта этилового [64].

**2-(2-Гидроксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она натриевая соль (13d)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 51%. Тпл. 278-279°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{max}$ , нм: 212, 375. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3414 (уш., NH), 1605 (C=O). Спектр  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.86 – 1.68 (м, 4Н,  $CH_2$ ), 2.94 – 2.60 (м, 4Н,  $CH_2$ ), 6.63 – 6.48 (м, 1Н, ArH), 7.13 – 6.85 (м, 1Н, ArH), 7.71 – 7.31 (м, 1Н, ArH), 8.09 (дд,  $J = 7.9, 1.9$  Гц, 1Н, ArH).

**2-(4-гидроксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она натриевая соль (14d)**

Продукт реакции представляет собой бежевое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 59%. Тпл. 274-275°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$

(Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 215, 339. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3426 (уш., NH), 1659 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.88 – 1.65 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.97 – 2.56 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 6.91 – 6.79 (м, 2H, ArH), 8.09 – 7.91 (м, 2H, ArH), 11.46 (с, 1H, NH).

**2-(4-гидрокси-3-метоксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-он (15d)**

Продукт реакции представляет собой коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 48%. Тпл. 269-270°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 214, 344. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3438 (уш., NH), 1655 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.87 – 1.67 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.71 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.91 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.82 (дд,  $J = 8.4, 1.9$  Гц, 1H, ArH), 7.70 (дт,  $J = 8.3, 2.1$  Гц, 1H, ArH), 7.75 (т,  $J = 2.0$  Гц, 1H, ArH).

**2-(3-гидрокси-4-метоксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она натриевая соль (16d)**

Продукт реакции представляет собой бежевое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 39%. Тпл. 272-273°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 215, 342. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3419 (уш., NH), 1659 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.89 – 1.69 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.73 (т,  $J = 6.2$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.89 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.07 – 6.96 (м, 1H, ArH), 7.69 – 7.57 (м, 2H, ArH).

**2-(2-гидрокси-3-метоксифенил-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она натриевая соль (17d)**

Продукт реакции представляет собой бежевое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 42%. Тпл. = 367-368°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,92$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 215, 348. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3438 (уш., NH), 1655 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.85 – 1.70 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.68 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.87 (т,  $J = 5.8$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.72 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.35 (т,  $J = 7.9$  Гц, 1H, ArH), 6.76 (дд,  $J = 7.6, 1.7$  Гц, 1H, ArH), 7.67 (дд,  $J = 8.3, 1.7$  Гц, 1H, ArH).

**2-(2,4-Дигидроксифенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она натриевая соль (18d)**

Продукт реакции представляет собой красно-коричневое кристаллическое вещество без запаха. Выход продукта 40%. Тпл. 198-199°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,91$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 214, 358. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3411 (уш., NH), 1652 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.84 – 1.69 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.72 – 2.62 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.90 – 2.81 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.00 – 5.92 (м, 1H, ArH), 8.52 (с, 2H, ArH).

**2-(5-третбутил-2-гидроксифенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она натриевая соль (19d)**

Продукт реакции представляет собой жёлтое аморфное вещество без запаха. Выход продукта 36%. Тпл. 284-285°C (перекристаллизация из этанола).  $R_f = 0,93$  (Б:У:В – 4:1:2). УФ-спектр (этанол),  $\lambda_{\max}$ , нм: 214, 356. ИК-спектр (KBr),  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3430 (уш., NH), 1601 (C=O). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.30 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ), 1.87 – 1.70 (м, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2.75 (т,  $J = 5.9$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.90 (т,  $J = 6.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.93 (д,  $J = 8.7$  Гц, 1H, ArH), 7.45 (дд,  $J = 8.6, 2.5$  Гц, 1H, ArH), 8.10 (д,  $J = 2.5$  Гц, 1H, ArH), 12.41 (с, 1H, NH).

## ГЛАВА 3. ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

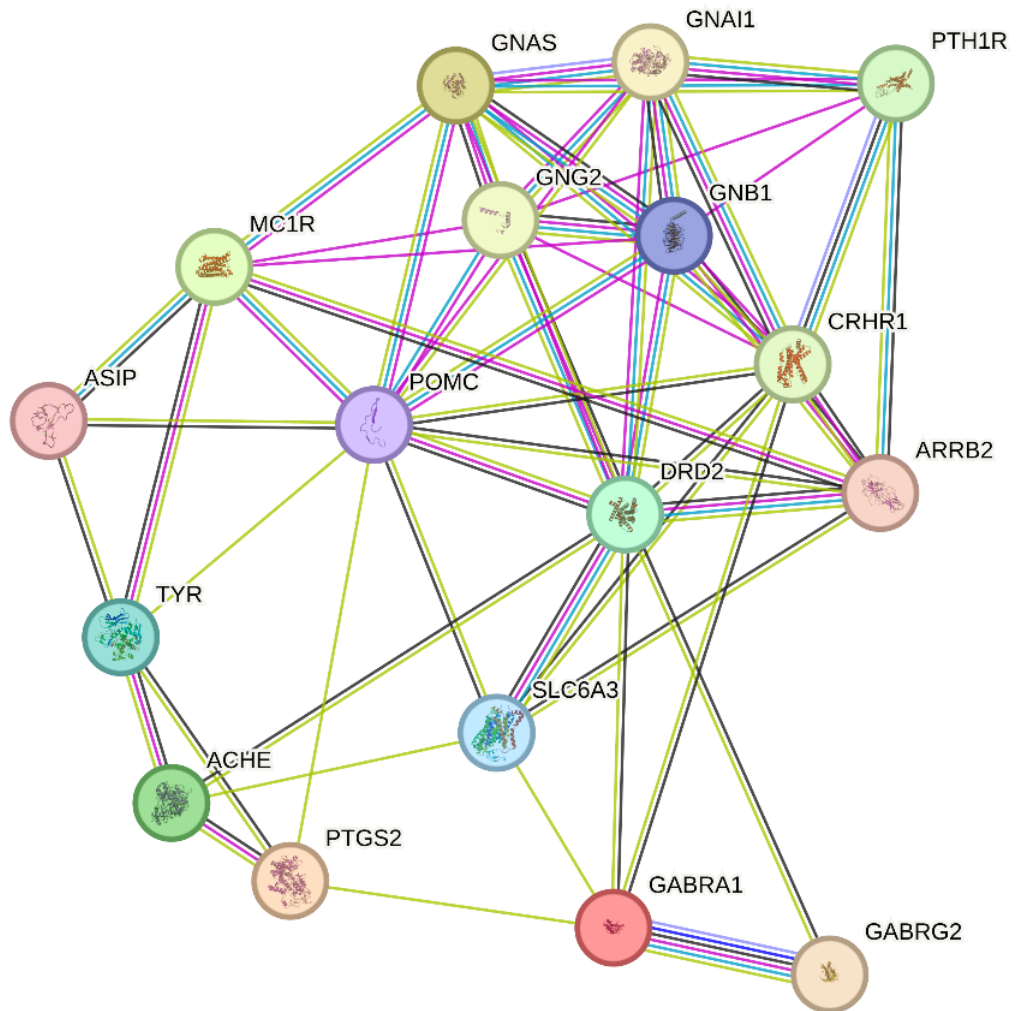
Поиск и создание высокоэффективных и безопасных ЛС требует целенаправленного синтеза БАС для дальнейшего отбора наиболее перспективных веществ [1, 13, 46]. С этой целью посредством методов логико-структурного подхода и компьютерного моделирования осуществляется выбор базисной структуры (скаффолда), которая является основой для последующего молекулярного конструирования. На первом этапе с использованием логико-структурного подхода рассматриваются варианты модификации скаффолда и выбор фармакофорных фрагментов для усиления заданных фармакологических свойств.

### **3.1. Обоснование выбора биомишеней посредством сетевой фармакологии для молекулярного конструирования церебропротекторных средств**

Применение метода сетевой фармакологии позволяет выявить вероятное вовлечение белковых мишеней и генов в регуляторные механизмы, лежащие в основе как нормального функционирования, так и патологических явлений [161, 111]. Исследование проводили, используя веб-ресурс STRING версии 12.0 (<https://string-db.org/>). В отношении мишеней, приведенных в таблице 1, выявили ряд интересных регуляторных взаимосвязей (рисунок 3.1), которые обосновывают системное церебропротекторное действие. Она сфокусирована на нейрогормональных механизмах головного мозга. Здесь центральное положение занимают POMC (про-опиомеланокертин) и рецептор дофамина DRD2, которые и объединяют все узлы и, по-видимому, выполняют интегральную функцию. Более полная схема, включающая 104 узла и более 800 связей между ними, ориентированная на метаболизм, представлена на рисунке 3.2. В таблице 3.1



приведена взаимосвязь белковых мишеней и генов с их церебропротекторной активностью.



*ACHE* – ацетилхолинэстераза; *TYR* – тирозиназа; *PTG* – простагландин; *GABRA1* и *GABRA1* – гены ГАМК<sub>A</sub>-рецептора; *POMC* – про-опиомеланокертин; *DRD2* – дофаминовый рецептор; ген *SLC6A3* – транспортер дофамина; ген *ASIP* – пигментация; *MC1R* – рецептор меланокортина-1; *GNAS* – регуляция передачи сигнала внутрь клетки от рецептора; ген *GNG2* – передача сигналов через мембраны; ген *GNAI1*, *GNB1* и *ARRB2* – сигнальные каскады; *PTH1R* – рецептор паратиреоидного гормона; *CRHR1* – рецептор 1 кортикотропин-рилизинг гормона

Рисунок 3.1 – Регуляторные взаимосвязи белковых мишеней и генов для церебропротекторной активности

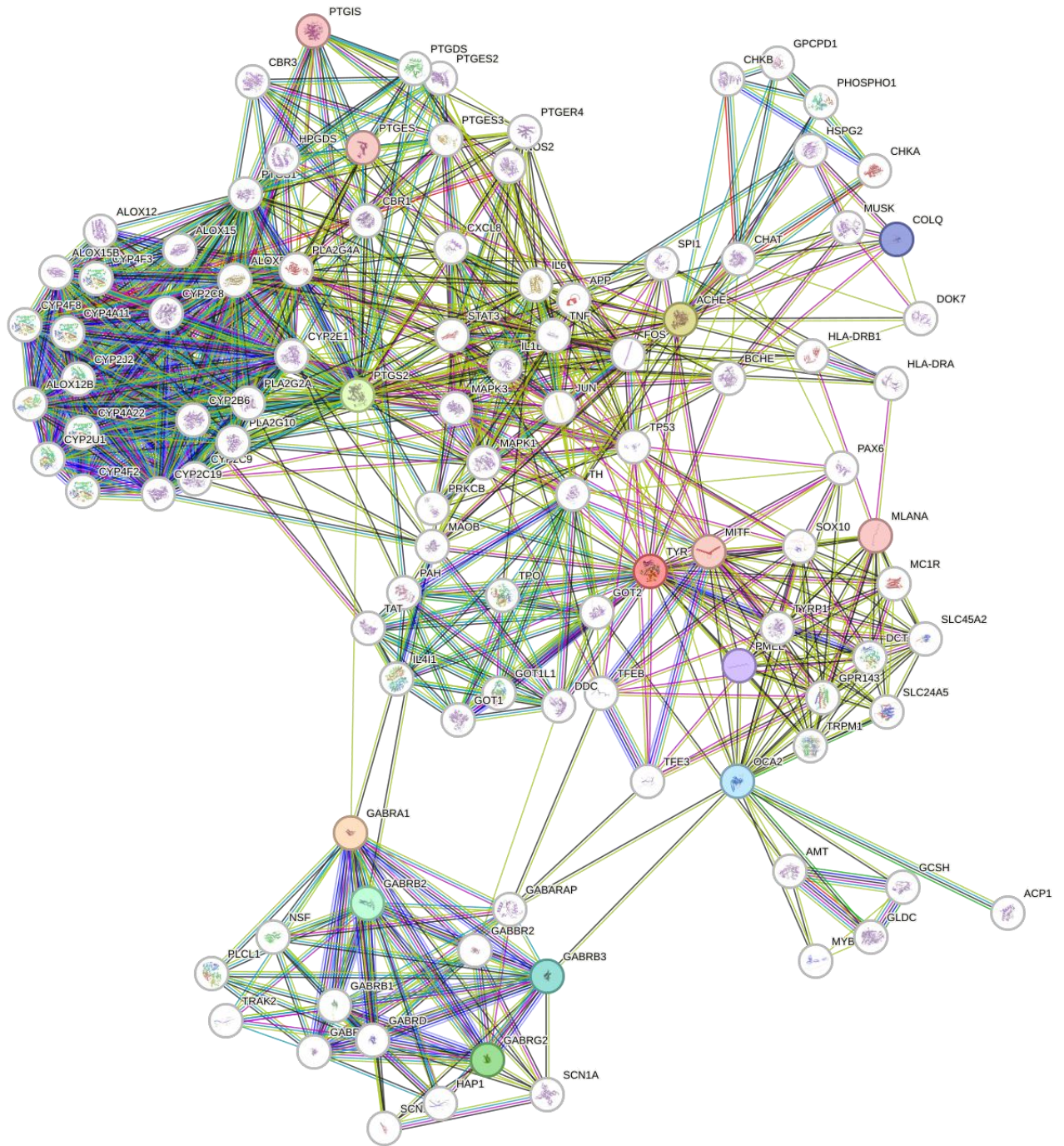


Рисунок 3.2 – Регуляторные взаимосвязи белковых мишеней и генов для церебропротекторного действия

Таблица 3.1 – Взаимосвязь белковых мишеней с их церебропротекторной активностью

<i>Белковая мишень</i>	<i>Влияние</i>
ацетилхолинэстераза	нейротрансмиттер
циклооксигеназа-2	воспаление нейронов
тирозиназа	влияние на катехоламины
ГАМК <sub>A</sub> -рецептор	регуляция возбуждения/торможения

Существует функциональная связь между ЦОГ-2 и ацетилхолинэстеразой с вовлечением в регуляторную сеть целого ряда факторов воспаления (рисунок 3.1). Более того, эти "сетевые" взаимосвязи находят дальнейшее подтверждение в экспериментальной и клинической фармакологии. Так, в экспериментальных моделях процессов воспаления и нейродегенерации в тканях мозга, нестероидные противовоспалительные препараты предотвращали не только воспалительные реакции, но и гипофункцию холинергической системы [97]. Поэтому в ряде работ было высказано предположение об эффективности использования нестероидных противовоспалительных средств в фармакотерапии болезни Альцгеймера [97, 122]. Однако, вопреки ожиданиям, такая эффективность не была выявлена в серии клинических испытаний [99]. В результате детального анализа отрицательных результатов клинических испытаний сделан вывод том, что препараты данной группы позитивно действуют на нормальный (здоровый) мозг, в котором не начался процесс образования бета-амилоидов [113]. Если бета-амилоиды в ткани уже сформированы, лекарственные препараты в таком случае неэффективны. Более того, их применение даже нежелательно, так как они могут угнетать активность микроглии, которая способствует очистке тканей от бета-амилоидов и стимулирует компенсаторные процессы нейрогенеза в гиппокампе [113]. Причиной гибели нейронов при болезни Альцгеймера также является образование сенильных бляшек, которые представляют собой главным образом бета-амилоидным пептидом (A $\beta$ ). Нейротоксичность A $\beta$  проявляется нарушением гомеостаза кальция, индукцией окислительного стресса, эксайтотоксичностью,

воспалительными процессами, интенсификацией апоптоза [14]. Ингибиторы агрегации амилоидных частиц могут снижать прогрессирование болезни Альцгеймера, что обуславливает актуальность их поиска.

Считается, что окисленные метаболиты дофамина, известные как производные дофаминхинона, играют ключевую роль в дегенерации нигростриарных дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона. Избыточная экспрессия тирозиназы приводит к увеличению внутриклеточного содержания дофамина в сочетании с образованием пигментов меланина в соматах нейронов, что в конечном итоге вызывает апоптотическую гибель клеток ЦНС [107]. Дофамин может окисляться с образованием реакционноспособного хинона дофамина, который способен ковалентно модифицировать клеточные макромолекулы, включая белок и ДНК, что вызывает разрушение нейронов [95]. Тирозиназа, которая является ключевым ферментом в биосинтезе меланина посредством выработки L-диоксифенилаланина и последующих молекул, потенциально может ускорить индукцию производных катехоламинхинона своей оксидазной активностью, которые вызывают, в частности, дегенерацию дофаминергических нейронов [114]. Кроме того, тирозиназа влияет на меланогенез, а аномально повышенный меланогенез может быть предрасполагающим фактором дерматологических и онкологических заболеваний кожи [102]. Таким образом ингибиторы тирозиназы возможно использовать при нейродегенеративных заболеваниях, а также при гиперпигментации кожи.

Следующим важным звеном, регулирующим активность нейронов головного мозга, является ГАМК<sub>A</sub>-рецептор. Дисфункция ГАМК-ергической системы вносит вклад в патогенез многих неврологических расстройств. Так, например, сбой баланса возбуждение-торможение ЦНС, вызванного нарушением функций ГАМК-ергической системы, может спровоцировать возникновение эпилепсии [10]. При этом судорожная патология в головном мозге по мере развития процесса «эпилептизации» нейронов усиливает деструктивные изменения, приводящие к гибели клеток ЦНС [48]. Дисфункция ГАМК<sub>A</sub>-рецептора лежит в основе патогенеза нарушений развития нервной системы, таких, например, как снижение

когнитивных функций и расстройству социального поведения аутистического спектра, развитию синдрома Ретта [105, 103]. Важным свойством ГАМК является повышение продукции белка Клото, который подавляет активность транскрипционного ядерного фактора NF- $\kappa$ B, повышает экспрессию Nrf-2 и вследствие этого стимулирует активность ферментов антиоксидантной системы, снижает продукцию активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов, экспрессию индуцибельной NO-синтазы [49]. Поиск ГАМК-подобных соединений, в том числе методами *in silico* [2, 3], является важным направлением разработки новых лекарственных средств для терапии центральных неврологических расстройств.

Подводя итог, можно сказать, что получение соединений влияющих на активность рассмотренных белковых мишеней целесообразно с целью разработки новых церебропротекторных лекарственных средств.

### **3.2. Логико-структурный подход к модификации скаффолда и отбору фармакофорных фрагментов**

На основании осуществленных ранее исследований следует [9, 44, 53, 124], что выбор в качестве базисной структуры конденсированного ядра пиримидин-4(3*H*)-она позволяет значительно расширить границы фармакологических свойств соединений. Предполагается, что ациклические предшественники вследствие повышенной конформационной способности могут быть высокоактивными структурами. Исходя из этого объектами исследования являются соединения, содержащие конденсированное ядро пиримидин-4(3*H*)-она: производные 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-*d*]пиримидин-4(3*H*)-она и их ациклические предшественники - азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды, а также производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она.

Предварительный прогноз влияния на биологическую активность циклических и ациклических производных 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-

d]пиримидин-4(3*H*)-она и их азометиновых предшественников осуществлён посредством *in silico* подходов исследования.

В развитие предыдущих работ [9, 34, 44, 53, 124], осуществленных на кафедре органической химии и для поиска высокоэффективных церебропротекторных и противовирусных соединений, выбраны производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она.

На рисунке 3.3 приводятся возможные циклические и ациклические модификации скаффолда.

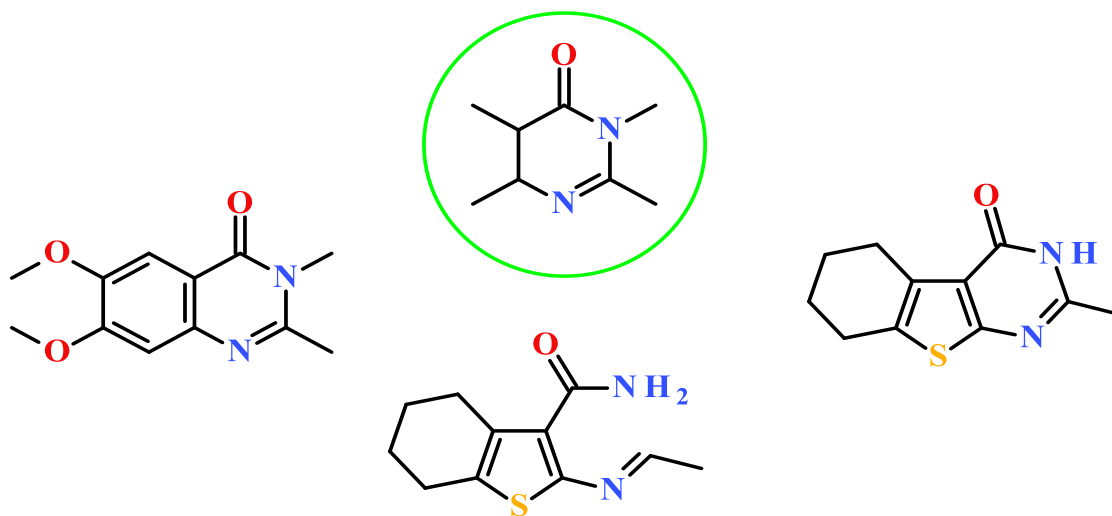


Рисунок 3.3 – Модификации структур конденсированных и ациклических производных

Логико-структурное обоснование путей моделирования скаффолда сводится к следующему:

1. введение по аналогии с рядом БАС в скаффолд электронодонорных гидрокси- или алкоксигрупп, связанных с ароматическим ядром, может увеличить электронную плотность в бензанилированном фрагменте хиназолинона;
2. моделируемые соединения, содержащие гидрокси- или алкоксигруппы, приобретают дополнительные центры взаимодействия с белковыми мишенями, что позволяет усилить устойчивость лиганд-белкового комплекса;

3. введение двух виц-расположенных гидроксид- и алкоксигрупп в моделируемый скаффолд способствует повышению влияния этих соединений на центральную нервную систему.

Логико-структурный подход поиска новых ингибиторов ацетилхолинэстеразы (АХЭ) потребовал анализа структур лекарственных препаратов и БАС, обладающих антихолинэстеразной активностью. Результаты его приведены на рисунке 3.4 в виде структурных формул с выделенными общими фрагментами молекул донепезила [47] и галантамина [22] (являются лекарственными препаратами), дегидролюциферина [151], эписерберина [71], ятроризина [162]. Исходя из выявленных структурных признаков взаимосвязи структура-активность ингибиторов ацетилхолинэстеразы было установлено, что анализируемые соединения содержат гидроксид и/или метоксигруппы, являющиеся электронодонорными заместителями, которые практически всегда сопряжены с ароматическим кольцом и являются центрами комплементарности с биосубстратом. Другим значимым структурным признаком в молекулах ингибиторов АХЭ является гетероатом азота. Таким образом, предполагаем, что выделенные фармакофорные фрагменты играют важную роль для ингибирования ацетилхолинэстеразы. Дополнительно следует выделить пятичленный цикл, присутствующий в молекулах донепезила и галантамина, являющихся лекарственными препаратами, а также в структуре эписерберина. Такой подход к формированию целевых продуктов позволяет сконструировать структуры, обладающие выраженной фармакологической активностью в качестве ингибиторов АХЭ.

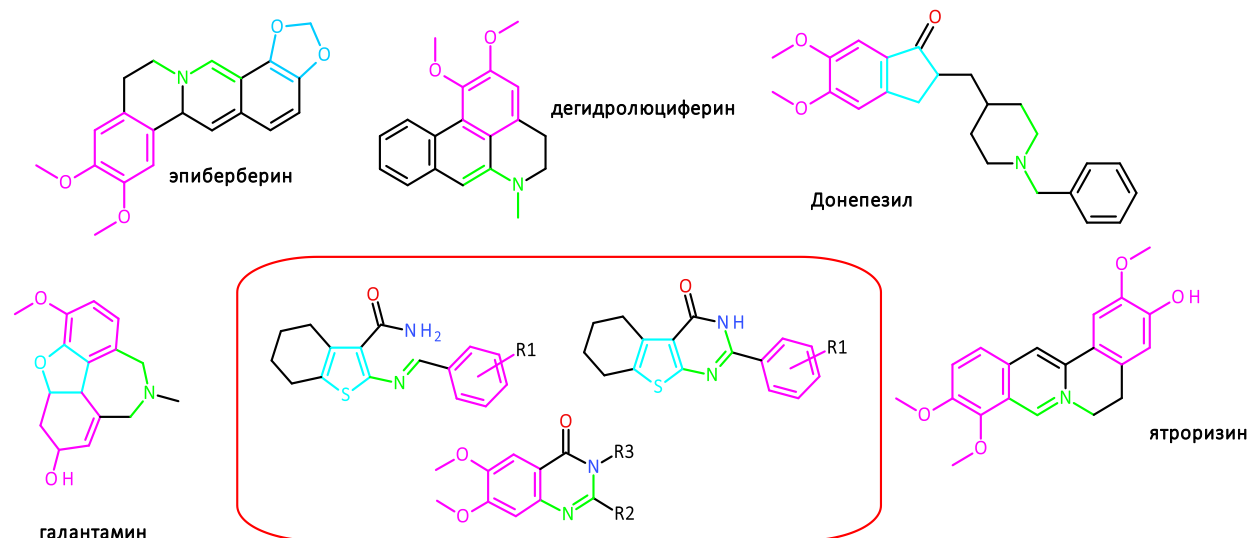


Рисунок 3.4 – Дизайн ингибиторов ацетилхолинэстеразы

Фенольные соединения обладают наибольшей способностью ингибировать тирозиназу, которые могут быть в виде индивидуальных веществ или конъюгированных форм с сахарами или органическими кислотами [83]. Установлено, например, что такие простые фенолы, как гидрохинон, резорцин, ванилин, койевая кислота и их производные, могут оказывать ингибирующее действие на тирозиназу. В то же время гидрохинон и резорцин обладают выраженными токсическими свойствами для организма человека [69]. Синтез новых органических соединений с фенольными заместителями расширит класс потенциальных ингибиторов тирозиназы. Сконструированные таким образом соединения (рисунок 3.5) могут быть эффективными антитирозиназными агентами. Производные пиридина, благодаря их близости к эндогенным азотистым основаниям, характеризуются низкой токсичностью, а с фенильными, гидроксифенильными и гетерильными фрагментами, как правило, проявляют высокую биологическую активность [93, 171]. Осуществляя молекулярный дизайн путём введения фенильных фрагментов во второе положение гетероциклического ядра тетрагидробензотиенопиридин-4(3*H*)-она, можно спрогнозировать структуры, которые предположительно обладают антитирозиназной активностью в сочетании с низкой токсичностью.



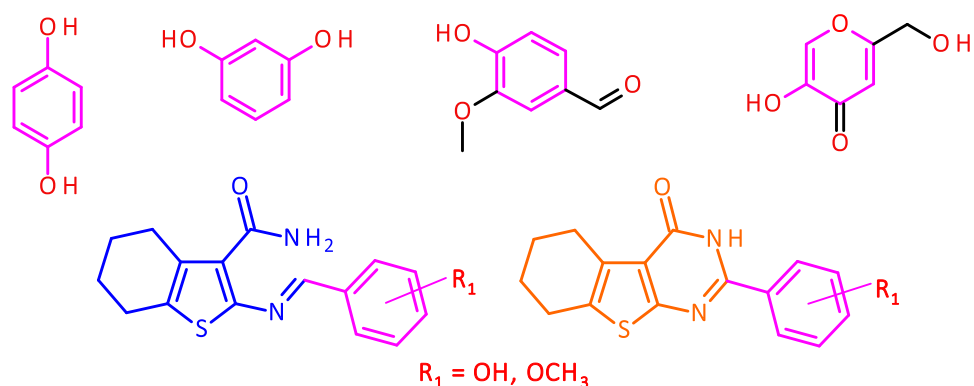


Рисунок 3.5 – Дизайн ингибиторов тирозиназы

### 3.3. Хемоинформационный анализ фармакологических свойств прогнозируемых соединений посредством веб-сервиса PASS

В результате *in silico* прогнозирования с помощью веб-сервиса PASS биологической активности ациклических предшественников тетрагидробензопиримидин-4(3*H*)-она были выбраны следующие соединения, структурные формулы которых приведены на рисунке 3.6.

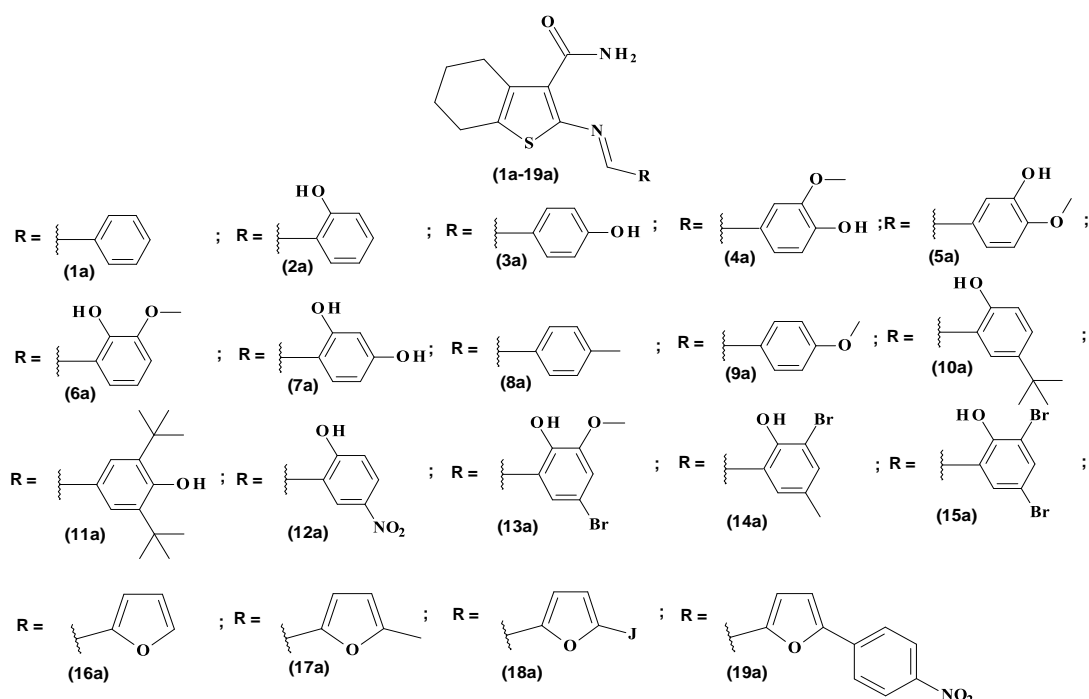


Рисунок 3.6 – Структурные формулы прогнозируемых азотинных производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоамида

Результаты прогноза биологической активности ациклических предшественников тетрагидробензопиримидин-4(3*H*)-она приведены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Результаты прогноза биологической активности азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды веб-ресурсом PASS Online

Соединение	Вид биологической активности							
	Ингибитор тиол-протеазы	Противотуберкулезная	Усилитель экспрессии HMGCS2	Антимикобактериальная	Ингибитор гистондеацетилазы SIRT1	Антагонист Mcl-1	Ингибитор гистондеацетилазы III класса	Противовоспалительная
	<i>Pa</i> - Вероятность проявления активности, %							
1a	80,4	80,2	77,9	73,5	68,4	63,7	59,9	52,4
2a	79,9	83,5	81,9	77,3	63,5	64,1	62,6	52,1
3a	77,8	81,6	74,2	75,0	62,5	58,7	55,9	52,9
4a	74,0	82,5	68,2	74,0	51,5	54,8	47,7	52,7
5a	74,0	82,5	68,2	74,0	51,5	54,8	47,7	52,7
6a	77,5	80,9	78,3	75,1	54,2	63,3	54,9	47,4
7a	79,6	82,1	80,3	76,6	61,3	63,7	61,0	53,3
8a	79,0	80,3	75,1	74,0	62,1	60,4	56,3	52,7
9a	76,9	79,0	72,5	74,1	50,8	55,2	50,8	50,2
10a	78,0	78,4	75,8	69,3	52,7	51,2	57,0	57,7
11a	74,6	74,1	66,4	64,9	54,7	46,9	50,7	70,3
12a	77,5	91,9	83,0	84,5	52,7	67,9	54,4	42,2
13a	77,9	81,8	84,0	77,4	59,4	62,2	58,5	32,8
14a	81,3	81,7	85,6	75,0	63,1	59,8	61,5	35,9
15a	83,8	86,0	90,7	79,7	67,8	63,8	65,2	28,9
16a	79,6	82,2	91,3	77,2	54,0	81,6	38,5	45,4
17a	77,8	67,7	86,3	55,7	46,4	72,2	39,9	47,2
18a	74,6	59,0	85,4	52,7	45,0	49,0	38,5	-
19a	74,2	88,8	89,3	80,8	39,0	69,1	36,6	37,3

Исходя из результатов прогноза биологической активности азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды

(таблица 3.2) следует, что все соединения характеризуются ингибирующей активностью тиол-протеазы. Известно, что цистеиновые протеазы вовлекаются в ряд патологических процессов, приводящих к сердечно-сосудистым заболеваниям, воспалительным процессам и нарушениям иммунитета [167]. К основным качествам прогнозируемых азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов относят их способность обладать выраженной противотуберкулезной активностью. Доказано, что ингибирование фермента гистоновой деацетилазы SIRT1 III класса в раковых клетках приводит к выраженной противоопухолевой активностью [160], поэтому можно ожидать цитостатические свойства у исследуемых веществ, кроме фурилзамещённых. Прогнозируемое влияние соединений на синтез белка Mcl-1 также может оказывать противоопухолевое действие и использоваться для лечения миелолейкоза [115]. Вероятность проявления противовоспалительных свойств у прогнозируемых соединений значительно меньше, однако структура **11a** с вероятностью 70,3% может оказаться эффективной для лечения воспалительных процессов.

В качестве моделируемых соединений выбраны соответствующие 2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она, получаемые из их ациклических азометиновых предшественников (рисунок 3.7).

Результаты прогноза биологической активности 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она представлены в таблице 3.3. Метаболические процессы организма можно регулировать путем влияния на усиление экспрессии гена HMGCS2 [138]. Предположительно наиболее выраженное усиление экспрессии HMGCS2 наблюдается у соединения **1b**, содержащего во втором положении пиримидинового гетероцикла фенильный заместитель. Возможно, что данное соединение будет проявлять выраженное противосудорожное действие. Согласно *in silico* прогнозу биологической активности моделируемые соединения можно будет использовать для лечения легочной гипертензии. Введение в положение 2 ядра тетрагидробензотиенопиримидина гидроксифенильного фрагмента может привести к увеличению противоишемической активности, а также повышает

вероятность использования данного соединения в качестве стабилизатора клеточных мембран. Наиболее вероятной способностью стабилизировать клеточные мембраны обладает соединение **7b**, которое во втором положении пиримидинового гетероцикла содержит 2,4-дигидроксифенильный фрагмент. Соединение **11b** с фрагментом пространственно затрудненного фенола наиболее вероятно будет проявлять противоишемические свойства, и оно применимо для лечения заболеваний ЦНС. Моделируемые соединения могут ингибировать транскрипционный фактор STAT3, который отвечает за некоторые функции печени и процессы её регенерации. Однако в настоящее время функции STAT3 недостаточно исследованы [133]. Изучаемые 2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она могут применяться для лечения эректильной дисфункции и острых неврологических расстройств.

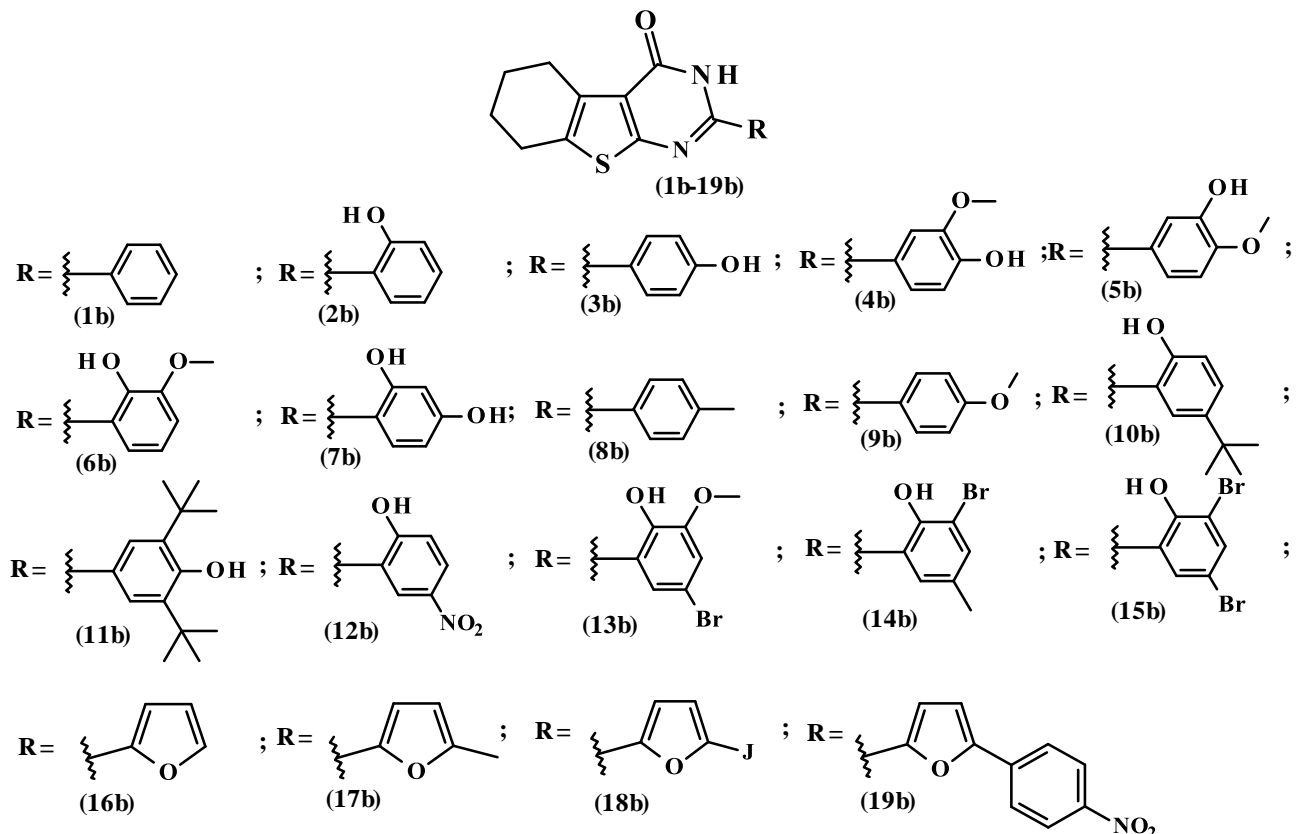
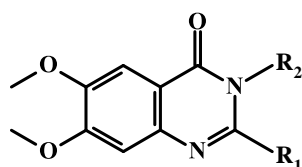


Рисунок 3.7 – Структурные формулы прогнозируемых 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она

Таблица 3.3 – Результаты прогноза биологической активности 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она веб-ресурсом PASS Online

Соединение	Вид биологической активности							
	Усиление экспрессии HMGCS2	Лечение эректильной дисфункции	Противосудорожный	Противоишемическое	Лечение легочной гипертензии	Стабилизация клеточных мембран	Ингибитор транскрипционного фактора STAT3	Лечение острых неврологических расстройств
	<i>Pa - Вероятность проявления активности, %</i>							
<b>1b</b>	88,7	61,4	60,4	53,6	61,4	30,2	51,0	53,8
<b>2b</b>	85,7	68,3	36,9	57,5	56,0	62,5	54,1	53,0
<b>3b</b>	86,1	58,2	41,6	53,5	56,1	47,4	48,2	56,5
<b>4b</b>	82,2	51,8	28,5	42,5	48,7	31,1	48,4	43,8
<b>5b</b>	82,2	51,8	28,5	42,5	48,7	31,1	48,4	43,8
<b>6b</b>	82,6	66,5	20,4	39,6	49,9	38,3	48,9	43,5
<b>7b</b>	84,5	68,1	27,8	55,0	55,3	73,8	54,4	54,0
<b>8b</b>	86,5	60,6	56,0	50,1	58,0	25,9	54,3	51,9
<b>9b</b>	85,2	61,2	44,0	45,9	55,1	29,4	53,9	43,9
<b>10b</b>	80,7	57,2	-	56,7	47,9	32,5	29,5	50,9
<b>11b</b>	81,7	43,1	37,6	62,1	47,9	-	18,6	65,5
<b>12b</b>	86,8	56,4	33,0	51,2	43,0	-	54,3	64,9
<b>13b</b>	85,0	56,5	-	-	38,6	-	47,0	-
<b>14b</b>	88,0	52,3	26,6	-	41,1	-	56,2	-
<b>15b</b>	91,3	54,2	35,1	-	40,9	-	49,3	-
<b>16b</b>	89,7	33,4	41,0	60,9	54,7	-	55,4	54,2
<b>17b</b>	88,3	49,2	33,0	48,4	46,1	-	53,1	45,4
<b>18b</b>	84,0	30,4	-	-	41,9	-	21,8	-
<b>19b</b>	88,0	38,9	29,6	54,6	39,2	-	46,9	57,2

В качестве моделируемых структур выступают следующие производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она с остатками нейроактивных аминокислот и дипептидов (рисунок 3.8), которые могут оказаться высокоэффективными соединениями с церебропротекторной и противовирусной активностью.



1c-13c

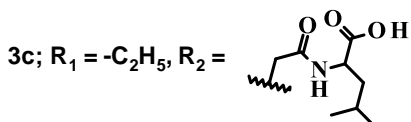
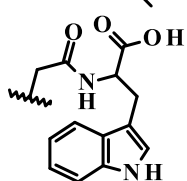
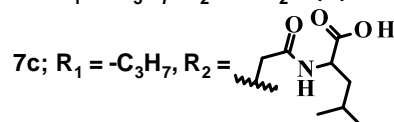
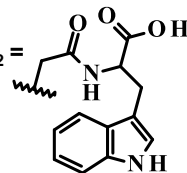
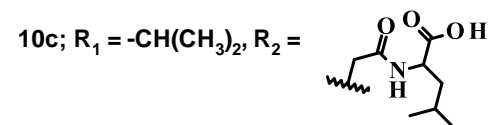
1c;  $R_1 = -C_2H_5$ ,  $R_2 = -CH_2-COOH$ 2c;  $R_1 = -C_2H_5$ ,  $R_2 = -CH_2-C(O)-NH-CH_2-COOH$ 4c;  $R_1 = -C_2H_5$ ,  $R_2 =$ 5c;  $R_1 = -C_3H_7$ ,  $R_2 = -CH_2-COOH$ 6c;  $R_1 = -C_3H_7$ ,  $R_2 = -CH_2-C(O)-NH-CH_2-COOH$ 8c;  $R_1 = -C_3H_7$ ,  $R_2 =$ 9c;  $R_1 = -CH(CH_3)_2$ ,  $R_2 = -CH_2-C(O)-NH-CH_2-COOH$ 11c;  $R_1 = -CH_3$ ;  $R_2 = -CH_2COOH$ 12c;  $R_1 = Ph$ ;  $R_2 = -CH_2COOH$ 13c;  $R_1 = Ph$ ;  $R_2 = -C_2H_4COOH$ 

Рисунок 3.8 – Структурные формулы прогнозируемых производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она

### 3.4. Прогноз антихолинэстеразной активности методом молекулярного докинга

С целью выявления наиболее перспективных виртуальных структур с антихолинэстеразным действием осуществлялся молекулярный докинг. В качестве лиганд-белкового комплекса использовалась ацетилхолинэстераза человека с её ингибитором донепезилом [142]. Оценка достоверности разработанной методики молекулярного докинга осуществлялась путём сравнения экспериментально доказанной конформации донепезила методом рентгеноструктурного анализа и вычисленной в ходе *in silico* эксперимента. В результате получено значение среднеквадратического отклонения (СКО) 0,44 ангстрем (рисунок 3.9), что позволяет судить о достаточно высокой достоверности компьютерного моделирования.

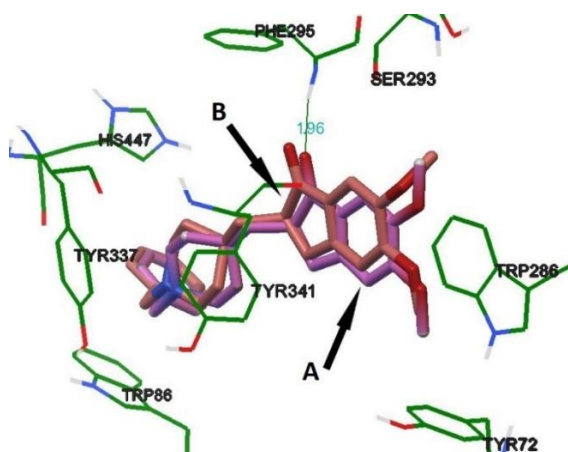


Рисунок 3.9 – Расположение донепезила в активном сайте АХЭ.  
 А - рентгеноструктурный анализ (розовый цвет), В - молекулярный докинг (коричневый цвет)

В ходе сравнительного анализа результатов молекулярного докинга следует (таблица 3.4), что для виртуальных азометинов с бромгидроксильными заместителями (-11,89 ккал/моль для **13a**, -11,64 ккал/моль для **15a** и -11,25 ккал/моль для **14a**) и для соединения с нитроарилфурильным фрагментом (-11,50 ккал/моль для **19a**) прогнозируется антихолинэстеразная активность сопоставимая с лекарственным препаратом донепезилом (-11,89 ккал/моль). Менее устойчивый лиганд-ферментный комплекс образуют вещества с гидроксиметоксифенильными (**4a-6a**) и гидрокситретбутилфенильным (**10a** и **11a**) заместителем. Предполагается, что устойчивость для большинства виртуальных комплексов обуславливается формированием водородной межмолекулярной связи с аминокислотными остатками Phe 295, Arg 296 и Tyr 341 [149, 158].

Таблица 3.4 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса азометиновых производных и референтов с АХЭ

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1a</b>	-9,02	Тыр 341	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,101
<b>2a</b>	-9,69	Тыр 124	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,206
<b>3a</b>	-9,28	Ser 293	<u>OH</u>	2,060
		Тыр 124	<u>C=O</u>	2,019

Продолжение Таблицы 3.4

<b>4a</b>	-10,03	His 447	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,142
<b>5a</b>	-10,30	Tyr 124	C= <u>O</u>	1,925
		Arg 296	<u>O</u> H	1,953
		Ser 293	<u>O</u> H	2,162
<b>6a</b>	-10,21	Tyr 341	N <u>H</u> <sub>2</sub>	2,231
		Arg 296	<u>O</u> H	1,857
		Arg 296	<u>O</u> H	2,072
<b>7a</b>	-9,72	Ser 293	<u>O</u> H	2,231
		Arg 296	<u>O</u> H	1,814
		Tyr 124	C= <u>O</u>	2,152
<b>8a</b>	-9,75	Ser 203	C= <u>O</u>	2,024
<b>9a</b>	-9,55	Tyr 124	N <u>H</u> <sub>2</sub>	2,133
<b>10a</b>	-10,70	Asp 74	<u>O</u> H	2,141
<b>11a</b>	-10,36	Tyr 341	N <u>H</u> <sub>2</sub>	2,192
<b>12a</b>	-9,87	Tyr 124	<u>O</u> H	2,143
		Gly 122	N <u>O</u> <sub>2</sub>	1,178
		Ala 204	N <u>O</u> <sub>2</sub>	2,088
		His 447	N <u>O</u> <sub>2</sub>	2,050
<b>13a</b>	-11,89	Tyr 341	N <u>H</u> <sub>2</sub>	2,211
		Phe 295	<u>O</u> H	2,152
		Arg 296	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,223
<b>14a</b>	-11,25	Tyr 341	N <u>H</u> <sub>2</sub>	2,212
<b>15a</b>	-11,64	Tyr 341	N <u>H</u> <sub>2</sub>	2,170
<b>16a</b>	-8,81	Arg 296	фурил (- <u>O</u> -)	1,849
<b>17a</b>	-9,02	Tyr 341	N <u>H</u> <sub>2</sub>	2,232
		Phe 295	фурил (- <u>O</u> -)	2,146
<b>18a</b>	-9,57	Phe 295	C= <u>O</u>	2,074
<b>19a</b>	-11,50	Arg 296	N <u>O</u> <sub>2</sub>	1,905
Донепезил	-11,89	Phe 295	C= <u>O</u>	1,770
Ривастигмин	-8,14	Phe 295	- <u>O</u> -CO-	2,158
Галантамин	-10,44	His 447	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,150
		Ser 203	- <u>O</u> -	1,882
		Glu 202	<u>O</u> H	1,950

Исследование *in silico* сродства тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов к активному сайту АХЭ позволяет судить о возможном антихолинэстеразном действии соединений с теми же заместителями, что и их ациклические предшественники (таблица 3.5), так как наиболее устойчивые молекулярные комплексы формируют виртуальные производные с гидроксифенильными (**13b-15b**), гидроксиметоксифенильными (**5b** и **6b**) и гидрокситретбутилфенильными (**10b** и **11b**) заместителями. Следует отметить, что для большинства соединений-лидеров прогнозируется образование



межмолекулярной водородной связи с аминокислотными остатками Phe 295 и Arg 296 [158].

Таблица 3.5 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов с АХЭ

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1b</b>	-9,05	-	-	-
<b>2b</b>	-10,16	Arg 296	<u>ОН</u>	1,979
		Ser 293	<u>ОН</u>	2,141
<b>3b</b>	-9,23	Ser 293	<u>ОН</u>	2,041
<b>4b</b>	-9,55	Phe 295	<u>ОСН<sub>3</sub></u>	2,199
<b>5b</b>	-10,29	Arg 296	<u>ОН</u>	1,679
<b>6b</b>	-10,29	Phe 295	<u>ОН</u>	1,895
		Arg 296	<u>ОСН<sub>3</sub></u>	2,146
<b>7b</b>	-9,95	Ser 293	<u>ОН</u>	1,804
		Arg 296	<u>ОН</u>	1,898
		Arg 296	<u>ОН</u>	1,895
<b>8b</b>	-9,55	-	-	-
<b>9b</b>	-9,48	-	-	-
<b>10b</b>	-10,86	Phe 295	<u>С=О</u>	2,225
<b>11b</b>	-10,30	-	-	-
<b>12b</b>	-9,67	Phe 295	<u>С=О</u>	2,155
		Arg 296	<u>ОН</u>	2,064
		Arg 296	<u>ОН</u>	2,188
<b>13b</b>	-11,64	Arg 296	<u>ОСН<sub>3</sub></u>	2,211
		Phe 295	<u>ОН</u>	2,153
<b>14b</b>	-10,52	Phe 295	<u>С=О</u>	2,128
		Ser 293	<u>ОН</u>	1,822
<b>15b</b>	-10,84	Phe 295	<u>ОН</u>	2,104
<b>16b</b>	-9,05	Arg 296	фурил (- <u>О</u> -)	1,891
<b>17b</b>	-8,93	Phe 295	<u>С=О</u>	1,700
<b>18b</b>	-9,71	Phe 295	-S-	2,222
<b>19b</b>	-10,67	Arg 296	<u>NO<sub>2</sub></u>	1,903

На рисунке 3.10 приводится пространственное расположение одного из соединений-лидеров – **5b** среди тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов.

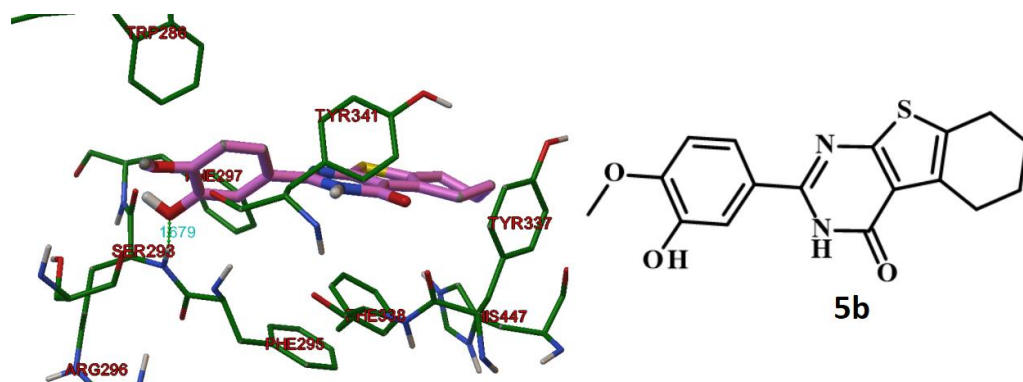


Рисунок 3.10 – Расположение 5b по результатам молекулярного докинга в активном сайте АХЭ

Что касается производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, то наиболее перспективными соединениями с прогнозируемым антихолинэстеразным действием являются структуры **3c**, **4c**, **7c**, **8c**, **10c**, содержащие остаток нейроактивных дипептидов: глициллейцина или глицилтриптофана. Эти виртуальные структуры образуют межмолекулярные водородные связи за счёт карбонильных, амидных и гетероциклических фрагментов. В некоторых случаях участвует метоксигруппа в положении 6 и 7 ядра хиназолинона (таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с АХЭ

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1c</b>	-7,10	Ser 293	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,211
		Arg 296	C= <u>O</u>	2,055
		Phe 295	O=C-OH	1,679
<b>2c</b>	-8,70	Gly122	O=C-OH	2,230
		Gly 121	O=C-OH	2,237
		Ser 203	O=C-OH	1,936
<b>3c</b>	-9,99	Phe 295	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,163
<b>4c</b>	-10,70	-	-	-
<b>5c</b>	-7,27	Arg 296	C= <u>O</u>	2,212
		Phe 295	O=C-OH	1,843
<b>6c</b>	-8,95	Gly122	O=C-OH	2,183
		Gly 121	O=C-OH	2,213
		Ser 203	O=C-OH	1,906

Продолжение Таблицы 3.6

7c	-10,73	Ser 203	O=C-OH	2,238
		Phe 295	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,246
8c	-10,52	-	-	-
9c	-9,23	Gly122	O=C-OH	2,207
		Gly 121	O=C-OH	2,193
		Ser 203	O=C-OH	1,884
10c	-10,54	Phe 295	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,233
11c	-6,60	Ser 293	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,173
		Arg 296	C= <u>O</u>	2,137
		Phe 295	O=C-OH	1,888
12c	-7,50	-	-	-
13c	-8,33	Phe 295	<u>O</u> CH <sub>3</sub>	2,225

Таким образом, посредством *in silico* экспериментов выделены наиболее перспективные производные тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-она и их ациклические предшественники, производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с антихолинэстеразным действием, что позволяет предположить их церебропротекторные свойства в условиях холинергической недостаточности.

### 3.5. Прогноз противовирусной активности методом молекулярного докинга

Прогноз противовирусной активности виртуальных соединений осуществлялся методом молекулярного докинга в отношении белковых мишеней: главной и папаино-подобной протеаз SARS-CoV-2. Известно, что ингибирование протеаз нарушает, в частности, процесс репликации вирусов, в чём и выражается противовирусная активность соединений [170]. Для вычислительного эксперимента использовалась экспериментально определенная рентгеноструктурным анализом трёхмерная виртуальная модель лиганд-белкового комплекса главной протеазы с лекарственным препаратом теллапревиром (7K6D [110]), а в случае папаино-подобной протеазы применялся лиганд-ферментный комплекс с экспериментальным ингибитором XR8-89 (7LBR [87]). Для

определения достоверности вычислительного эксперимента проводилось определение расположения ингибиторов протеаз в соответствующих белковых мишенях с теоретически рассчитанными конформациями в сайте связывания. В результате сравнительного анализа конформаций экспериментально определенных и теоретически рассчитанных ингибиторов установлена достаточная достоверность используемой методики, т.к. СКО расположения телупревира составляет 1,84 ангстрем (рисунок 3.11), а для XR8-89 равняется 1,81 ангстрем (рисунок 3.12), что меньше предельного порога 3,0 ангстрем.

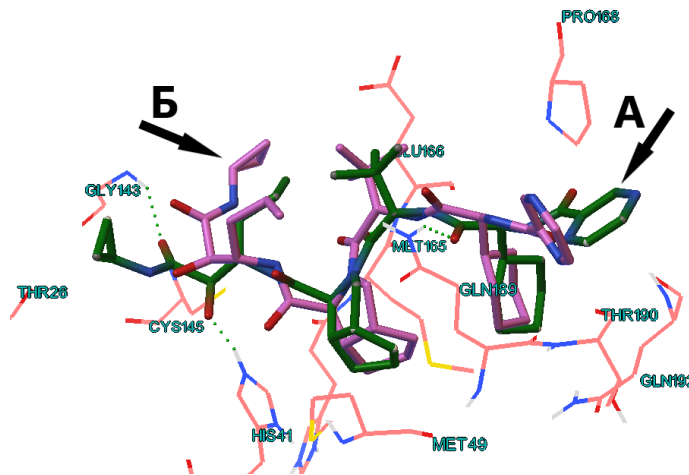


Рисунок 3.11 – Расположение телупревира в активном сайте главной протеазы SARS-Cov-2. А - рентгеноструктурный анализ (зеленый цвет), Б – молекулярный докинг (розовый цвет)

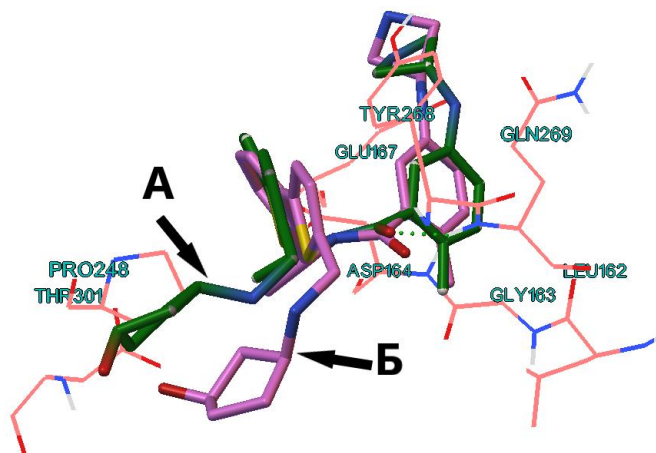


Рисунок 3.12 – Расположение XR8-89 в активном сайте папаино-подобной протеазы SARS-Cov-2. А - рентгеноструктурный анализ (зеленый цвет), Б – молекулярный докинг (розовый цвет)

Из анализа энергий взаимодействия лиганд-ферментного комплекса (таблица 3.7) следует, что наиболее устойчивые комплексы среди азометинов образуются с

гидроксифенильными производными, содержащими атом брома (**13a-15a**). Однако в случае наиболее объемного фурилфенильного замещённого энергия взаимодействия наивысшая (-8.96 ккал/моль, **19a**). Незначительно по устойчивости формируются молекулярные комплексы с третибутилгидроксифенильными заместителями: -8.37 ккал/моль для **10a** и -8,39 ккал/моль для **11a**. Следует выделить, что практически во всех случаях образуются межмолекулярная водородная связь с остатком аминокислоты Glu 166, а для наиболее перспективных соединений наблюдается формирование водородной связи с Glu 189.

Таблица 3.7 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса азометиновых производных с главной протеазой SARS-Cov-2

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1a</b>	-7,49	Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,012
<b>2a</b>	-7,76	Gln 189	C=O	2,248
		Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,012
<b>3a</b>	-7,39	Phe 140	<u>OH</u>	1,971
<b>4a</b>	-8,03	Glu 166	-N=	1,853
		His 16	<u>OCH<sub>3</sub></u>	1,961
		Gly 143	<u>OH</u>	2,137
<b>5a</b>	-7,78	Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,992
<b>6a</b>	-8,09	Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,905
		Gln 189	C=O	2,008
<b>7a</b>	-7,82	Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,160
		Arg 188	<u>OH</u>	2,061
		Gln 192	<u>OCH<sub>3</sub></u>	2,024
		Gln 192	<u>OH</u>	1,855
<b>8a</b>	-7,70	Gln 189	C=O	2,237
		Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,946
<b>9a</b>	-7,58	Gln 189	C=O	2,187
		Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,894
<b>10a</b>	-8,37	Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,143
		Gln 189	<u>OH</u>	2,022
<b>11a</b>	-8,39	Glu 166	-N=	1,989
		His 164	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,825
		Thr 190	<u>OH</u>	1,799
<b>12a</b>	-7,56	Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,025
		His 164	<u>OH</u>	2,083
<b>13a</b>	-8,92	Glu 166	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,048
		Gln 189	C=O	2,214

Продолжение Таблицы 3.7

<b>14a</b>	-8,62	His 164	$\text{NH}_2$	1,816
		Glu 166	-N=	2,148
		Gln 189	OH	2,104
<b>15a</b>	-8,89	His 164	$\text{NH}_2$	1,995
		Glu 166	-N=	2,063
		Gln 189	OH	2,105
<b>16a</b>	-7,35	Val 186	$\text{NH}_2$	1,975
		Arg 188	$\text{NH}_2$	2,145
<b>17a</b>	-7,40	Val 186	$\text{NH}_2$	2,042
		Arg 188	$\text{NH}_2$	2,163
<b>18a</b>	-7,86	Val 186	$\text{NH}_2$	2,181
		Arg 188	$\text{NH}_2$	1,978
<b>19a</b>	-8,96	Gly 143	$\text{NO}_2$	2,031
		Glu 166	$\text{NH}_2$	2,226
		Gln 189	C=O	2,151
Телапревир	-7,28	Gly 143	C=O	1,917
		Met 165	C=O	1,849
		His 41	C=O	1,953

Сравнительный анализ результатов молекулярного докинга 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она выявил (таблица 3.8), что наиболее устойчивый молекулярный комплекс образует гидроксиметоксибромфенильное производное (-8.64 ккал/моль, **13b**). При этом другие бромсодержащие структуры также обладают высоким сродством к главной протеазе SARS-Cov-2, так как их энергия формирования молекулярного комплекса немного уступает соединению-лидеру (-8,58 ккал/моль для **15b**, -8,44 ккал/моль для **14b**). Структуры с остатками ванилина (**4b**) и изованилина (**5b**) могут оказаться эффективными противовирусными соединениями в связи с их способностью образовывать устойчивый комплекс лиганд-фермент. Тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-оны с фрагментами третбутила в гидроксифенильном заместителе (**10b** и **11b**) показали сродство к белковой мишени соизмеримое с веществами **4b** и **5b**. Стоит отметить, что для вещества с дигидроксифенильным заместителем также прогнозируется противовирусная активность (-8,40 ккал/моль, **7b**). Можно отметить, что все наиболее активные производные образуют межмолекулярную водородную связь с аминокислотным

остатком Glu 166, как и соединения-лидеры среди их ациклических предшественников.

Таблица 3.8 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов с главной протеазой SARS-Cov-2

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1b</b>	-7,49	Glu 166	<u>NH</u>	2,134
<b>2b</b>	-7,99	Glu 166	<u>NH</u>	2,149
		Glu 166	C=O	2,057
		Thr 190	<u>OH</u>	2,169
<b>3b</b>	-7,74	Glu 166	<u>NH</u>	1,782
		Glu 166	C=O	1,836
		Gln 192	<u>OH</u>	1,847
		Gln 192	<u>OH</u>	1,958
<b>4b</b>	-8,45	Glu 166	<u>NH</u>	1,754
		Glu 166	C=O	1,967
		Gln 192	<u>OH</u>	2,009
		Gln 192	<u>OH</u>	2,058
<b>5b</b>	-8,34	Glu 166	<u>NH</u>	1,747
		Glu 166	C=O	1,978
		Gln 192	<u>OH</u>	2,099
		Gln 192	<u>OCH<sub>3</sub></u>	1,659
<b>6b</b>	-8,11	Glu 166	<u>NH</u>	1,889
		Glu 166	C=O	1,986
		Thr 190	<u>OCH<sub>3</sub></u>	1,919
<b>7b</b>	-8,40	Glu 166	<u>NH</u>	1,886
		Glu 166	C=O	1,955
		Gln 192	<u>OH</u>	1,830
		Gln 192	<u>OH</u>	1,844
<b>8b</b>	-7,63	Arg 188	C=O	2,124
<b>9b</b>	-7,52	Glu 166	<u>NH</u>	1,842
		Glu 166	C=O	1,901
		Thr 190	<u>OCH<sub>3</sub></u>	1,683
<b>10b</b>	-8,33	Glu 166	<u>NH</u>	2,248
		Glu 166	C=O	2,043
<b>11b</b>	-8,46	Glu 166	<u>NH</u>	2,001
		Glu 166	C=O	2,023
		Thr 190	<u>OH</u>	1,912
<b>12b</b>	-7,93	Glu 166	<u>NH</u>	1,973
		Glu 166	C=O	1,945
		Thr 190	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,080

Продолжение Таблицы 3.8

<b>13b</b>	-8,64	Glu 166	<u>NH</u>	1,952
		Glu 166	C=O	1,982
		Gln 189	OH	2,118
<b>14b</b>	-8,44	Glu 166	<u>NH</u>	1,851
		Glu 166	C=O	1,902
<b>15b</b>	-8,58	Glu 166	<u>NH</u>	1,939
		Glu 166	C=O	2,072
<b>16b</b>	-7,34	Gln 189	C=O	2,195
		Gln 192	фурил (-O-)	2,167
<b>17b</b>	-7,06	Gln 189	C=O	2,174
<b>18b</b>	-7,59	Glu 166	<u>NH</u>	2,238
		Glu 166	C=O	2,066
<b>19b</b>	-8,43	Glu 166	C=O	2,142
		Gln 192	<u>NO<sub>2</sub></u>	1,673

Наибольшее сродство к активному сайту главной протеазы SARS-Cov-2 показали производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками глициллейцина и глицилтриптофана – **3c**, **4c**, **7c** и **8c** (таблица 3.9). Максимальной энергией докинга обладает вещество с ядром 2-пропил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-она и остатком глицилтриптофана (-9,38 ккал/моль, **8c**). Особо следует отметить, что для наиболее перспективных структур (**3c**, **7c** и **8c**) представляется возможным формирование межмолекулярной водородной связи с Glu 166 [18].

Таблица 3.9 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с главной протеазой SARS-Cov-2

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1c</b>	-6,24	Gln192	COOH	1,731
<b>2c</b>	-7,75	Glu 166	COOH	2,055
		Gln 189	C=O	2,197
<b>3c</b>	-8,21	Glu 166	COOH	2,198
<b>4c</b>	-9,05	Gln 189	C=O	1,901
		Gln 192	COOH	2,095
<b>5c</b>	-6,20	Gln 189	C=O	2,124
<b>6c</b>	-7,22	-	-	-
<b>7c</b>	-8,59	Glu 166	COOH	2,225
<b>8c</b>	-9,38	Gly 143	OCH <sub>3</sub>	2,189
		Glu 166	C=O	1,759





Таблица 3.10 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса азометиновых производных и тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов с папаино-подобной протеазой SARS-Cov-2

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Соединение	Энергия докинга, ккал/моль
<b>1a</b>	-7,06	<b>1b</b>	-7,49
<b>2a</b>	-7,54	<b>2b</b>	-7,62
<b>3a</b>	-6,90	<b>3b</b>	-7,20
<b>4a</b>	-7,43	<b>4b</b>	-7,51
<b>5a</b>	-7,31	<b>5b</b>	-7,69
<b>6a</b>	-7,76	<b>6b</b>	-8,18
<b>7a</b>	-7,18	<b>7b</b>	-7,49
<b>8a</b>	-7,23	<b>8b</b>	-7,76
<b>9a</b>	-7,07	<b>9b</b>	-7,37
<b>10a</b>	-7,55	<b>10b</b>	-7,93
<b>11a</b>	-7,13	<b>11b</b>	-7,65
<b>12a</b>	-7,69	<b>12b</b>	-8,10
<b>13a</b>	-8,33	<b>13b</b>	-9,22
<b>14a</b>	-8,16	<b>14b</b>	-8,34
<b>15a</b>	-8,40	<b>15b</b>	-8,40
<b>16a</b>	-6,69	<b>16b</b>	-7,18
<b>17a</b>	-6,88	<b>17b</b>	-7,62
<b>18a</b>	-7,50	<b>18b</b>	-8,21
<b>19a</b>	-8,87	<b>19b</b>	-7,77

Как и в случае с главной протеазой наибольшее сродство к папаино-подобной протеазе SARS-Cov-2 прогнозируется для производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками глициллейцина и глицилтриптофана: **4c**, **7c** и **8c** (таблица 3.11). Однако структура **13c**, содержащая остаток β-аланина, предположительно обладает соизмеримой прогнозируемой активностью в сравнении с соединениями-лидерами (-8,11 ккал/моль, **13c**) [18].

Таблица 3.11 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она с папаино-подобной протеазой SARS-Cov-2

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1c</b>	-5,22	Arg 166	COOH	1,981
<b>2c</b>	-6,55	Asn 267	COOH	2,135
		Tyr 268	COOH	1,916
<b>3c</b>	-6,75	Tyr 268	COOH	1,910
<b>4c</b>	-7,56	Trp 1	NH	1,984
<b>5c</b>	-5,67	Thr 301	COOH	2,126
		Arg 166	COOH	2,169
<b>6c</b>	-6,75	Tyr 268	COOH	2,013
<b>7c</b>	-7,29	Gly 266	COOH	2,053
<b>8c</b>	-8,82	-	-	-
<b>9c</b>	-6,52	-	-	-
<b>10c</b>	-6,86	Gln 269	COOH	1,803
<b>11c</b>	-5,30	Tyr 268	COOH	1,859
<b>12c</b>	-7,15	Thr 301	COOH	2,007
<b>13c</b>	-8,11	Arg 166	COOH	1,856
		Arg 166	COOH	2,041
Телапневир	-7,52	Arg 166	-N=	2,113

В результате проведенного *in silico* исследования установлено, что некоторые моделируемые вещества могут оказаться эффективными для лечения новой коронавирусной инфекции, что подразумевает первоочередной синтез этих структур.

### 3.6. Прогноз противовоспалительной активности методом молекулярного докинга

Согласно прогнозу биологической активности веб-ресурсом PASS азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды (глава 3) могут оказывать противовоспалительное действие. Поэтому далее осуществлено исследование методом молекулярного докинга, которое обладает большей достоверностью.

Молекулярный докинг осуществлялся в отношении человеческой циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) с идентификационным номером 5IKT [132], так как согласно исследованиям [66] именно ингибирование ЦОГ-2 вызывает выраженный противовоспалительный фармакологический эффект с меньшими возможными нежелательными реакциями организма. Ингибирование циклооксигеназы-1 приводит к язвеногенному действию, в следствии этого *in silico* эксперимент проводился именно по отношению к ЦОГ-2. Исходя из этого для оценки противовоспалительного действия прогнозируемых структур следовало использовать данные рентгеноструктурного анализа, взятых из базы данных виртуальных структур RCSB Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)). Достаточная достоверность осуществляемых расчётов подтверждается схожестью конформаций экспериментально определенного и теоретически вычисленного расположения толфенамовой кислоты в сайте связывания ЦОГ-2. Величина СКО составляет 0,86 ангстрем (рисунок 3.14).

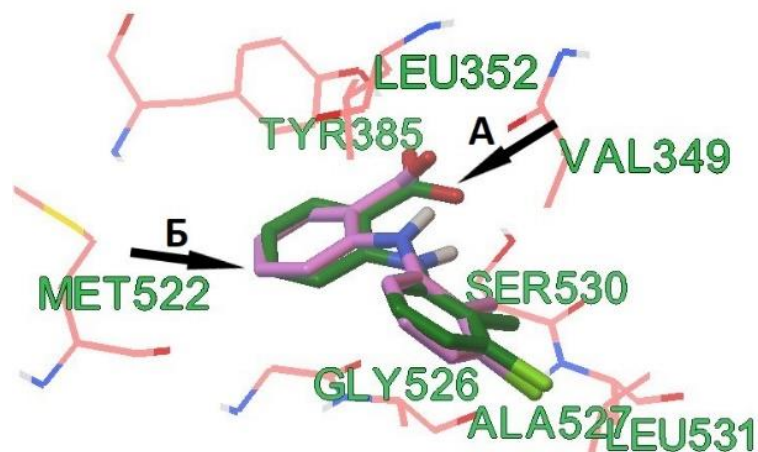


Рисунок 3.14 – Расположение толфенамовой кислоты в активном сайте ЦОГ-2. А - рентгеноструктурный анализ (зеленый цвет), Б – молекулярный докинг (розовый цвет)

Согласно данным молекулярного докинга (таблица 3.12) наиболее перспективными соединениями среди азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов с точки зрения ингибирования ЦОГ-2 могут быть **2a**, **6a**, **10a**, **12a**, **13a**, **14a** и **15a** и получаемые из них

тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-оны – **2b**, **6b**, **10b**, **12b**, **13b**, **14b** и **15b**. Соединениями-лидерами являются структуры, содержащие бромгидроксимексифенильные заместители (-9,54 ккал/моль для **13a** и -9,79 ккал/моль для **13b**). Также высокое сродство к сайту связывания ЦОГ-2 проявили другие соединения с бромсодержащим заместителем (**14a**, **15a**, **14b** и **15b**). Прогнозируется противовоспалительное действие для веществ с гидроксифенильным и гидроксиметоксифенильным заместителем: **2a**, **2b**, **6a** и **6b**. Присутствие в арильном фрагменте гидроксильного и третбульного фрагмента у соединения может увеличить вероятность ингибирования ЦОГ-2 (**10a** и **10b**). Включение в соединение гидроксинитрофенильного заместителя также повышает вероятность проявления противовоспалительных свойств (**12a** и **12b**). Для некоторых соединений-лидеров формирование межмолекулярной водородной связи наблюдается с аминокислотным остатком Arg 120 [41, 54].

Таблица 3.12 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов и их ациклических предшественников, референтов с ЦОГ-2

Азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды	Энергия докинга, ккал/моль	2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3 <i>H</i> )-оны	Энергия докинга, ккал/моль
<b>1a</b>	-8,72	<b>1b</b>	-8,7
<b>2a</b>	-9,36	<b>2b</b>	-9,61
<b>3a</b>	-8,39	<b>3b</b>	-8,07
<b>4a</b>	-8,60	<b>4b</b>	-8,01
<b>5a</b>	-8,70	<b>5b</b>	-7,94
<b>6a</b>	-9,27	<b>6b</b>	-9,22
<b>7a</b>	-8,87	<b>7b</b>	-8,36
<b>8a</b>	-8,80	<b>8b</b>	-8,38
<b>9a</b>	-8,43	<b>9b</b>	-8,05
<b>10a</b>	-9,07	<b>10b</b>	-9,01
<b>11a</b>	-4,17	<b>11b</b>	-4,11
<b>12a</b>	-9,12	<b>12b</b>	-9,30
<b>13a</b>	-9,54	<b>13b</b>	-9,79

Продолжение Таблицы 3.12

<b>14a</b>	-9,37	<b>14b</b>	-9,35
<b>15a</b>	-9,46	<b>15b</b>	-9,56
<b>16a</b>	-8,53	<b>16b</b>	-8,03
<b>17a</b>	-8,61	<b>17b</b>	-8,52
<b>18a</b>	-8,36	<b>18b</b>	-8,22
<b>19a</b>	-7,98	<b>19b</b>	-7,96
Толфенамовая кислота	-8,52	Диклофенак	-8,21
Целекоксиб	-8,35	Рофекоксиб	-8,3

На рисунке 3.15 приведено расположение соединения **13b** в активном сайте ЦОГ-2.

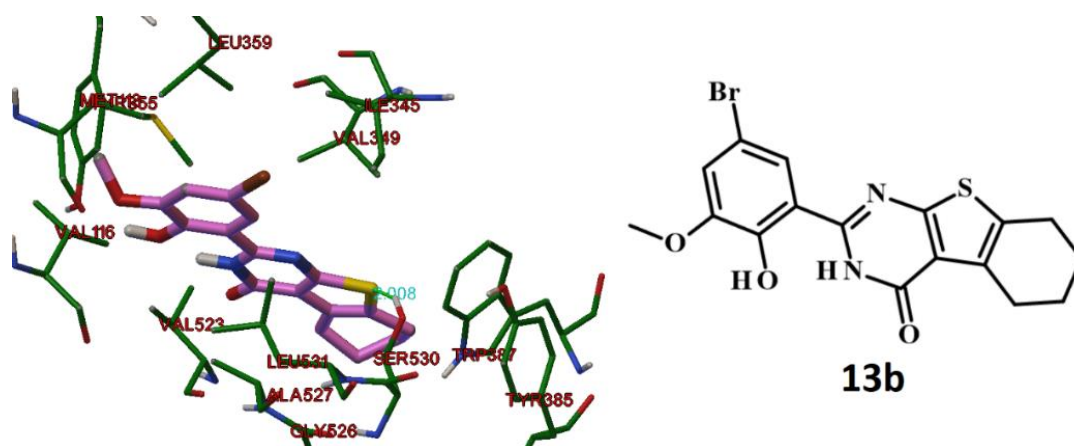


Рисунок 3.15 – Расположение соединения **13b** в активном сайте ЦОГ-2

Таким образом, установлено, что некоторые тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-оны и их ациклические предшественники могут проявить выраженную противовоспалительную активность, что предлагается изучить в ходе медико-биологического исследования.

### 3.7. Прогноз противомикробной активности методом молекулярного докинга

Исходя из данных прогнозирования спектра биологической активности, полученных посредством веб-ресурса PASS, можно предположить, что азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-

карбоксиамида могут обладать выраженным противомикробным действием. В связи с этим осуществлён прогноз антибактериальных свойств ациклических предшественников методом молекулярного докинга с использованием виртуальной трёхмерной модели дигидрофолат-редуктазы *Escherichia coli* [163]. Достоверность процесса молекулярного докинга оценивалась по соотношению экспериментально установленной конформации дигидрофолата и вычисленной *in silico*. В результате получено СКО 1,32 ангстрем, что позволяет говорить о достаточной достоверности получаемых данных в ходе вычислительного эксперимента (рисунок 3.16).

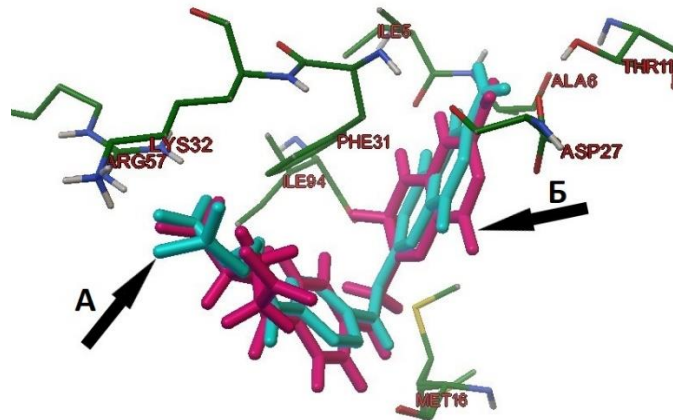


Рисунок 3.16 – Расположение дигидрофолата в активном сайте фермента. А - рентгеноструктурный анализ (голубой цвет), Б – молекулярный докинг (розовый цвет)

Согласно результатам молекулярного докинга наиболее устойчивые лиганд-ферментные комплексы образуют азометины, содержащие в арильном заместителе атом брома (**13a-15a**), а также соединение с нитрогруппой в гидроксифенильном (**12a**) и фурилфенильном фрагменте (**19a**). Незначительно уступают им структуры с гидроксиметкосифенильным и гидрокситретбутил-фенильным заместителем (**5a** и **10a**). Стоит отметить, что обозначенные наиболее перспективные структуры значительно превосходят по энергии формирования устойчивых молекулярных комплексов лекарственные препараты пириметамин и триметоприм (таблица 3.13). Из данных вычислительного эксперимента следует, что соединения-лидеры чаще

всего формируют межмолекулярную водородную связь с аминокислотными остатками Gly 15 и Arg 57 активного сайта фермента [59].

Таблица 3.13 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса азометинов с дигидрофолат-редуктазой

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1a</b>	-7,54	-	-	-
<b>2a</b>	-7,89	Asn 18	<u>ОН</u>	2,067
<b>3a</b>	-8,25	Ala 6	<u>ОН</u>	2,043
		Ala 7	<u>ОН</u>	2,086
		Glu 17	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,103
		Asn 18	<u>C=O</u>	2,026
<b>4a</b>	-8,27	Arg 57	<u>OCH<sub>3</sub></u>	2,053
		Lys 32	<u>ОН</u>	2,239
<b>5a</b>	-8,73	Asn 18	<u>ОН</u>	1,976
<b>6a</b>	-8,29	Asn 18	<u>OCH<sub>3</sub></u>	1,938
<b>7a</b>	-8,12	Ala 7	<u>ОН</u>	2,013
		Ala 7	<u>ОН</u>	2,012
		Asn 18	<u>C=O</u>	2,036
<b>8a</b>	-7,85	-	-	-
<b>9a</b>	-8,07	-	-	-
<b>10a</b>	-8,75	Arg 57	<u>C=O</u>	2,150
<b>11a</b>	-8,11	-	-	-
<b>12a</b>	-9,83	Arg 57	<u>NO<sub>2</sub></u>	1,987
		Arg 57	<u>NO<sub>2</sub></u>	1,987
<b>13a</b>	-9,82	Gly 15	<u>ОН</u>	2,123
<b>14a</b>	-9,27	-	-	-
<b>15a</b>	-9,59	Gly 15	<u>ОН</u>	2,117
<b>16a</b>	-7,42	Asn 18	фурил ( <u>-O-</u> )	2,084
<b>17a</b>	-7,66	Asn 18	фурил ( <u>-O-</u> )	1,976
<b>18a</b>	-8,3	-	-	-
<b>19a</b>	-9,75	Lys 32	<u>NO<sub>2</sub></u>	2,085
Триметоприм	-6,93	Ile 5	<u>NH<sub>2</sub></u>	2,216
		Ala 7	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,976
Пириметамин	-7,83	Asp 27	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,875

На рисунке 3.17 приведено расположение **10a** в активном сайте дигидрофолат-редуктазы.



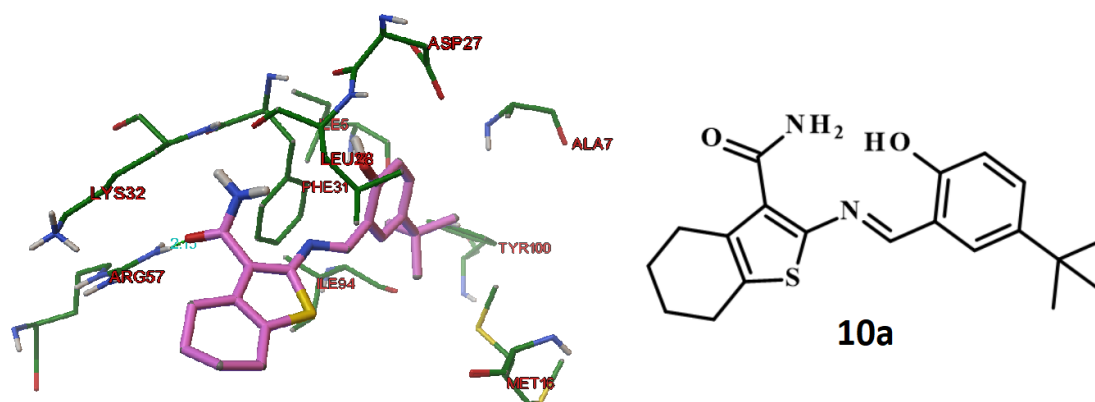


Рисунок 3.17 – Расположение структуры 10a в активном сайте дигидрофолат-редуктазы

В результате вычислительно эксперимента методом молекулярного докинга установлено, что прогнозируемые азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды могут оказаться эффективными антибактериальными БАС.

### 3.8. Прогноз ГАМК-ергической активности методом молекулярного докинга

Из результатов предыдущих исследований и научной литературы известно [52, 123, 159], что производные хиназолинона-4 могут обладать высокой ГАМК-ергической активностью. Важным звеном проявления церебропротекторной активности и влияния на когнитивные свойства мозга является воздействие на ГАМК<sub>A</sub>-рецептор. Исходя из этого осуществлено молекулярное конструирование и синтез ацилированных производных одного из широко используемого ноотропного лекарственного средства – пирацетама [11, 12, 33, 39, 42, 61]. В развитие данного научного направления и данных, полученных в ходе изучения ацилированных производных пирацетама, проведено молекулярное конструирование гетероциклических производных, содержащего ранее выделенный скаффолд, а именно ядро 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками аминокислот и дипептидов.

ГАМК<sub>A</sub>-рецептор содержит участки связывания с целым рядом БАС, которые могут взаимодействовать с  $\gamma$ -аминомасляной кислотой, бензодиазепиновыми производными, пикротоксинами, ионом лития [104], поэтому требовалось проведение эксперимента *in silico* с целью определения основного участка связывания прогнозируемых производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками аминокислот и дипептидов (**1c-13c**). Выбор сайта связывания ГАМК и сайта связывания бензодиазепинов для вычислительно эксперимента основывается на информации о механизмах действия основных нейропротекторных лекарственных средств [17]. Достоверность разработанного протокола вычислительного эксперимента основывалась на оценки соответствия ансамбля экспериментально полученных рентгеноструктурных комплектов [140, 141] и вычисленных *in silico*. Соотношение этих результатов для сайта связывания ГАМК характеризуется различием 0,96 ангстрем (рисунок 3.18), а для диазепама в сайте связывания бензодиазепинов 1,22 ангстрем (рисунок 3.19). Из этого следует, что предложенный протокол молекулярного докинга обладает высокой достоверностью.

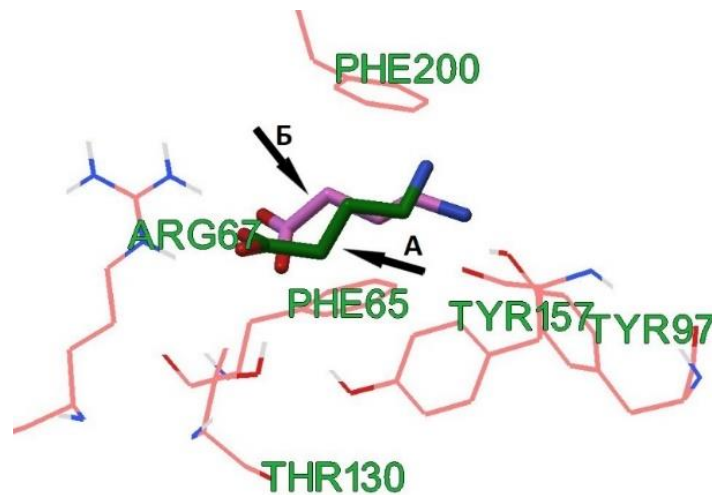


Рисунок 3.18 – Расположение ГАМК в сайте связывания ГАМК<sub>A</sub>-рецептора.  
 А - рентгеноструктурный анализ (зеленый цвет),  
 Б – молекулярный докинг (розовый цвет)

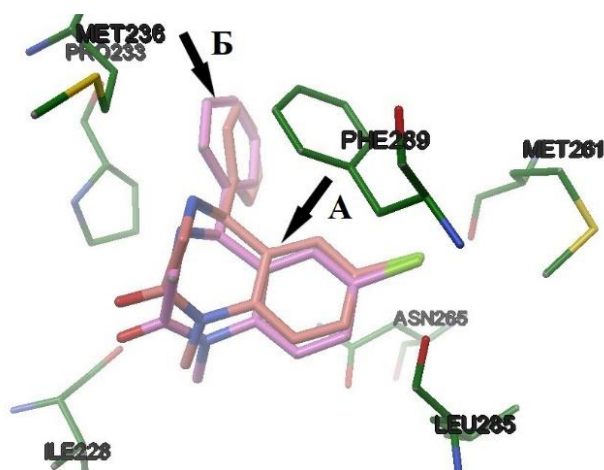


Рисунок 3.19 – Расположение диазепама в бензодиазепиновом сайте связывания ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. А - рентгеноструктурный анализ (оранжевый цвет), Б – молекулярный докинг (розовый цвет)

В качестве агонистов ГАМК<sub>A</sub>-рецептора исследовались ацилированные производные пиретама, которые являются циклической формой ГАМК – производными α-пирролидона: 3.1, 3.2 и 3.3 (рисунок 3.20). Результаты молекулярного докинга свидетельствуют о том, что полученные соединения обладают высоким сродством к сайту связывания γ-аминомасляной кислоты ГАМК<sub>A</sub>-рецептора [12], а ранее осуществленные фармакологические исследования опосредовано подтвердили их значимые церебропротекторные свойства [5, 125]. Полученные данные составляют основу дальнейшего молекулярного конструирования производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с ГАМК-ергической активностью.

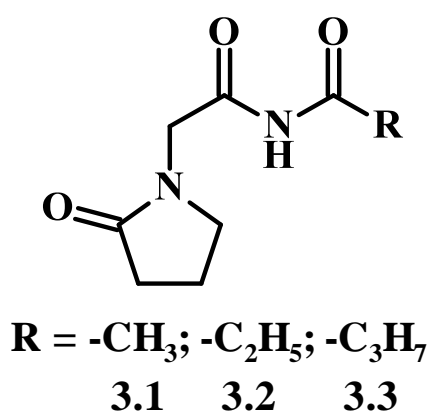


Рисунок 3.20 – Структурные формулы N-ацильных производных 2-оксо-1-пирролидинацетамида

Из результатов молекулярного докинга следует, что производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она могут обладать ГАМК-ергической активностью за счёт высокого сродства к бензодиазепиновому сайту связывания ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. Это можно объяснить схожестью ядра 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с бензодиазепиновым фрагментом, что вероятно обуславливает схожие молекулярные механизмы взаимодействия с ионотропным рецептором. Наиболее выраженными ГАМК-ергическими свойствами могут обладать виртуальные структуры **4с**, **6с-8с**, **10с** (таблица 3.14), которые содержат остаток глицилглицина, глициллейцина или глицилтриптофана. Соединения-лидеры не образуют межмолекулярные водородные связи за исключением **5с** и **6с**, которые вступают в донорно-акцепторное взаимодействие с Thr 237 и Met 286 соответственно.

Таблица 3.14 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она и референтов с активными сайтами ГАМК<sub>A</sub>-рецептора

Вещество	Энергия докинга, ккал/моль	
	Сайт связывания ГАМК	Сайт связывания бензодиазепинов
<b>1с</b>	3,72	-6,83
<b>2с</b>	7,25	-8,29
<b>3с</b>	19,66	-9,18
<b>4с</b>	44,47	-10,95
<b>5с</b>	4,07	-7,32
<b>6с</b>	8,15	-9,33
<b>7с</b>	22,93	-9,87
<b>8с</b>	55,4	-10,87
<b>9с</b>	9,19	-9,16
<b>10с</b>	17,52	-9,96
<b>11с</b>	1,16	-6,99
<b>12с</b>	11,67	-9,17
<b>13с</b>	14,53	-9,34
ГАМК	-4,77	-
Диазепам	-	-9,42

На рисунке 3.21 приведено расположение соединения **10с** в сайте связывания бензодиазепинов ГАМК<sub>A</sub>-рецептора.

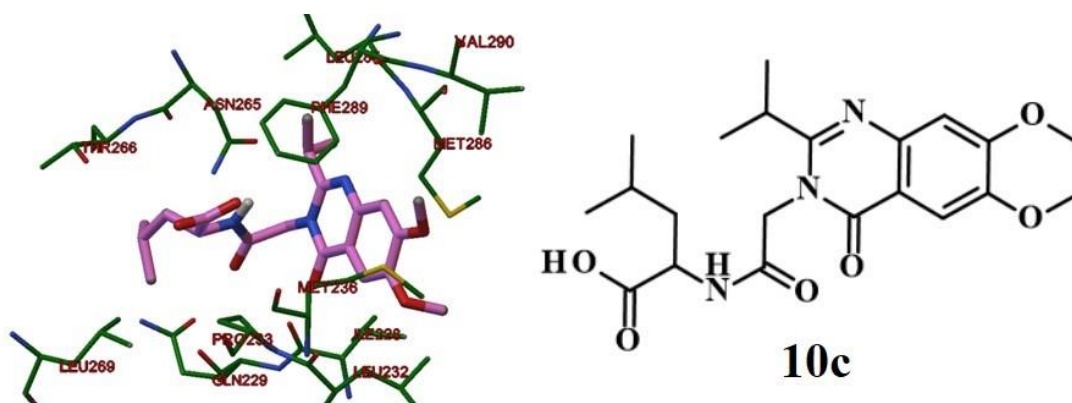


Рисунок 3.21 – Расположение соединения 10с в сайте связывания бензодиазепинов ГАМК<sub>A</sub>-рецептора

В ходе проведенного вычислительного эксперимента установлено, что производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками аминокислот и дипептидов могут обладать ГАМК-ергической активностью за счёт высокого сродства к бензодиазепиновому сайту связывания ГАМК<sub>A</sub>-рецептора, что важно для проявления ими церебропротекторных свойств.

### 3.9. Прогноз антитирозиновой активности методом молекулярного докинга

Согласно логико-структурного подхода сконструированы 2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-*d*]пиримидин-4(3*H*)-она и соответствующие им ациклические предшественники с гидроксифенильными заместителями (глава 3), которые могут обладать выраженным антитирозиновым действием. В качестве мишени для осуществления прогнозирования антитирозиновой активности использована тирозиназа с идентификационным номером 2Y9X [84], содержащая ингибитор данного фермента – трополон. Оценка сходимости расположения трополона экспериментально установленного методом рентгеноструктурного анализа и вычисленного *in silico* позволяет говорить об удовлетворительной достоверности получаемых данных в ходе вычислительного эксперимента, так как СКО составляет 2,89 ангстрем (рисунок 3.22).

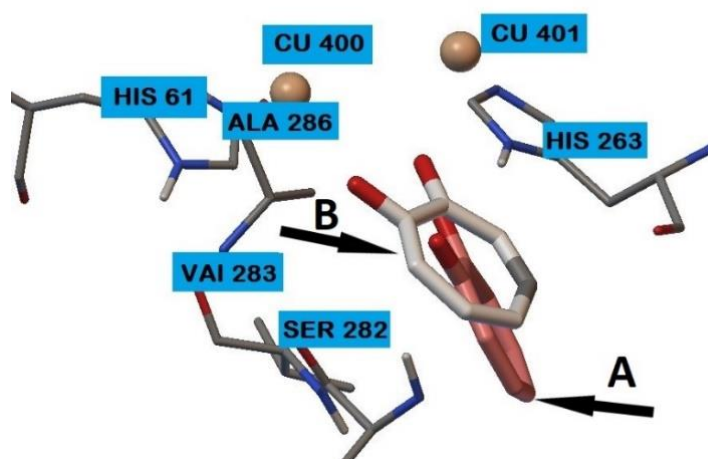


Рисунок 3.22 – Расположение трополона в сайте связывания тирозиназы. А - рентгеноструктурный анализ (оранжевый цвет), В – молекулярный докинг (серый цвет)

Согласно сравнительному анализу результатов молекулярного докинга азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида с гидроксинитрофенильным (**12a**, -9,32 ккал/моль) и нитроарилфурильным заместителем (**19a**, -13,11 ккал/моль) показали высокое сродство к сайту связывания тирозиназы. Гидроксифенильные производные **3a**, **4a**, **7a** и **10a** значительно уступают по энергии молекулярного докинга соединениям-лидерам, однако превосходят гидрохинон и коевую кислоту (таблица 3.15). Чаще всего соединения-лидеры вероятно образуют межмолекулярную связь с аминокислотными остатками Asn 260 и Gly 281 [58, 56].

Таблица 3.15 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса азометинов и референтов с тирозиназой

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1a</b>	-5,96	Gly 281	$\text{NH}_2$	1,931
<b>2a</b>	-6,21	Gly 281	$\text{NH}_2$	1,968
		Met 280	$\text{OH}$	2,145
<b>3a</b>	-6,47	Gly 281	$\text{NH}_2$	2,012
		Asn 260	$\text{OH}$	1,883
<b>4a</b>	-6,39	Gly 281	$\text{NH}_2$	2,084
		Asn 260	$\text{OH}$	1,898

## Продолжение Таблицы 3.15

<b>5a</b>	-6,19	Asn 260	<u>OH</u>	2,095
<b>6a</b>	-5,84	Gly 281	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,965
<b>7a</b>	-6,4	Gly 281	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,903
		Met 280	<u>OH</u>	2,095
		Asn 260	<u>OH</u>	1,773
<b>8a</b>	-5,85	Arg 268	<u>C=O</u>	2,223
<b>9a</b>	-5,87	Gly 281	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,981
<b>10a</b>	-6,83	Asn 260	<u>OH</u>	2,028
<b>11a</b>	-5,8	-	-	-
<b>12a</b>	-9,32	Val 283	<u>C=O</u>	1,963
<b>13a</b>	-7,33	Gly 281	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,873
<b>14a</b>	-6,93	Val 283	<u>C=O</u>	2,201
<b>15a</b>	-7,07	Val 283	<u>C=O</u>	2,180
<b>16a</b>	-5,18	Gly 281	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,843
<b>17a</b>	-5,64	-	-	-
<b>18a</b>	-6,77	Gly 281	<u>NH<sub>2</sub></u>	1,909
		Ser 282	-N=	2,050
<b>19a</b>	-13,11	Val 283	-N=	2,214
Гидрохинон	-3,7	Met 280	OH	2,134
Койевая кислота	-4,46	Asn 260	<u>OH</u>	2,117
Молочная кислота	-7,22	-	-	-

На рисунке 3.23 показано расположение соединения **12a** в сайте связывания тирозиназы.

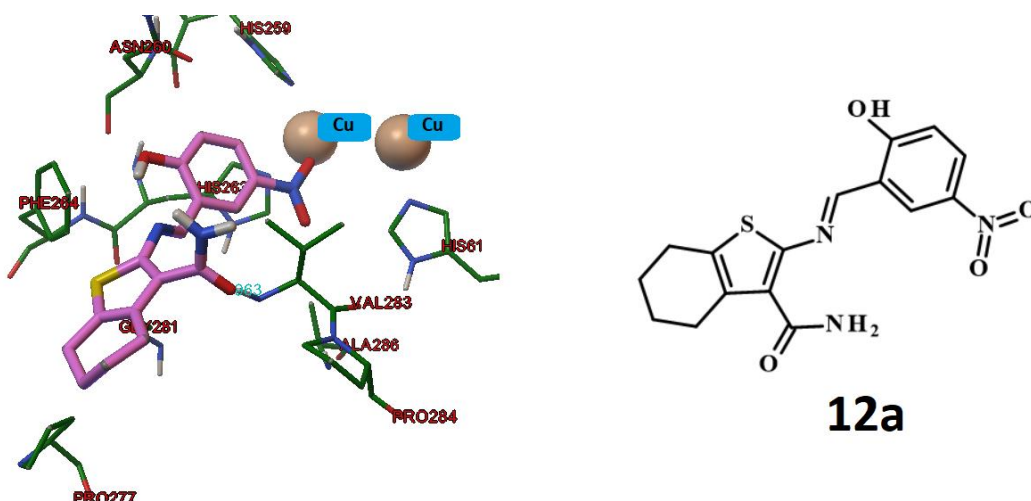


Рисунок 3.23 – Расположение соединения 12a в активном сайте тирозиназы

Что касается тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онон, то как и в случае с их ациклическими предшественниками, вероятными ингибиторами тирозиназы

могут быть соединения с гидроксифенильными заместителями под шифрами **3b**, **4b** и **10b** (таблица 3.16). Также антитирозиновая активность прогнозируется для структур с нитрогруппой: **12b** и **19b**. Однако в отличие от азометинов, эффективное ингибирование фермента вероятно для структур, содержащих бромгидроксифенильные заместители (**13b-15b**). Из результатов вычислительного эксперимента следует, что наиболее перспективные виртуальные структуры могут формировать межмолекулярную водородную связь с аминокислотным остатком Val 283 [78].

Таблица 3.16 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов с тирозиной

Соединение	Энергия докинга, ккал/моль	Водородные связи		
		Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние, Å
<b>1b</b>	-5,97	Val 283	-N=	1,989
<b>2b</b>	-5,91	Val 283	-N=	2,000
<b>3b</b>	-6,30	Val 283	-N=	1,963
<b>4b</b>	-6,24	Val 283	-N=	1,934
		Asn 260	ОН	2,046
<b>5b</b>	-6,12	Ser 282	-N=	1,926
		Asn 260	ОН	2,051
<b>6b</b>	-6,16	Val 283	-N=	2,031
<b>7b</b>	-6,19	Val 283	-N=	1,963
		Asn 260	ОН	1,828
<b>8b</b>	-6,28	Val 283	-N=	1,935
<b>9b</b>	-5,84	Val 283	-N=	1,981
<b>10b</b>	-6,52	Ser 282	-N=	2,036
		Gly 281	ОН	1,988
<b>11b</b>	-6,37	Val 283	-N=	2,162
<b>12b</b>	-7,13	Val 283	-N=	1,863
<b>13b</b>	-7,54	Val 283	-N=	2,076
<b>14b</b>	-7,13	Val 283	-N=	2,231
<b>15b</b>	-7,36	Val 283	-N=	2,171
<b>16b</b>	-5,19	Asn 81	фурил (-O-)	2,159
		His 244	C=O	1,985
<b>17b</b>	-5,57	Val 283	-N=	2,202
<b>18b</b>	-6,46	Val 283	-N=	2,166
<b>19b</b>	-10,74	-	-	-



Из полученных результатов молекулярного докинга следует, что соединения с гидроксифенильными заместителями могут оказаться эффективными антитирозидазными структурами. При этом важную роль для ингибирования тирозиназы играет образование донорно-акцепторных связей с атомами меди активного сайта фермента.

### Выводы к главе 3

1. Посредством сетевой фармакологии выявлены белковые мишени и их взаимосвязи, которые обосновывают системное церебропротекторное действие соединений.

2. На основании логико-структурного подхода сгенерированы ряды производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников, которые могут обладать мультитаргетной активностью.

3. Предложен дизайн ингибиторов ацетилхолинэстеразы и тирозиназы.

4. Компьютерный прогноз посредством веб-ресурса Way2Drug PASS-online позволил выбрать наиболее перспективные структуры с соответствующими им видами биологической активности.

5. Молекулярный докинг в отношении ацетилхолинэстеразы, главной и папаино-подобной протеаз SARS-Cov-2, ЦОГ-2, дигидрофолат-редуктазы и тирозиназы позволил спрогнозировать в рядах виртуальных структур антихолинэстеразную, противовирусную, противовоспалительную, противомикробную и антитирозиновую активность, а также изучить молекулярные механизмы реализации ими биологического действия.

6. Выявлены наиболее перспективные соединения с антихолинэстеразной, противовирусной, противовоспалительной, противомикробной и антитирозиновой активностью.

## ГЛАВА 4. СИНТЕЗ ЦЕЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Исходя из результатов логико-структурного подхода к генерированию виртуальных структур и компьютерного моделирования биологически активных соединений, приведенных в главе 3, выявлены наиболее перспективные вещества для дальнейшего синтеза. Исследования проводились в ряду 2-замещённых тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она и их ациклических предшественников – азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов. В развитие предыдущих работ [9, 34, 44, 53, 67], кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института и согласно выбранному скаффолду (глава 3) модифицирован синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащих остатки нейроактивных аминокислот и дипептидов. В настоящей главе приводится обсуждение результатов синтетических исследований, подтверждение строения полученных соединений спектральными методами анализа, а также изучение степени чистоты целевых продуктов посредством ВЭЖХ.

### 4.1. Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов

Синтез ациклических предшественников целевых тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-онов, которыми являются азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов (**1a-19a**), оптимально проводить в среде этанола при слабом кипячении исходных соединений (схема 4.1). Использование в качестве растворителей ледяной уксусной кислоты, ДМСО, ДМФА и их смесей приводит к одновременному получению азометинов и их пиримидинов. В случае синтеза соединений с гидроксидными и метоксифенильными заместителями, в отличие от фурильных производных, образование целевых

продуктов протекает спустя 2-10 минуты. Этот процесс завершается выпадением осадка, что можно объяснить их низкой растворимостью в реакционной среде. В большинстве случаев целесообразно предварительно растворять альдегиды в минимальном количестве этанола, а затем добавлять в слабо кипящую реакционную среду при перемешивании.

В результате этих исследований получен ряд азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов, которые являются ациклическими предшественниками 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-онов [54, 57, 62, 65, 134, 149].

Главным преимуществом модифицированного метода синтеза является использование в качестве реакционной среды этилового спирта, что экономически выгодно и более экологически безопасно, чем большинство методик с использованием бензола или пиперидина, приведенных в обзоре литературы.

Предложенная методика синтеза азометиновых производных не требует использования катализаторов, а в препаративном плане она проста и позволяет получить целевые соединения с достаточно высокими выходами (схема 4.1).

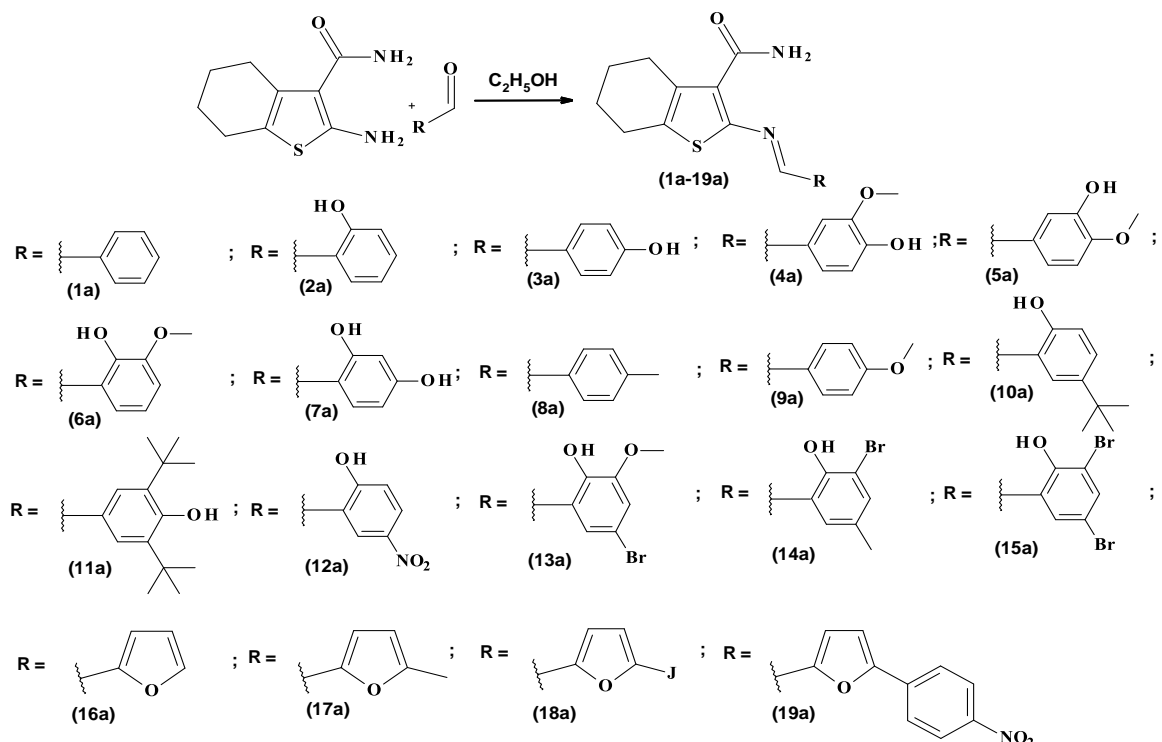


Схема 4.1 – Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов

Синтез азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида протекает по механизму нуклеофильного присоединения – отщепления (схема 4.2), соответственно на первой стадии реакции исходный гетероциклический аминоксид (**I**), являясь нейтральным нуклеофилом, атакует частично положительно заряженный атома углерода карбонильной группы (**II**).

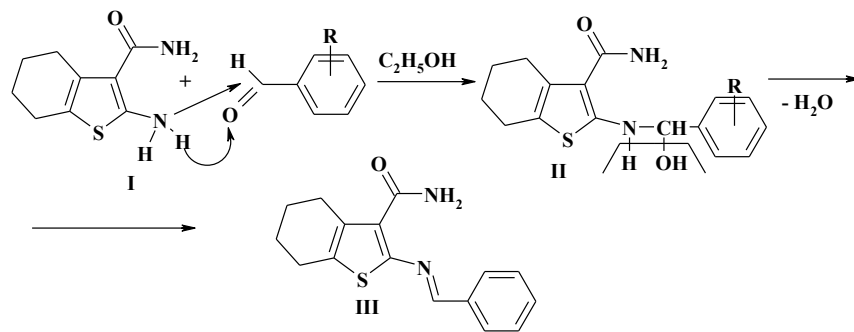


Схема 4.2 – Механизм синтеза азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида

Образовавшийся интермедиат далее стабилизируется отщеплением воды с образованием соответствующего азометинового производного тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида (**III**). Анализируя протекание реакции, следует предположить, что во многом на выход целевого продукта влияет прохождение первой стадии процесса, протекающего согласно зарядовому контролю. Влияние стерических затруднений на прохождение этой стадии реакции маловероятно, так как геометрия бензальдегидов плоская, а заместители в ароматическом ядре не являются достаточно объемными и конформационно подвижными.

Исходя из этого, можно предположить, что во многом определяющим фактором полноты прохождения реакции является зарядовый контроль, поэтому осуществлён квантово-химический расчет частично положительного заряда на атоме углерода карбонильной группы посредством программы HyperChem 8.0.4. полуэмпирическим методом базисным набором AM1 (таблица 4.1) [76]. На величину частично положительного заряда влияют заместители, связанные с ароматическим ядром, их воздействие зависит от электронных эффектов заместителей. Электронодонорные заместители должны снижать, а электроноакцепторные увеличивать значение частично положительного заряда,

на атоме углерода карбонильной группы, но несомненно на это влияние оказывает и их расположение в ароматическом кольце. Квантово-химические расчеты молекулярных диаграмм исходных альдегидов позволяют оценить результирующее влияние этих факторов на величину зарядов альдегидной группы [57].

Таблица 4.1 – Заряды атомов карбонильной группы альдегидов согласно данным полуэмпирического метода в базисном наборе AM1

Соединение	Номер атома карбонильной группы альдегида				Выход, %
	1	2	3	4	
<b>1a</b>	-0,177	0,223	-0,289	0,090	93
<b>2a</b>	-0,256	0,228	-0,285	0,074	79
<b>3a</b>	-0,228	0,228	-0,294	0,088	74
<b>4a</b>	-0,178	0,226	-0,287	0,090	80
<b>5a</b>	-0,180	0,227	-0,289	0,088	79
<b>6a</b>	-0,162	0,229	-0,296	0,115	77
<b>7a</b>	-0,293	0,232	-0,290	0,071	71
<b>8a</b>	-0,183	0,224	-0,292	0,090	95
<b>9a</b>	-0,214	0,228	-0,295	0,087	77
<b>10a</b>	-0,260	0,229	-0,288	0,073	79
<b>11a</b>	-0,212	0,228	-0,297	0,086	85
<b>12a</b>	-0,269	0,226	-0,264	0,082	88
<b>13a</b>	-0,219	0,225	-0,273	0,080	95
<b>14a</b>	-0,241	0,224	-0,277	0,081	93
<b>15a</b>	-0,259	0,226	-0,272	0,083	92

Для выявления зависимости между выходами азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды и значением частично положительного заряда на атоме углерода карбонильной группы осуществлён корреляционный анализ между значениями зарядов на атомах карбонильной группы бензальдегидов и величиной выхода продукта.

В результате расчетов установлена линейная корреляционная зависимость, позволяющая в определенной мере подтвердить высказанное предположение, так как  $R^2$  корреляции составляет 76,29% (рисунок 4.1).

В таблице 4.1 приводятся значения только для используемых бензальдегидов, так как в случае введения в расчетную выборку значений производных фурфурола корреляционная зависимость практически отсутствует. Этот факт следует, объяснить различным влиянием  $\pi$ -избыточной гетероциклической системы фурана на альдегидную группу в сравнении с бензойным фрагментом.

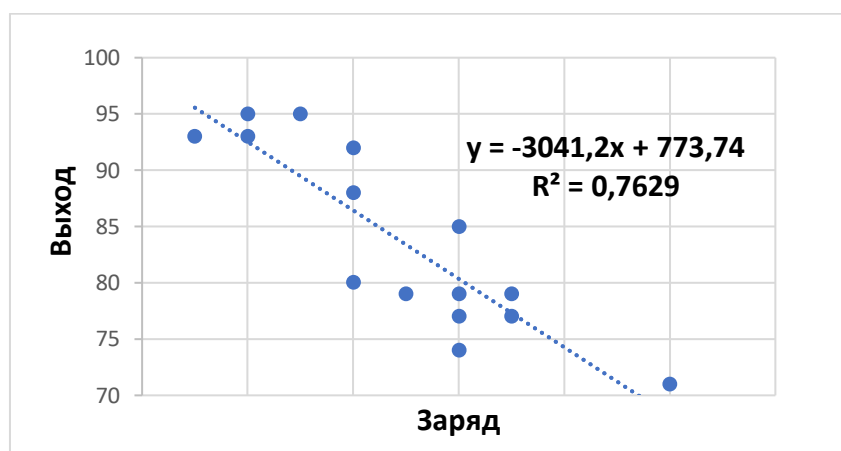


Рисунок 4.1 – Линейная зависимость между зарядом на атоме углерода ароматического альдегида и выходом азометинового производного

В таблицах 4.2 и 4.3 приводятся данные выходов и температур плавления синтезированных азометиновых производных.

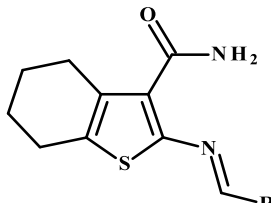
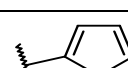
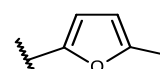
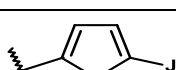
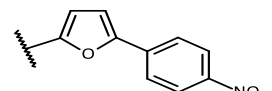
Таблица 4.2 – Выходы и температуры плавления соединений 1a-15a

Соединение	R	Выход, %	Т.пл, °C (этанол)
<b>1a</b>	H	93	196-197
<b>2a</b>	2-OH	79	217-218

Продолжение Таблицы 4.2

<b>3a</b>	4-OH	74	229-230
<b>4a</b>	4-OH-3-OCH <sub>3</sub>	80	224-225
<b>5a</b>	3-OH-4-OCH <sub>3</sub>	79	202-203
<b>6a</b>	2-OH-3-OCH <sub>3</sub>	77	239-240
<b>7a</b>	2,4-diOH	71	208-209
<b>8a</b>	4-CH <sub>3</sub>	95	198-199
<b>9a</b>	4-OCH <sub>3</sub>	77	187-188
<b>10a</b>	2-OH-5-t-Bu	79	178-179
<b>11a</b>	4OH-3,5-dit-Bu	85	262-263
<b>12a</b>	2-OH-5-NO <sub>2</sub>	88	220-221
<b>13a</b>	2-OH-3-OCH <sub>3</sub> -5-Br	95	225-226
<b>14a</b>	2-OH-5-CH <sub>3</sub> -3-Br	93	222-223
<b>15a</b>	2-OH-3,5-diBr	92	227-228

Таблица 4.3 – Выходы и температуры плавления соединений 16a-19a

			
Соединение	R	Выход, %	Т.пл, °C (этанол)
<b>16a</b>		93	187-188
<b>17a</b>		88	176-177
<b>18a</b>		94	139-140
<b>19a</b>		91	206-207

Строение синтезированных азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоамида **1a-19a** подтверждается данными ИК-, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C ЯМР- и масс-спектроскопии.



В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **6a** (рисунок 4.2) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряжённого с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырёхпротонных сигналов в области 1,59-1,92 м.д. и дуплетом триплетов в области 2,50-2,66 м.д. Аналитический сигнал метоксигруппы фенильного фрагмента наблюдается в виде трёхпротонного синглета при 3,83 м.д. Сигналы трёх протонов ароматического ядра идентифицируются триплетом и двумя дуплетами в области 6,90-7,28 м.д. Два протона амидной группы характеризуются синглетами со значениями 7,52 и 7,87 м.д. Азотинный атом водорода в виде однопротонового синглета фиксируется при 8,66 м.д. В слабой области наблюдается протон гидроксильной группы в виде однопротонового синглета с величиной химического сдвига 11,68 м.д.

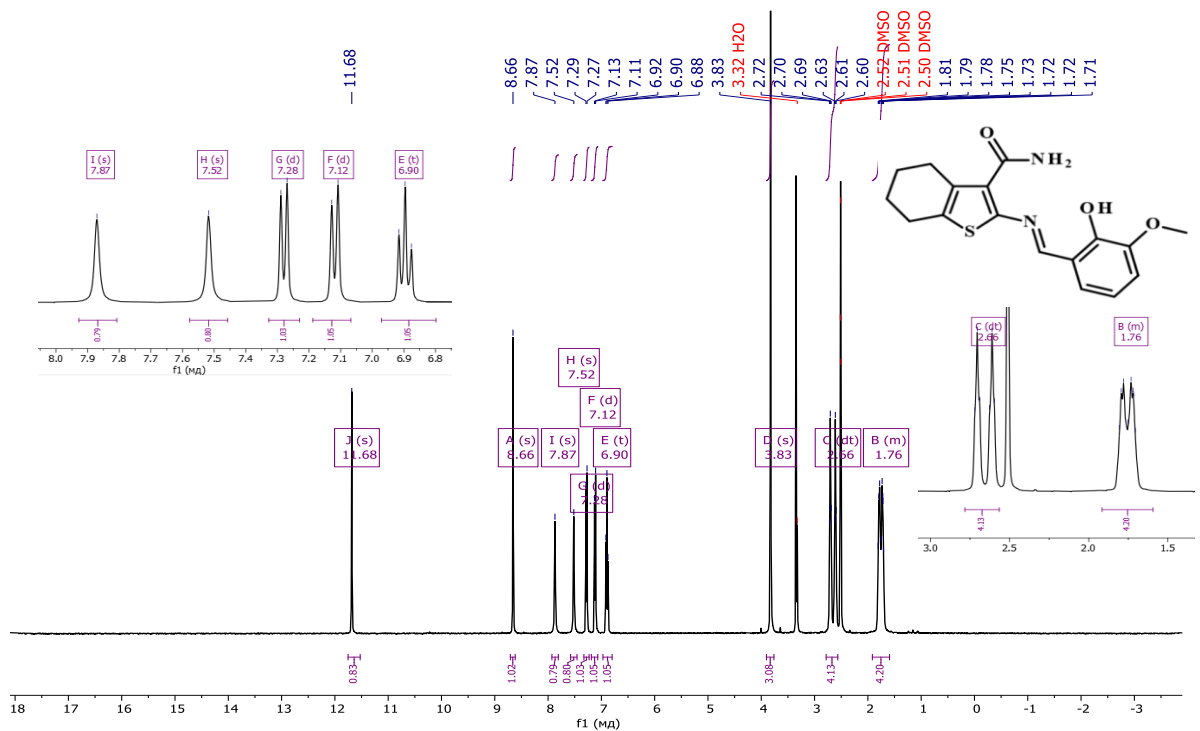


Рисунок 4.2 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения **6a** (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **11a** (рисунок 4.3) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырёхпротонных сигналов в области 1,63-1,83 м.д. и дуплетом триплетов в области 2,66-2,75 м.д. Аналитический сигнал дитрет-

бутилового фрагмента фиксируется в виде восемнадцатипротонным синглетом при 1.42 м.д. Сигналы двух протонов ароматического ядра идентифицируются двумя дуплетами в области 7,49-7,72 м.д. Два протона амидной группы характеризуются дуплетами со значениями 7,72 и 7,80 м.д. Азотетинный атом водорода в виде однопротонового синглета фиксируется при 8,45 м.д. Протон гидроксильной группы наблюдается в виде однопротонного синглета с величиной химического сдвига 8,27 м.д.

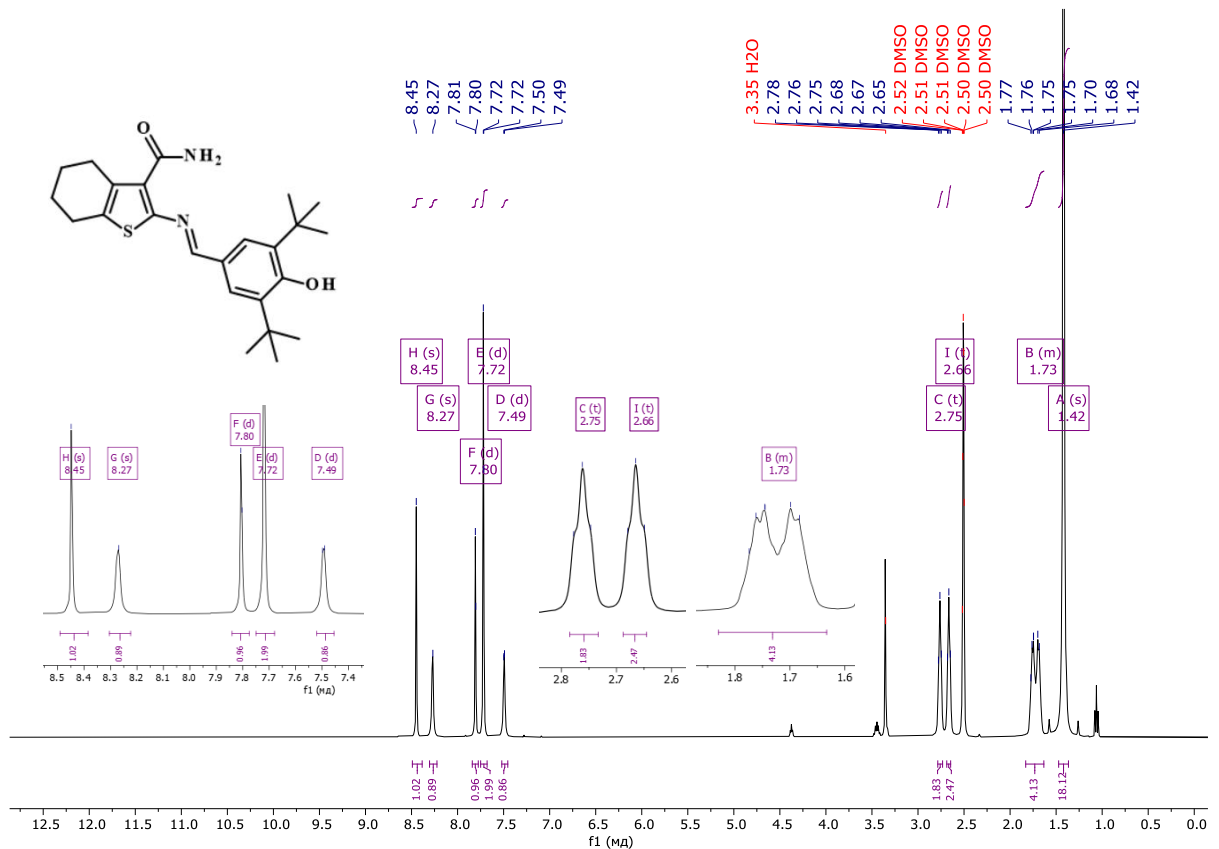


Рисунок 4.3 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения 11a (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )

Согласно данным  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектра соединения 11a (рисунок 4.4) аналитические сигналы шести метильных углеродов ди-трет-бутилового фенильного фрагмента молекулы накладываются друг на друга и характеризуются одним пиком с величиной химического сдвига 30,47 м.д. Два атома углерода -C-( $\text{CH}_3$ ) в дитретбутильном фрагменте молекулы отображаются на спектре одним пиком при 34,98 м.д. Насыщенные углероды циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, характеризуются пиками при 20,64,

23,07, 25,40 и 25, 56 м.д. Атом углерода при амидной группе находится при 165,56 м.д., а углерод в амидной связи анализируемой структуры идентифицируется химическим сдвигом равным 158,66 м.д.

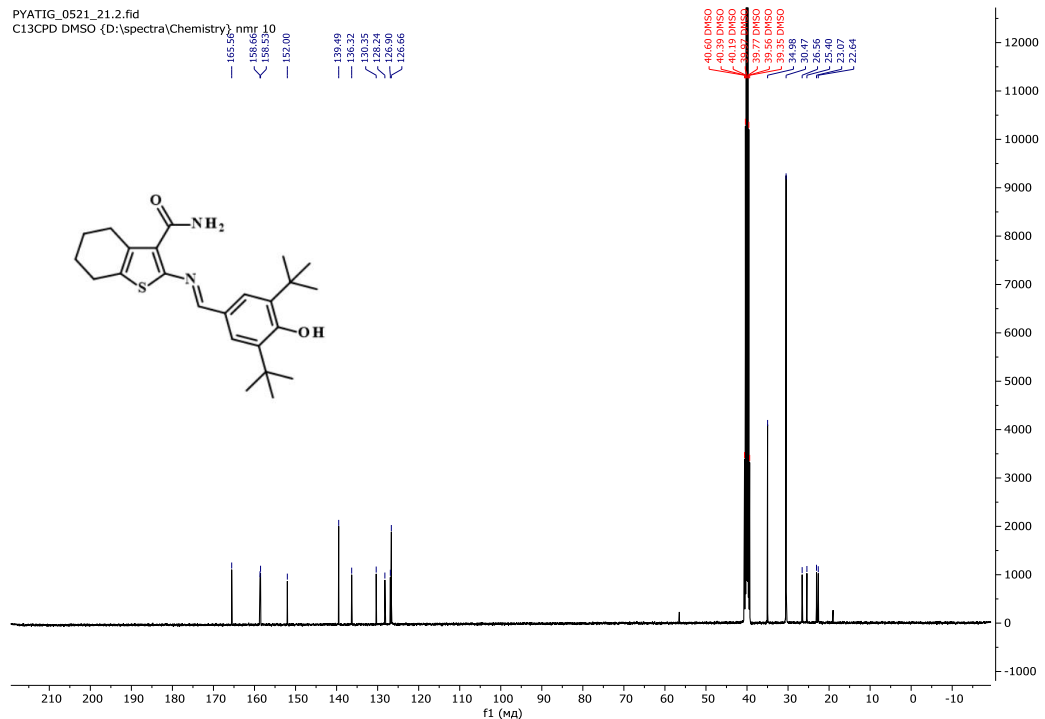


Рисунок 4.4 –  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр соединения 11a (101 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )

Экспериментальное и расчетное изотопное распределение для иона  $[\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}]^+$ , представлено на рисунке 4.5, данные которого подтверждают строение **11a**.

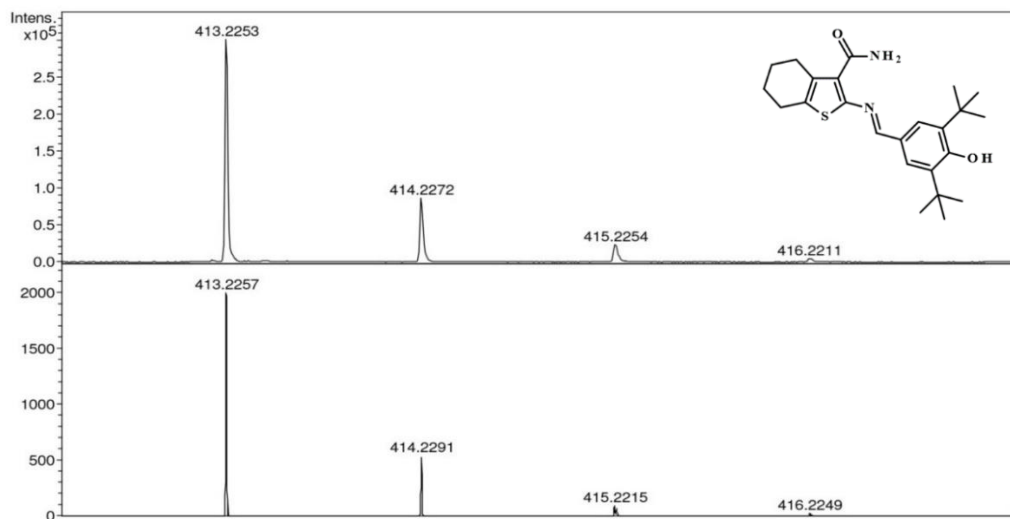


Рисунок 4.5 – Экспериментальный (вверху) и расчетный (внизу) спектры высокого разрешения ИЭР для иона  $[\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}]^+$ ,  $\Delta = 0.97$  м.д.

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **13a** (рисунок 4.6) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырёхпротонных сигналов в области 1,68-1,84 м.д. и дуплетом триплетов в области 2,60-2,71 м.д. Аналитический сигнал метоксигруппы фенильного фрагмента наблюдается в виде трёхпротонного синглета при 3,85 м.д. Сигналы двух протоны ароматического ядра идентифицируются дуплетом и мультиплетом в области 7,24-7,47 м.д. Два протона амидной группы характеризуются мультиплетом и синглетом при 7,57-7,47 и 7,82 м.д. соответственно. Азотинный атом водорода в виде однопротонового синглета фиксируется при 8,62 м.д. Протон гидроксильной группы наблюдается в виде однопротонового синглета с величиной химического сдвига 11,72 м.д.

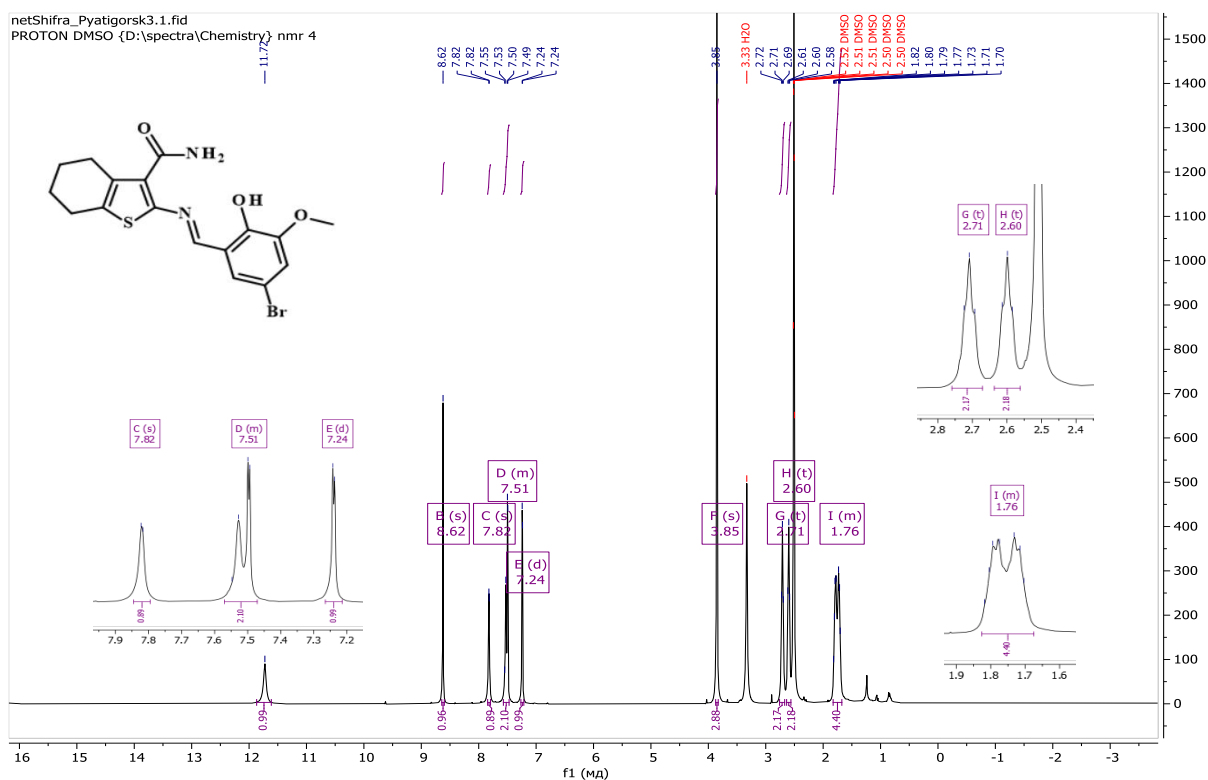


Рисунок 4.6 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения **13a** (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )

## 4.2. Синтез 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено- [2,3-d]пиримидин-4(3H)-она

С целью выявления роли конденсированного ядра пиримидин-4(3H)-она и подтверждения обоснованности приведенному выше молекулярного конструирования требуется модифицировать методику циклизации азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов в 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-оны. Для этого, рассматривая пространственный фактор процесса циклизации, можно предположить, что более объёмные и полярные заместители в ароматическом кольце приводят к стерическим затруднениям и, соответственно, снижают выход целевого продукта. Поэтому с целью активирования процесса циклоконденсации ядра пиримидин-4(3H)-она следует использовать полярный апротонный растворитель ДМСО, который характеризуется, как классический агент образующий переходный циклический комплекс.

«Известно, что в среде ДМСО удается осуществить такие реакции, которые в других условиях не идут. Невозможно провести резкую грань между растворяющей способностью данного растворителя и его влиянием на ход реакции» [13] формирования ядра пиримидина. Под влиянием ДМСО существенно повышается возможность образования ядра пиримидина в сравнении с карбоксилсодержащими растворителями, в которых реакционная способность амидной группы для взаимодействия с азометиновым фрагментом снижена вследствие образования ею водородных связей с молекулами растворителя. Другим фактором, ухудшающим циклизацию, является конформационная подвижность азометинового фрагмента [13].

Исходя из этого, предположено, что ДМСО участвует в формировании переходного состояния, которое ориентирует циклизующие фрагменты в плоскости близкой к оптимальной, что облегчает прохождение реакции гетероциклизации [13, 50]. «Это предположение хорошо согласуется с выводами Гиллиса и Бека, которые установили, что вторичные и третичные 1,4-диолы

реагируют с ДМСО с образованием кислородосодержащих гетероциклов через стадию циклических переходных состояний» [13]. Соответственно ДМСО активирует процесс циклизации через формирование переходного циклического комплекса, который показан на схеме 4.3. Строение синтезированных соединений подтверждается данными ИК-,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ЯМР- и масс-спектрологии [41, 59, 63, 78, 158]. В таблице 4.4. и 4.5 представлены физико-химическими характеристиками синтезированных тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-онов (**1b-19b**).

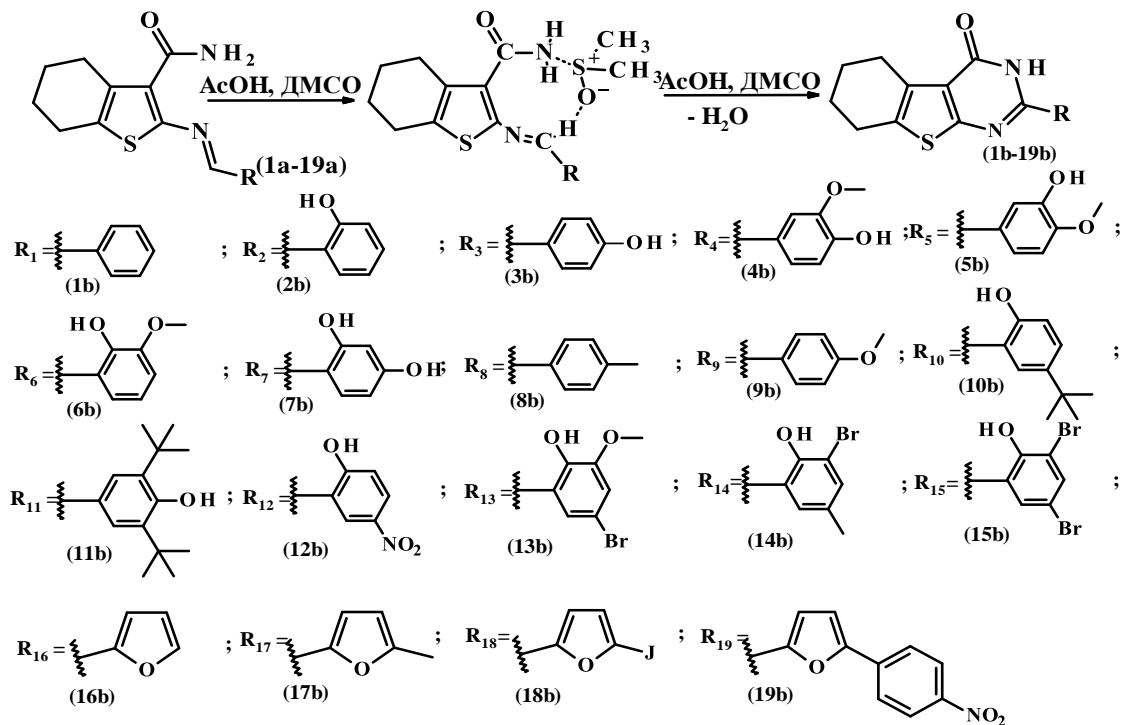


Схема 4.3 – Синтез производных 5,6,7,8-тетрагидро-бензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она

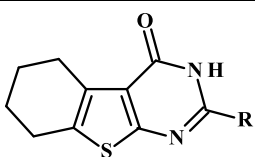
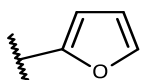
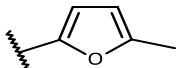
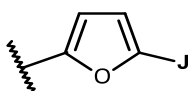
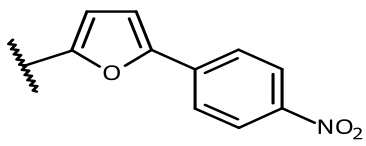
Таблица 4.4 – Выходы и температуры плавления соединений 1b-15b

Соединение	R	Выход, %	T.пл, °C
<b>1b</b>	H	96	267-268
<b>2b</b>	2-ОН	86	312-313

Продолжение Таблицы 4.4

<b>3b</b>	4-OH	83	298-399
<b>4b</b>	4-OH-3-OCH <sub>3</sub>	72	279-280
<b>5b</b>	3-OH-4-OCH <sub>3</sub>	75	294-295
<b>6b</b>	2-OH-3-OCH <sub>3</sub>	80	298-299
<b>7b</b>	2,4-diOH	88	267-268
<b>8b</b>	4-CH <sub>3</sub>	90	277-278
<b>9b</b>	4-OCH <sub>3</sub>	85	271-272
<b>10b</b>	2-OH-5-t-Bu	89	285-286
<b>11b</b>	4OH-3,5-dit-Bu	85	293-294
<b>12b</b>	2-OH-5-NO <sub>2</sub>	88	285-286
<b>13b</b>	2-OH-3-OCH <sub>3</sub> -5-Br	95	322-323
<b>14b</b>	2-OH-5-CH <sub>3</sub> -3-Br	93	287-288
<b>15b</b>	2-OH-3,5-diBr	92	290-291

Таблица 4.5 – Выходы и температуры плавления соединений 16b-19b

			
<i>Соединение</i>	<i>R</i>	<i>Выход, %</i>	<i>Т.пл, °С</i>
<b>16b</b>		90	257-258
<b>17b</b>		92	261-262
<b>18b</b>		79	297-298
<b>19b</b>		78	314-315

В <sup>1</sup>H ЯМР спектре соединения **4b** (рисунок 4.7) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырёхпротонных сигналов в области 1,70-1,87 м.д. и дуплетом триплетов в области 2,73-2,90 м.д. Аналитический сигнал метоксигруппы фенильного фрагмента наблюдается в виде трёхпротонного синглета при 3.88 м.д. Сигналы трёх протонов ароматического ядра идентифицируются двумя дуплетами

и одним дуплетом дуплетов в области 6,88-7,74 м.д. Атом водорода пиримидинового гетероцикла проявляется однопротонным синглетом при 12,30 м.д. В слабобольной области наблюдается протон гидроксильной группы в виде однопротонного синглета с величиной химического сдвига 9,78 м.д.

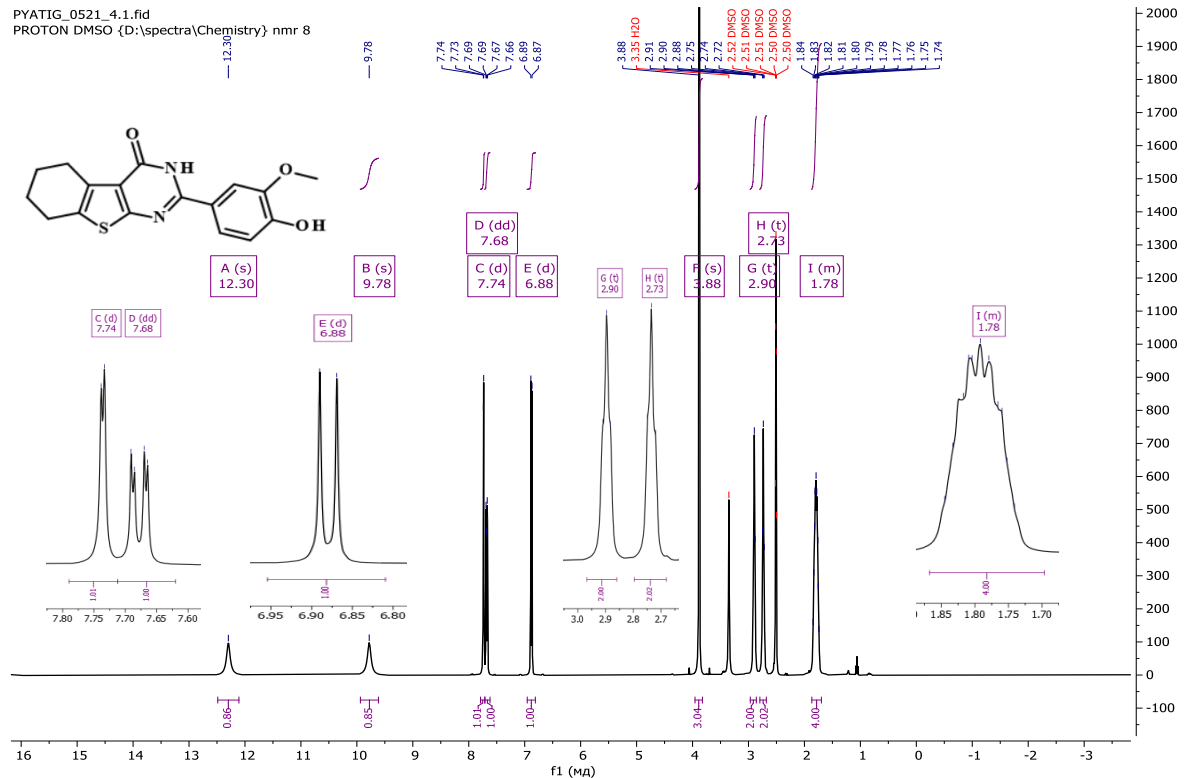


Рисунок 4.7 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения **4b** (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )

В  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектре соединения **4b** (рисунок 4.8) четыре атома углерода циклогексанового фрагмента, идентифицируются четырьмя аналитическими сигналами 22,25, 22,98, 24,97, 25.81 м.д. Углерод метоксигруппы фенильного заместителя наблюдается при 56,22 м.д. Атом углерода карбонильной группы гетероцикла пиримидина в четвёртом положении наблюдается при 163,91 м.д. Аналитические сигналы углеродов ароматической составляющей соединения **4b** располагаются в интервале 111,53-159,40 м.д.



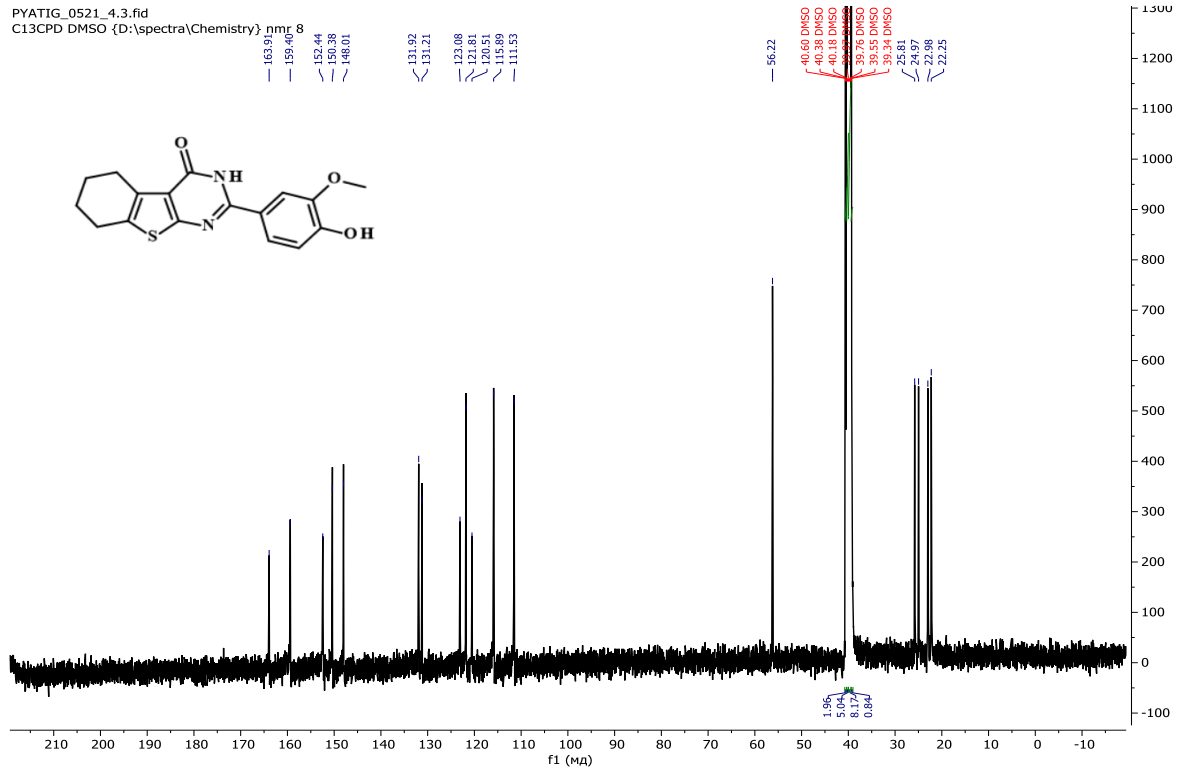


Рисунок 4.8 –  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр соединения 4b (101 МГц, ДМСО- $d_6$ )

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **7b** (рисунок 4.9) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырёхпротонных сигналов в области 1,72-1,90 м.д. и дуплетом триплетов в области 2,72-2,88 м.д. Сигналы трёх протонов ароматического ядра идентифицируются одним мультиплетом 6,35-6,47 м.д. и одним дуплетом в области 8,04 м.д. Атом водорода пиримидинового гетероцикла проявляется однопротонным синглетом при 12,38 м.д. В слабой области наблюдается два протона двух гидроксильных групп в виде двух однопротонных синглетов с величиной химического сдвига 10,23 и 11,91 м.д.

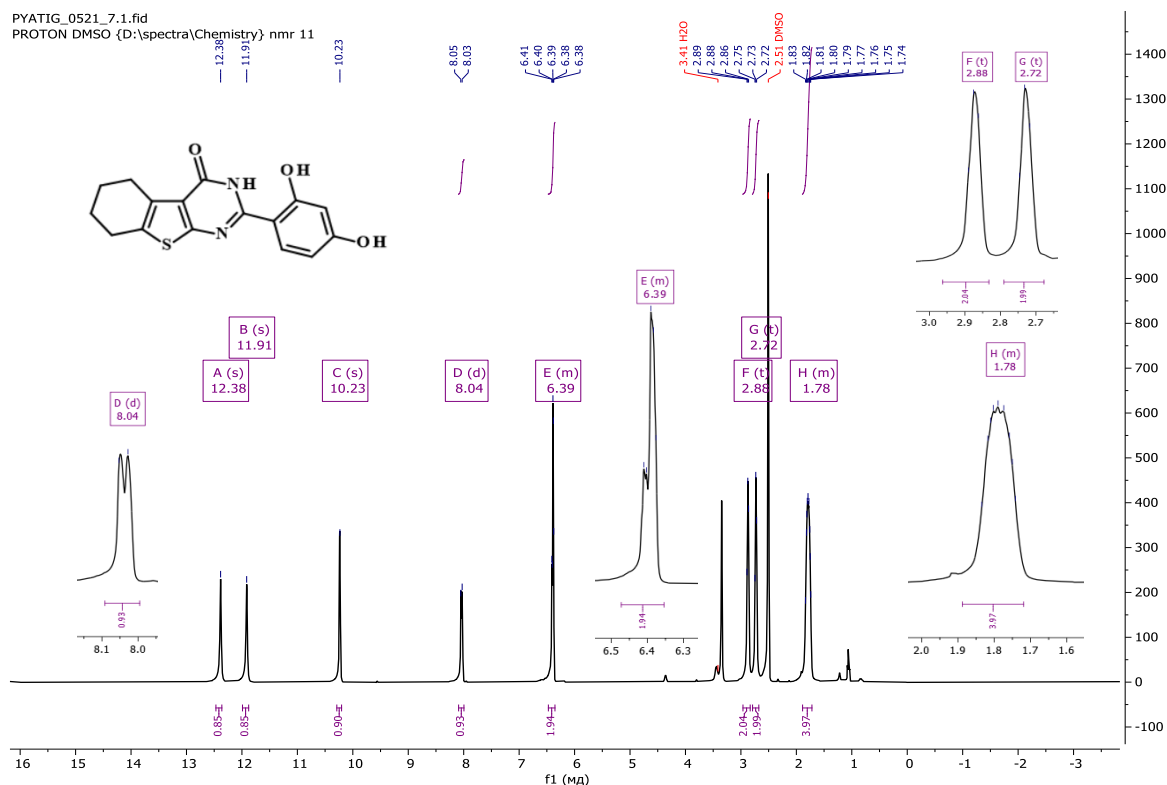


Рисунок 4.9 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения 7b (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **11b** (рисунок 4.10) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырехпротонных сигналов в области 1,71-1,87 м.д. и дуплетом триплетов в области 2,72-2,90 м.д. Восемнадцать атомов водорода двух трет-бутил фрагментов наблюдаются одним синглетом с величиной химического сдвига 1,44 м.д. Сигналы двух протонов ароматического ядра идентифицируются синглетом 7,84 м.д. Атом водорода пиримидинового гетероцикла проявляется однопротонным синглетом при 12,50 м.д. Протон гидроксильной группы фенильного заместителя наблюдается синглетом при 7,60 м.д.

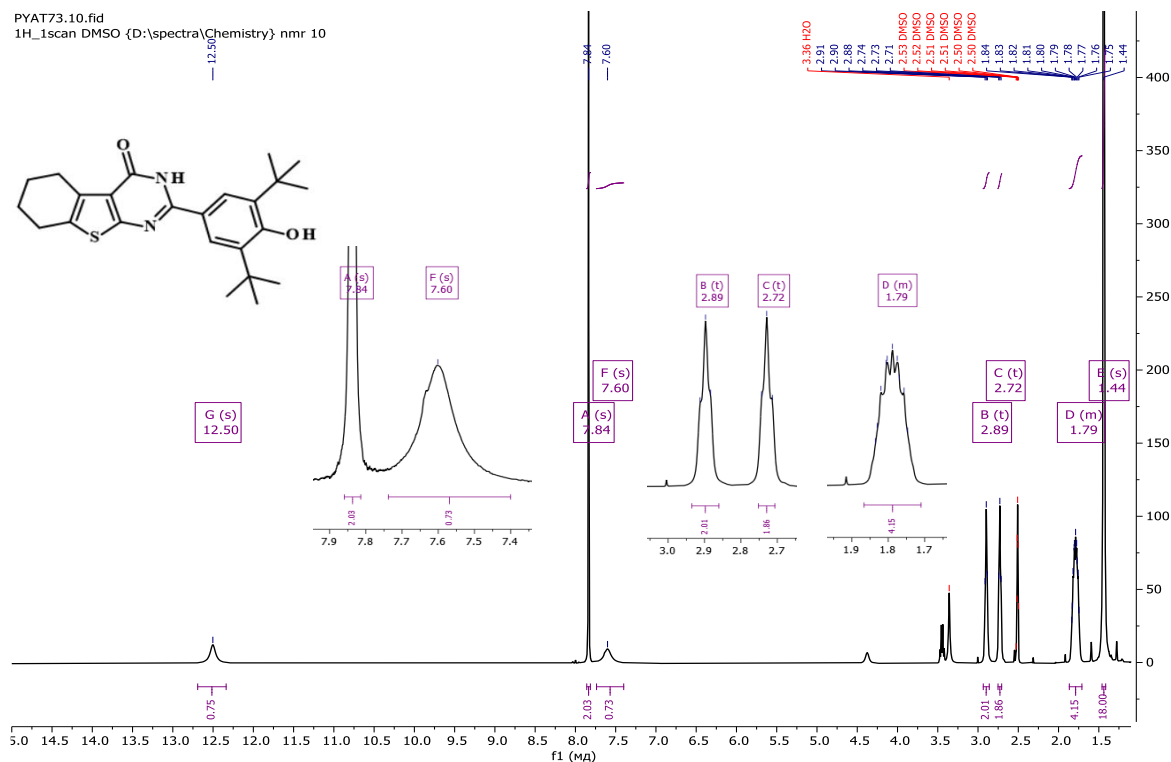


Рисунок 4.10 – <sup>1</sup>H ЯМР спектр соединения 11b (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>)

Экспериментальное и расчётное изотопное распределение для иона [C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S]<sup>+</sup>, представленное на рисунке 4.11, подтверждает строение **7b**.

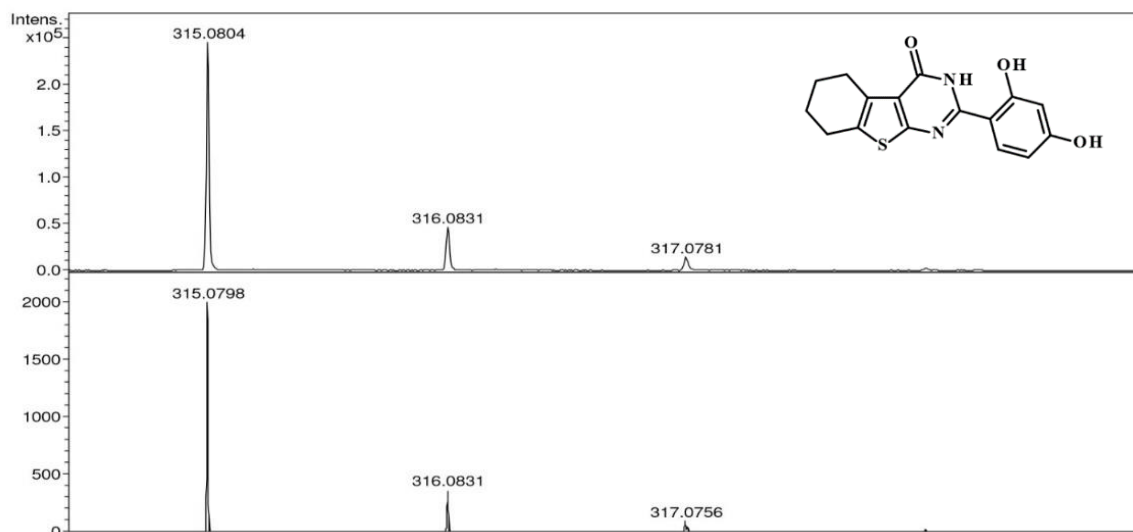


Рисунок 4.11 – Экспериментальный (вверху) и расчетный (внизу) спектры высокого разрешения ИЭР для иона [C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S]<sup>+</sup>, Δ = 1.90 м.д.

### 4.3. Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов

В более ранней работе, осуществленной на кафедре органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института [34], проведены единичные синтезы производных 2-метил-6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она, содержащих фрагменты бензойной, салициловой и амидаацетилглицина в положении 3 гетероцикла.

Синтез этой группы веществ протекает через получение промежуточного 6,7-диметокси-2-метилбензоксазидон-4. Ранее для его синтеза на кафедре органической химии была предложена методика реакции, основанная на взаимодействии нитрогетероатровой кислоты и полифосфорной кислотой с последующей обработкой реакционной смеси кипячением в среде уксусного ангидрида, это приводит к замыканию цикла с образованием 2-метил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазидон-4-она [13].

Однако выход продуктов 2-метил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазидон-4-она является низким, так как на первой стадии получения 2-ацетиламино-4,5-диметоксибензойной кислоты протекает окислительно-восстановительная реакция диспропорционирования. Другим негативным фактором получения промежуточного 6,7-диметокси-2-метилбензоксазидон-4-она является использования уксусного ангидрида, который относится к прекурсорам, а это усложняет возможность разработки лабораторного регламента по синтезу активной фармацевтической субстанции.

Исходя из этого, для синтеза 2-замещённых этилом, пропилом и изопропилом 6,7-диметокси-3,1-бензоксазидон-4-она, следует использовать процесс ацилирования с дальнейшей циклоконденсацией. Этот процесс протекает кипячением диметоксиантраниловой кислоты в соответствующем ангидриде без выделения промежуточных амидов диметоксиантраниловой кислоты. В результате этого процесса образуются промежуточные 2-этил-, 2-пропил- и 2-изопропил-

6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-оны, которые с помощью реакции замены гетероатома кислорода на азот достаточно легко превращаются в целевые хиназолиноны **1c-10c** (схема 4.4).

На первой стадии синтеза 2-амино-4,5-диметоксибензойную кислоту нагревают в избытке пропионового, масляного и изомасляного ангидрида. В результате получали 2-этил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он, 2-пропил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он и 2-изопропил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-он с выходами 90%, 84% и 75% соответственно.

Судя по выходу 2-замещённых 6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-она реакционная способность снижается при удлинении углеродной цепи и тем более с увеличением разветвленности ангидридов. Далее осуществлялась замена гетероатома на азот взаимодействием соответствующего бензоксазинона с аминокислотами и дипептидами.

Соединения **1c-10c** получали взаимодействием соответствующих бензоксазинонов с глицином, глицилглицином, глициллейцином и глицилтриптофаном в среде ледяной уксусной кислоты при добавлении 0,5 мл диметилформамида.

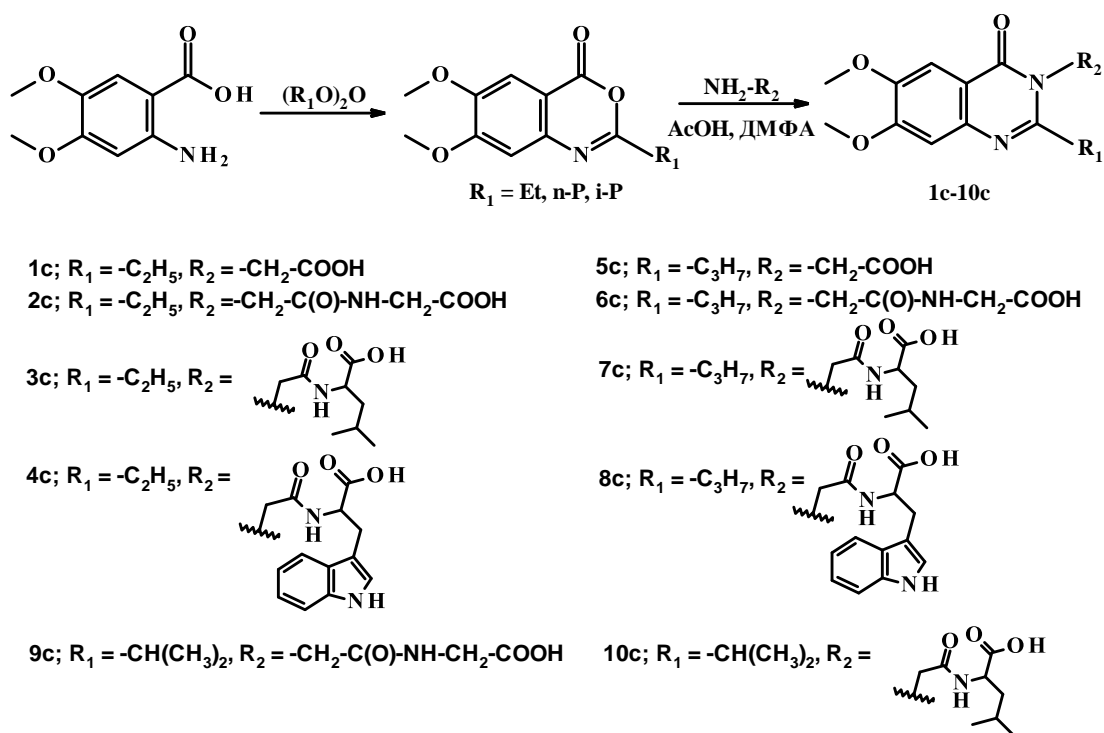


Схема 4.4 – Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она

В тоже время синтез 2-метил- и 2-фенил-6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-онов целесообразно проводить через промежуточные диметоксипроизводные о-бензоиламинобензойной кислоты, которые в свою очередь синтезировали ацилированием 4,5-диметоксиантраниловой кислоты (**I**) по Шоттена-Баумана ацетилхлоридом и бензоилхлоридом (схема 4.5). Получение исходных 2-метил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-она и 2-фенил-6,7-диметокси-3,1-бензоксазин-4-она проводили двухстадийным синтезом. На первом этапе получали 2-ациламидо-4,5-диметоксибензойную кислоту (**II**) при добавлении по каплям хлорангидрида при перемешивании в щелочной среде. Согласно методике реакции ацилирования по Шоттена-Бауману, следует контролировать рН-среды с тем, чтобы она оставалась щелочной. Далее формирование ядра 3,1-бензоксазин-4-она (**III**) осуществляли путем кипячения 2-ациламидо-4,5-диметоксибензойной кислоты в избытке пропионового ангидрида. Вещества **11с-13с** соответственно получали методом замещения кислорода на азот в бензоксазине-4 путём взаимодействия соответствующих бензоксазинов с глицином и β-аланином в среде ледяной уксусной кислоты в присутствии каталитических количеств ДМФА [43, 77].

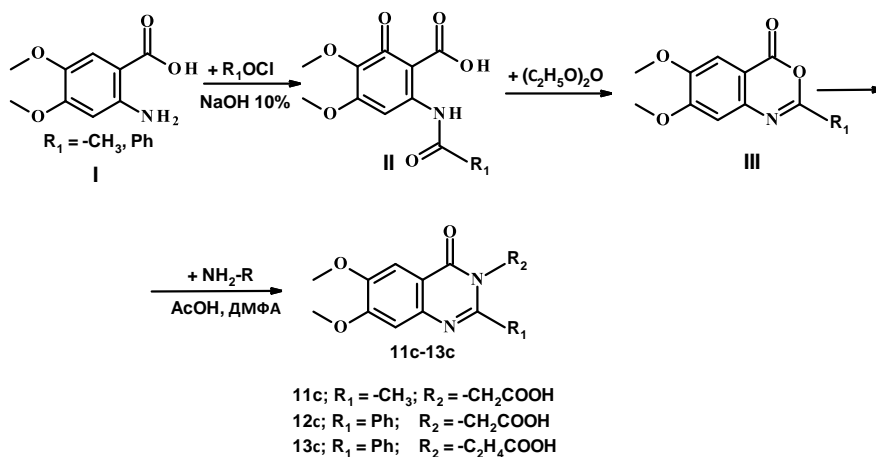


Схема 4.5 – Синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она

Механизм формирования целевых производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она можно представить через образование промежуточного карбокатиона (схема 4.6). Предварительно были рассмотрены возможные пути протонирования исходного 2-фенилбензоксазин-4-она (**I**), наиболее достоверный вариант прохождения реакции предполагает протонирование гетероатома кислорода (**II**),

приводящее к формированию более устойчивого карбокатиона (III). Атака аминным реагентом карбокатиона приводит к формированию другого катиона (IV), который далее отщепляет протон (V). Депротонирование позволяет образоваться промежуточному аддукту (V), который отщепляет молекулы воды с последующей циклизацией и формированием гетероцикла (VI).

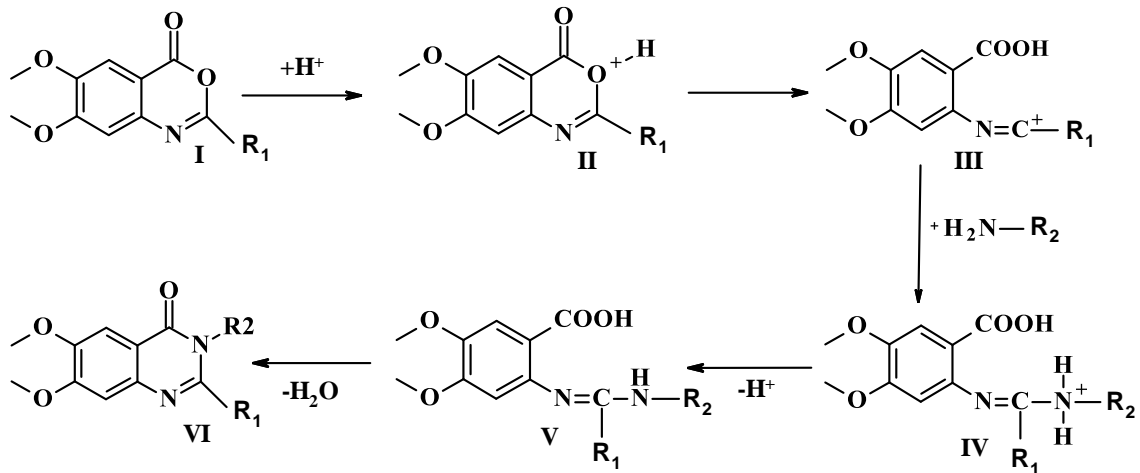


Схема 4.6 – Механизм формирования целевых производных 6,7-диметокси-хиназолин-4(3H)-она

В таблице 4.6 приводятся данные выходов и температур плавления синтезированных азометиновых производных.

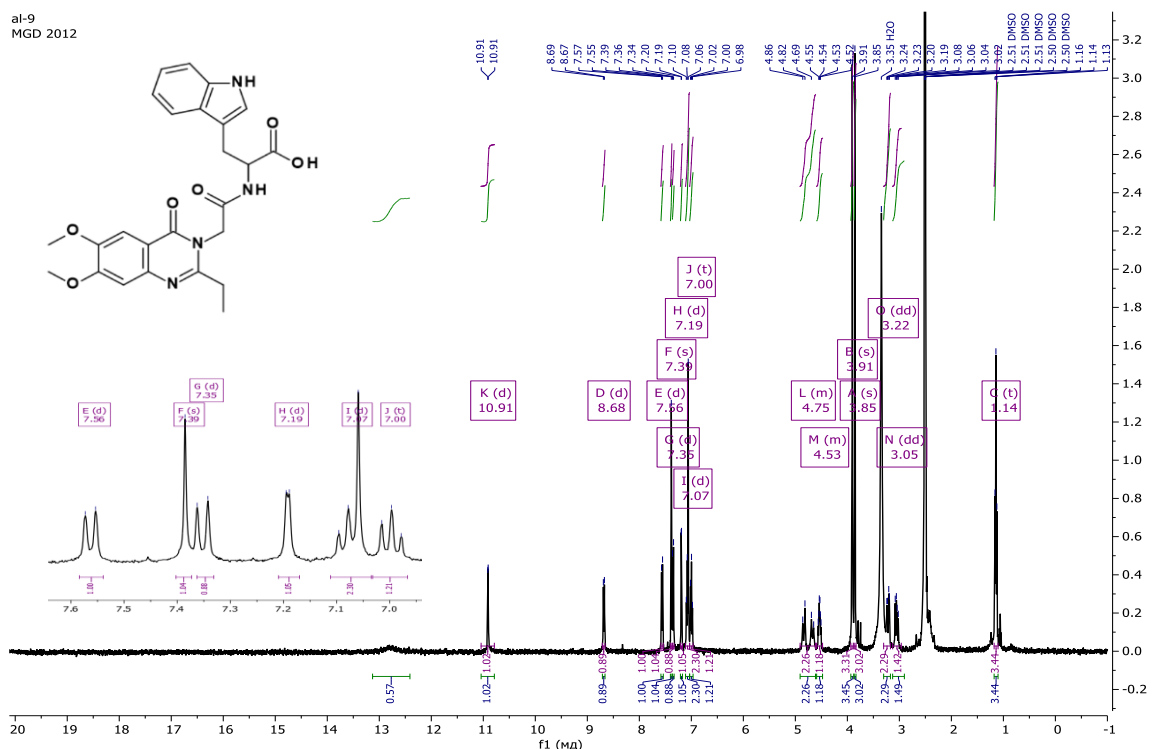
Таблица 4.6 – Выходы и температуры плавления соединений 1с-13с

Соединение	$R_1$	$R_2$	Выход, %	$T_{пл}, ^\circ\text{C}$ (этанол)
1с	Et	Гли	75	263-264
2с	Et	Гли-Гли	70	266-267
3с	Et	Гли-Лей	89	225-226
4с	Et	Гли-Три	73	265-266
5с	n-P	Гли	58	234-235
6с	n-P	Гли-Гли	78	247-248
7с	n-P	Гли-Лей	69	236-237
8с	n-P	Гли-Три	57	272-273

## Продолжение Таблицы 4.6

<b>9c</b>	i-P	Гли-Гли	61	219-220
<b>10c</b>	i-P	Гли-Лей	50	220-221
<b>11c</b>	Me	Гли	72	215-216
<b>12c</b>	Ph	Гли	66	281-282
<b>13c</b>	Ph	$\beta$ -Ала	62	202-203

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **4c** (рисунок 4.12) три протона этильного фрагмента, сопряженного с гетероциклом пиримидина, проявляются в виде трёхпротонного сигнала в области 1,14 м.д., а метиленовая группа этила идентифицируется дуплетом дуплетов при 3,22 м.д. Протоны двух метоксигрупп идентифицируются двумя трёхпротонными синглетами при 3,85 и 3,91 м.д. Сигнал метиленовой группы ( $-\text{CH}_2-$ ) углеродного скелета остатка дипептида глицилтриптофана проявляется одним двухпротонным дуплетом дуплетов при 3,05 м.д. и одним двухпротонным мультиплетом при 4,91-4,61 м.д. Ароматические протоны идентифицируются в диапазоне от 7,00 до 7,56 м.д. Атом водорода амидной связи и пиррольного гетероцикла наблюдается дуплетами при 8,68 и 10,91 м.д. соответственно. Карбоксильной водород остатка глицилтриптофана проявляется уширенным синглетом при 12,79 м.д.

Рисунок 4.12 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения **4c** (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )



Экспериментальное и расчетное изотопное распределение для иона  $[C_{20}H_{22}N_2O_2S]^+$  представлено на рисунке 4.13, его результаты подтверждают строение вещества **4с**.

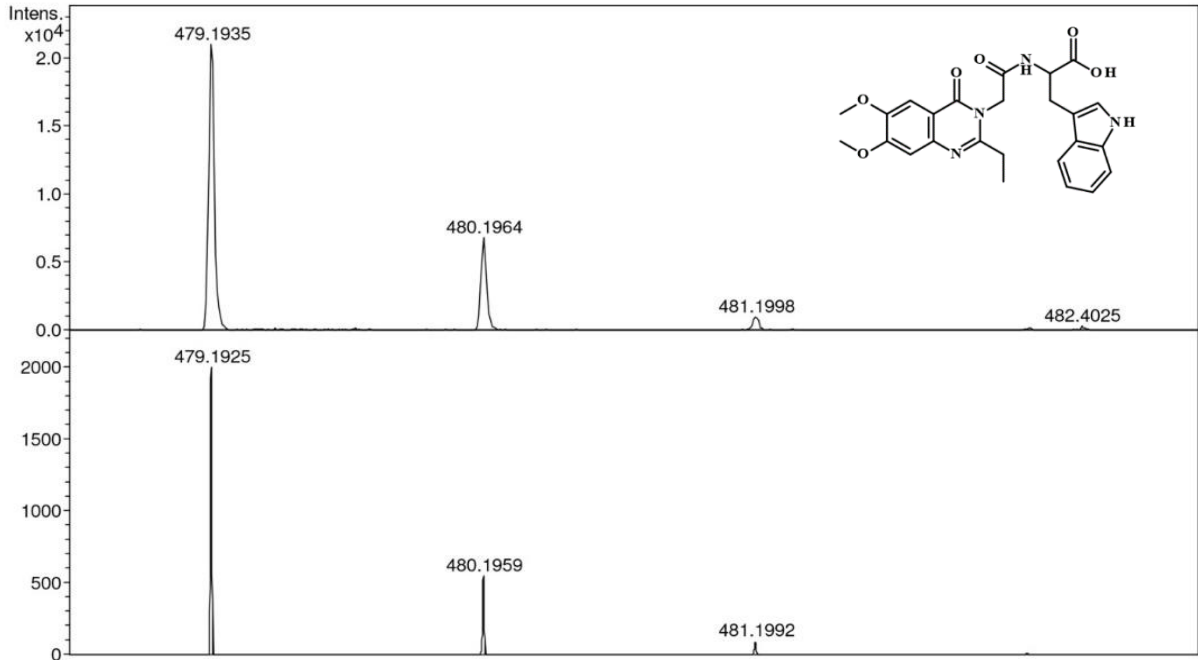


Рисунок 4.13 – Экспериментальный (вверху) и расчетный (внизу) спектры высокого разрешения ИЭР для иона  $[C_{25}H_{26}N_4O_6]^+$ ,  $\Delta = 2.09$  м.д.

В  $^1H$  ЯМР спектре соединения **7с** (рисунок 4.14) шесть протона двух метильных фрагментов остатка глициллейцина и трех протонов пропильного фрагмента идентифицируются двумя дуплетами и одним триплетом при 0,86, 0,92 и 0,98 м.д. соответственно. Шесть атомов водорода двух метокригрупп проявляются двумя синглетами при 3,86 и 3,91 м.д. Четыре атома водорода пропильного фрагмента во втором положении пиримидина наблюдаются в виде дуплета триплетов и триплета при 1,67 и 2,63 м.д. Аналитическим сигналом  $-CH_2-$  углеводородного скелета глициллейцина являются мультиплет при 1,61-1,49 м.д. и квартет при 4,82 м.д. Ароматические протоны идентифицируются двумя синглетами при 7,07 и 7.40 м.д. Амидный протон наблюдается при 8,64 м.д. в виде дуплета. Карбоксильной водород остатка глициллейцина проявляются уширенным синглетом при 12,72 м.д.

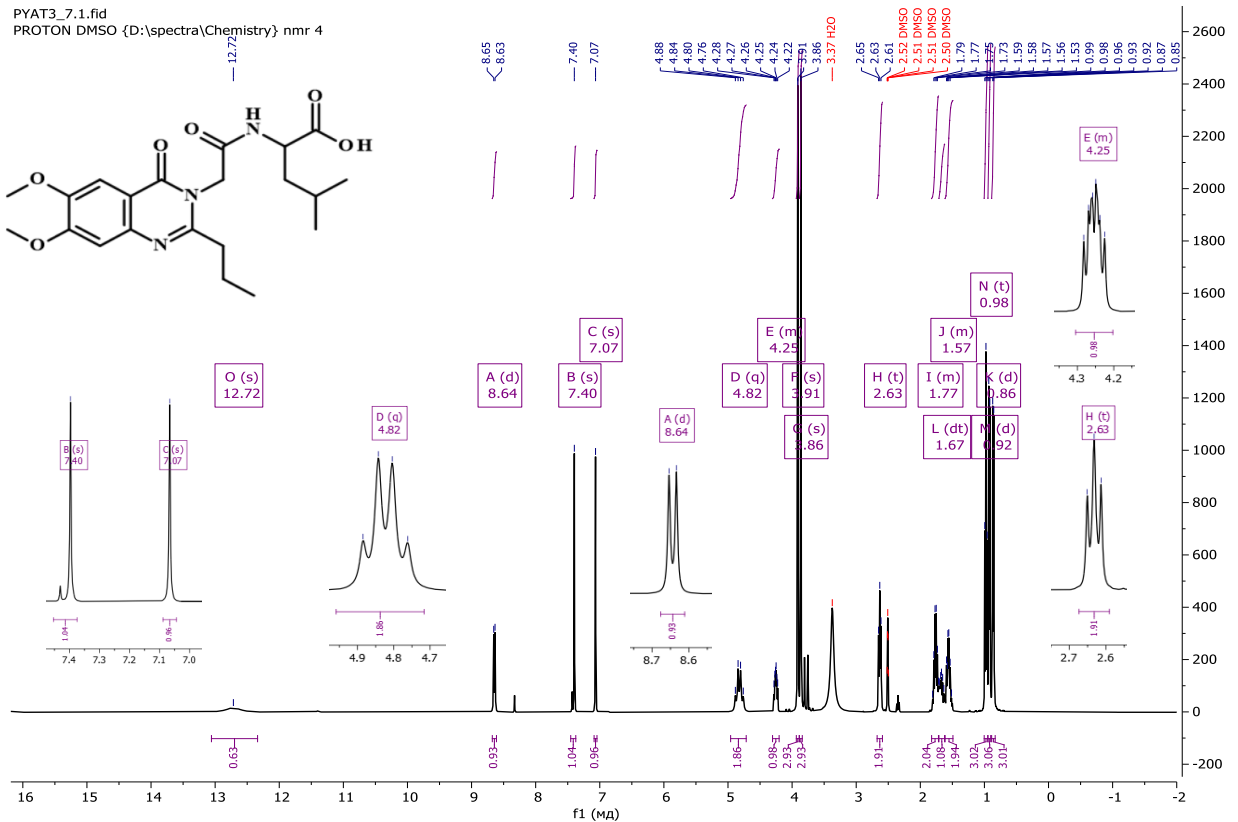


Рисунок 4.14 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения 7с (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения 9с (рисунок 4.15) шесть протонов двух метильных групп изопропилового фрагмента проявляются шестипротонным дуплетом при 1,24 м.д, а -СН- идентифицируется мультиплетом при 2,92-3,06 м.д. Аналитическим сигналом -СН<sub>2</sub>- углеводородного скелета глицилглицина являются дуплет при 3,82 м.д. и синглет при 4,87 м.д. Протоны двух метоксигрупп ядра 6,7-диметоксихиназолин-4(3Н)-она идентифицируются двумя трёхпротонными синглетами при 3,86 и 3,92 м.д. Два ароматических атома водорода наблюдаются двумя синглетами при 7,07 и 7,40 м.д. Амидный протон остатка проявляется при величине химического сдвига 8,66 м.д. в виде одного триплета, а протон карбоксильной группы проявляется уширенным синглетом при 12,68 м.д.

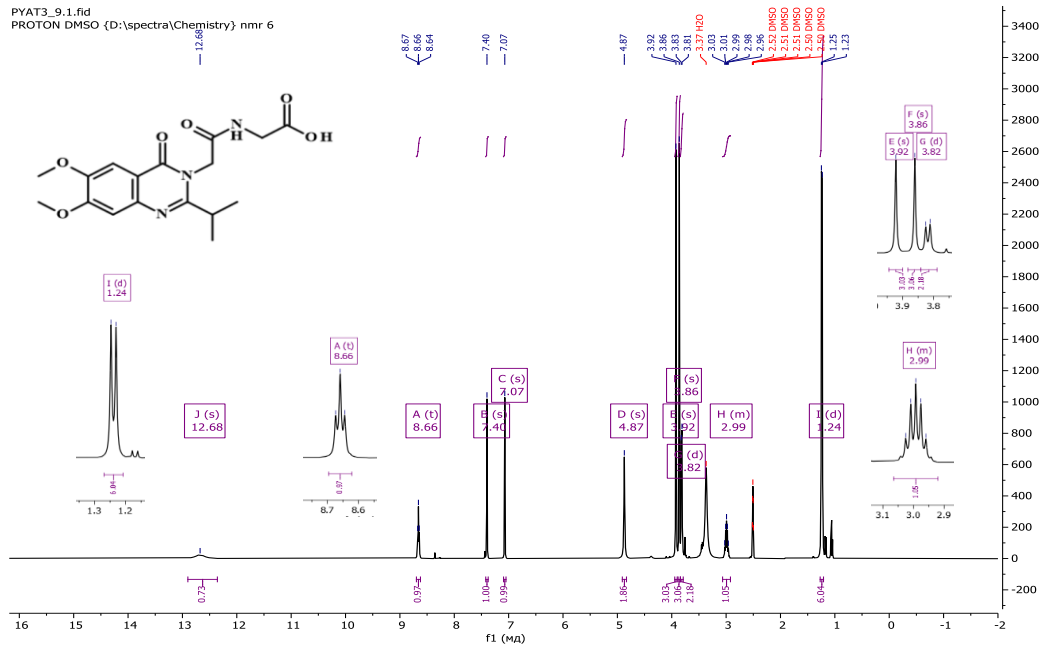


Рисунок 4.15 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения 9с (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения 13с (рисунок 4.16) шесть протонов двух метоксигрупп идентифицируются шестипротонным дуплетом при 3,90 м.д. Четыре атома водорода углеводородного скелета бета-аланина наблюдаются в виде двух двухпротонных триплетов при 2,59 и 4.06 м.д. Ароматические протоны проявляются в диапазоне от 7,16 до 7,63 м.д. Атом карбонильной группы остатка бета-аланина идентифицируется уширенным синглетом при 12,34 м.д.

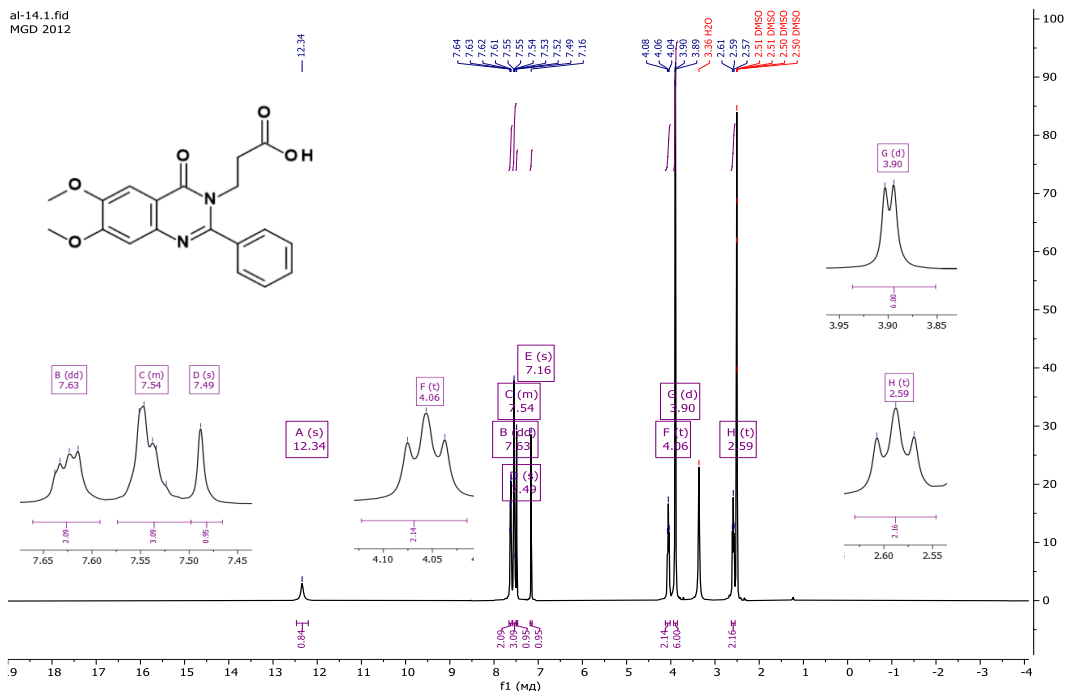


Рисунок 4.16 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения 13с (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )

#### **4.4. Синтез натриевых солей азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов и 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-онов**

С целью повышения растворимости синтезированных соединений в воде для расширения вероятных фармакологических исследований и увеличения их биодоступности осуществлено получение натриевых солей азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов и 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-онов.

Основу применяемой методики синтеза натриевых солей производных тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-онов и их ациклических предшественников составляет ранее полученная запатентованная натриевая соль 4-{2-[2-(4-гидроксифенил)-винил]-6-этил-4-оксо-5-фенил-4H-пиримидин-1-ил}-бензосульфида, синтез которой реализовывали путём одновременного растворения в метаноле с метилатом натрия [23]. Однако для синтеза натриевых солей азометинов и тиенопиримидинов препаративно доказана возможность использования также спирта этилового, что позволило отойти от применения токсичного растворителя.

Образование фенолятов натрия по ароматическим гидроксильным группам осуществлялось путём суспендирования азометина или тетрагидротиенопиримидина в этаноле с двухкратным количеством метилата натрия по отношению к количеству гидроксильных групп соединения. При добавлении метилата натрия происходило растворение суспензии с образованием раствора жёлто-красного оттенка. Такая окраска раствора характерна для солей щелочных металлов, что свидетельствует об успешном прохождении реакции солеобразования. Полученные в итоге соли, как и их растворы, имеют жёлто-красную окраску [64].

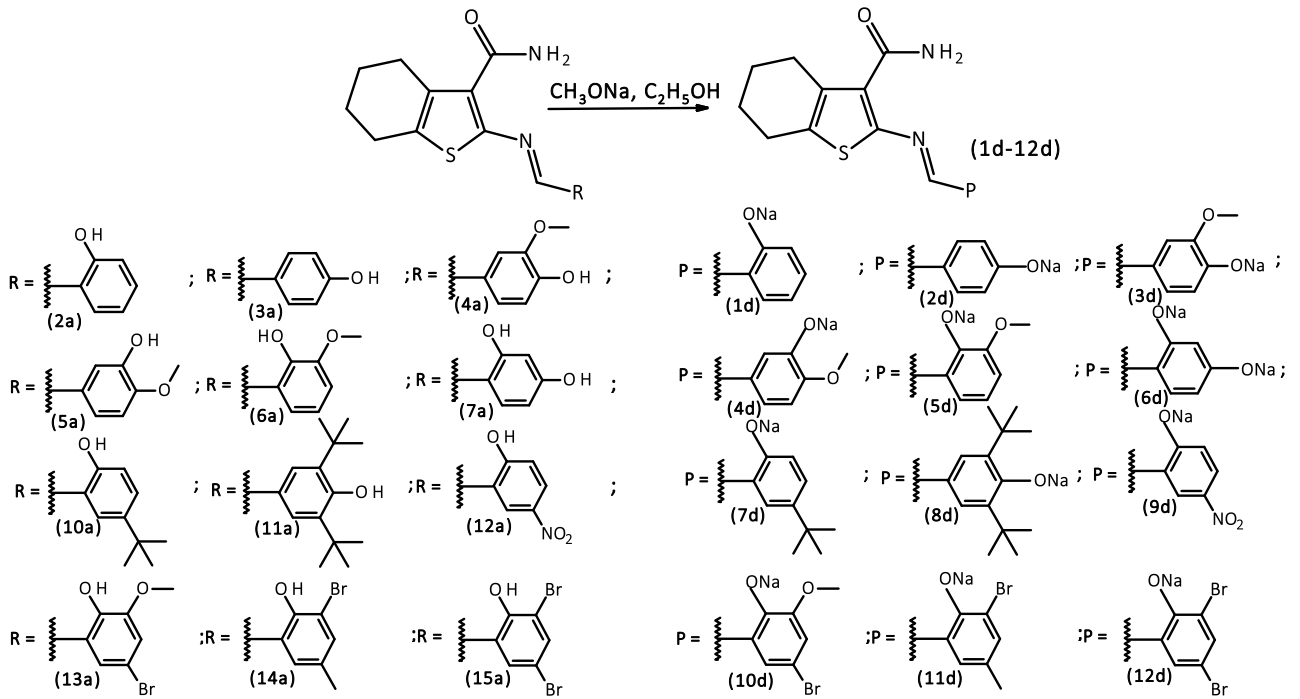


Схема 4.7 – Синтез натриевых солей гидроксифенильных азометинов

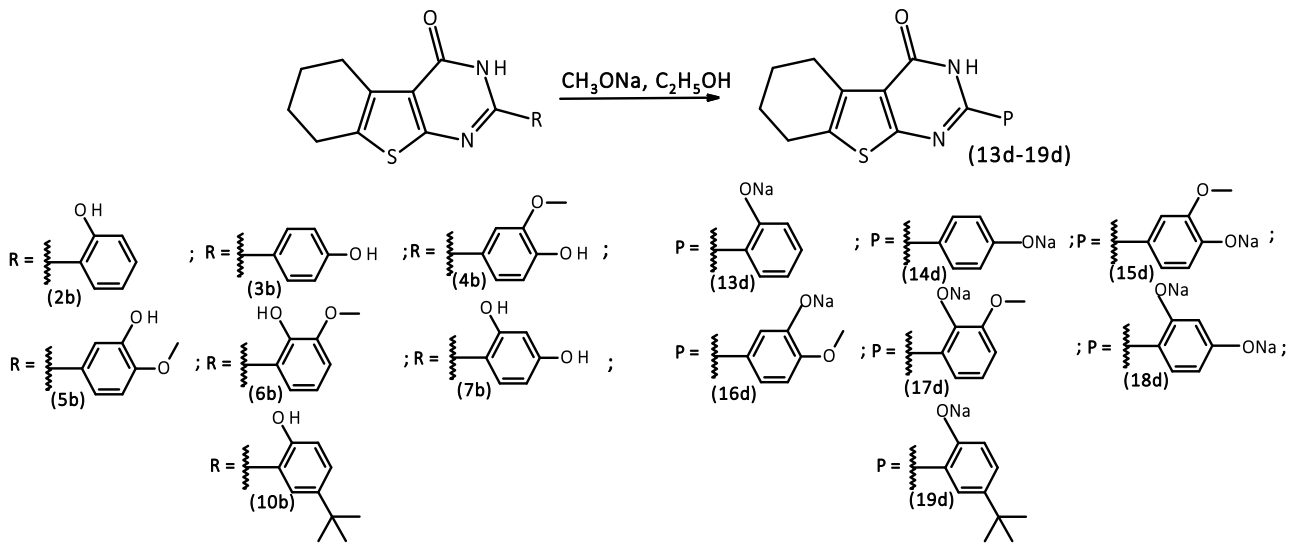


Схема 4.8 – Синтез натриевых солей гидроксифенильных производных тетрагидробензотиенопиримидин-4(3H)-она

В таблицах 4.7 и 4.8 приводятся данные выходов и температур плавления синтезированных натриевых солей.

Таблица 4.7 – Выходы и температуры плавления соединений 1d-12d

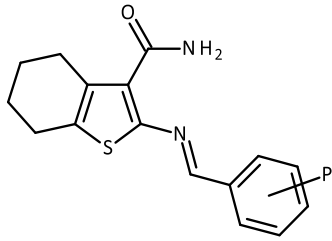
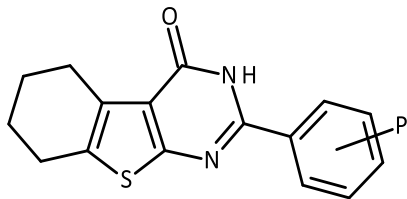
			
Соединение	<i>P</i>	Выход, %	<i>T</i> .пл, °С (этанол)
<b>1d</b>	2-ONa	78	201-202
<b>2d</b>	4-ONa	52	171-172
<b>3d</b>	4-ONa-3-OCH <sub>3</sub>	59	287-288
<b>4d</b>	3-ONa-4-OCH <sub>3</sub>	57	264-265
<b>5d</b>	2-ONa-3-OCH <sub>3</sub>	52	371-372
<b>6d</b>	2,4-diONa	54	198-199
<b>7d</b>	2-ONa-5-t-Bu	43	166-167
<b>8d</b>	4-ONa-3,5-dit-Bu	37	209-210
<b>9d</b>	2-ONa-5-NO <sub>2</sub>	55	290-291
<b>10d</b>	2-ONa-3-OCH <sub>3</sub> -5-Br	61	249-250
<b>11d</b>	2-ONa-5-CH <sub>3</sub> -3-Br	68	354-355
<b>12d</b>	2-ONa-3,5-diBr	53	362-363

Таблица 4.8 – Выходы и температуры плавления соединений 13d-19d

			
Соединение	<i>P</i>	Выход, %	<i>T</i> .пл, °С (этанол)
<b>13d</b>	2-ONa	51	278-279
<b>14d</b>	4-ONa	59	274-275
<b>15d</b>	4-ONa-3-OCH <sub>3</sub>	48	269-270
<b>16d</b>	3-ONa-4-OCH <sub>3</sub>	39	272-273
<b>17d</b>	2-ONa-3-OCH <sub>3</sub>	42	367-368
<b>18d</b>	2,4-diONa	40	198-199
<b>19d</b>	2-ONa-5-t-Bu	36	284-285

В соответствие с поставленной целью далее исследовалась растворимость полученных солей в воде при 20°C в сравнении с их основаниями, которые были практически нерастворимы. Из полученных результатов эксперимента следует, что наибольшей растворимостью обладают натриевая соль **6d** и **18d**, содержащие две гидроксифенильные группы, перешедшие в феноляты натрия. Это соответствует классическому представлению о увеличении гидрофильных свойств органических веществ.

Производные с остатками ванилина, изованилина и о-ванилина обладают большей растворимостью в отличие от остальных соединений ряда азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид и 5,6,7,8-тетрагидро-бензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-онов. Однако феноляты ациклических предшественников **3d**, **4d** и **5d** преобладают по растворимости в воде над соответствующими циклическими продуктами **15d**, **16d** и **17d**. В тоже время соединения **1d**, **7d**, **8d**, **13d** и **19d** в воде растворяются плохо и виде фенолятов. Результаты приведены в таблице 4.9.

Таблица 4.9 – Растворимость фенолятов азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид и 5,6,7,8-тетрагидро-бензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-онов в воде

<i>Соединение</i>	<i>Растворимость, мг на 100 мл воды</i>
<b>1d</b>	2
<b>2d</b>	8
<b>3d</b>	20
<b>4d</b>	35
<b>5d</b>	30
<b>6d</b>	50
<b>7d</b>	1
<b>8d</b>	1
<b>9d</b>	10
<b>10d</b>	8
<b>11d</b>	9
<b>12d</b>	10
<b>13d</b>	1
<b>14d</b>	3

Продолжение таблицы 4.9

<b>15d</b>	4
<b>16d</b>	5
<b>17d</b>	3
<b>18d</b>	45
<b>19d</b>	1

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **6d** (рисунок 4.17) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырёхпротонных мультиплетов при 1,63-1,81 и 2,58-2,71 м.д. Сигналы трёх протонов ароматического ядра идентифицируются дуплетом и двумя синглетами в области 5,99-7,22 м.д. Два протона амидной группы характеризуются дуплетом и синглетом со значениями 7,31 и 8,21 м.д. Азотиный атом водорода в виде однопротонового дуплета фиксируется при 8,47 м.д.

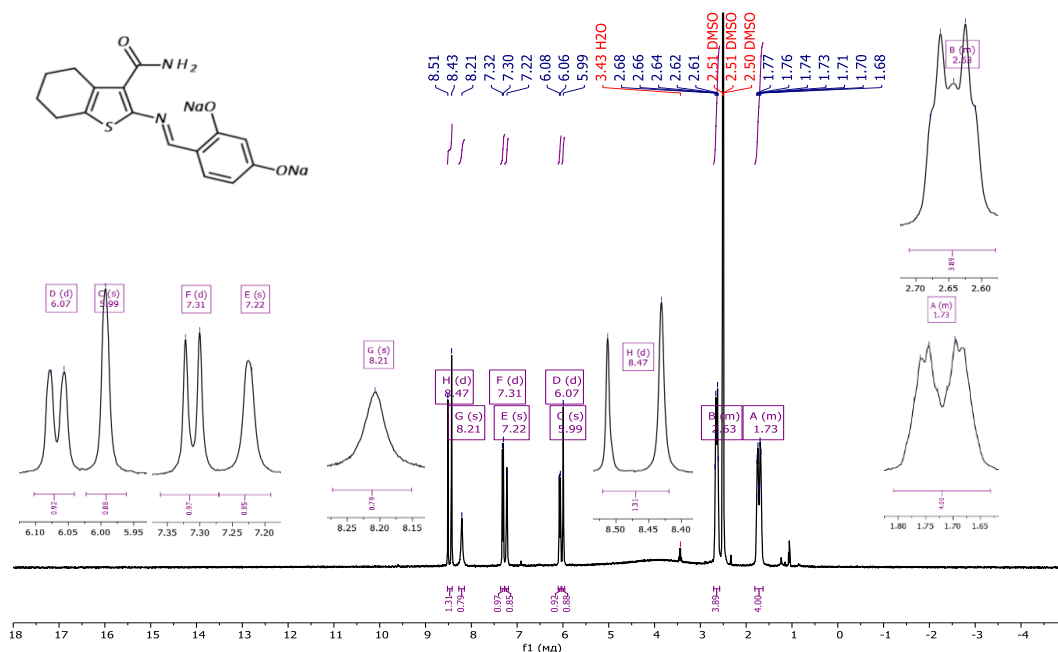


Рисунок 4.17 –  $^1\text{H}$  ЯМР спектр соединения **6d** (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектре соединения **15d** (рисунок 4.18) восемь протонов циклогексанового фрагмента, сопряженного с гетероциклом тиофеном, проявляются в виде двух четырёхпротонного мультиплетом в области 1,69-1,87 м.д. и дуплетатриплетов в области 2,71-2,91 м.д. Аналитическим сигналом метоксигруппы фенильного фрагмента наблюдается в виде трёхпротонного



синглета при 3.84 м.д. Сигналы трёх протонов ароматического ядра идентифицируются дуплетом дуплетов, дуплетом триплетов и триплетом в области 6,82-7,75 м.д.

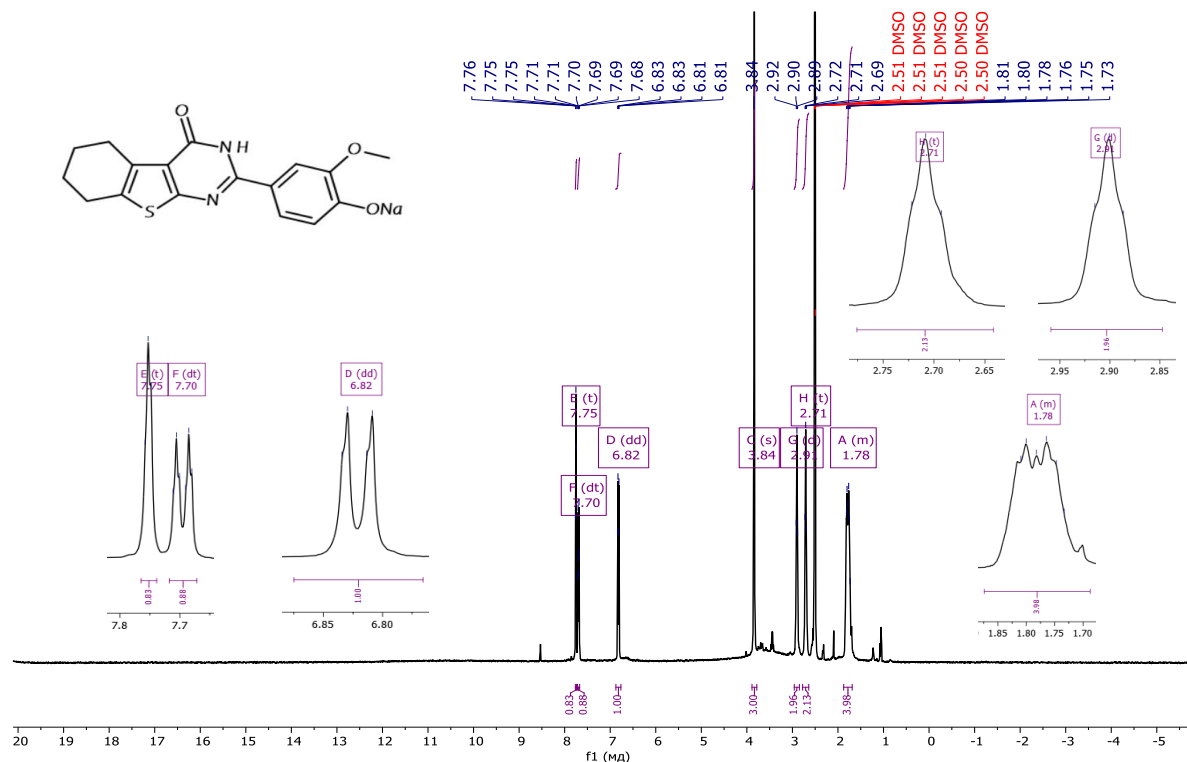


Рисунок 4.18 –<sup>1</sup>H ЯМР спектр соединения **15d** (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>)

#### 4.5. Определение чистоты синтезированных соединений методом ВЭЖХ

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, фактор асимметрии для соединений не превышает 1,5 [51].

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. При расчете не учитывали площади пиков, полученных при хроматографировании подвижной фазы [6]. Результаты оценки чистоты синтезированных субстанций представлены в таблице 4.10.

Таблица 4.10 – Результаты оценки чистоты анализируемых соединений методом ВЭЖХ

<i>Соединение</i>	<i>Содержание целевого компонента, %</i>	<i>Относительное время удерживания пика основного соединения, мин</i>
<b>1a</b>	96,6	6,79
<b>2a</b>	98,0	2,06
<b>3a</b>	97,5	3,00
<b>4a</b>	99,1	3,52
<b>5a</b>	97,1	3,62
<b>6a</b>	96,2	3,01
<b>7a</b>	96,2	1,72
<b>8a</b>	99,5	9,09
<b>9a</b>	98,8	6,93
<b>10a</b>	98,7	6,06
<b>11a</b>	99,5	10,57
<b>16a</b>	97,6	4,66
<b>17a</b>	98,8	6,02
<b>18a</b>	97,3	4,48
<b>1b</b>	97,6	5,36
<b>2b</b>	95,7	6,31
<b>3b</b>	95,5	2,32
<b>4b</b>	99,6	2,58
<b>5b</b>	97,3	2,39
<b>6b</b>	98,9	5,09
<b>7b</b>	99,5	2,86
<b>8b</b>	96,6	7,59
<b>9b</b>	99,4	5,58
<b>10b</b>	99,7	7,42
<b>11b</b>	99,1	9,18
<b>16b</b>	98,7	2,92
<b>17b</b>	98,2	4,01
<b>18b</b>	95,4	6,00
<b>1c</b>	98,9	6,03
<b>2c</b>	99,4	3,59

## Продолжение Таблицы 4.10

<b>3c</b>	95,4	3,96
<b>4c</b>	96,0	4,89
<b>5c</b>	98,7	11,79
<b>6c</b>	99,0	6,18
<b>7c</b>	98,9	6,06
<b>8c</b>	97,9	9,17
<b>9c</b>	97,8	9,83
<b>10c</b>	96,3	8,77
<b>11c</b>	95,6	5,87
<b>12c</b>	98,9	3,93
<b>13c</b>	99,1	3,92

Примечание – растворимость соединений **12a-15a, 19a** и **12b-15b, 19b** в метаноле, ацетонитриле, воде и 0,5% муравьиной кислоте была неудовлетворительна для проведения ВЭЖХ-анализа обращённо-фазовом вариантом.

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.

На рисунках 4.19, 4.20 и 4.21 приведены хроматограммы соединений **9a, 11b** и **1c** соответственно.

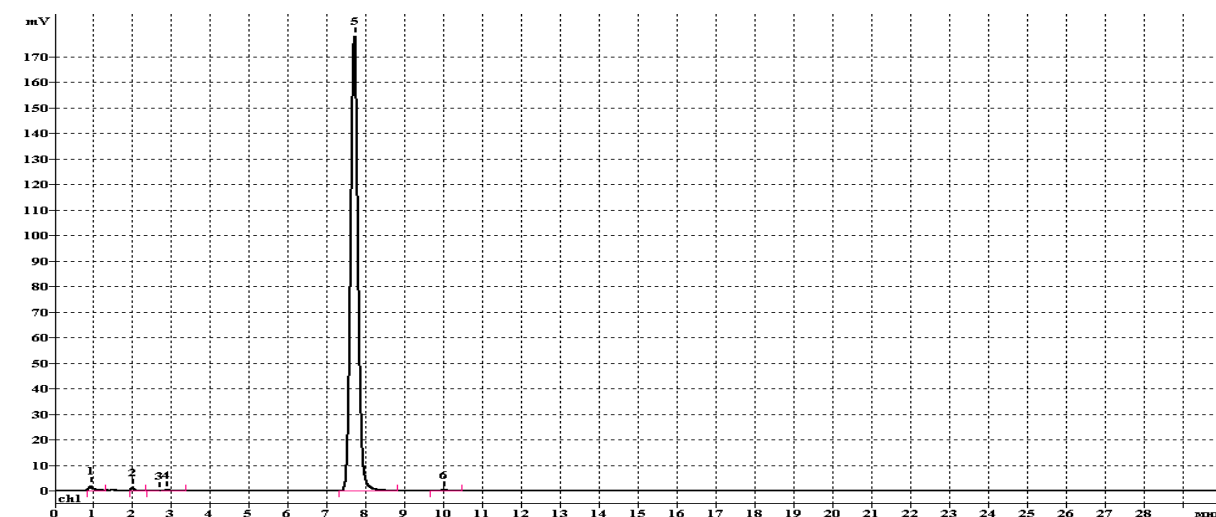


Рисунок 4.19 – ВЭЖХ хроматограмма **9a**

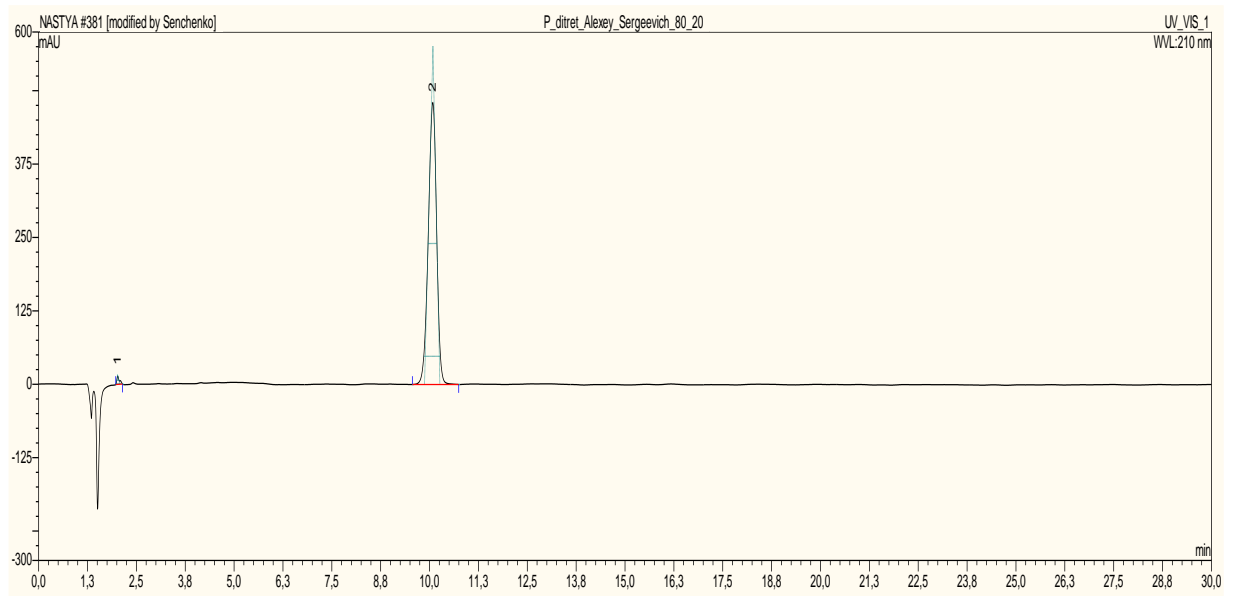


Рисунок 4.20 – ВЭЖХ хроматограмма 11b

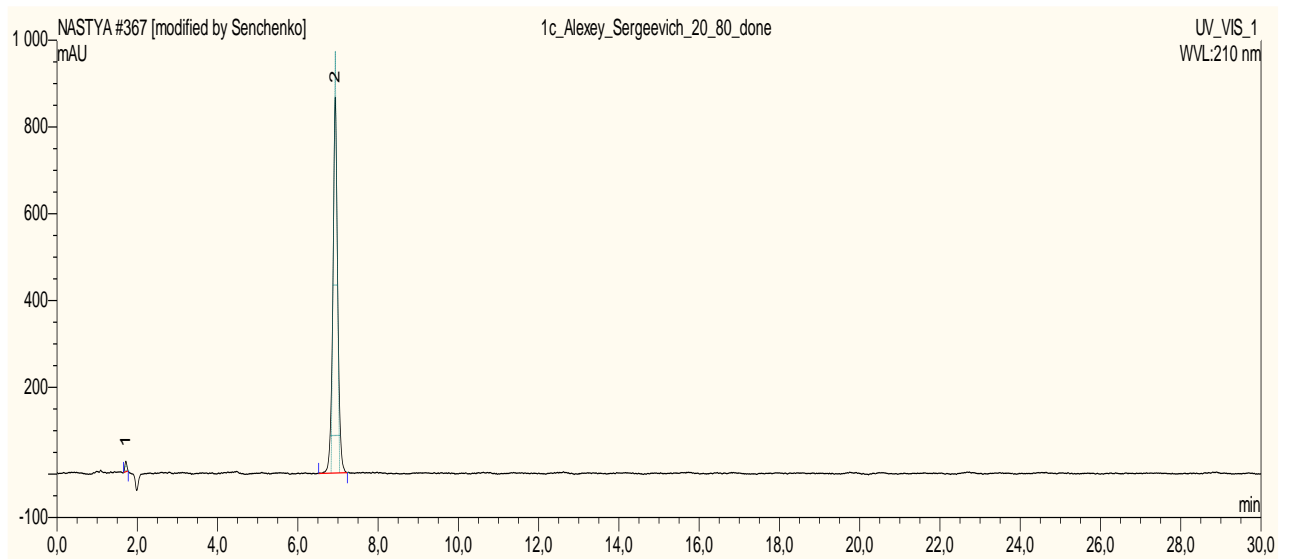


Рисунок 4.21 – ВЭЖХ хроматограмма 1c

## Выводы к главе 4

1. Модифицирована методика получения азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид путём взаимодействия спиртовых растворов исходного вещества с различными ароматическими и гетероциклическими альдегидами.

2. Квантово-химические расчёты позволили выявить решающую роль зарядового контроля прохождения реакции получения азометинов. Установлена корреляционная зависимость между выходами азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид и зарядом на углероде карбонильной группы альдегидов.

3. Модифицирована реакция циклизации азометинов с образованием 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она путем использования ДМСО с целью формирования циклического переходного комплекса позволяющего активировать процесс циклоконденсации.

4. Синтезирован ряд новых производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с алкильными заместителями и остатками нейроактивных аминокислот и дипептидов.

5. Рассмотрен механизм реакции замены гетероатома кислорода на азот, позволяющий осуществить синтез 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она и разработать технологически простой, экономически выгодный и экологически безопасный лабораторный способ их получения.

6. С целью получения водорастворимых БАС синтезирован ряд натриевых солей производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид и 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она.

7. Синтезировано 55 новых соединений (согласно базе данных Reaxys), строение которых доказано следующими методами анализа:  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-, ИК-, масс-спектрометрией, а высокая степень чистоты подтверждена ВЭЖХ.

## **ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА И ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРА–АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

Первичный фармакологический скрининг синтезированных соединений осуществлялся на базе ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии, патологии, микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

Фармакологические исследования церебропротекторной, противовирусной и антитирозиновой активности синтезированных соединений изучал к.ф.н., доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Д.И. Поздняков. Исследование противовоспалительной активности проводил, к.ф.н. доцент кафедры патологии И.Л. Абисалова. Изучение антибактериального действия веществ осуществлялся на кафедре микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии под руководством, к.б.н. доцента С.А. Лужновой. Всем сотрудникам института, проводившим медико-биологические исследования, мы выражаем глубокую благодарность. Сравнительный качественный и количественный анализ результатов фармакологического скрининга выполнен нами на кафедре органической химии с использованием компьютерных технологий.

### **5.1. Результаты фармакологических исследований и качественные соотношения структура-активность**

#### **5.1.1. Изучение антихолинэстеразной активности**

Дисбаланс холинергической системы может обуславливать патологические процессы ЦНС, соответственно поиск высокоэффективных ингибиторов

ацетилхолинэстеразы является актуальной задачей современной медицины [7]. Активность ацетилхолинэстеразы определяли модифицированным методом Элмана. Анализируемая среда содержала растворы исследуемых соединений в различных концентрациях (30 мг/мл, 15 мг/мл, 7,5 мг/мл, 3,75 мг/мл и 1,875 мг/мл) и калий-фосфатный буферный раствор в объеме до 300  $\mu$ л. В качестве референта использовался донепезил [96].

Из полученных результатов первичного фармакологического скрининга (таблица 5.1) следует, что 2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она превосходят соответствующие им ациклические предшественники в проявлении антихолинэстеразной активности, при этом наблюдается закономерность по силе выраженности биологической активности соединений с одинаковыми фармакофорными фрагментами.

Таблица 5.1 – Влияние исследуемых соединений и донепезила на активность ацетилхолинэстеразы

Соединение	IC <sub>50</sub> , мг/мл	Соединение	IC <sub>50</sub> , мг/мл
<i>азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды</i>			
<b>1a</b>	12,2±0,14*	<b>2a</b>	16±0,99*
<b>3a</b>	8,2±0,35*	<b>4a</b>	3±0,01
<b>5a</b>	4,3±0,47	<b>6a</b>	3,9±0,59
<b>7a</b>	9,9±0,61*	<b>8a</b>	10,3±0,93*
<b>9a</b>	8,1±0,2*	<b>10a</b>	11,8±0,24*
<b>11a</b>	6,8±0,97*	<b>12a</b>	11,7±0,48*
<b>13a</b>	5,7±0,43	<b>14a</b>	6,3±0,95
<b>15a</b>	6,1±0,48	<b>16a</b>	15,7±0,64*
<b>17a</b>	14,7±0,66*	<b>18a</b>	12,6±0,12*
<b>19a</b>	14,9±0,23*	<b>Донепезил</b>	2,4±0,06
<i>2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она</i>			
<b>1b</b>	6,31±0,091*	<b>2b</b>	5,36±0,087*
<b>3b</b>	3,1±0,031	<b>4b</b>	1,17±0,064*
<b>5b</b>	1,24±0,027*	<b>6b</b>	1,11±0,044*
<b>7b</b>	3,08±0,084	<b>8b</b>	3,75±0,058
<b>9b</b>	5,99±0,021*	<b>10b</b>	4,52±0,034
<b>11b</b>	3,19±0,044	<b>12b</b>	5,42±0,012*
<b>13b</b>	3,22±0,021	<b>14b</b>	3,68±0,092
<b>15b</b>	5,23±0,061*	<b>16b</b>	3,75±0,071
<b>17b</b>	5,82±0,025*	<b>18b</b>	4,92±0,074*

Продолжение таблицы 5.1

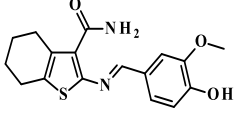
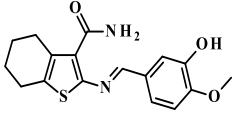
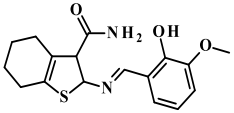
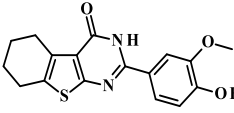
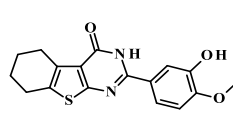
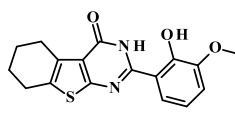
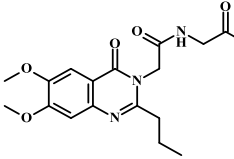
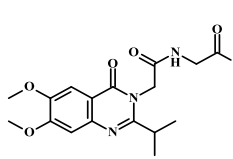
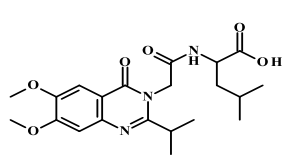
<b>19b</b>	4,57±0,096*	<b>Донепезил</b>	2,4±0,06
<i>производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она</i>			
<b>1c</b>	4,8±0,31	<b>2c</b>	4,5±0,4
<b>3c</b>	1,8±0,36	<b>4c</b>	2,6±0,09
<b>5c</b>	3,4±0,8	<b>6c</b>	1,3±0,7
<b>7c</b>	3,2±0,99	<b>8c</b>	2,7±0,17
<b>9c</b>	1,8±0,32	<b>10c</b>	1,0±0,17
<b>11c</b>	4,2±0,96	<b>12c</b>	3,5±0,57
<b>13c</b>	3,1±0,62	<b>Донепезил</b>	2,4±0,06
Примечание: * - статистически значимо относительно донепезила (ANOVA с пост-процессингом Тьюки, p<0,05)			

Наиболее активными соединениями среди азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды являются структуры **4a**, **5a** и **6a**, а среди тетрагидробензотиенопиримидин-4(3H)-оно́в вещества **4b**, **5b** и **6b**, содержащие гидроксиметоксифенильные заместители, что указывает на фармакологическую значимость данного фармакофора (таблица 5.2). Эти вещества показали наиболее высокую антихолинэстеразную активность, которая соизмерима или превосходит референт – донепезил [149, 158].

Выраженные свойства ингибирования ацетилхолинэстеразы проявили соединения **13a**, **14a** и **15a**, содержащие бромгидроксифенильные фрагменты. Вещества **3b**, **7b**, **8b**, **11b**, **13b**, **14b** и **16b** проявляли несколько меньшую активность, однако величина эффекта статистически значимо не отличается от действия донепезила. Согласно результатам первичного фармакологического скрининга дипептидные производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она **3c**, **6c**, **9c** и **10c** оказали соизмеримую антихолинэстеразную активность в сравнении со структурами **4b-6b**. Это позволяет сделать вывод, что для ингибирующей способности ацетилхолинэстеразы важным структурным фрагментом является ядро пиримидинона. В структуре соединений-лидеров среди 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-оно́в (**3c**, **6c**, **9c** и **10c**) содержатся остатки нейроактивных дипептидов – глицилглицина и глициллейцина в положении 3 гетероциклической системы.



Таблица 5.2 – Соединения-лидеры по результатам исследования антихолинэстеразной активности

Вид фармакологической активности и её выраженность	Структуры соединений-лидеров
<p><b>Антихолинэстеразная активность,</b></p> <p>4а, 5а, 6а – близкая к уровню донепезила (<math>IC_{50} = 2,40</math>), а структуры 4b, 5b, 6b и 3с, 6с, 9с, 10с превосходят референт (<math>IC_{50}</math> приведено в мг/мл).</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>4а (<math>IC_{50} = 3</math>)</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>5а (<math>IC_{50} = 4,3</math>)</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>6а (<math>IC_{50} = 3,9</math>)</b></p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>4b (<math>IC_{50} = 1,17</math>)</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>5b (<math>IC_{50} = 1,24</math>)</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>6b (<math>IC_{50} = 1,11</math>)</b></p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>6с (<math>IC_{50} = 1,3</math>)</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>9с (<math>IC_{50} = 1,8</math>)</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>10с (<math>IC_{50} = 1,0</math>)</b></p> </div> </div>

### 5.1.2. Изучение антиамилоидной активности

Амилоидные частицы являются одной из причин дегенеративных процессов в головном мозге, тем самым поиск новых БАС, снижающих их образование, является значимым направлением современной фармации [75, 137]. Процесс агрегации амилоидных частиц оценивали в реакции взаимодействия А $\beta$  с конго-красным. Раствор исследуемых соединений в диметилсульфоксиде (конечная концентрация составляет 20 мг/мл, в качестве эталонного соединения использовался GV-971 в аналогичной концентрации) смешивали с раствором красного конго в фосфатном буферном растворе [117]. Результаты изучения антиамилоидной способности свидетельствуют о том [149, 158], что все изучаемые

соединения уступают по выраженности антиамилоидной активности референту (таблица 5.3).

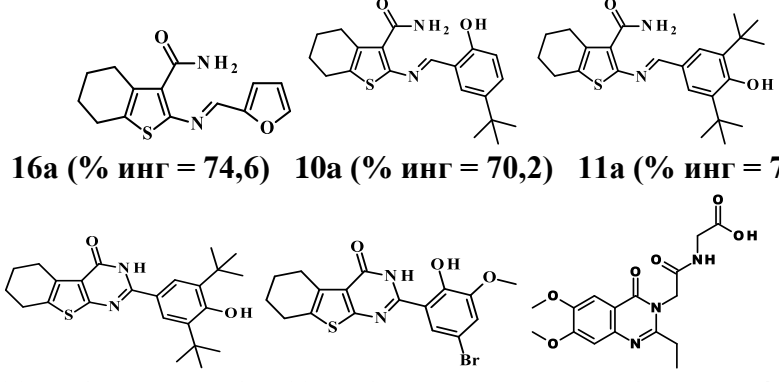
Таблица 5.3 – Влияние исследуемых соединений и GV-971 на агрегацию амилоидных частиц

Соединение	% ингибирования	Соединение	% ингибирования
<i>азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида</i>			
<b>1a</b>	21,3±0,9*	<b>2a</b>	56,3±0,4*
<b>3a</b>	59,8±0,3*	<b>4a</b>	30,1±0,5*
<b>5a</b>	27,6±0,8*	<b>6a</b>	29,4±0,2*
<b>7a</b>	69,5±0,1*	<b>8a</b>	41,2±0,5*
<b>9a</b>	40,9±0,6*	<b>10a</b>	70,2±0,5*
<b>11a</b>	71,3±0,9*	<b>12a</b>	20,1±0,3*
<b>13a</b>	38,7±0,3*	<b>14a</b>	30,4±0,7*
<b>15a</b>	29,7±0,7*	<b>16a</b>	74,6±0,5*
<b>17a</b>	25,9±0,2*	<b>18a</b>	48,3±0,9*
<b>19a</b>	50,4±0,5*	<b>GV-971</b>	89,3±0.5
<i>2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она</i>			
<b>1b</b>	67,5±2,3*	<b>2b</b>	55,1±2,0*
<b>3b</b>	66,4±1,2*	<b>4b</b>	57,9±1,2*
<b>5b</b>	67,2±3,6*	<b>6b</b>	60,8±3,7*
<b>7b</b>	60,4±2,9*	<b>8b</b>	57,3±3,6*
<b>9b</b>	62,7±1,3*	<b>10b</b>	50±1,8*
<b>11b</b>	69,4±2,5*	<b>12b</b>	50±1,2*
<b>13b</b>	72,8±1,9*	<b>14b</b>	60,4±2,4*
<b>15b</b>	55,9±3,9*	<b>16b</b>	54,7±3,4*
<b>17b</b>	58±4,0*	<b>18b</b>	52,3±1,2*
<b>19b</b>	52,9±1,4*	<b>GV-971</b>	89,3±0.5
<i>производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она</i>			
<b>1c</b>	55,1±2,2	<b>2c</b>	64,2±4,7
<b>3c</b>	52±2,4	<b>4c</b>	60,5±5,0
<b>5c</b>	56,1±5,4	<b>6c</b>	58,5±6,2
<b>7c</b>	59,2±3,7	<b>8c</b>	51,9±5,2
<b>9c</b>	55,3±5,3	<b>10c</b>	60±2,1
<b>11c</b>	59,3±5,9	<b>12c</b>	56,3±2,9
<b>13c</b>	54,1±5,9	<b>GV-971</b>	89,3±0.5
Примечание: * - статистически значимо относительно GV-971 (ANOVA с турецким посттестом, p<0,05), GV-971 – смесь олигосахаридов, выделенных из морской водоросли <i>Ecklonia kurome</i> .			

Среди азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида наибольшей активностью обладает соединение с незамещённым фурильным фрагментом (**16a**) (таблица 5.4). Сопоставимой с ним

ингибирующей активности агрегации амилоидных частиц проявили гидроксифенильные производные **7a**, **10a**, **11a** и их соответствующие тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-оны **7b**, **10b** и **11b**. Однако одним из соединений с наибольшей способностью ингибировать агрегацию амилоидных частиц является вещество, содержащее 5-бром-2-гидрокси-3-метокси-фенильный фрагмент (**13b**).

Таблица 5.4 – Соединения-лидеры по результатам антиамилоидной активности

Вид фармакологической активности и её выраженность	Структуры соединений-лидеров
<p><b>Антиамилоидная,</b> 7a, 10a, 11a, 16a, 11b, 13b – на уровне 70-ти процентного ингибирования <b>GV-971 (89%)</b></p>	 <p><b>16a (% инг = 74,6) 10a (% инг = 70,2) 11a (% инг = 71,3)</b> <b>11b (% инг = 69,4) 13b (% инг = 72,8) 2c (% инг = 64,2)</b></p>

Особо следует отметить структуру, содержащую фрагмент относящийся к пространственно затруднённым фенолам. Известно, что он может обуславливать высокие антиоксидантные свойства [4, 157]. В отличие от ранее рассмотренных структур, производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она значительно уступают по ингибирующим свойствам образования амилоидных частиц соединениям, содержащих тетрагидробензотиенопиримидиновое ядро [32].

Анализ результатов фармакологического скрининга не позволяет выделить значимую разницу между ациклическим и циклическим пиримидиновым скаффолдом, так как существенное расхождение в ингибировании образования амилоидных частиц практически отсутствует.

### 5.1.3. Изучение церебропротекторной активности производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она на модели ишемии головного мозга

В связи с результатами молекулярного докинга производных хиназолинона (глава 3) и наличием в их структуре нейроактивных аминокислот и дипептидов проведена оценка их влияния на зону некроза головного мозга на модели ишемии головного мозга у крыс.

В качестве референс-препарата перорально использовали этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС, «Мексидол», ФАРМАСОФТ, Россия) в дозе 100 мг/кг. Церебральную ишемию у крыс воспроизводили путем необратимой правосторонней окклюзии средней мозговой артерии по методу Тамуга, а для оценки размера зоны некроза головного мозга использовали трифенилтетразолия хлорид, аналитическим сигналом которого является изменение его интенсивности окраски [100]. Оценка церебропротекторной активности исследуемых соединений приведена на рисунке 5.1, на котором НК – лишенная лечения группа негативного контроля с ишемией мозга, ЭМГПС – группа крыс, получавшая референт; \* –  $p < 0,05$  относительно НК группы крыс (ANOVA с пост-процессингом Ньюмена-Кейлса);  $\Delta$  –  $p < 0,05$  относительно ЭМГПС группы крыс (ANOVA с пост-процессингом Ньюмена-Кейлса).

Из полученных данных следует, что значительное снижение зоны некроза головного мозга у лабораторных животных наблюдалось в случае введения соединений **9c**, **10c** и **11c**, биологическая активность которых превосходит или сопоставима с лекарственным препаратом мексидолом. В структуре данных веществ присутствует остаток глицилглицина или глициллейцина в ядре 2-изопропил-6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она и остаток глицина в случае 2-метил-6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она (таблица 5.5). Таким образом, структуры **9c**, **10c** и **11c** помимо антихолинэстеразного действия могут реализовать церебропротекторную активность за счёт снижения некротических процессов в головном мозге [77].

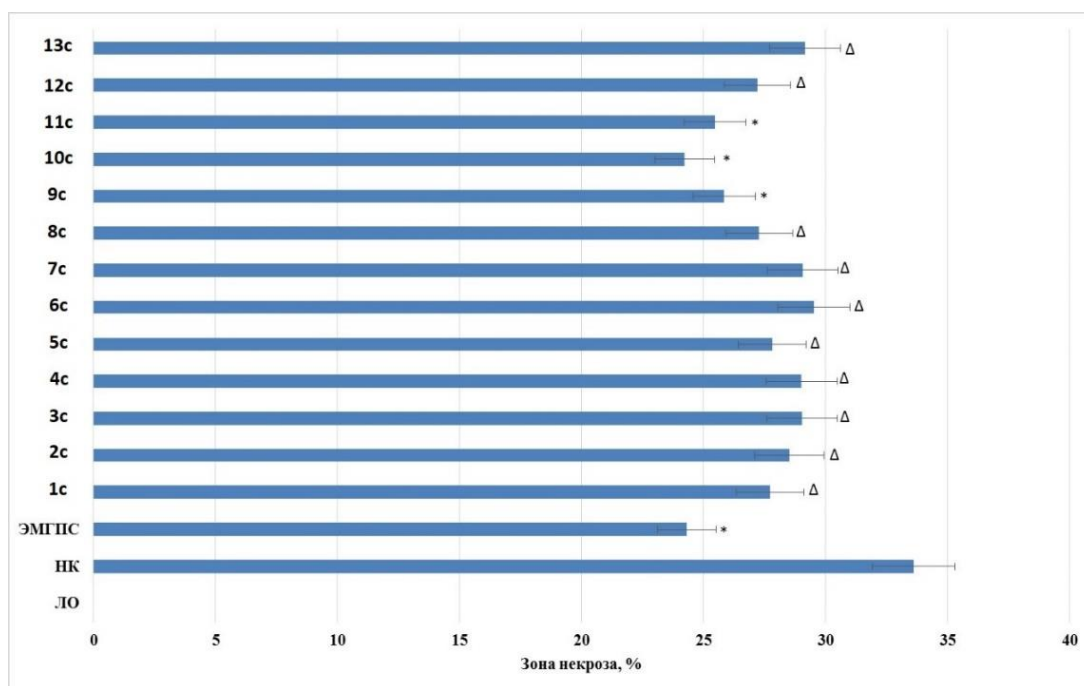


Рисунок 5.1 – Влияние исследуемых соединений и ЭМГПС на площадь зоны некроза головного мозга

Таблица 5.5 – Соединения-лидеры по результатам снижения зоны некроза головного мозга

Вид фармакологической активности и её выраженность	Структуры соединений-лидеров
<b>Церебропротекторная,</b> <b>НК = 33,6%</b> <b>9c = 23,1%</b> <b>10c = 27,9%</b> <b>11c = 24,2%</b> <b>Мексидол = 27,7%</b>	 <b>9c</b> <b>10c</b> <b>11c</b>

#### 5.1.4. Ингибирующая активность главной протеазы (Mpro) и папаино-подобной протеазы (PLpro) SARS-Cov-2, полученных БАС

Пандемия новой коронавирусной инфекции обуславливает необходимость создания высокоэффективных и безопасных противокоронавирусных препаратов.

Биологической мишенью для поиска веществ с противовирусной активностью против SARS-Cov-2 являются протеазы вируса: главная и папаино-подобная [170].

Для оценки антикоронавирусной активности определяли степень ингибирования ферментативной активности, которую рассчитывали по разнице оптической плотности опытной/контрольной и холостой проб в % [88, 112].

Азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды уступают по ингибированию главной протеазы SARS-Cov-2 своим соответствующим 2-замещённым 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (таблица 5.6) [60].

Таблица 5.6 – Влияние исследуемых соединений на ингибирование Mpro SARS-Cov-2

Соединение	IC <sub>50</sub> , мкМ/мл	Соединение	IC <sub>50</sub> , мкМ/мл
<i>азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды</i>			
<b>1a</b>	39,8±0,04	<b>2a</b>	21±0,03
<b>3a</b>	20,9±0,02	<b>4a</b>	22±0,06
<b>5a</b>	19,1±0,04	<b>6a</b>	20,7±0,06
<b>7a</b>	21,2±0,02	<b>8a</b>	23,1±0,05
<b>9a</b>	28,1±0,03	<b>10a</b>	26,8±0,05
<b>11a</b>	25,6±0,04	<b>12a</b>	19,9±0,05
<b>13a</b>	4,1±0,02	<b>14a</b>	2,5±0,03
<b>15a</b>	1,4±0,07	<b>16a</b>	7,4±0,05
<b>17a</b>	7,7±0,05	<b>18a</b>	7,3±0,02
<b>19a</b>	8±0,02	<b>Кверцетин</b>	24,4±0,27
<i>2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она</i>			
<b>1b</b>	11,4±0,011	<b>2b</b>	4,4±0,02
<b>3b</b>	3,2±0,011	<b>4b</b>	0,08±0,015
<b>5b</b>	0,07±0,0019	<b>6b</b>	0,07±0,002
<b>7b</b>	3,8±0,015	<b>8b</b>	11,3±0,016
<b>9b</b>	11,7±0,02	<b>10b</b>	7,8±0,012
<b>11b</b>	7,6±0,014	<b>12b</b>	7,2±0,015
<b>13b</b>	9,4±0,016	<b>14b</b>	11,4±0,013
<b>15b</b>	5,5±0,013	<b>16b</b>	2±0,014
<b>17b</b>	2,3±0,018	<b>18b</b>	2,9±0,016
<b>19b</b>	10,7±0,011	<b>Кверцетин</b>	24,4±0,27
<i>производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она</i>			
<b>1c</b>	0,09±0,008	<b>8c</b>	0,012±0,0048
<b>2c</b>	0,09±0,008	<b>9c</b>	0,098±0,0076

## Продолжение Таблицы 5.6

<b>3c</b>	0,1±0,007	<b>10c</b>	0,062±0,0004
<b>4c</b>	0,08±0,009	<b>11c</b>	0,046±0,001
<b>5c</b>	0,062±0,0015	<b>12c</b>	0,09±0,004
<b>6c</b>	0,081±0,0046	<b>13c</b>	0,1±0,007
<b>7c</b>	0,032±0,0087	<b>Кверцетин</b>	24,4±0,27

В отношении папаино-подобной протеазы SARS-Cov-2 (таблица 5.7) наблюдается схожая картина по степени ингибирования для соединений с одинаковыми фармакофорными заместителями в изучаемых рядах.

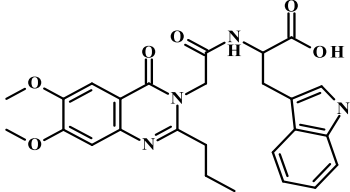
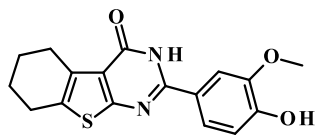
Таблица 5.7 – Влияние исследуемых соединений на ингибирование PLpro SARS-Cov-2

Соединение	IC <sub>50</sub> , мкМ/мл	Соединение	IC <sub>50</sub> , мкМ/мл
<i>азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды</i>			
<b>1a</b>	16,1±0,05	<b>2a</b>	12,8±0,04
<b>3a</b>	13,5±0,05	<b>4a</b>	11,3±0,02
<b>5a</b>	13,1±0,01	<b>6a</b>	13±0,05
<b>7a</b>	12,5±0,03	<b>8a</b>	14,9±0,02
<b>9a</b>	15,2±0,02	<b>10a</b>	16,6±0,05
<b>11a</b>	15,9±0,04	<b>12a</b>	18,3±0,02
<b>13a</b>	2,1±0,07	<b>14a</b>	1,8±0,03
<b>15a</b>	1,6±0,06	<b>16a</b>	3,8±0,05
<b>17a</b>	3,7±0,04	<b>18a</b>	3,6±0,06
<b>19a</b>	4,8±0,05	<b>Кверцетин</b>	31,9±0,74
<i>2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-оны</i>			
<b>1b</b>	10,6±0,01	<b>2b</b>	1,9±0,011
<b>3b</b>	1,6±0,013	<b>4b</b>	0,03±0,0016
<b>5b</b>	0,04±0,0014	<b>6b</b>	0,06±0,0017
<b>7b</b>	3,3±0,017	<b>8b</b>	11,4±0,018
<b>9b</b>	6,6±0,018	<b>10b</b>	6,3±0,01
<b>11b</b>	6,5±0,015	<b>12b</b>	7,1±0,015
<b>13b</b>	8,9±0,017	<b>14b</b>	11,6±0,011
<b>15b</b>	7,8±0,013	<b>16b</b>	1,5±0,014
<b>17b</b>	0,9±0,017	<b>18b</b>	3,3±0,012
<b>19b</b>	5,4±0,015	<b>Кверцетин</b>	31,9±0,74
<i>производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она</i>			
<b>1c</b>	0,08±0,002	<b>8c</b>	0,013±0,0093
<b>2c</b>	0,07±0,004	<b>9c</b>	0,041±0,001
<b>3c</b>	0,07±0,004	<b>10c</b>	0,074±0,0038
<b>4c</b>	0,05±0,006	<b>11c</b>	0,023±0,002
<b>5c</b>	0,016±0,0006	<b>12c</b>	0,07±0,007
<b>6c</b>	0,025±0,0072	<b>13c</b>	0,1±0,003
<b>7c</b>	0,018±0,001	<b>Кверцетин</b>	31,9±0,74

Среди азометиновых производных наиболее активными являются **13a**, **14a** и **15a**. При этом все соединения статистически значимо превосходят по активности кверцетин. Сочетание гидрокси- и метоксигрупп с тетрагидропиримидиновым ядром у соединений **4b**, **5b** и **6b** привело к проявлению данными структурами выраженных противовирусных свойств (таблица 5.8). Что касается производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она, то все соединения показали высокую способность ингибировать протеазы SARS-CoV-2. Наиболее выраженная активность наблюдается у вещества **8c**, содержащего остаток глицилтриптофана [18].

Причём согласно литературным данным, соединения-лидеры превосходят по активности известный препарат эбселен, для которого концентрация полумаксимального ингибирования для главной протезы приводится равная  $0,67 \pm 0,09$  мкМ/мл, а для папаино подобной –  $0,52 \pm 0,06$  мкМ/мл [116].

Таблица 5.8 – Соединения-лидеры по результатам противовирусной активности

Вид фармакологической активности и её выраженность	Структуры соединений-лидеров
<p><b>Противовирусная,</b> 4b, 5b, 6b, 1c-13c – превосходят по литературным данным препарат эбселен <b>IC<sub>50</sub> Mpro = 0,67</b> <b>IC<sub>50</sub> PLpro = 0,52</b></p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>8c: IC<sub>50</sub> Mpro = 0,012</b> <b>IC<sub>50</sub> PLpro = 0,013</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>4b: IC<sub>50</sub> Mpro = 0,08</b> <b>IC<sub>50</sub> PLpro = 0,03</b></p> </div> </div> <p style="text-align: center;">IC<sub>50</sub> приведено в мкМ/мл</p>

Исходя из результатов первичного фармакологического скрининга, можно предположить, что наиболее высокую противовирусную активность следует ожидать у соединений содержащих ядро пиримидин-4-она. В первую очередь это касается производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов. Таким образом, ядро 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-



она является перспективным скаффолдом для разработки соединений с противовирусной активностью, в частности против COVID-19.

### 5.1.5. Изучение противовоспалительной активности

Воспалительные процессы сопровождают многие социально значимые заболевания, поэтому синтез новых соединений с противовоспалительным действием, необходимых для лечения целого ряда болезней, является важным направлением научных исследований [45]. Изучение противовоспалительной активности синтезированных соединений проводили на модели острого экссудативного воспаления в дозе 50 мг/кг, и вводили соединения однократно перорально в виде водной суспензии. В качестве референтного средства использовали «Диклофенак» (таблетки 50 мг, STADA, вводили в дозе 50 мг/кг).

Первая серия опытов была скрининговой и выполнялась на ограниченном количестве животных. Согласно результатам молекулярного моделирования выделены наиболее перспективные вещества (глава 3), которые стали объектами исследований. Изучаемые соединения разделены на ациклические предшественники – азометиновые производные бензотиофен-3-карбоксамиды (**2a**, **12a**, **13a**, **14a**, **15a**) и их циклические продукты тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**2b**, **12b**, **13b**, **14b** и **15b**). Такой подход позволяет выявить вклад гетероциклического ядра в противовоспалительную активность, так как фармакофорные фрагменты являются одинаковыми. Результаты представлены в таблице 5.9.

Таблица 5.9 – Влияние исследуемых соединений на экссудативную фазу острого воспаления (n=3), в дозе 50 мг/кг

Соединение	Прирост массы лапы в %
<b>2a</b>	35,93±3,05
<b>12a</b>	47,84±3,59
<b>13a</b>	39,87±6,65

## Продолжение Таблицы 5.9

<b>14a</b>	33,67±2,63
<b>15a</b>	42,69±2,08
<b>2b</b>	43,52±1,87
<b>12b</b>	49,32±4,58
<b>13b</b>	53,86±5,51
<b>14b</b>	43,60±6,32
<b>15b</b>	58,39±7,01
<b>Контроль</b>	67,06±3,17

В первичных скрининговых тестах острого воспаления соединениями-лидерами являются азометиновые производные **2a** и **14a**, что позволило выделить эти структуры, как наиболее перспективные для дальнейших исследований. Эти вещества относятся к азометинам бензотиофен-3-карбоксамиды, что позволяет предположить более выраженную противовоспалительную активность у конформационно более подвижных ациклических производных.

Далее соединения **2a** и **14a** изучались на группах животных, состоящих из 8 особей в каждой. В первой серии исследуемые вещества вводили разово за час до инъекции флогогена (профилактическое введение). В качестве референтного средства использовали диклофенак. Результаты представлены в таблице 5.10.

Таблица 5.10 – Влияние соединений-лидеров и препарата сравнения на экссудативную фазу острого воспаления в дозе 50 мг/кг (n=8)

Соединение	Показатели		P*
	Прирост массы лапы в %	Прирост массы лапы, г	
<b>Контроль</b>	53,84±8,56	0,090±0,020	–
<b>Диклофенак</b>	32,14±5,47	0,054±0,010	≤0,05 – 40%
<b>2a</b>	37,49±5,42	0,062±0,008	≤0,05 – 31%
<b>14a</b>	32,57±7,46	0,055±0,013	≤0,05 – 39%

\*достоверно относительно контроля

Во второй серии исследуемые вещества вводили в течение 5 суток (терапевтическое введение). Результаты представлены в таблице 5.11.

Таблица 5.11 – Изучение противовоспалительной активности соединений-лидеров при курсовом применении на модели формалинового отека в дозе 50 мг/кг (n=8)

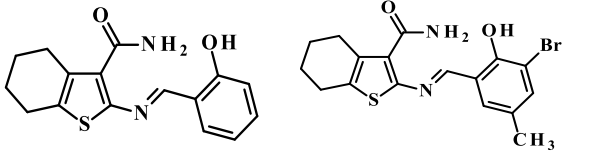
Соединение	Прирост массы лапы, г	P*
Контроль	0,090±0,006	–
Диклофенак	0,051±0,006	≤0,05 – 43%
<b>2a</b>	0,074±0,006	≤0,05 – 18%
<b>14a</b>	0,054±0,008	≤0,05 – 40%

\*достоверно относительно контроля

В случае курсового введения соединений-лидеров выявлена их сопоставимая активность с референтным препаратом, причём структура **14a** обладает такой же активностью, как диклофенак.

Таким образом, соединения **2a** и **14a**, содержащие азометиновый гидроксифенильный фрагмент, обладают выраженной противовоспалительной активностью. При этом наиболее перспективным веществом является **14a**, содержащее в гидроксифенильном фрагменте атом брома (таблица 5.12).

Таблица 5.12 – Соединения-лидеры по результатам противовоспалительной активности

Вид фармакологической активности и её выраженность	Структуры соединений-лидеров
<p><b>Противовоспалительная,</b></p> <p><b>14a</b> и <b>2a</b> – на уровне диклофенака (% = 32,14)</p>	 <p><b>2a</b> (% = 37,49)      <b>14a</b> (% = 32,57)</p> <p>% - прирост массы лапы мышей</p>

### 5.1.6. Изучение антимикробной активности

В связи с развитием у патогенных микроорганизмов антибиотикорезистентности поиск новых эффективных антибактериальных БАС представляет значимый интерес [19]. Оценка антибактериальной активности

производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотеофен-3-карбоксамиды проводилась в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus* MP1988 и *Escherichia coli* 89 (ГБУЗ АО «ГКБ № 3 им. С. М. Кирова», г. Астрахань). Использовали метод серийных разведений [8], в концентрациях 128 мкг/мл; 64 мкг/мл; 32 мкг/мл; 16 мкг/мл; 8 мкг/мл; 4 мкг/мл; 2 мкг/мл; 1 мкг/мл; 0,05 мкг/мл; 0,025 мкг/мл.

Как видно из результатов исследования (таблица 5.13), соединениями-лидерами, обладающими выраженным антимикробным действием в отношении *E. coli*, является вещества **4a**, **5a**, **6a**, **10a**, которое характеризуется МПК<sub>50</sub> в интервале доз 16-32 мкг/мл. Их активность сопоставима с референтным препаратом цефтриаксоном, в то же время в высоких концентрациях они значительно уступали левомицетину. Значимым фармакофорным фрагментом для проявления антибактериальной активности является гидроксиметоксифенильный и гидрокситретбутилфенильный фрагмент.

Таблица 5.13 – Активность соединений в отношении *E. coli*

Конц. соед. мкг/мл	Степень подавления роста <i>E. coli</i> (%) соединением/препаратами сравнения													
	1a	2a	3a	4a	5a	6a	7a	8a	9a	10a	16a	17a	Ц	Л
128	57	48	55	58	63	56	45	52	53	53	50	54	56	88
64	54	38	47	53	60	52	43	44	43	52	49	48	55	70
32	45	33	45	53	51	50	40	42	42	50	48	47	43	69
16	44	33	43	52	44	47	35	37	40	47	42	47	40	58
8	41	30	38	47	42	43	32	35	36	46	40	47	40	44
4	35	31	38	45	40	34	32	35	35	42	39	42	38	34
2	33	29	38	43	37	34	30	35	34	42	38	33	37	25
1	30	27	33	40	35	29	29	33	32	38	36	33	34	22
0,5	17	25	32	31	34	25	27	32	30	27	32	30	30	15
0,25	17	23	30	33	31	17	23	31	29	23	29	29	29	1

Примечание: Ц-цефтриаксон, Л- левомицетин.

На динамику роста *S. aureus* (таблица 5.14) соединения оказывали менее выраженное влияние, чем на *E. coli* (Гр-). Вещества демонстрировали бактериостатическое действие лишь при самых больших концентрациях и по степени воздействия значительно уступали цефтриаксону и левомицетину.

Наиболее высокую антимикробную активность в отношении *S. Aureus* проявили вещества **9a**, **6a**, **10a** и **16a**, содержащие 4-метоксифенильный, 2-гидрокси-5-трет-бутилфенильный, 2-гидрокси-3-метоксифенильный и 2-фурильный фармакофорные фрагменты. Степень подавления роста соединениями **9a** и **10a** при самой большой концентрации была максимальной и составляла 62%. При снижении концентрации активность соединений снижалась. При 64 мкг/мл МПК<sub>50</sub> отмечалась у соединений **9a**, **6a** и **16a**.

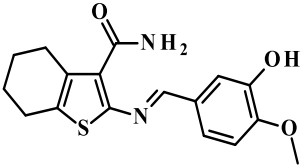
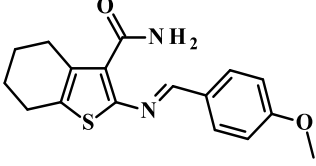
Таблица 5.14 – Активность соединений в отношении *S. aureus*

Конц соед. мкг/мл	Степень подавления роста <i>S. aureus</i> (%) соединением/препаратами сравнения													
	1a	2a	3a	4a	5a	6a	7a	8a	9a	10a	16a	17a	Ц	М
128	45	48	48	47	55	57	52	44	62	62	54	42	97	92
64	44	44	44	46	46	51	48	43	50	42	54	40	97	92
32	33	34	42	32	38	46	34	43	46	36	46	37	97	91
16	32	33	39	29	28	32	33	40	38	34	42	36	96	90
8	23	32	35	28	27	27	33	38	38	32	41	33	95	89
4	20	31	30	28	28	26	29	35	34	26	32	33	94	88
2	19	21	17	25	27	24	25	33	31	22	27	29	92	84
1	16	20	10	22	23	23	25	31	31	18	24	28	92	84
0,5	15	20	4	20	22	20	22	30	24	17	20	28	84	72
0,25	12	17	2	19	18	18	13	28	24	17	16	21	83	70

Примечание: Ц – цефтриаксон, М- моксигам.

Таким образом, азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды проявляют бактериостатическую активность, более выраженную в отношении представителя Гр- микроорганизмов, что является перспективным для поиска новых антибактериальных лекарственных препаратов (таблица 5.15).

Таблица 5.15 – Соединения-лидеры по результатам противомикробной активности при концентрации 128 мкг/мл

Вид фармакологической активности и её выраженность	Структуры соединений-лидеров	
<p><b>Противомикробная,</b></p> <p><i>E. coli</i> <b>5a</b> – превосходит цефтриаксон,</p> <p><i>S. aureus</i> <b>9a</b> – уступает референтам</p> <p>% - степень подавления роста</p>	<p><i>E. coli</i></p>  <p>5a = 63% цефтриаксон = 56% левомицетин = 88%</p>	<p><i>S. aureus</i></p>  <p>9a = 62% цефтриаксон = 97% левомицетин = 92%</p>

### 5.1.7. Изучение антитирозиновой активности

Гиперпигментация кожи является важной проблемой дерматокосметологии, которая может приводить к формированию у человека заболеваний, в частности онкологических, что обуславливает актуальность поиска новых высокоэффективных ингибиторов тирозиназы [102]. Активность тирозиназы определяли согласно методу, описанному Маруна. Изучаемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде и разбавляли в 50 мМ калий - фосфатного буфера (рН 6.5) с получением двукратных разведений (500 мкг/мл, 250 мкг/мл; 125 мкг/мл и 62.5 мкг/мл) [121]. Койевая кислота, гидрохинон и молочная кислота в аналогичном диапазоне концентраций использовались в качестве эталонов сравнения. Результаты представлены в таблице 5.16.

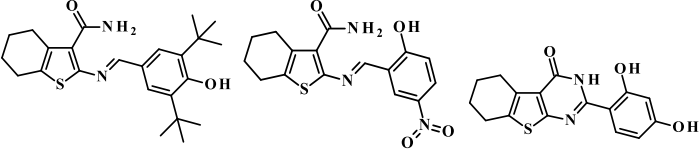
Таблица 5.16 – Антитирозиназная активность 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она и их ациклических предшественников, а также референтов

Соединение	IC <sub>50</sub> , ммоль/мл	Соединение	IC <sub>50</sub> , ммоль/мл
<i>азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды</i>			
<b>1a</b>	3,1±0,2*#Δ	<b>2a</b>	0,84±0,015*#Δ
<b>3a</b>	0,96±0,07*#Δ	<b>4a</b>	1,57±0,09*#Δ
<b>5a</b>	1,51±0,001*#Δ	<b>6a</b>	1,09±0,013*#Δ
<b>7a</b>	0,58±0,015*#	<b>8a</b>	1,16±0,07*#Δ
<b>9a</b>	1,18±0,16*#Δ	<b>10a</b>	1,17±0,07*#Δ
<b>11a</b>	0,26±0,064 *#Δ	<b>12a</b>	0,39±0,019*#Δ
<b>13a</b>	0,82±0,059*#Δ	<b>14a</b>	0,66±0,078*#Δ
<b>15a</b>	0,65±0,05*#Δ	<b>16a</b>	2,35±0,14*#Δ
<b>17a</b>	2,7±0,06*#Δ	<b>18a</b>	0,76±0,009*#Δ
<b>19a</b>	0,8±0,03*#	<b>Гидрохинон</b>	0,15±0,007
<i>2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она</i>			
<b>1b</b>	1,11±0,15*# Δ	<b>2b</b>	0,87±0,06*# Δ
<b>3b</b>	0,7±0,04*#	<b>4b</b>	2,04±0,15*# Δ
<b>5b</b>	2,45±0,11*# Δ	<b>6b</b>	1,57±0,05*# Δ
<b>7b</b>	0,51±0,09*	<b>8b</b>	2,25±0,11*# Δ
<b>9b</b>	2,34±0,17*# Δ	<b>10b</b>	2,11±0,08*# Δ
<b>16b</b>	3,03±0,15*# Δ	<b>17b</b>	2,1±0,1*#Δ
<b>Молочная кислота</b>	0,46±0,031	<b>Койевая кислота</b>	0,32±0,005
Примечание: * - статистически значимо относительно гидрохинона (критерий Ньюмена-Кейлса, p<0,05); # - статистически значимо относительно койевой кислоты (критерий Ньюмена-Кейлса, p<0,05); Δ - статистически значимо относительно молочной кислоты (критерий Ньюмена-Кейлса, p<0,05).			

Результаты изучения антитирозиназной активности свидетельствуют о том, что введение гидроксифенильных заместителей в структуру соединений приводит к увеличению их способности ингибировать тирозиназу. Наибольшей активностью обладало соединение **11a**, содержащее фрагмент 3,5-дитретбутил-4-гидроксифенила (таблица 5.17). Антитирозиназная активность **11a** превосходила активность койевой и молочной кислот, но уступала гидрохинону. Стоит отметить, что гидрохинон является высокотоксичным соединением и практически не используется в медицине. Другим соединением-лидером из группы ациклических предшественников является соединение **12a**, содержащее гидроксифенильный фрагмент в сочетании с нитрогруппой. Все изучаемые 2-замещённые 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она уступают по антитирозиназной активности референтным соединениям. Среди них

соединением-лидером является **7b**, активность которого сопоставима с эффектом молочной кислоты [58, 78, 56].

Таблица 5.17 – Соединения-лидеры по результатам антитирозиновой активности

Вид фармакологической активности и её выраженность	Структуры соединений-лидеров
<p><b>Антитирозиновая,</b>  <b>11a</b> - превосходят койевую и молочную кислоты  <b>12a</b> - на уровне койевой кислоты  <b>7b</b> - на уровне молочной кислоты            койевая к-та (<b>IC<sub>50</sub> = 0,32</b>)            молочная к-та (<b>IC<sub>50</sub> = 0,46</b>)</p>	<div style="text-align: center;">  <p><b>11a (IC<sub>50</sub> = 0,26)    12a (IC<sub>50</sub> = 0,39)    7b (IC<sub>50</sub> = 0,51)</b></p> <p>IC<sub>50</sub> приведено в ммоль/мл</p> </div>

Согласно прогнозу биологической активности *in silico*, приведенному в главе 3, была выявлена значимость гидроксифенильного фармакофорного фрагмента в проявлении антитирозинового действия. Предположение о возможности образования донорно-акцепторной связи с атомами меди и, как следствие, увеличение антитирозиновой активности, в определенной мере подтверждается экспериментальными данными.

### 5.1.8. Оценка острой токсичности

Для соединений-лидеров проводилась оценка острой токсичности при пероральном введении методом «Up and Down», предполагающим проведение двух тестов: тест предельно переносимой дозы и основное тестирование (проводится в случае наличия летальности при проведении теста предельной дозы) [129]. В ходе проведения основного тестирования было установлено, что при введении тетрагидробензотиенопиримидин-4(3H)-онов (**2b**, **4b**, **7b**, **10b**, **11b** и **14b**) и их



ациклических предшественников (**2a**, **4a**, **7a**, **10a**, **11a**), а также производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**1c**, **6c**, **8c**, **9c** и **10c**) животным в дозе 2000 мг/кг (per os) летального исхода отмечено не было. В связи с этим к проведению основного тестирования не приступали. Основываясь на данных, полученных экспериментальным путем, следует, что анализируемые соединения можно отнести к 5-му классу токсичности по GHS-классификации, так как ЛД<sub>50</sub> больше 2000 мг/кг.

## 5.2. Количественные соотношения структура-активность

Изучение количественной взаимосвязи структура-активность занимает важное место для построения математических прогностических моделей (QSAR), которые далее можно использовать в эксперименте *in silico* поиска БАС в родственных рядах органических соединений [15, 68, 135, 21]. С целью построения модели количественной взаимосвязи структура-активность было рассчитано более 5000 молекулярных дескрипторов [81] с использованием онлайн-сервиса Online chemical database (<https://ochem.eu>) [130]. Далее проводили построение математических моделей с последующей кросс-валидацией с исключением по одному, используя trial-версию программы Molegro Data Modeller 7.0 [168].

В ходе поиска наиболее достоверной QSAR-модели использовали следующие методы: частичная регрессия наименьших квадратов, множественная линейная регрессия и искусственная нейронная сеть.

### 5.2.1. Количественные соотношения структура–антихолинэстеразная активность

Наиболее достоверная математическая модель ингибирования ацетилхолинэстеразы азометиновыми производными (**1a-19a**), получена с использованием метода множественной линейной регрессии. Выбор наиболее релевантных молекулярных дескрипторов для регрессионной модели был основан на процедуре прямого отбора и метода градиентного восхождения. При отборе использовали критерии выбора модели для перекрестной проверки модели ( $N=2$ ), выявлено 6 наиболее релевантных дескрипторов (таблица 5.18). В результате была получена следующая модель с  $R^2 = 0,9073$ ,  $Q^2 = 0,7688$  (рисунок 5.2) [149].

$$ПА = -4,33827 * SaaS + 0,356775 * SCBO - 50,9581 * MATS5v - 3,40811 * GATS6m + 14,193 * GATS7v - 9,82131 * -Br [aromatic attach] - 15,6373,$$

где *SaaS* – сумма электронного состояния (aaS) с типом атома без неводородных индексов; *SCBO* – сумма обычных связей; *MATS5v* – автокорреляция Морана, согласно атомных объёмов Ван-дер-Ваальса; *GATS6m* – автокорреляция Гири атомных масс; *GATS7v* – автокорреляция Гири согласно атомных объёмов Ван-дер-Ваальса; - Br [aromatic attach] – количество атомов брома, связанных с ароматическим кольцом.

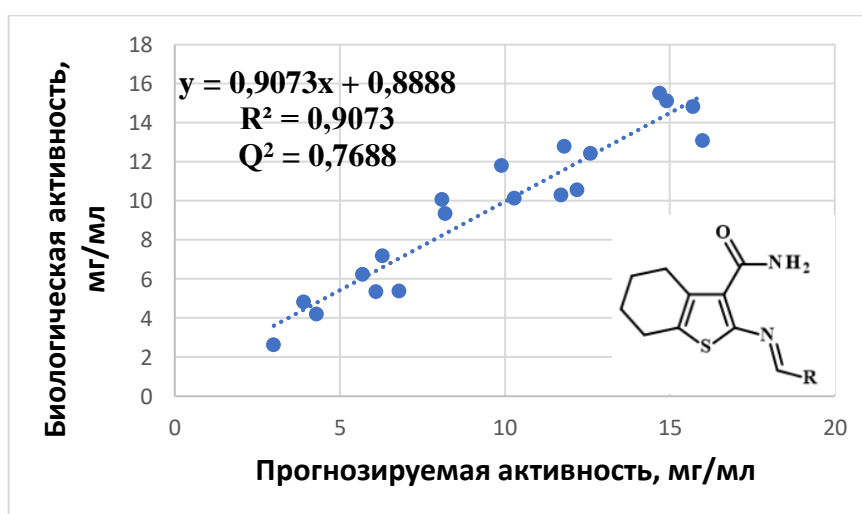


Рисунок 5.2 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой антихолинэстеразной активности азометинов

Таблица 5.18 – Результаты первичного фармакологического скрининга антихолинэстеразной активности азометинов, данные компьютерного прогнозирования антихолинэстеразной активности и дескрипторы QSAR–модели

Шифр	In vitro активность, мг/мл	In silico активность, мг/мл	SaaS	SCBO	MATS5v	GATS6m	GATS7v
<b>1a</b>	12,2	10,589	1,611	29,500	-0,260	1,091	0,928
<b>2a</b>	16	13,125	1,535	30,500	-0,246	1,354	1,170
<b>3a</b>	8,2	9,369	1,565	30,500	-0,246	1,079	0,849
<b>4a</b>	3	2,654	1,543	32,500	-0,056	1,081	1,003
<b>5a</b>	4,3	4,213	1,535	32,500	-0,068	1,076	1,066
<b>6a</b>	3,9	4,864	1,514	32,500	-0,056	1,356	1,216
<b>7a</b>	9,9	11,822	1,489	31,500	-0,239	1,343	1,062
<b>8a</b>	10,3	10,146	1,614	30,500	-0,247	1,091	0,920
<b>9a</b>	8,1	10,078	1,594	31,500	-0,234	1,073	0,925
<b>10a</b>	11,8	12,798	1,545	34,500	-0,224	1,259	1,107
<b>11a</b>	6,8	5,413	1,584	38,500	-0,123	0,812	0,752
<b>12a</b>	11,7	10,316	1,412	34,500	-0,176	1,236	1,057
<b>13a</b>	5,7	6,245	1,506	33,500	-0,271	0,596	1,021
<b>14a</b>	6,3	7,219	1,532	32,500	-0,323	0,593	0,938
<b>15a</b>	6,1	5,368	1,520	32,500	-0,497	0,586	0,867
<b>16a</b>	15,7	14,844	1,572	28,000	-0,374	1,149	0,857
<b>17a</b>	14,7	15,542	1,576	29,000	-0,396	1,141	0,803
<b>18a</b>	12,6	12,439	1,574	29,000	-0,296	0,561	0,803
<b>19a</b>	14,9	15,155	1,513	42,000	-0,281	1,055	0,820

Для тетрагидробензотиенопиримидин-4(3*H*)-онов (**1b-19b**), наиболее достоверная математическая модель ингибирования холинэстеразы получена с использованием метода частичной регрессии наименьших квадратов. Выбор наиболее релевантных дескрипторов для математической модели основан на процедуре прямого отбора и метода градиентного восхождения. При отборе мы использовали критерии выбора модели для перекрестной проверки ( $N=2$ ). Было найдено 6 наиболее релевантных дескрипторов (таблица 5.19). В результате расчетов получена следующая модель с  $R^2 = 0,9665$ ,  $Q^2 = 0,9216$  (рисунок 5.3).  $PA = 14,0621 * MATS5v + 6,3805 * GATS7i + 1,94393 * SpDiam\_AEA(dm) - 0,541592 * TDB10p - 1,53407 * Mor04u - 14,0213 * G2s - 1,30113 * F01[C-O] - 7,02158 * LLS\_01 + 4,49331$ , где  $MATS5v$  – автокорреляция Морана согласно атомных объемов Ван-дер-Ваальса;  $GATS7i$  – автокорреляция Гири в зависимости от потенциала ионизации;  $SpDiam\_AEA(dm)$  – характеризует дипольный момент;  $TDB10p$  – 3D-дескриптор на основе топологических расстояний, связанных с поляризуемостью;  $Mor04u$  – дескриптор, который рассчитывается путем

суммирования атомных весов;  $G2s$  – индекс направленности симметрии 2-го порядка;  $F01[C-O]$  – частота связи С-О на топологическом расстоянии для двухмерной пары атомов;  $LLS_{01}$  – модифицированная оценка сходства с лекарствами, полученная Конгривом и др.

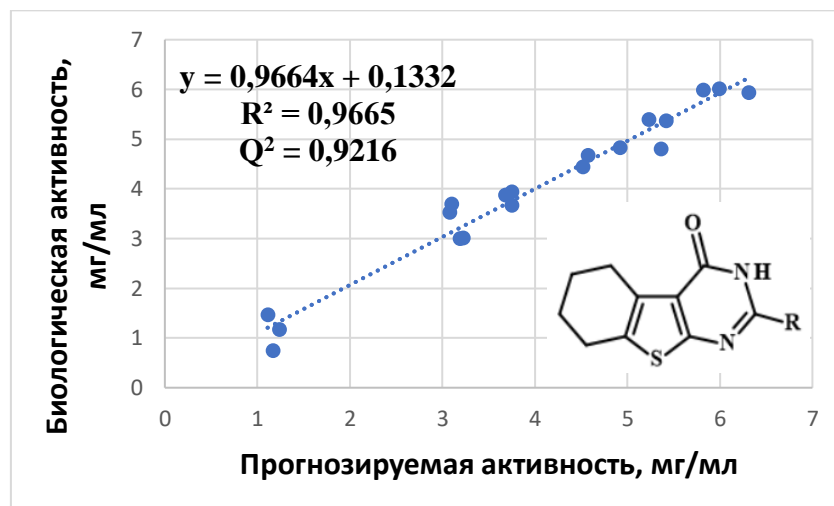


Рисунок 5.3 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой антихолинэстеразной активности тетрагидротиенопиримидинов

Таблица 5.19 – Результаты первичного фармакологического скрининга антихолинэстеразной активности тетрагидротиенопиримидинов, данные компьютерного прогнозирования антихолинэстеразной активности и дескрипторы QSAR–модели

Шифр	in vitro акт-ть, мг/мл	in silico акт-ть, мг/мл	MATS 5v	GATS7 i	SpDiam_AEA(dm)	TDB10 p	Mor04u	G2s	F01[C-O]	LLS_01
1b	6,31	5,923	-0,059	0,843	5,713	3,273	2,557	0,18	1	0,67
2b	5,36	4,800	-0,049	0,899	5,716	3,088	2,99	0,163	2	0,67
3b	3,1	3,689	-0,015	0,824	5,713	3,358	3,341	0,193	2	0,67
4b	1,17	0,740	-0,063	0,726	5,713	3,668	3,461	0,185	4	0,5
5b	1,24	1,158	-0,116	1,03	5,713	3,822	3,913	0,185	4	0,5
6b	1,11	1,461	-0,089	0,788	5,717	3,595	3,279	0,159	4	0,5
7b	3,08	3,522	-0,05	0,88	5,716	3,17	3,645	0,162	3	0,5
8b	3,75	3,927	0,036	0,752	5,713	3,724	3,78	0,225	1	0,67
9b	5,99	6,009	-0,031	1,015	5,713	3,751	3,219	0,174	3	0,33
10b	4,52	4,434	0,025	0,662	5,717	4,36	4,121	0,153	2	0,33
11b	3,19	2,997	-0,065	0,9	5,741	5,088	4,521	0,205	2	0,33
12b	5,42	5,357	-0,038	0,932	5,784	3,464	3,487	0,175	2	0,5
13b	3,22	3,005	-0,038	0,742	5,718	4,688	2,942	0,159	4	0,33
14b	3,68	3,872	-0,209	0,803	5,718	4,842	2,696	0,16	2	0,33

Продолжение таблицы 5.19

<b>15b</b>	5,23	5,393	-0,063	0,791	5,718	5,668	2,674	0,163	2	0,33
<b>16b</b>	3,75	3,665	-0,131	0,876	5,637	2,81	1,987	0,168	3	0,67
<b>17b</b>	5,82	5,976	-0,085	0,869	5,638	3,92	0,519	0,164	3	0,67
<b>18b</b>	4,92	4,827	-0,094	0,791	5,638	7,455	1,133	0,168	3	0,33
<b>19b</b>	4,57	4,673	-0,074	0,968	5,778	5,432	3,154	0,156	3	0,33

### 5.2.2. Количественные соотношения структура–антиамилоидная активность

Наиболее достоверная модель для азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды (**1a-19a**) получена с использованием нейронной сети. Для построения модели использовали нейронную сеть с алгоритмом обратного распространения. В модели использовали набор 8 отобранных дескрипторов (таблица 5.20): *knotpv*, *BEHm8*, *BELe1*, *MATS6p*, *GATS7m*, *GATS6v*, *GATS1e*, *GATS8p*, где *knotpv* – отражает разветвленность молекулы; *BEHm8* – 8 матрицы нагрузки по атомным массам; *BELe1* – наименьшее значение матрицы по атомным электроотрицательностям Сандерсона; *MATS6p* – автокорреляции Морана поляризуемости атомов; *GATS7m* – автокорреляция Гири, связанная с атомным массам; *GATS6v* – автокорреляция Гири, характеризующая объёмы Ван-дер-Ваальса; *GATS1e* – автокорреляция Гири по атомным электроотрицательностям; *GATS8p* – автокорреляция Гири по поляризуемости атомов. Входной слой - 9 нейронов, скрытый слой - 12 нейронов, выходной слой - 1 нейрон. Была получена модель со значением  $R^2 = 0,9849$ . При проведении кросс-валидации с исключением по одному ( $N=1$ ) получено значение  $Q^2 = 0,9311$  (рисунок 5.4). Уравнение не приводится, так как оно громоздко, но его можно воспроизвести по условиям расчёта, приведенным выше.

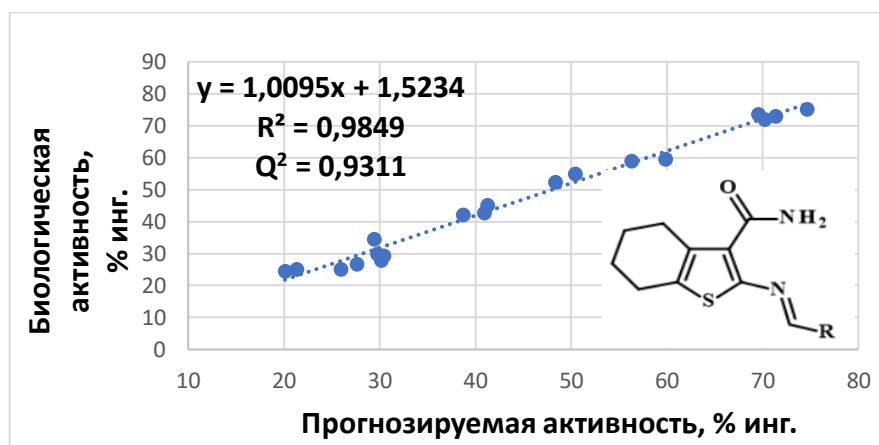


Рисунок 5.4 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой антиамилоидной активности азометинов

Таблица 5.20 – Результаты первичного фармакологического скрининга антиамилоидной активности азометинов, данные компьютерного прогнозирования антиамилоидной активности азометинов и дескрипторы QSAR-модели

Шифр	in vitro акт-ть, % инг.	in silico акт-ть, % инг.	knotpv	BEHm8	BELe1	MATS6	GATS7m	GATS6v	GATS1e	GATS8
1a	21,3	25,150	-0,924	2,432	1,853	0,002	0,603	0,890	0,612	0,568
2a	56,3	58,946	-1,001	2,460	1,853	-0,278	0,593	1,055	0,602	0,643
3a	59,8	59,636	-0,935	2,544	1,853	0,159	0,613	0,631	0,602	1,244
4a	30,1	27,847	-1,043	2,545	1,856	0,107	0,911	0,707	0,769	1,337
5a	27,6	26,686	-1,042	2,709	1,855	0,127	0,916	0,644	0,769	1,250
6a	29,4	34,597	-1,101	2,667	1,856	-0,250	0,872	1,025	0,769	0,882
7a	69,5	73,597	-1,001	2,559	1,852	-0,111	0,605	0,839	0,614	1,106
8a	41,2	45,124	-0,950	2,617	1,878	-0,010	0,599	1,005	0,611	0,779
9a	40,9	42,684	-1,002	2,617	1,856	0,159	0,613	0,626	0,811	1,231
10a	70,2	71,895	-0,867	2,642	1,914	-0,338	1,027	1,655	0,592	0,954
11a	71,3	72,876	-0,587	2,726	1,956	0,072	1,499	0,810	0,586	1,641
12a	20,1	24,430	-1,067	2,525	1,868	0,198	0,969	0,679	0,464	1,366
13a	38,7	42,195	-1,090	2,719	1,852	-0,173	0,734	0,872	0,785	0,902
14a	30,4	29,345	-1,218	2,718	1,876	-0,191	0,742	0,874	0,620	0,751
15a	29,7	29,937	-1,218	2,721	1,846	-0,150	0,745	0,784	0,648	0,878
16a	74,6	75,206	-0,907	2,182	1,778	-0,057	0,081	1,261	0,824	0,904
17a	25,9	25,134	-0,911	2,316	1,778	-0,054	0,619	1,248	0,819	0,761
18a	48,3	52,273	-0,925	2,323	1,778	0,008	0,935	0,821	0,823	1,630
19a	50,4	54,999	-1,147	2,719	1,871	-0,021	0,568	1,054	0,553	1,063

Для 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (1b-19b) наиболее достоверная математическая модель получена с использованием метода частичной регрессии наименьших квадратов. Для выбора дескрипторов использовали процедуру прямого отбора и метод градиентного восхождения. Значение  $R^2$  для модели составляло 0,7932. При проведении кросс-

валидации с исключением по одному (N=1) получено значение  $Q^2 = 0,5213$  (рисунок 5.5). В модели использовались те же дескрипторы, что и для их ациклических предшественников, которые были приведены выше (таблица 5.21).  
 $ПА = 41,7079 * knotpv + 28,2134 * BEHm8 + 25,3214 * BELe1 - 16,5198 * MATS6p - 0,0696426 * GATS7m - 28,8457 * GATS6v + 31,738 * GATS1e - 9,17294 * GATS8p + 3,8428$ .

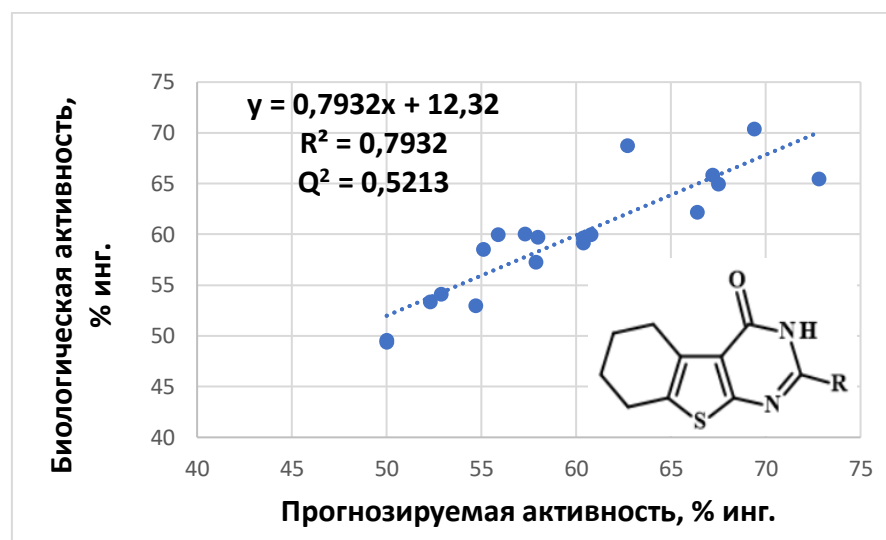


Рисунок 5.5 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой антиамилоидной активности тетрагидротиенопиримидинов

Таблица 5.21 – Результаты первичного фармакологического скрининга антиамилоидной активности тетрагидротиенопиримидинов, данные компьютерного прогнозирования антиамилоидной активности тетрагидротиенопиримидинов и дескрипторы QSAR-модели

Шифр	in vitro акт-ть, % инг.	in silico акт-ть, % инг.	knotpv	BEHm8	BELe1	MATS 6p	GATS7m	GATS6v	GATS1e	GATS8p
<b>1b</b>	67,5	65,006	-1,032	2,435	1,873	-0,005	0,790	1,140	0,662	0,000
<b>2b</b>	55,1	58,565	-1,090	2,462	1,873	-0,094	0,763	1,178	0,626	0,404
<b>3b</b>	66,4	62,186	-1,044	2,542	1,873	0,281	0,763	0,790	0,626	1,078
<b>4b</b>	57,9	57,285	-1,152	2,543	1,875	0,140	0,992	0,966	0,776	1,268
<b>5b</b>	67,2	65,843	-1,152	2,683	1,875	0,181	1,003	0,887	0,776	1,025
<b>6b</b>	60,8	60,024	-1,192	2,656	1,875	-0,140	0,992	1,227	0,776	0,844
<b>7b</b>	60,4	59,163	-1,091	2,557	1,872	0,114	0,746	0,914	0,626	1,114
<b>8b</b>	57,3	60,040	-1,058	2,616	1,893	-0,028	0,717	1,316	0,662	0,564
<b>9b</b>	62,7	68,790	-1,111	2,617	1,875	0,283	0,715	0,783	0,827	0,979
<b>10b</b>	50	49,562	-0,957	2,642	1,924	-0,174	1,082	1,722	0,620	1,157

Продолжение Таблицы 5.21

<b>11b</b>	69,4	70,382	-0,698	2,706	1,963	0,101	1,342	1,053	0,616	1,933
<b>12b</b>	50	49,405	-1,157	2,525	1,885	0,348	1,096	0,740	0,477	1,430
<b>13b</b>	72,8	65,504	-1,182	2,693	1,872	-0,050	1,267	1,055	0,792	0,864
<b>14b</b>	60,4	59,705	-1,310	2,691	1,891	-0,031	1,344	0,973	0,642	0,629
<b>15b</b>	55,9	60,014	-1,310	2,696	1,867	-0,023	1,392	0,926	0,667	0,797
<b>16b</b>	54,7	53,021	-0,996	2,181	1,789	-0,049	0,074	1,324	0,836	0,548
<b>17b</b>	58	59,733	-1,001	2,289	1,789	-0,040	0,842	1,229	0,832	0,462
<b>18b</b>	52,3	53,341	-1,015	2,298	1,789	-0,013	2,008	1,064	0,837	1,563
<b>19b</b>	52,9	54,132	-1,237	2,692	1,871	-0,034	0,588	1,062	0,564	1,023

### 5.2.3. Количественные соотношения структура–противовирусная активность

Корреляция для азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов (**1a-19a**) с созданием наиболее удачной математической модели в отношении главной протеазы SARS-CoV-2 получена с использованием частичной регрессии наименьших квадратов. Выбор наиболее релевантных рецепторов осуществлялся методом прямого отбора, релевантность дескрипторов основывалась на корреляции к зависимой переменной, критерием отбора модели была кросс-валидация с  $k = 2$  по коэффициенту Пирсона (таблица 5.22). Значение  $R^2$  составило 0,9326. При проведении кросс-валидации с исключением по одному ( $N=1$ ) получено значение  $Q^2 = 0,9043$  (рисунок 5.6).  $PA = 37,8124 * VE1\_B(e) + 28,681 * GATS7m + 122,695 * Glu + 30,5058 * Elp - 182,393$ , где  $VE1\_B(e)$  – сумма коэффициентов матрицы электроотрицательности Сандерсона;  $GATS7m$  – автокорреляция Гири по атомным массам;  $Glu$  – невзвешенный WHIM индекс направленной симметрии 1-го порядка;  $Elp$  – WHIM индекс направленности поляризуемости молекулы.



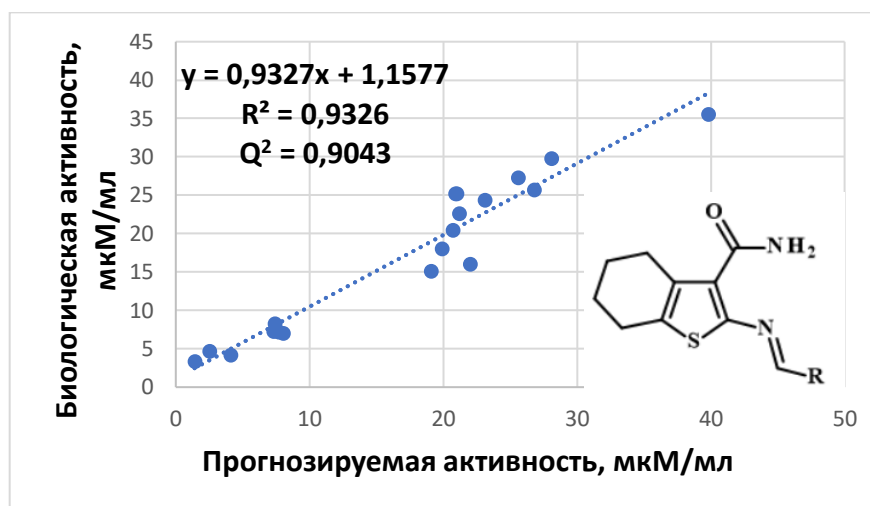


Рисунок 5.6 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой противовирусной активности азометиннов

Таблица 5.22 – Результаты первичного фармакологического скрининга противовирусной активности азометиннов, данные компьютерного прогнозирования противовирусной активности азометиннов и дескрипторы QSAR–модели

Шифр	in vitro акт-ть, мкМ/мл	in silico акт-ть, мкМ/мл	VE1_B(e)	GATS7m	Glu	E1p
1a	39,8	35,491	4,026	0,972	0,191	0,47
2a	21,0	25,140	3,781	1,055	0,161	0,477
3a	20,9	25,146	3,896	0,944	0,161	0,439
4a	22,0	16,015	3,699	0,782	0,17	0,5
5a	19,1	15,087	3,697	0,843	0,157	0,467
6a	20,7	20,424	3,647	0,879	0,206	0,473
7a	21,2	22,587	3,634	1,027	0,2	0,445
8a	23,1	24,315	3,854	0,963	0,159	0,454
9a	28,1	29,735	3,957	0,967	0,171	0,452
10a	26,8	25,695	3,741	1,105	0,151	0,538
11a	25,6	27,262	3,859	0,914	0,181	0,502
12a	19,9	18,012	3,679	0,958	0,159	0,469
13a	4,1	4,170	3,585	0,481	0,17	0,536
14a	2,5	4,660	3,512	0,498	0,196	0,522
15a	1,4	3,275	3,517	0,462	0,161	0,645
16a	7,4	8,225	3,504	0,875	0,165	0,419
17a	7,7	7,151	3,521	0,795	0,162	0,45
18a	7,3	7,232	3,521	0,501	0,165	0,717
19a	8,0	6,980	3,466	0,757	0,176	0,492

Для 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (**1b-19b**) наиболее достоверная прогностическая математическая модель в отношении главной протеазы SARS-CoV-2 получена с использованием частичной регрессии наименьших квадратов. Релевантность молекулярных дескрипторов основывалась на корреляции к зависимой переменной, критерием отбора модели была кросс-валидация с  $k = 2$  по коэффициенту Пирсона (таблица 5.23). Значение  $R^2$  составило 0,8690. При проведении кросс-валидации с исключением по одному ( $N=1$ ) получено значение  $Q^2 = 0,8160$  (рисунок 5.7).  $PA = 68,4078 * Eta\_FL\_A - 1,21704 * TDB10p + 84,2677 * G2i + 484,514 * "R5p+" - 10,4621 * BLTF96 - 71,8563$ , где  $Eta\_FL\_A$  – средний индекс локальной функциональности по расширенному топохимическому атому;  $TDB10p$  – 3D-дескриптор на основе топологических расстояний и поляризуемости;  $G2i$  – WHIM индекс направленности симметрии 2-го порядка, связанного с потенциалам ионизации;  $"R5p+"$  – R максимальная автокорреляция по поляризуемости;  $BLTF96$  – базовая линия токсичности, Верхар MLOGP (mmol/l).

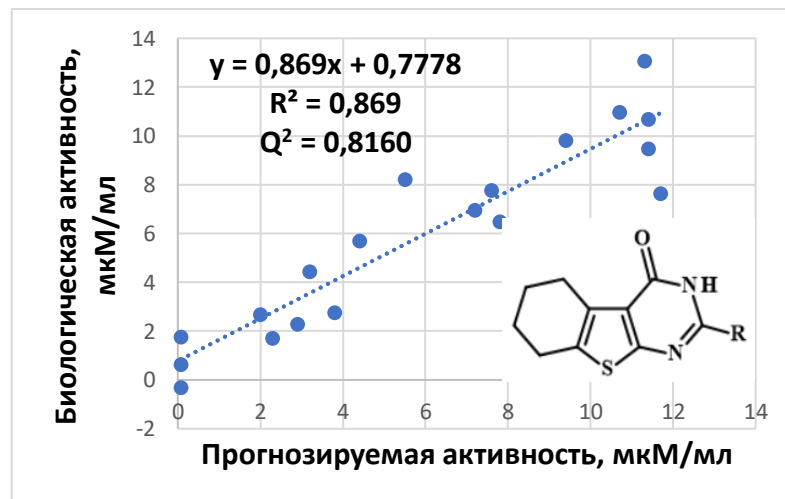


Рисунок 5.7 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой противовирусной активности тетрагидротиенопиримидинов

Таблица 5.23 – Результаты первичного фармакологического скрининга противовирусной активности тетрагидропиридинонов, данные компьютерного прогнозирования противовирусной активности тетрагидропиридинонов и дескрипторы QSAR–модели

Шифр	in vitro акт-ть, мкМ/мл	in silico акт-ть, мкМ/мл	Eta_FL_A	TDB10p	G2i	R5p+	BLTF96
<b>1b</b>	11,4	10,674	0,232	3,273	0,173	0,022	-4,34
<b>2b</b>	4,4	5,692	0,233	3,088	0,179	0,02	-3,88
<b>3b</b>	3,2	4,431	0,232	3,358	0,163	0,021	-3,88
<b>4b</b>	0,08	0,626	0,234	3,668	0,185	0,015	-3,64
<b>5b</b>	0,07	-0,299	0,234	3,822	0,159	0,018	-3,64
<b>6b</b>	0,07	1,753	0,235	3,595	0,185	0,017	-3,64
<b>7b</b>	3,8	2,763	0,234	3,17	0,205	0,019	-3,44
<b>8b</b>	11,3	13,077	0,223	3,724	0,202	0,02	-4,54
<b>9b</b>	11,7	7,651	0,233	3,751	0,187	0,02	-4,08
<b>10b</b>	7,8	6,496	0,194	4,36	0,168	0,015	-4,68
<b>11b</b>	7,6	7,766	0,165	5,088	0,161	0,009	-5,41
<b>12b</b>	7,2	6,968	0,247	3,464	0,189	0,019	-3,92
<b>13b</b>	9,4	9,830	0,217	4,687	0,159	0,037	-3,94
<b>14b</b>	11,4	9,479	0,207	4,842	0,174	0,021	-4,61
<b>15b</b>	5,5	8,220	0,196	5,668	0,179	0,019	-4,71
<b>16b</b>	2	2,691	0,226	2,81	0,168	0,024	-3,51
<b>17b</b>	2,3	1,720	0,217	3,92	0,164	0,022	-3,73
<b>18b</b>	2,9	2,300	0,202	7,456	0,168	0,024	-4,17
<b>19b</b>	10,7	10,982	0,257	5,432	0,168	0,02	-4,59

#### 5.2.4. Количественные соотношения структура–антигитрозиная активность

Наиболее достоверная математическая модель азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды (**1a-19a**) получена с использованием частичной регрессии наименьших квадратов. Выбор дескрипторов осуществляли процедурой прямого отбора и методом градиентного восхождения. Для построения модели использовали набор из 6 дескрипторов (таблица 5.24). Значение  $R^2$  составляло 0,9765. При проведении кросс-валидации с исключением по одному ( $N=1$ ) получено значение  $Q^2 = 0,9611$  (рисунок 5.8).  $PA = -6,74157 * SM6\_B(p) - 193,837 * JGI7 + 0,0392108 * RDF110s + 38,0607 * GIp + 0,00441012 * Vm + 0,117534 * CATS2D\_06\_AL + 57,6867$ , где  $SM6\_B(p)$  – спектральный момент 6-го

порядка поляризуемости; *JGI7* – средний индекс топологического заряда; *RDF110s* – функция радиального распределения; *Glp* – индекс направленности симметрии 1-го порядка поляризуемости ковариационных матриц атомных координат; *Vm* – индекс общего размера по массе; *CATS2D\_06\_AL* – акцептор CATS2D-липофильности.

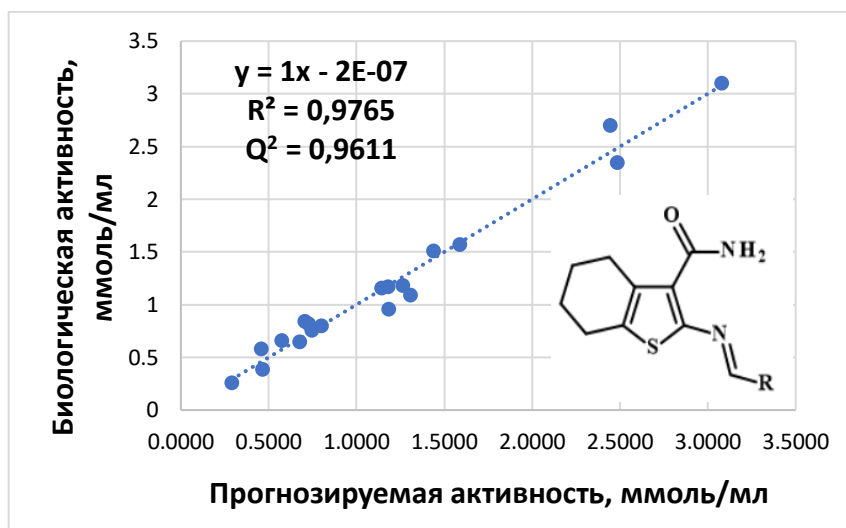


Рисунок 5.8 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой антитирозиновой активности азометинов

Таблица 5.24 – Результаты первичного фармакологического скрининга антитирозиновой активности азометинов, данные компьютерного прогнозирования антитирозиновой активности азометинов и дескрипторы QSAR–модели

Шифр	in vitro акт-ть, ммоль/мл	in silico акт-ть, ммоль/мл	SM6_B(p)	JGI7	RDF110s	Glp	Vm	CATS2D_06_AL
1a	3,1	3,0798	8,95	0,012	8,606	0,191	48,55	2
2a	0,84	0,7065	8,994	0,018	8,439	0,161	48,47	4
3a	0,96	1,1823	8,992	0,014	5,718	0,161	54,98	2
4a	1,57	1,5885	9,041	0,012	16,83	0,157	69,82	2
5a	1,51	1,4373	9,041	0,012	13,09	0,157	68,78	2
6a	1,09	1,3082	9,042	0,016	12,31	0,17	58,28	4
7a	0,58	0,4581	9,034	0,02	5,599	0,174	54,25	4
8a	1,16	1,1441	9,004	0,014	5,789	0,159	54,65	3
9a	1,18	1,2623	8,999	0,013	6,195	0,158	61,52	2
10a	1,17	1,1800	9,147	0,018	24,87	0,161	83,72	10
11a	0,26	0,2878	9,282	0,016	33,34	0,144	124,6	8
12a	0,39	0,4646	9,116	0,016	12,64	0,159	72,13	4
13a	0,82	0,7269	9,121	0,015	13,94	0,157	101	4
14a	0,66	0,5728	9,126	0,015	11,9	0,158	83,2	4

Продолжение таблицы 5.24

<b>15a</b>	0,65	0,6755	9.155	0.015	10.97	0.161	133.2	4
<b>16a</b>	2,35	2,4851	8.886	0.011	3.233	0.165	44.08	2
<b>17a</b>	2,7	2,4438	8.94	0.01	8.848	0.162	49.28	2
<b>18a</b>	0,76	0,7452	9.185	0.01	0.704	0.165	85.15	2
<b>19a</b>	0,8	0,8015	9.294	0.01	19.41	0.154	113.2	5

Наиболее достоверная модель для 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**1b-10b**, **16b**, **17b**) получена с использованием частичной регрессии наименьших квадратов. Для выбора дескрипторов использовали процедуру прямого отбора и метод градиентного восхождения. Для построения модели использовали набор из 5 дескрипторов (таблица 5.25). Значение  $R^2$  составляло 0,9872. При проведении кросс-валидации с исключением по одному ( $N=1$ ) получено значение  $Q^2 = 0,9253$  (рисунок 5.9).  $PA = 0,824589 * MATS2s + 47,6695 * SpMin5\_Bh(e) - 0,584656 * Eig07\_AEA(ed) - 4,48954 * E2v - 28,6066 * Di - 34,394$ , где  $MATS2s$  – автокорреляция Морана по I-состоянию;  $SpMin5\_Bh(e)$  – наименьшее собственное значение  $n.5$  матрицы электроотрицательности Сандерсона;  $Eig07\_AEA(ed)$  – собственное значение из расширенной матрицы  $n.7$  смежности ребер;  $E2v$  – индекс направленности 2-го порядка по объёму Ван-дер-Ваальса;  $Di$  – общий индекс доступности D по потенциалу ионизации.

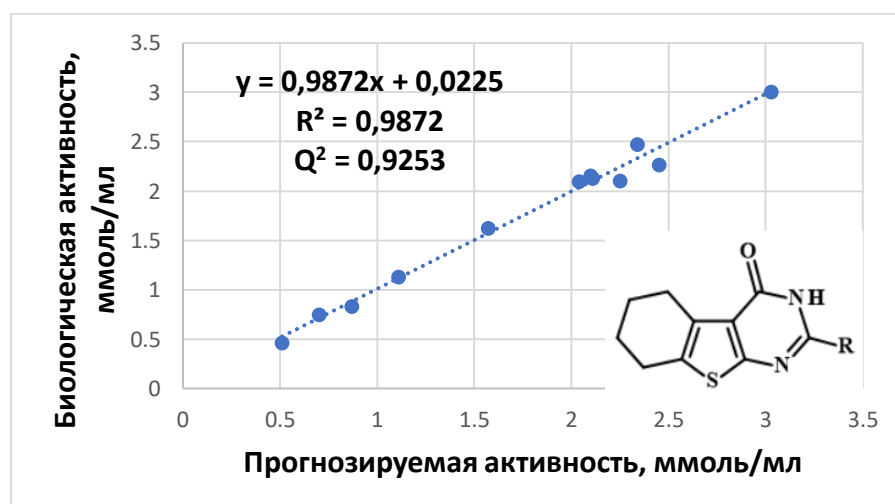


Рисунок 5.9 – Корреляционная зависимость биологической и прогнозируемой антипролиферативной активности тетрагидротииенопиримидинов

Таблица 5.25 – Результаты первичного фармакологического скрининга антитирозиназной активности тетрагидротиенопиримидинов, данные компьютерного прогнозирования антитирозиназной активности тетрагидротиенопиримидинов и дескрипторы QSAR–модели

Шифр	in vitro акт-ть, ммоль/мл	in silico акт-ть, ммоль/мл	MATS2s	SpMin5_Bh(e)	Eig07_AEA(ed)	E2v	Di
<b>1b</b>	1,11	1,135	0,105	1,096	3,62	0,353	0,458
<b>2b</b>	0,87	0,833	0,087	1,096	3,921	0,346	0,463
<b>3b</b>	0,7	0,752	0,104	1,094	4,23	0,344	0,457
<b>4b</b>	2,04	2,100	0,071	1,125	4,275	0,278	0,47
<b>5b</b>	2,45	2,271	0,071	1,125	4,314	0,324	0,456
<b>6b</b>	1,57	1,627	0,054	1,125	4,372	0,355	0,472
<b>7b</b>	0,51	0,469	0,092	1,094	4,448	0,338	0,463
<b>8b</b>	2,25	2,109	0,131	1,125	4,23	0,344	0,462
<b>9b</b>	2,34	2,479	0,09	1,125	4,255	0,34	0,448
<b>10b</b>	2,11	2,136	0,14	1,125	4,591	0,318	0,458
<b>16b</b>	3,03	3,011	0,103	1,125	3,616	0,358	0,44
<b>17b</b>	2,1	2,159	0,148	1,125	4,102	0,359	0,461

## Выводы к главе 5

1. Ингибирующую способность ацетилхолинэстеразы проявили соединения, содержащие гидрокси- и метоксифенильные группы, как среди азометинов 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды (**4a**, **5a**, **6a**), так и среди производных 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она (**4b**, **5b**, **6b**). Наиболее высокую ингибирующую активность оказали производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**3c**, **6c**, **9c** и **10c**), содержащие остатки дипептидов.

2. Введение трет-бутилгидроксифенильного фрагмента в целевые соединения приводит к увеличению ингибирующей активности образования амилоидных частиц. Наиболее выраженным действием обладают соединения **7a**, **10a**, **11a**, **16a**, **11b** и **13b**.

3. Производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она **9c**, **10c** и **11c** обладают церебропротекторной активностью соизмеримой с мексидолом, вследствие снижения некротических процессов в головном мозге.

4. Сочетание гидроксиметоксифенильных групп с тетрагидротиенопиримидиновым ядром, в отличие от ациклических предшественников привело к проявлению выраженной противовирусной активности (**4b**, **5b**, **6b**). Однако все производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она (**1c-13c**) проявили высокую способность ингибировать протеазы SARS-CoV-2, а это позволяет оценить их, как перспективные вещества для лечения коронавирусной инфекции.

5. Выраженными противовоспалительными свойствами обладают азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды – **2a** и **14a**. При этом вещество **14a**, содержащее 5-бром-2-гидрокси-3-метилфенильный остаток, проявляет противовоспалительную активность, сопоставимую с препаратом сравнения - диклофенак.

6. Азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды проявляют бактериостатическую активность, более выраженную в

отношении представителя Гр- микроорганизмов (*E. coli*), что требует дальнейшего изучения.

7. Результаты исследования антитирозиназной активности позволяют определить значимость гидроксифенильных фрагментов в проявлении соединениями антитирозиназной активности. Вещество **11a**, содержащее 3,5-дитрет-бутил-4-гидроксифенильный фрагмент, превосходит по активности койевую и молочную кислоты.

8. Осуществлён сравнительный анализ ациклических предшественников и гетероциклических производных. Соединения, содержащие в базисной структуре ядро пиримидин-4(3*H*)-она, превосходят по величине антихолинэстеразного действия и противовирусной активности соответствующие им ациклические предшественники и донепезил, а для противовоспалительной активности наблюдается обратная зависимость.

9. Предложены математические модели количественных соотношений структура-активность для антихолинэстеразной, антиамилоидной, противовирусной и антитирозиназной активностью с высокими коэффициентами  $R^2$  и  $Q^2$ , которые можно использовать для *in silico* поиска БАС в родственных рядах органических соединений.



## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Посредством сетевой фармакологии выявлены белковые мишени и их взаимосвязи, которые обосновывают системное церебропротекторное действие соединений.
2. Используя логико-структурный подход и онлайн сервис Way2Drug PASS online, предложены модификации скаффолда и отобраны фармакофорные фрагменты для генерирования виртуальных структур *in silico*.
3. Посредством молекулярного докинга осуществлён прогноз и анализ предполагаемых механизмов взаимодействия моделируемых соединений с белковыми мишенями, что позволило выделить для дальнейшего синтеза наиболее перспективные структуры с заданными фармакологическими свойствами.
4. Модифицирована методика получения азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов и выявлено влияние зарядового контроля на полноту прохождения реакции. В соответствии с предложенным механизмом реакции изменены условия для циклизации азометинов с образованием 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она посредством использования ДМСО для формирования переходного комплекса.
5. Согласно модифицированной методике синтеза получить ряд новых производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с алкильными заместителями и остатками нейроактивных аминокислот и дипептидов. Предложен механизм реакции замены гетероатома кислорода на азот в процессе синтеза производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она и разработан технологически доступный, экономически выгодный и экологически безопасный способ их получения.
6. С целью получения водорастворимых БАС синтезированы натриевые соли гидроксифенильных производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов и 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она.

7. Синтезировано 55 новых целевых соединений и 15 вновь синтезированных (согласно базе данных Reaxys), строение которых подтверждено методами анализа:  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-, ИК-спектроскопией и масс-спектрометрией, а высокая степень чистоты посредством ВЭЖХ.
8. В ходе фармакологического скрининга установлены соединения-лидеры, обладающие выраженной церебропротекторной, противовирусной, противомикробной, противовоспалительной и антитирозиновой активностью.
9. Выявлены качественные и количественные закономерности структура-активность в рядах синтезированных соединений. Сравнительный корреляционный анализ позволил предложить математические модели антихолинэстеразной, антиамилоидной, противовирусной и антитирозиновой активности.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Сведения о высокой фармакологической активности структур синтезированных рядов органических соединений позволяют рассматривать их в качестве потенциальных новых лекарственных средств, в частности с церебропротекторным действием. Результаты исследований рекомендуются также к использованию для молекулярного конструирования БАС.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Осуществлённое исследование показало перспективность дальнейшего изучения конденсированных производных пиримидин-4(3*H*)-она и их ациклических предшественников для молекулярного конструирования активной фармацевтической субстанции. Модифицированные методы синтеза следует использовать для получения родственных рядов БАС. Проведённый фармакологический скрининг демонстрирует целесообразность прогноза и целенаправленного синтеза новых соединений-лидеров для создания высокоэффективных и безопасных лекарственных средств. В дальнейшем следует осуществить углублённые фармакологические исследования с целью разработки новых активных фармацевтических субстанций.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АХЭ – ацетилхолинэстераза

БАС – биологически активные соединения

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГАМК –  $\gamma$ -аминомасляная кислота

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамид

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

ИЭР – ионизации электрораспылением

ЛД<sub>50</sub> – средняя летальная доза

ЛУК – ледяная уксусная кислота

СКО – среднее квадратическое отклонение

Тпл. – температура плавления

УФ-спектроскопия – ультрафиолетовая спектроскопия

ЦНС – центральная нервная система

ЦОГ-2 – циклооксигеназа-2

ЯМР-спектроскопия – спектроскопия ядерного магнитного резонанса

IC<sub>50</sub> – концентрация полумаксимального ингибирования

M<sub>pro</sub> – главная протеаза SARS-CoV-2

PL<sub>pro</sub> – папаино-подобная протеаза SARS-CoV-2

QSAR-модель – количественная модель взаимосвязи структуры и активности

R<sub>f</sub> – фактор удерживания

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аненко, Д.С. Синтез и изучение взаимосвязи структура-активность 2,6-диалкил сульфамидных производных пиримидин-4(1H)-она и их ациклических предшественников: дис. ... канд. фармац. наук : 3.4.2 / Аненко Денис Станиславович ; науч. рук. И.П. Кодониди ; Волгоградский государственный медицинский университет. – Пятигорск, 2022. – 24 с.
2. Васильев, П.М. Нейросетевое моделирование зависимости ГАМК<sub>A</sub>-агонистической активности химических соединений от спектра энергий множественного докинга / П.М. Васильев, А.Н. Кочетков, М.А. Перфильев // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 19. – № 4. – С. 88-93.
3. Васильев, П.М. Сравнительный фармакофорный анализ противоишемической активности известных лекарственных веществ и молекулярных комплексов производных ГАМК / П.М. Васильев, В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2008. – № 3(19). – С. 73-74.
4. Влияние 3-[(е)-3-(3,5-дитрет-бутил-4-гидроксифенил)-3-оксопроп-1-енил]-6-метокси-хромен-4-она на окислительный статус головного мозга крыс в условиях церебральной ишемии / Д.И. Поздняков [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2021. – Т. 84. – № 3. – С. 3-7.
5. Влияние новых производных 2-пирролидона на изменение вазодилатирующей функции эндотелия сосудов в условиях экспериментальной церебральной ишемии / А.В. Воронков [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2020. – Т. 8. – № 1. – С. 53-62.
6. ВЭЖХ анализ новых биологически активных соединений: азометинов, тиенопиримидинов и диметоксихиназолинонов / А.С. Чиряпкин, М.В. Ларский, И.П. Кодониди, А.Л. Петрова // Бюллетень науки и практики. – 2022. – Т. 8. – № 12. – С. 296-305.

7. Дзяк, Л.А. Роль холинергического дефицита в патогенезе психоневрологических заболеваний / Л.А. Дзяк, Е.С. Цуркаленко. // Международный неврологический журнал. – 2019. – №. 3 (103). – С. 39-47.
8. Донкова, Н.В. Изучение устойчивости к антибиотикам бактерий рода *Vacillus* методом серийных разведений / Н.В. Донкова, С.А. Донков, М.Ю. Кадетова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2019. – №. 5. – С. 94-100.
9. Исследование спектра нейротропной активности синтезированных соединений - производных хиназолинона-4 / Э.А. Манвелян [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – № S. – С. 151-152.
10. Карпова, М.Н. ГАМК и ее рецепторы в патогенезе эпилепсии / М.Н. Карпова, Л.В. Кузнецова, Н.Ю. Клишина // Успехи физиологических наук. – 2015. – Т. 46. – № 3. – С. 46-59.
11. Кодониди, И.П. Компьютерное изучение спектра биологической активности N-ацильных производных 2-оксо-1-пирролидинацетамида / И.П. Кодониди, А.С. Чиряпкин, Д.С. Аненко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2018. – Вып. 73. – С. 20-24.
12. Кодониди, И.П. Молекулярное конструирование N-ацильных производных 2-(2-оксопирролидин-1-ил)-ацетамида, обладающих ГАМК-ергической и глутаматергической активностями / И.П. Кодониди, А.С. Чиряпкин, Д.Е. Творовский // Фармация и фармакология. – 2021. – Т. 9. – № 1. – С. 84-97.
13. Кодониди, И.П. Молекулярное конструирование и целенаправленный синтез N-производных 1,3-дiazинона-4: дис. ... д-ра фармац. наук: 14.04.02 / Иван Панайотович Кодониди ; науч. конс. Э.Т. Оганесян ; Пятигорская государственная фармацевтическая академия. – Пятигорск, 2011. – 372с.
14. Колесникова, Е.Э. H<sub>2</sub>S в нейродегенерации: "двуликий Янус" / Е.Э. Колесникова // Сибирский научный медицинский журнал. – 2019. – Т. 39. – № 5. – С. 41-51.

15. Количественный анализ "структура - противоопухолевая активность" и рациональный молекулярный дизайн бифункциональных VEGFR-2/HDAC-ингибиторов / О.В. Тиньков [и др.] // Компьютерные исследования и моделирование. – 2019. – Т. 11. – № 5. – С. 911-930.
16. Масс-спектрометрическая идентификация химических соединений для развития алгоритмов машинного обучения и искусственного интеллекта / Ю.В. Бурькина [и др.] // Доклады Российской академии наук. Химия, науки о материалах. – 2020. – Т. 492-493. – № 1. – С. 116-122.
17. Машковский, М.Д. Лекарственные средства. / М.Д. Машковский. – 16-е изд. – М.: Новая Волна, 2021. – 1216 с. – ISBN: 978-5-7864-0345-0.
18. Моделирование и изучение антикоронавирусной активности производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она в отношении SARS-COV-2 методами *in silico* и *in vitro* / А.С. Чиряпкин [и др.] // Бюллетень науки и практики. – 2023. – Т. 9. – № 8. – С. 58-68.
19. Намазова-Баранова, Л.С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Л.С. Намазова-Баранова, А.А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Т. 14. – №. 5. – С. 341-354.
20. О противовоспалительной активности новых гетерилзамещенных производных 2,3-дигидро-1H-хиназолин-4-она / А.Ф. Бандура [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 9-6. – С. 1260-1263.
21. Обобщенный фрагментный подход в исследованиях QSAR/QSPR / С.Б. Соснин, Е.В. Радченко, В.А. Палюлин, Н.С. Зефирова // Доклады Академии наук. – 2015. – Т. 463. – № 3. – С. 297-300.
22. Парфенов, В.А. Болезнь Альцгеймера: ошибки ведения пациентов / В.А. Парфенов // Медицинский Совет. – 2020. – Т. 19. – С. 23-28.
23. Патент RU2763899C1 Российская Федерация, МПК: А61К 31/00, А61К 31/505, С07D 239/36, А61Р 35/00. Натриевая соль 4-{2-[2-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-винил]-6-этил-4-оксо-5-фенил-4H-пиримидин-1-ил}-бензсульфамида, обладающая противоопухолевым действием [Электронный



ресурс] / Кит. О.И. [и др.] (РФ), № 2021108124; заявл. 26.03.21; опубл. 11.01.22, Бюл. № 2. - 8 с. – Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2763899C1>.

24. Патент US20090018149A1 Соединенные Штаты Америки, МПК: А61К 31/381. 4,5,6,7-Tetrahydrobenzo[B] thiophene derivatives and methods for medical intervention against mycobacterial infections [Электронный ресурс] / A. Missio [et al.] (США), № 10/510,791; заявл. 09.04.2003; опубл. 15.01.2009. - 38 р. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US20090018149A1/en>.

25. Патент US6414013B1 Соединенные Штаты Америки, МПК: А61К31/38. Thiophene compounds, process for preparing the same, and pharmaceutical compositions containing the same background of the invention [Электронный ресурс] / D. Fancelli [et al.] (США), № 09/596,550; заявл. 19.06.2000; опубл. 02.07.2002. – 22 р. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US6414013B1/en>.

26. Патент US6667300B2 Соединенные Штаты Америки, МПК: А61К 31/33. Inhibitors of human phosphatidylinositol 3-kinase delta [Электронный ресурс] / С. Sadhu [et al.] (США), № 10/027,591; заявл. 19.10.2001; опубл. 23.12.2003. -83 р. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US6667300B2/en>.

27. Патент US7524853B2 Соединенные Штаты Америки, МПК: А01N 43/54. Compounds and their use in therapy [Электронный ресурс] / L. Hirvelae [et al.] (США), № 11/011,744; заявл. 15.12.2004; опубл. 28.04.2009. – 126 р. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US7524853B2/en>.

28. Патент. US8268842B2 Соединенные Штаты Америки, МПК: А61К 31/519. Fused-ring 4-охопуридин derivative [Электронный ресурс] / Т. Nagase [et al.] (США), № 12/378,163; заявл. 11.02.2009; опубл. 18.09.2012. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US8268842B2/en>.

29. Патент US8324227B2 Соединенные Штаты Америки, МПК: С07D 495/04. Thieno[2,3-d]-pyrimidine-4(3H)-one compounds with antifungal properties and process thereof [Электронный ресурс] / Н.В. Vorate [et al.] (США), № 12/742,211; заявл. 05.09.2008; опубл. 04.12.2012. – 21 р. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US8324227B2/en>.

30. Патент WO0170737A2 Международная патентная система, МПК: C07D 403/00. Therapeutic compounds for the treatment of asthma and allergy, and methods of use thereof [Электронный ресурс] / Y. Gao [et al.] (США), № PCT/US01/08726; заявл. 20.03.2001; опубл. 27.09.2001. – 85 р. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/WO2001070737A2/en>.
31. Патент WO2003106435 Международная патентная система, МПК: A61P 3/06. Fused-ring pyrimidin-4(3H)-one derivatives, processes for the preparation and uses thereof [Электронный ресурс] / S. Kaneko [et al.] (Япония), № PCT/JP2003/007677; заявл. 17.06.2003; опубл. 24.12.2003. – 365 р. – Режим доступа: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2003106435>.
32. Поздняков, Д.И. Новые производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она как перспективные соединения для терапии болезни Альцгеймера / Д.И. Поздняков, А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2023. – Т. 26. – № 4. – С. 23-27.
33. Прогноз глутаматергической активности N-ацильных производных 2-оксо-1-пирролидинацетамида методом молекулярного докинга / А.А. Глушко, А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди, Л.И. Щербакова // Беликовские чтения: материалы VII Всероссийской научно-практической конференции – Пятигорск, 2019. – С. 642-649.
34. Прогноз, синтез и изучение дофаминергической активности гидрокси- и метоксифенильных производных 4-(3)хиназолинона [Электронный ресурс] / А.Г. Овакимян [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2-2. – С. 511. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=23168>.
35. Путилина, А.Д. Современные представления о механизмах формирования резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам / А.Д. Путилина, Т.С. Коменкова, Е.А. Зайцева // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2019. – Т. 21. – № 10. – С. 125-130.
36. Разработка методики моделирования взаимодействия биологически активных веществ с активным центром ангиотензин-превращающего фермента / А.А. Глушко [и др.] // Фармация и фармакология. – 2017. – Т. 5. – № 5. – С. 487-503.

37. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздравсоцразвития России. Том Часть 1. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с.
38. Синтез 2,6-диалкильных производных пиримидин-4(1H)-она, обладающих противовоспалительным действием / И.П. Кодониди [и др.] // Фармация. – 2021. – Т. 70. – № 1. – С. 11-17.
39. Синтез и идентификация N-ацильных производных 2-оксо-1-пирролинацетамида / И.П. Кодониди [и др.] // Беликовские чтения: материалы VII Всероссийской научно-практической конференции. – Пятигорск, 2019. – С. 228-233.
40. Синтез и изучение противовоспалительной активности 2-винилпроизводных 4-(2,6-диметил-4-оксо-5-фенил-4H-пиримидин-1-ил)-бензсульфамида / И.П. Кодониди [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 4. – С. 91.
41. Синтез и прогноз противовоспалительной активности 2-замещенных 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди, А.В. Ивченко, Л.П. Смирнова // Бюллетень науки и практики. – 2021. – Т. 7. – № 12. – С. 25-33.
42. Синтез и термохимическое моделирование механизма реакции получения N-ацильных производных 2-(2-оксопирролидин-1-ил)-ацетамида / И. П. Кодониди [и др.] // Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология. – 2020. – Т. 63. – № 2. – С. 38-44.
43. Синтез и церебропротекторная активность производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она с нейроактивной аминокислотой – глицин. / А.С. Чиряпкин [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2022. – Вып. 77. – С. 223-229.
44. Синтез новых N-гидроксифенильных и толильных производных пиримидин-4(1H)-она, обладающих противовоспалительной активностью / И.П. Кодониди [и др.] // Фармация и фармакология. – 2017. – Т. 5. – № 6. – С. 556-567.

45. Современные знания о воспалительных заболеваниях различной локализации и этиологии: новые возможности фармакотерапии / Г.В. Порядин [и др.] // Фармаптека. – 2020. – Т. 27. – № 14. – С. 37-46.
46. Сочнев, В.С. Синтез и изучение взаимосвязи "структура-активность" серосодержащих производных 1,3-дiazинона-4: автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук: 14.04.02 / Сочнев Вадим Сергеевич ; науч. рук. И.П. Кодониди ; Волгоградский государственный медицинский университет. – Пятигорск, 2016. – 24 с.
47. Старчина, Ю.А. Степень тяжести и терапия когнитивных нарушений / Ю.А. Старчина, В.В. Захаров // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2021. – Т. 13. – № 3. – С. 119-124.
48. Тюренков, И.Н. Нейропротекторное действие новых толильных производных ГАМК при судорожном повреждении мозга / И.Н. Тюренков, Л.Е. Бородкина, А.В. Воронков // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2004. – № 11. – С. 24-26.
49. Тюренков, И.Н. Синергия в действии ГАМК и гипогликемических препаратов / И.Н. Тюренков, Т.И. Файбисович, Д.А. Бакулин // Проблемы Эндокринологии. – 2023. – Т. 69. – № 4. – С. 61-69.
50. Физер, Л. Реагенты для органического синтеза / Физер Л., Физер М. – М.: Мир, 1970. – 724 с.
51. ФС Хроматография 1.2.1.2.0001.15 [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. – 14-е изд. – Т. 31. – М., 2018. – С. 845-872. – Режим доступа: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_3/HTML](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_3/HTML) (дата обращения: 21.05.2022).
52. Целенаправленный поиск и фармакологическая активность ГАМК-позитивных соединений / И.П. Кодониди, А.В. Арльт, Э.Т. Оганесян, М.Н. Ивашев. – Пятигорск: ПГФА, 2011. – 283 с. – ISBN 978-5-94122-083-0.
53. Целенаправленный синтез N-пептидных производных пиримидин-4(1H)-она, обладающих церебропротекторными свойствами / И. С. Луговой [и др.] // Журнал

научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19. – № 8. – С. 195-199.

54. Целенаправленный синтез азометинов 2-амино-тетрагидро-бензотиофен-3-карбоксамида, влияющих на ЦОГ-2 / А.С. Чиряпкин [и др.] // MedChem-Russia 2021: материалы 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием. – Волгоград, 2021. – С. 524.

55. Целенаправленный синтез производных хиназолин-4(3H)-она и их ациклических предшественников с заданными фармакологическими свойствами / И.П. Кодониди, М.В. Ларский, М.И. Кодониди, А.С. Чиряпкин. – М.: Русайнс, 2022. – 170 с. – ISBN: 9785466017885.

56. Чиряпкин, А.С. In silico и in vitro изучение антитирозиновой активности новых оснований Шиффа - азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди, Д.И. Поздняков // Juvenis Scientia. – 2023. – Т. 9. – № 3. – С. 31-41.

57. Чиряпкин, А.С. In silico прогноз биологической активности и синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди // Беликовские чтения: материалы X международной научно-практической конференции. – Пятигорск, 2022. – С. 64-76.

58. Чиряпкин, А.С. Изучения антитирозиновой активности азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди, Д.И. Поздняков // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2022. – № 1. – С. 110-116.

59. Чиряпкин, А.С. Прогноз противомикробной активности и целенаправленный синтез производных тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она / А.С. Чиряпкин // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXIII международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Томск, 2022. – С. 458-359.

60. Чиряпкин, А.С. Противокоронавирусная активность азометинов, тиенопиримидинов и производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди, Д.И. Поздняков // Аллея науки. – 2022. – Т. 1 – № 10(73). – С. 245-248.
61. Чиряпкин, А.С. Разработка методики качественного анализа N-ацильных производных 2-оксо-1-пирролидинацетамида методом тонкослойной хроматографии / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди, Д.С. Аненко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов – Пятигорск, 2018. – Вып. 73. – С. 47-50.
62. Чиряпкин, А.С. Синтез азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида с фурановыми заместителями / А.С. Чиряпкин // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXII международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Томск, 2021. – С. 377-378.
63. Чиряпкин, А.С. Синтез и идентификация биологически активных 2-замещенных 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2021. – Вып. 76. – С. 161-167.
64. Чиряпкин, А.С. Синтез новых натриевых солей азометинов и советующих им пиримидинов / А.С. Чиряпкин, И.П. Кодониди, А.А. Круглая // Аллея науки. – 2022. – Т. 1. – № 10(73). – С. 316-320.
65. Чиряпкин, А.С. 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 // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10. – № 2. – С. 25-31.
66. Шостак, Н.А. Нестероидные противовоспалительные препараты - современные аспекты их применения / Н.А. Шостак, А.А. Клименко // Клиницист. – 2013. – № 3-4. – С. 53-61.

67. N-производные хиназолинона-4 и их ациклические предшественники: синтез и взаимосвязь структура - психотропная активность / И.П. Кодониди [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 4. – С. 27-33.
68. QSAR-моделирование связи "структура - антиокислительная активность" в ряду некоторых производных бензопирана и бензофурана / Ю.З. Мартынова [и др.] // Вестник Башкирского университета. – 2019. – Т. 24. – № 3. – С. 573-580.
69. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors / S. Zolghadri [et al.] // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry – 2019. – Vol. 34. – № 1. – P. 279–309.
70. Ali, E.M.H. Thieno[2,3-d]pyrimidine as a promising scaffold in medicinal chemistry: recent advances / E.M.H. Ali, M.S Abdel-Maksoud, C.H. Oh // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2019. – Vol. 27. – P. 1159-1194.
71. Anti-Alzheimer and Antioxidant Activities of Coptidis Rhizoma Alkaloids / H.A. Jung [et al.] // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 2009. – Vol. 32. – P. 1433-1438.
72. Atropisomeric quinazolin-4-one derivatives are potent noncompetitive  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor antagonists / W. Welch [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2001. – Vol. 11. – № 2. – P. 177-181.
73. Autodock4 and AutodockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility / G.A. Morris [et al.] // Journal of Computational Chemistry. – 2009. – Vol. 30. – P. 2785-2791.
74. Balti, M. An Efficient Synthetic Route towards Novel 3N-Substituted Thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-ones / M. Balti, M. Hachicha, M. Lotfi El Efrif // Heterocycles. – 2015. – Vol. 91. – № 7. – P. 1455-1464.
75. Breijyeh, Z. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment / Z. Breijyeh, R. Karaman // Molecules. – 2020. – Vol. 25. – № 24. – P. 5789.
76. Brian, J.T. Hyperchem, release 2: molecular modeling for the personal computer / J.T. Brian // Journal of Chemical Information and Computer Sciences. – 1992. – Vol. 32. – P. 757–759.

77. Chiriapkin, A.S. Synthesis and evaluation of cerebroprotective activity of novel 6,7-dimethoxyquinazolin-4(3H)-one derivatives containing residues of amino acids and dipeptides / A.S. Chiriapkin, I.P. Kodonidi, D.I. Pozdnyakov // *Chimica Techno Acta*. – 2022. – Vol. 9. – № 2. – P. 20229212.
78. Chiriapkin, A.S. Targeted Synthesis and Study of Anti-tyrosinase Activity of 2-Substituted Tetrahydrobenzo[4,5]Thieno[2,3-d]Pyrimidine-4(3H)-One / A.S. Chiriapkin, I.P. Kodonidi, D.I. Pozdnyakov // *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. – 2022. – Vol. 21. – № 1. – P. 126557.
79. C–N bond formation under Cu-catalysis: Synthesis and in vitro evaluation of N-aryl substituted thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-ones against chorismate mutase / R. Adepu [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 20. – № 17. – P. 5127–5138.
80. Cobalt-Catalyzed Tandem Transformation of 2-Aminobenzonitriles to Quinazolinones Using Hydration and Dehydrogenative Coupling Strategy / S.A. Samim, B.C. Roy, S. Nayak, S. Kundu // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2020. – Vol. 85. – № 17. – P. 11359-11367.
81. Combinatorial QSAR Modeling of Rat Acute Toxicity by Oral Exposure / H. Zhu, T.M. Martin, D.M. Young, A. Tropsha // *Chemical Research in Toxicology*. – 2009. – Vol. 22. – № 12. – P. 1913-1921.
82. Computer-aided prediction of biological activity spectra for chemical compounds: opportunities and limitations / D.A. Filimonov [et al.] // *Biomedical Chemistry: Research and Methods*. – 2018. – Vol. 1. – № 1. – P. 1-21.
83. Crozier, A. Phenols, polyphenols and tannins: an overview / A. Crozier, I. B. Jaganath, M.N. Clifford // *Plant Secondary Metabolites*. Blackwell Publishing Ltd, United Kingdom. – Glasgow, 2007. – P. 1–24.
84. Crystal Structure of Agaricus bisporus Mushroom Tyrosinase: Identity of the Tetramer Subunits and Interaction with Tropolone / W.T. Ismaya [et al.] // *Biochemistry*. – 2011. – Vol. 50. – № 24. – P. 5477–5486.
85. Cytotoxic potential of novel 6,7-dimethoxyquinazolines / M.R. Yadav [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 48. – P. 231-243.



86. Design and synthesis of 6,7-dimethoxyquinazoline analogs as multi-targeted ligands for  $\alpha 1$ - and AII-receptors antagonism / M.R. Yadav [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2013. – Vol. 23. – № 13. – P. 3959-3966.
87. Design of SARS-CoV-2 PLpro Inhibitors for COVID-19 Antiviral Therapy Leveraging Binding Cooperativity / Z. Shen [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2022. – Vol. 65. – № 4. – P. 2940-2955.
88. Design of wide-spectrum inhibitors targeting coronavirus main proteases / H. Yang [et al.] // *PLoS Biology*. – 2005. – Vol. 3. – № 11. – P. e428.
89. Design, Synthesis, and Biological Activity of Tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidine Derivatives as Anti-Inflammatory Agents / Y. Zhang [et al.] // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22. – № 11. – P. 1960.
90. Direct Synthesis of N-Aryl Derivatives of Quinazolin-4(3H)-ones Employing Arylboronic Acids in the Presence of  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  / P. Das [et al.] // *Synlett*. – 2010. – Vol. 5. – P. 721-724.
91. Discovery and development of extreme selective inhibitors of the ITD and D835Y mutant FLT3 kinases / F. Baska [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2019. – Vol. 184. – P. 111710.
92. 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 / L. Ouyang [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2017. – Vol. 60. – № 24. – P. 990-10012.
93. Discovery of new phenyl sulfonyl-pyrimidine carboxylate derivatives as the potential multi-target drugs with effective anti-Alzheimer's action: Design, synthesis, crystal structure and in-vitro biological evaluation / M. Shoaib [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2021. – Vol. 215. – P.113224.
94. Distinct novel quinazolinone exhibits selective inhibition in MGC-803 cancer cells by dictating mutant p53 function / Zhang G.H [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 95. – P. 377-387.

95. Dopamine, in the presence of tyrosinase, covalently modifies and inactivates tyrosine hydroxylase / Y. Xu, A.H. Stokes, R. Roskoski, K.E. Vrana // *Journal of Neuroscience Research*. – 1998. – Vol. 54. – P. 691-697.
96. Dual Action of Dipyridothiazine and Quinobenzothiazine Derivatives-Anticancer and Cholinesterase-Inhibiting Activity / J. Jończyk [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – № 11. – P. 2604.
97. Experimental brain inflammation and neurodegeneration as model of Alzheimer's disease: protective effects of selective COX-2 inhibitors / M.G. Giovannini [et al.] // *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. – 2003. – Vol. 16. – P. 31-40.
98. Fessler, M.B. The challenges and promise of targeting the Liver X Receptors for treatment of inflammatory disease / M.B. Fessler // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2018. – Vol.181. – P. 1–12.
99. Firuzi, O. Coxibs and Alzheimer's disease: should they stay or should they go? / O. Firuzi, D. Praticò // *Annals of Neurology*. – 2006. – Vol. 59. – № 2. – P. 219-228.
100. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following mid-dle cerebral artery occlusion / A. Tamura, D.I. Graham, J. McCulloch, G.M. Teasdale // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 1981. – Vol. 1. – № 1. – P. 53-60.
101. From Serendipity to Rational Identification of the 5, 6, 7, 8-Tetrahydrobenzo [4, 5] thieno [2, 3-d] pyrimidin-4 (3 H)-one Core as a New Chemotype of AKT1 Inhibitors for Acute Myeloid Leukemia / A. Astolfi [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14. – № 11. – P. 2295.
102. Furue, M. Chloracne and hyperpigmentation caused by exposure to hazardous aryl hydrocarbon receptor ligands / M. Furue, G. Tsuji // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2019. – Vol. 16. – № 23. – P. 4864.
103. GABA system dysfunction in autism and related disorders: from synapse to symptoms / S. Coghlan [et al.] // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2012. – Vol. 36. – № 9. – P. 2044-2055.

104. GABA<sub>A</sub> receptor signalling mechanisms revealed by structural pharmacology / S. Masiulis [et al.] // *Nature*. – 2019. – Vol. 565. – P. 454-459
105. GABA<sub>A</sub> receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders / A. Ghit, D. Assal, A.S. Al-Shami, D.E.E. Hussein // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 19. – P. 123.
106. Ghayour, F. ZnO-CeO<sub>2</sub> nanocomposite: efficient catalyst for the preparation of thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-one derivatives / F. Ghayour, M.R.S. Shafiee, M. Ghashang // *Main Group Metal Chemistry*. – 2018. – Vol. 41. – № 1-2. – P. 21-26.
107. Hasegawa, T. Tyrosinase-Expressing Neuronal Cell Line as in Vitro Model of Parkinson's Disease / T. Hasegawa // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2010. – Vol. 11. – № 3. – P. 1082-1089.
108. Hemdan, M.M. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Thieno[2,3-d]-pyrimidine, Thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,3,5]triazine, Thieno[2,3-d]-1,3-thiazine and 1,2,4-Triazole Systems / M.M. Hemdan, H.K.A. El-Mawgoude // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. – 2015. – Vol. 63. – № 10. – P. 812-818.
109. Hempel, J.E. Development of thieno- and benzopyrimidinone inhibitors of the Hedgehog signaling pathway reveals PDE4-dependent and PDE4-independent mechanisms of action / J.E. Hempel, A.G. Cadar, C.C. Hong // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2016. – Vol. 26. – № 8. – P. 1947-1953.
110. Hepatitis C virus NS3/4A inhibitors and other drug-like compounds as covalent binders of SARS-CoV-2 main protease / B. Andi [et al.] // *Scientific Reports* – 2022. – Vol. 12. – P. 12197.
111. Identification of potential drug targets for treatment of refractory epilepsy using network pharmacology / V. Bezhentsev [et al.] // *Journal of Bioinformatics and Computational Biology* // – 2018. – Vol. 16. – № 1. – P. 1840002.
112. Identification of small molecule inhibitors of the deubiquitinating activity of the SARS-CoV-2 papain-like protease: in silico molecular docking studies and in vitro enzymatic activity assay / E. Pitsillou [et al.] // *Frontiers in Chemistry*. – 2020. – Vol. 8. – P. 623971.

113. Imbimbo, B.P. An update on the efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs in Alzheimer's disease / B.P. Imbimbo // *Expert Opinion on Investigational Drugs*. – 2009. – Vol. 18. – № 8. – P. 1147-1168.
114. Increased dopamine and its metabolites in SH-SY5Y neuroblastoma cells that express tyrosinase / T. Hasegawa [et al.] // *Journal of Neurochemistry*. – 2010. – Vol. 87. – № 2. – P. 470–475.
115. Increased Synthesis of MCL-1 Protein Underlies Initial Survival of EGFR-Mutant Lung Cancer to EGFR Inhibitors and Provides a Novel Drug Target / A. Kyung [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2018. – Vol. 24. – № 22. – P. 5658-5772.
116. Inhibition mechanism of SARS-CoV-2 main protease by ebselen and its derivatives. *Nat Commun* / K. Amporndanai [et al.] // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 3061.
117. Inhibition of amyloid peptide fibril formation by gold-sulfur complexes / W. Wang [et al.] // *Journal of Inorganic Biochemistry*. – 2017. – Vol. 171. – P. 1-9.
118. Inhibition of tumor cell proliferation by Thieno[2,3-d]pyrimidin-4(1H)-one- based analogs / Y.D. Wang [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2005. – Vol. 15. – № 16. – P. 3763-3766.
119. Kandeel, M.M. Synthesis of certain thienopyrimidine derivatives as possible anticonvulsant / M.M. Kandeel // *Egyptian Pharmaceutical Journal*. – 1992. – Vol. 33. – № 1-2. – P. 357-367.
120. Manhas, M.S. Heterocyclic compounds. VIII. Synthesis of 3- and 2,3-substituted thienopyrimidones / M.S. Manhas, S.G. Amin // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 1977. – Vol. 14. – № 1. – P. 161-164.
121. Mapunya, M.B. Melanogenesis and Antityrosinase Activity of Selected South African Plants [Электронный ресурс] / M.B. Mapunya, R.V. Nikolova, N. Lall // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – 2012. – №. 374017. – Режим доступа: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/374017>.
122. Minghetti, L. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in inflammatory and degenerative brain diseases / L. Minghetti // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. – 2004. – Vol. 63. – № 9. – P. 901-910.

123. Molecular docking, synthesis and biological evaluation of some novel 2-substituted-3-allyl-4 (3H)-quinazolinone derivatives as anticonvulsant agents / H.S. Abulkhair [et al.] // *Medicinal chemistry (Los Angeles)*. – 2016. – Vol. 6. – № 9. – P. 593-603.
124. N, J.B. A comprehensive review on pyrimidine analogs-versatile scaffold with medicinal and biological potential / J.B. N, N.M. Goudgaon // *Journal of Molecular Structure*. – 2021. – Vol. 1246. – P. 131168.
125. Neuroprotective effect of organic acids diamides. Focus on changing mitochondrial function / D.I. Pozdnyakov [et al.] // *Pharmacologyonline*. – 2020. – Vol. 1. – P. 237-247.
126. New Convenient Strategy for Annulation of Pyrimidines to Thiophenes or Furans via the One-pot Multistep Cascade Reaction of 1H-Tetrazoles with Aliphatic Amines / N.T. Pokhodylo, O.Ya. Shyyka, V.S. Matychuk, M.D. Obushak // *ACS Combinatorial Science*. – 2015. – Vol. 17. – № 7. – P. 399-403.
127. New One-Step Route for the Synthesis of Fused Pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-ones / A. Plaskon, S. Ryabukhin, D. Volochnyuk, A. Tolmachev // *Synthesis*. – 2008. – Vol. 7. – P. 1069-1077.
128. Novel Thienopyrimidine Derivative, RP-010, Induces  $\beta$ -Catenin Fragmentation and Is Efficacious against Prostate Cancer Cells / H. Amawi [et al.] // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11. – № 5. – P. 711.
129. OECD, Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, – Paris, 2022. – 27 p.
130. Online chemical modeling environment (OCHEM): web platform for data storage, model development and publishing of chemical information / I. Sushko [et al.] // *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. – 2011. – Vol. 25. – P. 533-554.
131. Open Babel: An open chemical toolbox [Электронный ресурс] / N.M. O'Boyle [et al.] // *Journal of Cheminformatics*. – 2011. – Vol. 3. – № 33. – Режим доступа: <https://jcheminf.biomedcentral.com/articles/10.1186/1758-2946-3-33>.

132. Orlando, B.J. Substrate-selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Fenamic Acid Derivatives Is Dependent on Peroxide Tone / B.J. Orlando, M.G. Malkowski // *Journal of Biological Chemistry*. – 2016. – Vol. 291. – № 29. – P. 15069-15081.
133. Potential role of signal transducer and activator of transcription (STAT)3 signaling pathway in inflammation, survival, proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma / A. Subramaniam [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2013. – Vol. 1832. – № 1. – P. 46-60.
134. Prediction of biological activity and synthesis of azomethine derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide / A.S. Chiriapkin [et al.] // *Science.Research.Practice: international scientific conference*. – СПб: Гуманитарный национальный исследовательский институт «Нацразвитие», 2020. – P. 121-124.
135. QSAR Study of Some Natural and Synthetic Platelet Aggregation Inhibitors and their Pharmacological Profile / V.M. Dembitsky, T.A. Glorizova, V.V. Poroikov, M.M. Koola // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. – 2022. – Vol. 12. – № 5. – P.39-58.
136. Quinazolin-4-one Derivatives: A Novel Class of Noncompetitive NR2C/D Subunit-Selective N-Methyl-D-aspartate Receptor Antagonists / C.A. Mosley [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry* – 2010. – Vol. 53. – № 15. – P. 5476–5490.
137. Rahman, M.M. Extracellular protein components of amyloid plaques and their roles in Alzheimer's disease pathology / M.M. Rahman, C. Lendel // *Molecular Neurodegeneration*. – 2021. – Vol. 16. – № 59. – P. 1-30.
138. Refining the diagnosis of mitochondrial HMG-CoA synthase deficiency / R. Aledo [et al.] // *Journal of Inherited Metabolic Disease*. – 2006. – Vol. 29. – P. 207-211.
139. Rothan, H.A. Cell-Based High-Throughput Screening Protocol for Discovering Antiviral Inhibitors Against SARS-COV-2 Main Protease (3CLpro) / H.A. Rothan, T.C. Teoh // *Molecular Biotechnology*– 2021. – Vol. 63. – P. 240-248.
140. Shared structural mechanisms of general anaesthetics and benzodiazepines / J.J. Kim [et al.] // *Nature*. – 2020. – Vol. 585. – P. 303-308.
141. Structure of a human synaptic GABA<sub>A</sub> receptor / S. Zhu [et al.] // *Nature*. – 2018. – Vol. 559. – P. 67-72.

142. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands / J. Cheung [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 55. – № 22. – P. 10282-10286.
143. Syntheses of quinazolinones from 2-iodobenzamides and enaminones via copper-catalyzed domino reactions / T. Songsichan, J. Promsuk, V. Rukachaisirikul, J. Kaeobamrung // *Organic and Biomolecular Chemistry*. – 2014. – Vol. 12. – № 26. – P. 4571-4575.
144. Synthesis and Antitumor Activity of Novel Thienopyrimidine Derivatives Containing Thiosemicarbazide Moiety / S.B. Salib, O.M. Khalil, M.M. Kamel, Y. El-Dash // *Open Access Library Journal* – 2016. – Vol. 3. – P.e2876.
145. Synthesis and Histamine H<sub>2</sub>-Antagonist Activity of 4-Quinazolinone Derivatives / N. Ogawa [et al.] // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. – 1988. – Vol. 36. – № 8. – P. 2955-2967.
146. Synthesis and Hypolipidemic Activities of Novel 2-[4-[(Diethoxyphosphoryl)methyl]phenyl] quinazolines and 4(3H)-Quinazolinones / Y. Kurogi [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 1996. – Vol. 39. – № 7. – P. 1433–1437.
147. Synthesis and pharmacological activity of 2-alkylthio substituted thieno[2,3-d]pyrimidine-4-one and 5H-pyrimido [5,4-b]indol-4-one / F. Russo, N.A. Santagati, R. Venturini, S. Spampinato // *Pharmazie*. – 1990. – Vol. 45. – № 7. – P. 493-495.
148. Synthesis and pharmacological evaluation of 6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives as sigma-2 receptor ligands / Y.T. Sun [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2018. – Vol. 147. – P. 227-237.
149. Synthesis and QSAR of new azomethine derivatives as agents for the treatment of Alzheimer's disease / A.S. Chiriapkin, I.P. Kodonidi, D.I. Pozdnyakov, D.S. Zolotych // *Pharmacologyonline*. – 2021. – Vol. 3. – P. 563-584.
150. Synthesis and Reactions of Some Tetrahydrobenzothieno[2,3-d]Pyrimidine Derivatives with Biological Interest / A.M.Sh. El-Sharief, A.A. Micky, N.A.M.M. Shmeiss, G. El-Gharieb // *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements*. – 2003. – Vol. 178. – № 3. – P. 439-451.

151. Synthesis and structure–activity relationship of nuciferine derivatives as potential acetylcholinesterase inhibitors / Z. Yang [et al.] // *Medicinal Chemistry Research*. – 2014. – Vol. 23. – P. 3178-3186.
152. Synthesis of 2,3-Disubstituted Quinazolinone Derivatives through Copper Catalyzed C–H Amidation Reactions / T. Kotipalli [et al.] // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2016. – Vol. 2016. – № 6. – P. 1182-1193.
153. Synthesis of 2-substituted amino-3-carboxamido-4,5,6,7-tetramethylene thiophene derivatives and their antimicrobial activity / P.S. Kumar, S. Junapudi, S. Gurralla, R. Bathini // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – Vol. 3. – № 5. – P. 273-277.
154. Synthesis of novel bioactive derivatives of 3-(4-chlorophenyl)-2-hydrazine-5,6,7,8-tetrahydrobenzo(b)thieno[2,3-d]pyrimidine-4(3H)-ones / S.V. Gupta [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2009. – Vol. 44. – № 11. – P. 4721-4725.
155. Synthesis, anticonvulsant activity and molecular modeling study of some new hydrazinecarbothioamide, benzenesulfonohydrazide, and phenacylaceto-hydrazide analogues of 4(3H)-quinazolinone / H.S.A. Al-Salem [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2015. – Vol. 25. – № 7. – P. 1490-1499.
156. Synthesis, Antimycobacterial Evaluation and Docking Studies of Some 7-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropyrido[4',3':4,5]thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-ones / N. Malothu [et al.] // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. – 2018. – Vol. 66. – № 10. – P. 923-931.
157. Synthesis, cytotoxic and antioxidant activities of new n-substituted 3-(benzimidazol-2-yl)-chromones containing 2,6-di-tert-butylphenol fragment / S.S. Shatokhin [et al.] // *Journal of Molecular Structure*. – 2022. – Vol. 1249. – P. 131683.
158. Synthesis, in vitro and docking studies of 2-substituted 5,6,7,8-tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidine-4(3H)-one derivatives as agents for the treatment of Alzheimer's disease / A.S. Chiriapkin, I.P. Kodonidi, D.I. Pozdnyakov, A.A. Glushko // *Chimica Techno Acta*. – 2022. – Vol. 9. – № 2. – P. 20229204.
159. Synthesis, Modelling, and Anticonvulsant Studies of New Quinazolines Showing Three Highly Active Compounds with Low Toxicity and High Affinity to the GABA-A Receptor / M.F. Zayed [et al.] // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22. – № 2. – P. 188.



160. Tao, L. The Critical Role of the Class III Histone Deacetylase SIRT1 in Cancer / L. Tao, Y.L. Pei, M.V. Glenn // *Cancer Research*. – 2009. – Vol. 69. – № 5. – P. 1702-1705.
161. TCM network pharmacology: A new trend towards combining computational, experimental and clinical approaches / X. Wang, Z.-Y. Wang, J.-H. Zheng, L. Shao // *Chinese Journal of Natural Medicines*. – 2021. – Vol. 19. – № 1. – P. 1–11.
162. The coumarin scopoletin potentiates acetylcholine release from synaptosomes, amplifies hippocampal long-term potentiation and ameliorates anticholinergic- and age-impaired memory / A. Hornick [et al.] // *Neuroscience*. – 2011. – Vol. 197. – P. 280-292.
163. The crystal structure of a tetrahydrofolate-bound dihydrofolate reductase reveals the origin of slow product release / H. Cao, M. Gao, H. Zhou, J. Skolnick // *Communications Biology*. – 2018. – Vol. 1. – P. 226.
164. The Discovery of a Highly Selective 5, 6, 7, 8-Tetrahydrobenzo [4, 5] thieno [2, 3-d] pyrimidin-4 (3H)-one SIRT2 Inhibitor that is Neuroprotective in an in vitro Parkinson's Disease Model / P. Di Fruscia [et al.] // *ChemMedChem*. – 2015. – Vol. 10. – № 1. – P. 69-82.
165. The Protein Data Bank / H.M. Berman [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2000. – Vol. 28. – № 1. – P. 235-242.
166. Thienopyrimidine derivatives exert their anticancer efficacy via apoptosis induction, oxidative stress and mitotic catastrophe / A. Haneen [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2017. – Vol. 138. – P. 1053-1065.
167. Thiol Proteases: Inhibitors and Potential Therapeutic Targets / R. Leung-Toung [et al.] // *Current Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 13. – № 5. – P. 547-581.
168. Thomsen, R. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking / R. Thomsen, M.H. Christensen // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 49. – № 11. – P. 3315-3321.
169. Three possible products from the reactions of gewald's amide with aromatic aldehydes / S.G. Dzhavakhishvili [et al.] // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2008. – Vol. 45. – № 2. – P. 573-577.

170. Yan, F. An overview of potential inhibitors targeting non-structural proteins 3 (PLpro and Mac1) and 5 (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 / F. Yan, F. Gao. // Computational and Structural Biotechnology Journal. – 2021. – Vol. 19. – P. 4868-4883.
171. Zemin, Q. Construction of a Pyrimidine Framework through [3 + 2 + 1] Annulation of Amidines, Ketones, and N,N-Dimethylaminoethanol as One Carbon Donor / Q. Zemin, M. Yongmin, L. Fanzhu // The Journal of Organic Chemistry. – 2021. – Vol. 86. – № 19. – P. 13734-13743.
172. Zhou, Y. Rhodium-Catalyzed Asymmetric N–H Functionalization of Quinazolinones with Allenes and Allylic Carbonates: The First Enantioselective Formal Total Synthesis of (–)-Chaetominine / Y. Zhou, B. Breit // Chemistry: A European Journal. – 2017. – Vol. 23. – № 72. – P. 18156-18160.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

**№ 2763899**

**Натриевая соль 4-{ 2-[2-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-винил]-6-этил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил} - бензсульфамида, обладающая противоопухолевым действием**

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Кит Олег Иванович (RU), Кодониди Иван Панайотович (RU), Глушко Александр Алексеевич (RU), Франциянц Елена Михайловна (RU), Оганесян Эдуард Тоникович (RU), Черников Максим Валентинович (RU), Каплиева Ирина Викторовна (RU), Аненко Денис Станиславович (RU), Чиряпкин Алексей Сергеевич (RU)*

Заявка № 2021108124

Приоритет изобретения 26 марта 2021 г.

Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 11 января 2022 г.

Срок действия исключительного права на изобретение истекает 26 марта 2041 г.

*Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Ивлиева*



## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора Пятигорского



Минздрава России

М.В. Черников

«20» мая 2022 г.

## АКТ О ВНЕДРЕНИИ

**Предмет внедрения:** новые азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды и 2-замещенные 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-оны, обладающие антитирозиновой активностью.

**Кем предложен:** А.С. Чиряпкиным, аспирантом кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

**Цель внедрения:** проведение углубленных фармакологических исследований с целью поиска веществ, обладающих антитирозиновой активностью среди производных пиримидин-4(3H)-она и их азометиновых предшественников.

**Ответственные за внедрение:** заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, д.м.н., доцент М.В. Черников.

**Результаты внедрения:** в ходе первичного фармакологического скрининга выявлены производные пиримидин-4(3H)-она и соответствующие им азометиновые предшественники, обладающие выраженной антитирозиновой активностью.

**Эффективность внедрения:** выявлены закономерности структура-антитирозиновая активность в ряду производных пиримидин-4(3H)-она и их азометиновых предшественников, позволяющие расширить возможности поиска новых соединений, оказывающих антитирозиновое действие.

Зав. кафедрой фармакологии курсом  
клинической фармакологии, д.м.н., доцент

М.В. Черников

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора Пятигорского  
 медико-фармацевтического института –  
 филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ



Минздрава России  
 М.В. Черников

«20» мая 2022 г.

## АКТ О ВНЕДРЕНИИ

**Предмет внедрения:** новые 2-замещенные 5.6.7.8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-она и производные 6.7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками аминокислот и дипептидов, обладающие противовирусной активностью, а именно – против SARS-Cov-2.

**Кем предложен:** А.С. Чиряпкиным, аспирантом кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

**Цель внедрения:** проведение углубленных фармакологических исследований с целью поиска соединений среди производных пиримидин-4(3*H*)-она, обладающих противовирусной активностью.

**Ответственные за внедрение:** заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, д.м.н., доцент М.В. Черников.

**Результаты внедрения:** в ходе первичного фармакологического скрининга выявлены производные пиримидин-4(3*H*)-она, обладающих противовирусной активностью в отношении SARS-Cov-2 за счет ингибирования главной и папаино-подобной протеаз вируса.

**Эффективность внедрения:** выявлены закономерности структура-противовирусная активность в ряду производных пиримидин-4(3*H*)-она, позволяющие расширить возможности поиска новых соединений, оказывающих противовирусное действие.

Зав. кафедрой фармакологии курсом  
 клинической фармакологии, д.м.н., доцент

М.В. Черников

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора Пятигорского  
медико-фармацевтического института –  
филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ



Минздрава России

М.В. Черников

«23» мая 2022 г.

## АКТ О ВНЕДРЕНИИ

**Предмет внедрения:** новые производные 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с остатками аминокислот и дипептидов, обладающие церебропротекторной активностью.

**Кем предложен:** А.С. Чиряпкиным, аспирантом кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

**Цель внедрения:** проведение углубленных фармакологических исследований с целью поиска соединений среди производных пиримидин-4(3*H*)-она, обладающих церебропротекторной активностью.

**Ответственные за внедрение:** заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, д.м.н., доцент М.В. Черников.

**Результаты внедрения:** в ходе первичного фармакологического скрининга выявлены производные пиримидин-4(3*H*)-она, обладающие церебропротекторной активностью на модели ишемии головного мозга на крысах-самцах линии Wistar, так как их применение приводило к уменьшению зоны некроза головного мозга и снижению когнитивного дефицита в тесте Y-лабиринта.

**Эффективность внедрения:** выявлены закономерности структура-cerebroпротекторная активность в ряду производных пиримидин-4(3*H*)-она, позволяющие расширить возможности поиска новых соединений, оказывающих церебропротекторное действие.

Зав. кафедрой фармакологии курсом  
клинической фармакологии, д.м.н., доцент

М.В. Черников

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора Пятигорского  
медико-фармацевтического института –  
филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ



Минздрава России  
М.В. Черников  
мая 2022 г.

## АКТ О ВНЕДРЕНИИ

**Предмет внедрения:** новые азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды и 2-замещенные 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]пиридино[2,3-d]пиримидин-4(3H)-оны, обладающие противовоспалительной активностью.

**Кем предложен:** А.С. Чиряпкиным, аспирантом кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России.

**Цель внедрения:** проведение углубленных фармакологических исследований с целью поиска веществ, обладающих противовоспалительной активностью среди производных пиримидин-4(3H)-онов и их азометиновых предшественников.

**Ответственные за внедрение:** и.о. заведующего кафедрой патологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, к.ф.н., доцент И.Л. Абисалова.

**Результаты внедрения:** в ходе исследования противовоспалительной активности производных пиримидин-4(3H)-она и соответствующих им азометиновых предшественников на мышцах-самцах линии Balb/c на модели формалинового отека выявлены соединения, способные оказывать выраженное противовоспалительное действие.

**Эффективность внедрения:** выявлены закономерности структура-противовоспалительная активность в ряду производных пиримидин-4(3H)-она и их азометиновых предшественников, позволяющие расширить возможности поиска новых соединений, оказывающих противовоспалительное действие.

И.о. Зав. кафедрой патологии, к.ф.н., доцент

И.Л. Абисалова

## ПРИЛОЖЕНИЕ Е

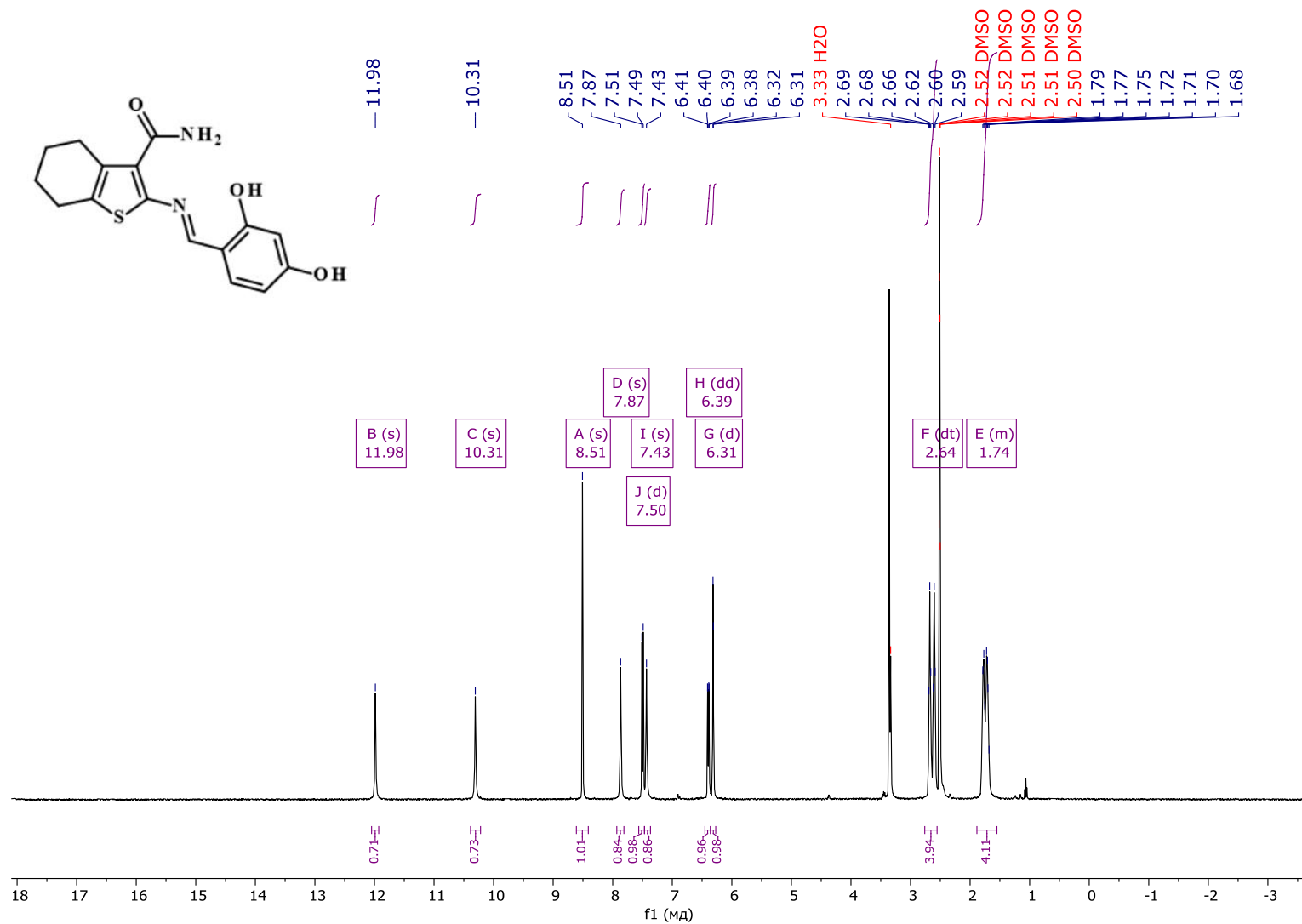


Рисунок Е.1 – <sup>1</sup>H ЯМР-спектр 2-[(2,4-Дигидроксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензо-тиофен-3-карбоксиамида (7a)



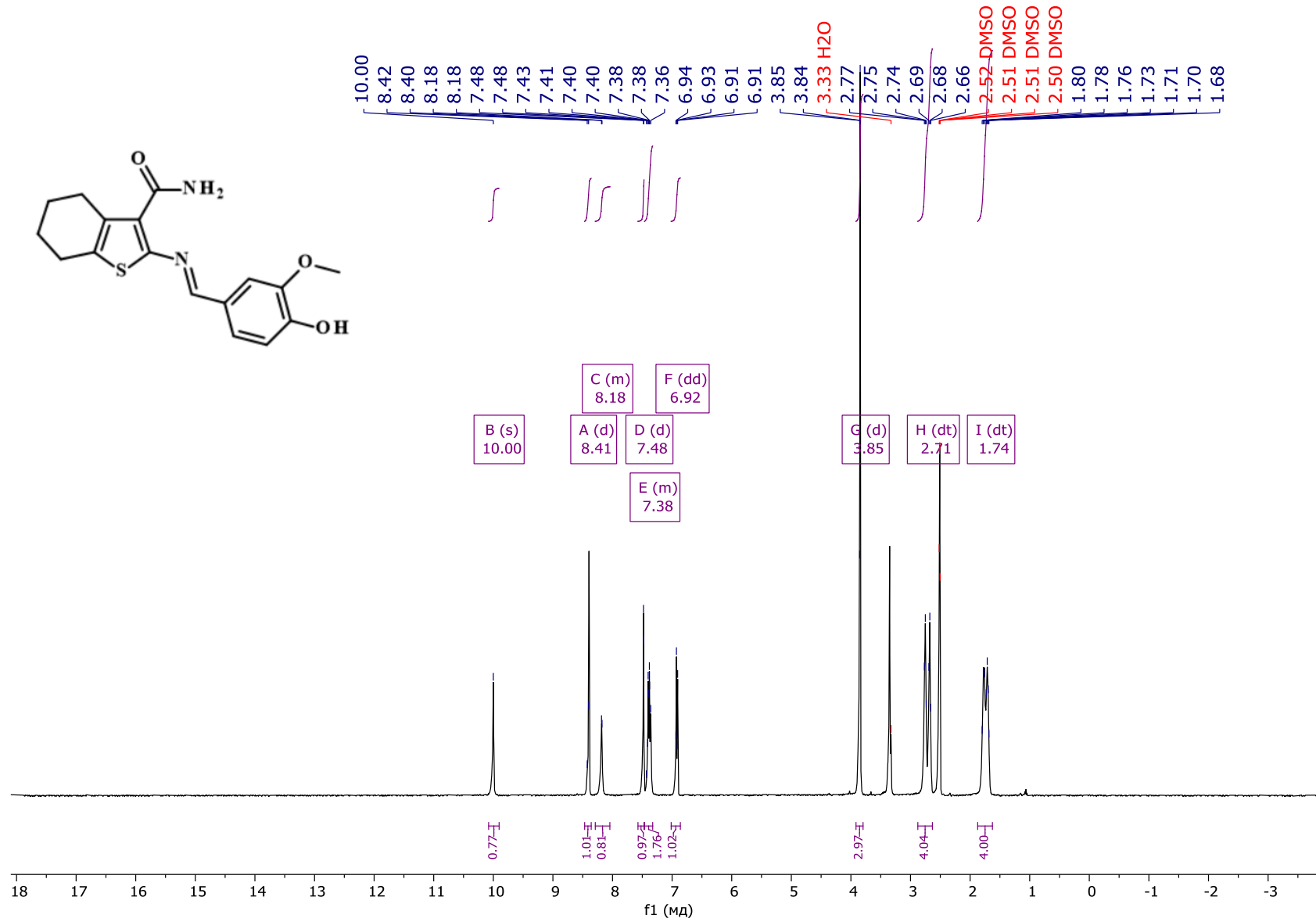


Рисунок Е.2 – <sup>1</sup>H ЯМР-спектр 2-[(4-Гидрокси-3-метоксифенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидро- бензотиофен-3- карбоксамида (4a)

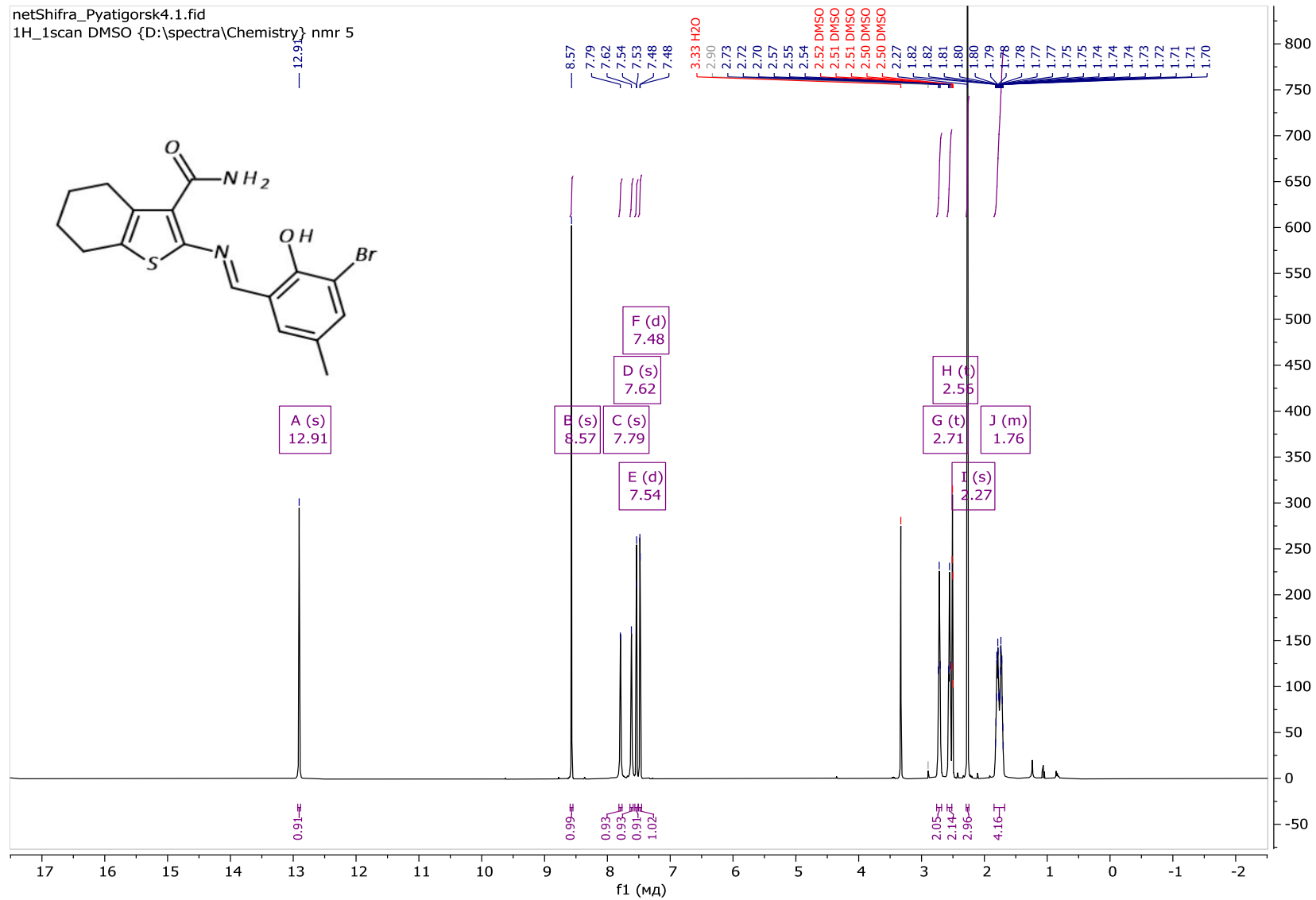


Рисунок Е.3 –  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр 2-[(5-Бром-2-гидрокси-3-метилфенил)метиленамино]-4,5,6,7-тетрагидробензотиофен-3-карбоксиамида (14а)

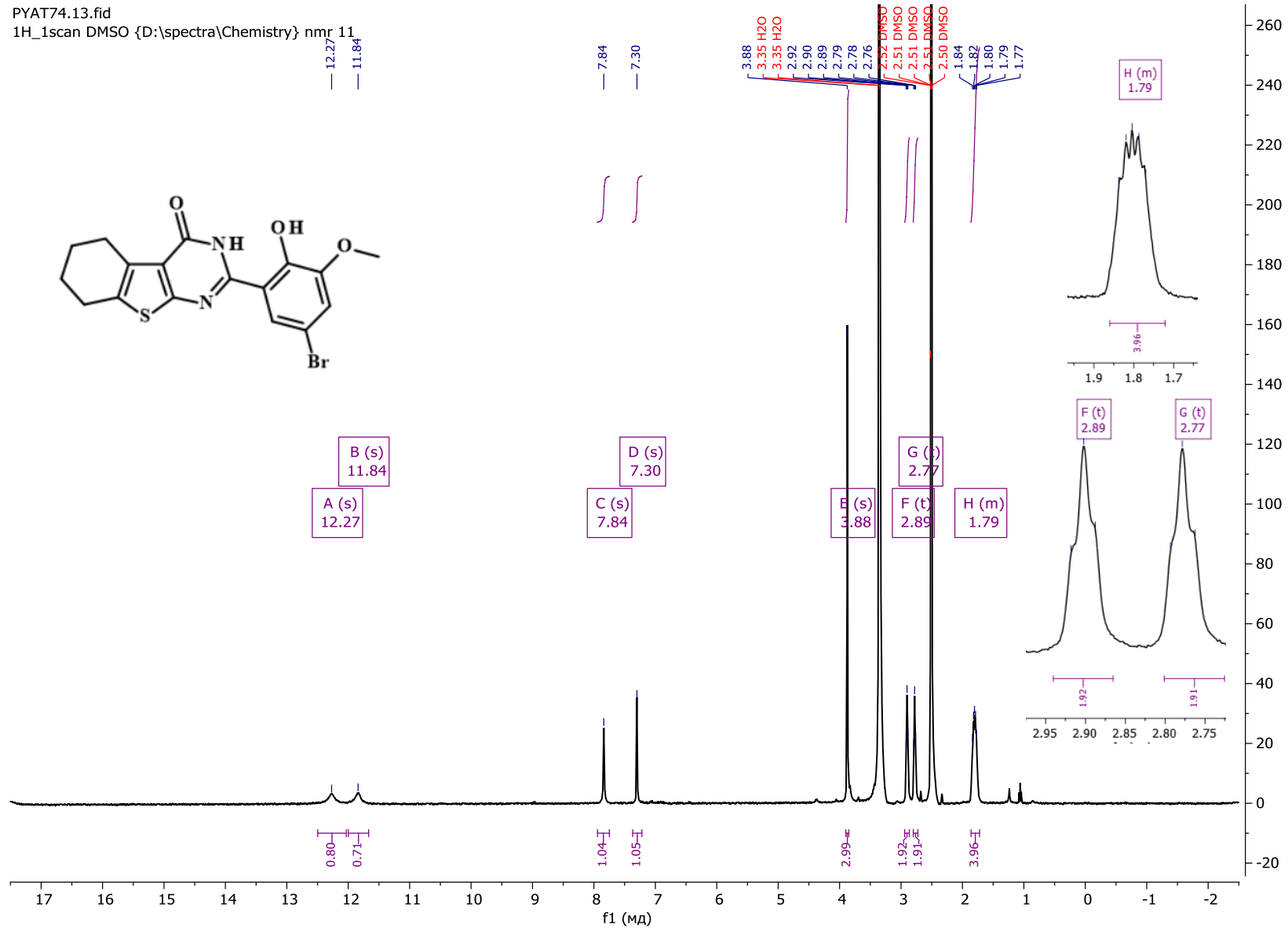


Рисунок Е.4 –  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр 2-(5-бром-2-гидрокси-3-метокси-фенил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (13b)

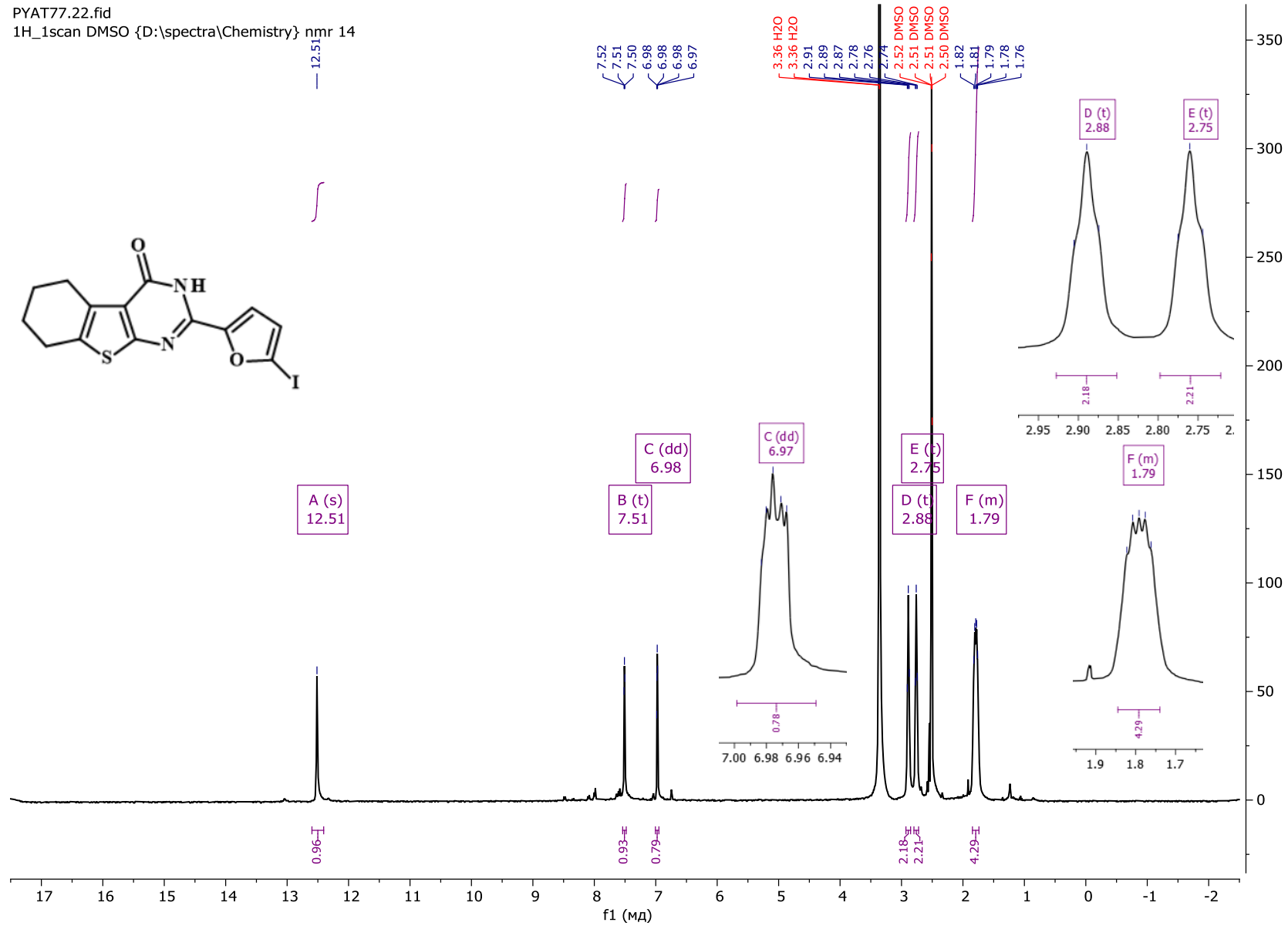


Рисунок Е.5 – <sup>1</sup>H ЯМР-спектр 2-(5-йод-2-фурил)-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (18b)

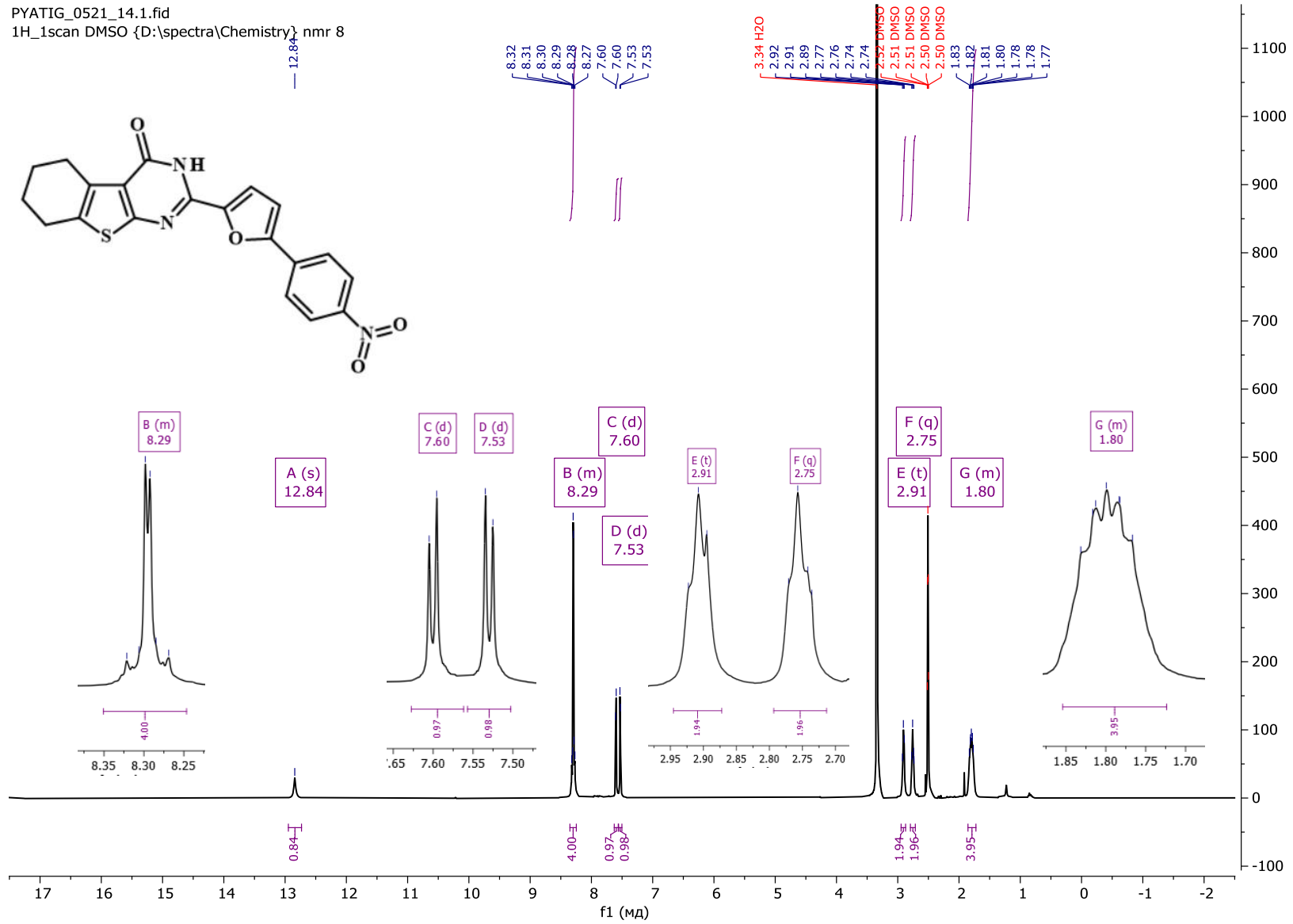


Рисунок Е.6 –  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр 2-[5-(4-нитрофенил)-2-фурил]-5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она (19b)