

Studien zur Chemie von thienoanellierten *O,N*- und *S,N*-haltigen Heterocyclen, 23. Mitt.¹

Synthese von einigen potentiellen NO-Synthase-Inhibitoren mit Thieno[2,3-*b*][1,4]thiazin-Grundgerüst[†]

M. E. Galanski, N. Böhler und T. Erker*

Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien,
Althanstraße 14, A-1090 Wien, Österreich

*Syntheses of Thieno[2,3-*b*][1,4]thiazine Derivatives with Potential NOS Inhibiting Activities*

The synthesis of thiolactime **4** and first studies on the syntheses of other thiolactimes with different substituted thieno[2,3-*b*][1,4]thiazine moieties are described as well as the syntheses of structurally modified amidines **10** – **14** with the same basic structure. The thieno[2,3-*b*][1,4]thiazine derivatives were prepared by reacting methyl 5-chloro-4-nitro-2-thiophencarboxylate with ethyl thioglycolate followed by reductive cyclisation to **6**, which was either first saponified and then treated with Lawesson reagent to obtain thiolactame **8** or directly reacted to thiolactame **9**. Reaction of **9** with various amines led to the desired products **10** - **14**, which will undergo pharmacological testing on NO synthase inhibiting activities.

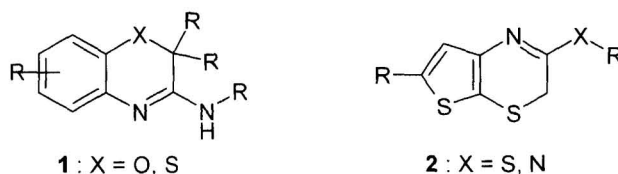
*(Keywords: Thieno[2,3-*b*][1,4]thiazines, NO Synthase Inhibitors)*

Einleitung

Im menschlichen Körper existieren drei Isoformen der NO-(Stickstoffmonoxid)-Synthase, eines Enzyms, das die Oxidation von L-Arginin zu L-Citrullin katalysiert. Dabei entstehen auch geringe Mengen an NO, welches den Blutdruck und die Neurotransmission reguliert und u. a. auch bei der Abwehr von Bakterien und Viren eine wichtige Rolle spielt. Bei zu hoher Konzentration an NO

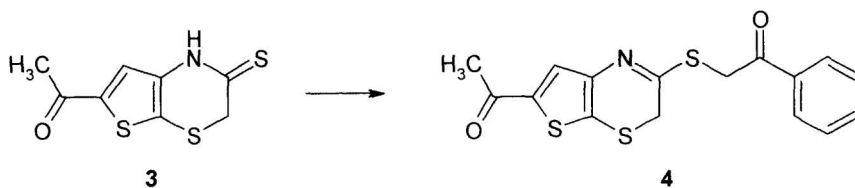
[†]Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. W. Fleischhacker mit den besten Wünschen zum 70. Geburtstag gewidmet

werden allerdings lebensnotwendige metabolische Prozesse blockiert². Um dem entgegen zu wirken wurden chemisch unterschiedliche Substanzen mit selektivem NOS-inhibitorischem Profil entwickelt, unter anderem Verbindungen der allgemeinen Formel **1**³. Im Rahmen unserer Arbeiten zur Synthese potentieller NOS-Inhibitoren wollten wir ausgehend von einem 2,3-Dihydro-1*H*-thieno-[2,3-*b*][1,4]thiazin-Grundkörper Thiolactime und Amidine der allgemeinen Formel **2** herstellen.

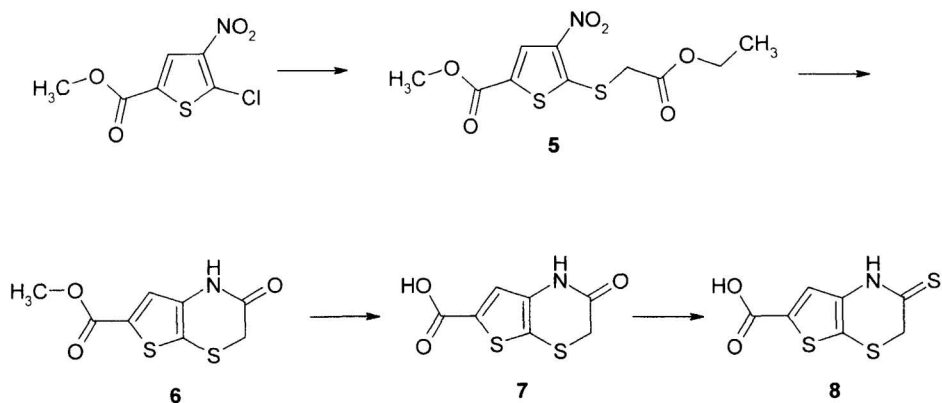


Ergebnisse und Diskussion

Zunächst wurde das leicht zugängliche Thiolactam **3**⁴ mit Natriumhydrid und ω -Bromacetophenon in absolutem Tetrahydrofuran zur Verbindung **4** umgesetzt, die aber für eventuelle pharmakologische Testungen eine zu geringe Löslichkeit aufwies.

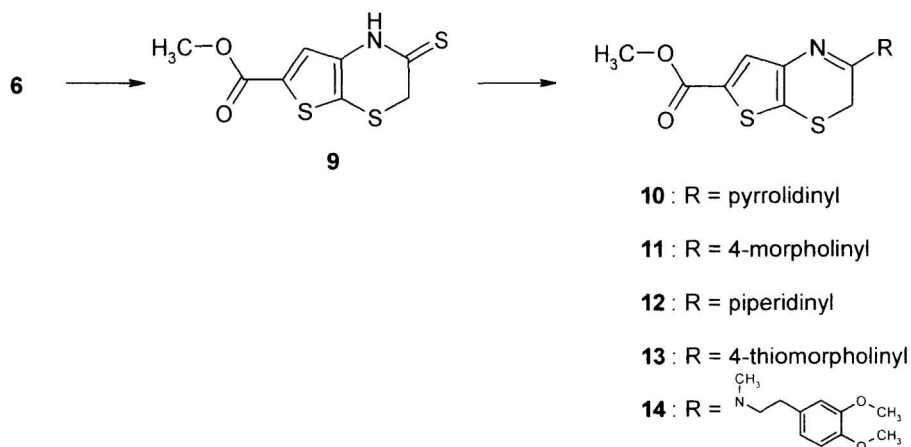


Zur Verbesserung der Löslichkeit sollte daher die Acetylgruppe in **4** durch eine Carbonsäure-Funktion ersetzt werden. Nach der Umsetzung von 5-Chlor-4-nitro-2-thiophencarbonsäuremethylester mit Ethylthioglycolat wurde Substanz **5** erhalten. Der Ringschluß zum Lactam **6** wurde mit Eisen/ Eisessig durchgeführt. Nach der Verseifung des Methylresters mit Hilfe einer ethanolischen Natronlauge und dem Ansäuern fiel Substanz **7** aus, welche mit Lawesson-Reagens selektiv zum Thiolactam **8** umgesetzt werden konnte. Ein Reaktionsansatz von **8** mit Natriumhydrid und ω -Bromacetophenon führte wahrscheinlich aufgrund der schlechten Löslichkeit des Thiolactams zu keiner Umsetzung.



Durch Reaktion von Verbindung **6** mit Lawesson-Reagens wurde das Thiolactam **9** erhalten, das bei der Umsetzung mit Natriumhydrid sowie ω -Bromacetophenon jedoch nicht die gewünschten Zielverbindungen lieferte.

In einer weiteren Versuchsreihe sollten durch Umsetzung mit ausgewählten Aminen die gewünschten Amidine der allgemeinen Formel **2** hergestellt werden. Das Thiolactam **9** wurde mit Pyrrolidin, Morpholin, Piperidin, Thiomorpholin bzw. 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)ethyl-*N*-methylethanamin im Überschuß zur Reaktion gebracht, wobei schon nach kurzen Reaktionszeiten



die Verbindungen **10-14** erhalten wurden. Einige der synthetisierten Substanzen wurden auf ihre NOS-Hemmung getestet. Über diese Ergebnisse wird an anderer Stelle berichtet.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte (unkorrigiert): Kofler-Heizmikroskop (Leica Galen III). ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren: Varian UnityPlus-300 Spektrometer bzw. Bruker Avance DPX 200 Spektrometer (mit Tetramethylsilan als innerem Standard, δ in ppm). Massenspektren: Shimadzu GC/MS QP 1000 EX, Hewlett Packard-Spektrometer (GC: 5890; MS: 5970) oder Shimadzu QP 5000 Massenspektrometer mit Direkteinlaß DI 50.

6-Acetyl-2-(2-oxo-2-phenylethylsulfanyl)-3H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin (4)

Zu einer Suspension von 1 mmol (40 mg) 60%-igem Natriumhydrid in 10 ml absolutem Tetrahydrofuran werden bei Raumtemperatur eine Lösung von 1 mmol (229 mg) **3** in 3 ml absolutem Tetrahydrofuran und eine Lösung von 1 mmol (199 mg) ω -Bromacetophenon in 3 ml absolutem Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 30-minütigem Rühren bei Raumtemperatur ist die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Toluol/ Ethylacetat 8+2) gereinigt und aus Ethanol umkristallisiert um 250 mg (72%) **4** (Fp: 130°C) zu erhalten. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.11-7.98 (m, 2H, arom. H), 7.68-7.58 (m, 1H, arom. H), 7.57-7.47 (m, 2H, arom. H), 7.31 (s, 1H, Thiophen-H), 4.65 (s, 2H, SCH₂CO), 3.43 (s, 2H, SCH₂), 2.44 (s, 3H, CH₃CO); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 193.1, 189.5, 154.6, 145.0, 139.1, 135.9, 133.6, 129.5, 128.6, 128.4, 126.7, 37.4, 29.0, 26.0; MS: m/e = 347 (M⁺; 13%); CHN-Analyse für C₁₆H₁₃NO₂S₃ (347.48): Ber.: C 55.31, H 3.77, N 4.03; Gef.: C 55.59, H 4.01, N 3.90.

5-Ethoxycarbonylmethylsulfanyl-4-nitro-2-thiophencarbonsäuremethylester (5)

Zu einer Suspension von 21 g frisch geglühtem Kaliumcarbonat in 70 ml absolutem Tetrahydrofuran werden 60 mmol (7.21 g; 6.6 ml) Ethylthioglycolat zugespritzt. Man läßt 20 min rühren, dann werden 50 mmol (11.06 g) **6** zugegeben. Nach 2,5 Stunden Rühren bei

Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch auf 1.8 l Eiswasser gegossen und der Niederschlag abgenutscht. Den Feststoff kristallisiert man aus Ethanol um und erhält 12.55 g (84%) **5**; (Fp: 116°C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 8.21 (s, 1H, Thiophen-H), 4.29 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 3.92 (s, 5H, OCH₃, SCH₂), 1.33 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 166.6, 160.4, 152.6, 142.0, 129.3, 128.3, 62.6, 52.8, 37.4, 14.0; MS: *m/e* = 305 (M⁺; 100%), 274 (M⁺ - OCH₃; 20%), 259 (M⁺ - Nitro; 6%), 246 (M⁺ - CO-OCH₃; 4%), 202 (77%), 286 (37%); CHN-Analyse für C₁₀H₁₁NO₆S₂ (305.33): Ber.: C 39.34, H 3.63, N 4.59; Gef.: C 39.53, H 3.46, N 4.95.

2,3-Dihydro-2-oxo-1H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäuremethylester (6)

Eine Lösung von 30 mmol (9.15 g) **5** in 300 ml Eisessig, 15 ml Methanol und 15 ml Wasser wird auf 65°C erwärmt. Dann fügt man portionsweise 16.8 g Eisenpulver hinzu und läßt 1,5 Stunden bei 65°C rühren. Das Reaktionsgemisch wird auf 4 l Eiswasser gegossen und abgenutscht. Den Niederschlag kocht man mit Ethanol auf und filtriert heiß. Man erhält 6.43 g (94%) **6**; (Fp: 222-223°C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 10.70 (s, 1H, NH), 7.33 (s, 1H, Thiophen-H), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.50 (s, 2H, SCH₃); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 161.4, 159.7, 136.5, 127.9, 122.6, 116.6, 50.6, 29.1; MS: *m/e* = 229 (M⁺; 100%), 200 (25%), 184 (39%); CHN-Analyse für C₈H₇NO₃S₂ (229.28): Ber.: C 41.91, H 3.08, N 6.11; Gef.: C 42.07, H 3.06, N 5.94.

2,3-Dihydro-2-oxo-1H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäure (7)

Eine Lösung von 30 mmol (6,87 g) **6** in 120 ml 5%-iger Natronlauge und 250 ml Ethanol wird 3 Stunden bei 40°C gerührt. Dann wird das Reaktionsgemisch auf 4 l Eiswasser gegossen und nach Auflösen des Eises mit 2N Salzsäure angesäuert. Der entstandene Niederschlag wird abgenutscht, getrocknet und zerrieben. Man erhält 5.6 g (87%) **7**; (Fp: 300°C, Zers.). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 13.20 (s, 1H, OH), 10.77 (s, 1H, NH), 7.32 (s, 1H, Thiophen-H), 3.65 (s, 2H, SCH₂); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 163.1, 162.1, 137.9, 131.1, 123.6, 117.2, 30.2; MS: *m/e* = 215 (M⁺; 100%), 170 (46%), 186 (23%); CHN-Analyse für C₇H₅NO₃S₂ (215.25): Ber.: C 39.06, H 2.34, N 6.51; Gef.: C 38.78, H 2.41, N 6.31.

2,3-Dihydro-2-thioxo-1H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäure (8)

Es werden 25 mmol (5.38 g) **7** und 17 mmol (6.05 g) Lawesson-Reagens mit 240 ml absolutem Tetrahydrofuran versetzt und bei Raumtemperatur 2,5 Stunden gerührt. Danach wird das Lösungsmittel abrotiert und der pastöse Rückstand in Methanol aufgenommen. Der dabei ausfallende Feststoff wird abgenutscht, mit Methanol nachgewaschen und getrocknet. Man erhält 3.9 g (69%) **8**; (Fp: 270°C, Zers.). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 13.15 (s breit, 1H, OH), 12.71 (s, 1H, NH), 7.41 (s, 1H, Thiophen-H), 4.02 (s, 2H, SCH₂); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 187.8, 161.9, 136.8, 130.6, 123.4, 122.5, 38.0; MS: m/e = 231 (M⁺; 100%), 214 (M⁺ - OH; 10%), 198 (M⁺ - Thioxo; 91%), 174 (13%); CHN-Analyse für C₇H₅NO₂S₃ (231.32): Ber.: C 36.35, H 2.18, N 6.06; Gef.: C 36.56, H 2.25, N 5.79.

2,3-Dihydro-2-thioxo-1H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäuremethylester (9)

20 mmol (4.58 g) **6** und 10 mmol (4.045 g) Lawesson-Reagens werden mit 200 ml absolutem Tetrahydrofuran versetzt und 6 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittels nimmt man den Rückstand in Dichlormethan auf und nutscht den sich absetzenden Feststoff ab. Nach dem Waschen des Filterkuchens mit Dichlormethan und Trocknen erhält man 4.53 g (92%) **9**; (Fp: 245°C). ¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 12.70 (s, 1H, OH), 7.44 (s, 1H, Thiophen-H), 4.01 (s, 2H, SCH₂), 3.83 (s, 3H, OCH₃); ¹³C-NMR: (300 MHz, CDCl₃/d₆-DMSO): δ = 187.5, 160.8, 136.8, 128.5, 123.6, 123.0, 52.0, 37.9; MS: m/e = 245 (M⁺; 97%), 213 (M⁺ - S; 70%), 212 (100%), 168 (14%); CHN-Analyse für C₈H₇NO₂S₃ (245.33): Ber.: C 39.17, H 2.88, N 5.71; Gef.: C 38.97, H 2.89, N 5.47.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Darstellung der Verbindungen 10 - 13

Eine Lösung von 1 mmol (245 mg) **9** und 2 g Amin wird auf 50°C erwärmt und 30 Minuten bis 2 Stunden gerührt. Nach dem Abrotieren des überschüssigenamins wird der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird nach dem Trocknen über Natriumsulfat einrotiert und der Rückstand aus verd. Ethanol umkristallisiert.

2-(Pyrrolidinyl)-3H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäuremethylester (10)

Reaktionszeit: 1 Stunde; Ausbeute: 79 mg (32%) **10**; (Fp: 120°C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 7.57 (s, 1H, Thiophen-H), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.72-3.43 (m, 4H, Pyrrolidin-H), 3.36 (s, 2H, CH₂), 2.11-1.86 (m, 4H, Pyrrolidin-H); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 162.6, 150.2, 147.9, 130.5, 127.7, 116.6, 51.9, 47.3, 24.3; MS: m/e = 282 (M⁺; 30%), 213 (40%), 182 (34%), 70 (100%), 55 (46%), 41 (37%); CHN-Analyse für C₁₂H₁₄N₂O₂S₂ (282.38): Ber.: C 51.04, H 5.00, N 9.52; Gef.: C 51.15, H 4.94, N 9.77.

2-(4-Morpholinyl)-3H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäuremethylester (11)

Reaktionszeit: 2 Stunden; Ausbeute: 132 mg (54%) **11**; (Fp: 155°C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 7.56 (s, 1H, Thiophen-H), 3.85 (s, 3H, CH₃), 3.81-3.70 (m, 4H, OCH₂), 3.64-3.53 (m, 4H, NCH₂), 3.34 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 162.5, 151.5, 146.7, 130.5, 128.0, 117.8, 66.4, 52.0, 45.7, 2.3; MS: m/e = 298 (M⁺; 5%), 45 (100%); CHN-Analyse für C₁₂H₁₄N₃O₂S₂ (298.37): Ber.: C 48.31, H 4.73, N 9.39; Gef.: C 48.03, H 4.71, N 9.28.

2-(1-Piperidinyl)-3H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäuremethylester (12)

Reaktionszeit: 1 Stunde; Ausbeute: 89 mg (36%) **12**; (Fp: 110°C). ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 7.55 (s, 1H, Thiophen-H), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.66-3.50 (m, 4H, Piperidin-H), 3.35 (s, 2H, CH₂), 1.78-1.52 (m, 6H, Piperidin-H); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 162.6, 151.4, 147.4, 130.5, 127.7, 116.9, 51.9, 46.5 (2C), 25.6, 24.6, 22.5; MS: m/e = 296 (M⁺; 12%), 213 (38%), 182 (36%), 84 (100%), 69 (20%), 55 (26%), 41 (48%); CHN-Analyse für C₁₃H₁₆N₂O₂S₂ (296.40): Ber.: C 52.68, H 5.44, N 9.45; Gef.: C 52.43, H 5.39, N 9.29.

2-(4-Thiomorpholinyl)-3H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäuremethylester (13)

Reaktionszeit: 30 Minuten; Ausbeute: 153 mg (63%) **13**; (Fp: 150°C). ¹H-NMR (200 MHz, d₆-DMSO): δ = 7.40 (s, 1H, Thiophen-H), 4.03-3.92 (m, 4H, NCH₂), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (s, 2H, CH₂), 2.77-2.66 (m, 4H, SCH₂); ¹³C-NMR (300 MHz, d₆-DMSO): δ = 161.5, 151.8, 145.1, 129.8.

126.6, 117.4, 52.0, 47.6, 25.9, 21.5; MS: $m/e = 314$ (M^+ ; 36%), 212 (18%), 182 (17%), 144 (27%), 69 (60%), 59 (68%), 45 (100%); CHN-Analyse für $C_{12}H_{14}N_2O_2S_3$ (314.44): Ber. mit 0.3 H_2O : C 45.06, H 4.60, N 8.82; Gef.: C 45.06, H 4.56, N 8.82.

2-[2-(3,4-Dimethoxyphenyl)ethyl-N-methylamino]-3H-thieno[2,3-b][1,4]thiazin-6-carbonsäuremethylester (14)

Eine Lösung von 1 mmol (245 mg) **9** in 5 ml absolutem Tetrahydrofuran wird mit 2 mmol (390 mg) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)ethyl-N-methanamin versetzt und 5 Stunden unter Rückfluß gerührt. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittels wird der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird nach dem Trocknen über Natriumsulfat einrotiert und der ölige Rückstand säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 212 mg (87%) **14** als ein Öl. 1H -NMR (200 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.56$ (s, 1H, Thiophen-H), 6.84-6.62 (m, 3H, Phenyl-H), 3.85 (s, 9H, OCH_3), 3.73-3.59 (m, 2H, CH_2), 3.10 (s, 3H, NCH_3), 2.89 (s breit, 2H, CH_2), 2.85 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_2); ^{13}C -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 162.6, 151.8, 149.2, 147.9, 147.6, 131.2, 130.5, 127.7, 120.9, 117.0, 112.3, 111.6, 56.0, 55.9, 52.5, 52.0, 36.8, 22.6$; MS: $m/e = 406$ (M^+ ; 1%), 242 (22%), 182 (14%), 164 (15%), 149 (28%), 91 (100%), 69 (26%), 57 (41%), 43 (33%); CHN-Analyse für $C_{19}H_{22}N_2O_4S_2$ (406.51): Ber.: C 56.14, H 5.46, N 6.90; Gef.: C 56.36, H 5.51, N 6.64.

Literatur

- ¹ 22. Mitt.: Erker T., Trinkl K. (2001) Heterocycles, im Druck
- ² Forth W., Henschler D., Rummel W., Starke K. (1996) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 7. Auflage, 413.
- ³ Hölscher P., Rehwinkel H., Pribilla I., Davey D. (1998) Patent WO 98/50372. PCT/DE98/01241
- ⁴ Erker T. (1993) J. Heterocycl. Chem. **30**,1089.

Eingelangt am 29. August 2001
Angenommen am 3. Oktober 2001