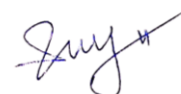


На правах рукописи



До Ван Куи

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ГИБРИДНЫХ
1,3,5-ТРИАЗИНОВ НА ОСНОВЕ ЗАМЕЩЕННЫХ БИГУАНИДИНОВ И
АМИДИНОТИОМОЧЕВИНЫ**

1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени кандидата химических наук

Воронеж – 2023


Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный университет»

- Научный руководитель:** кандидат химических наук, доцент
Столповская Надежда Владимировна
- Официальные оппоненты:**
- Карцев Виктор Георгиевич**
доктор химических наук, академик РАН,
закрытое акционерное общество «Ай-Би-Скрин», заместитель директора по науке
- Филимонов Сергей Иванович**
доктор химических наук, доцент,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный технический университет», кафедра общей и физической химии, профессор
- Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

Защита состоится «11» октября 2023 г. в 16 часов 00 мин. на заседании диссертационного совета 24.2.288.07 при Воронежском государственном университете по адресу: 394018, Воронеж, Университетская площадь, 1, ауд. 439.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Воронежского государственного университета и на сайте <http://www.science.vsu.ru>.

Автореферат разослан «07» августа 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  Столповская Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В последнее время в рациональном дизайне лекарственных средств наметилась тенденция к использованию молекулярной гибридизации, заключающейся в объединении двух и более фармакофорных групп в одной молекуле. Такое сочетание позволяет создать новое гибридное соединение с высокой биологической активностью и низкой терапевтической концентрацией, измененным профилем селективности, а также может снизить нежелательные побочные эффекты. При этом ключевой методологией создания таких физиологически активных веществ является использование привилегированных структур и подструктур, которые входят в состав известных лекарственных препаратов. Имеются сведения об успешном использовании концепции гибридных молекул для создания препаратов с различной комбинацией одновременного действия: в терапии многофакторных патологий, таких как сердечно-сосудистые заболевания, диабет, рак, воспалительные процессы, и другие, требующих воздействия на несколько рецепторов или сигнальных путей.

Наличие азотсодержащего гетероциклического фрагмента в структуре многих биологически активных соединений стимулирует развитие новых стратегий их синтеза. Цикл 1,3,5-триазины является привилегированным каркасом для получения веществ с широким спектром биологической активности. Этот цикл входит в структуру соединений, обладающих противораковой, противовирусной, антимикробной, кардиопротекторной, противовоспалительной, противотуберкулезной, антималярийной, антиоксидантной и другими видами активности. На его основе внедрены в практику различные лекарственные препараты: алмитрин – стимулятор дыхания, ирсогладин – ингибитор фосфодиэстеразы, альтретамин – противоопухолевое средство и другие. Но лишь незначительная часть публикаций посвящена синтезу и исследованию гибридных гетероциклических соединений, содержащих данный цикл и проявляющих биологическую активность. Между тем именно сочетание в одной молекуле нескольких гетероциклических фрагментов зачастую позволяет добиться требуемого спектра биологической активности за счет синергетического действия. Таким образом, сочетание в молекуле 1,3,5-триазинового цикла и дополнительного фармакофорного гетероцикла является перспективным вариантом для получения новых соединений с потенциальной биологической активностью.

Настоящая работа выполнена в контексте решения вышеуказанных проблем, является частью плановых научных исследований, проводимых на кафедре органической химии ВГУ.

Целью настоящего исследования является направленный синтез новых гибридных линейно-связанных и конденсированных производных 1,3,5-триазины на основе замещенных бигуанидинов и амидинотиомочевины, изучение свойств, строения, механизмов образования и биологического действия синтезированных соединений.

Для реализации поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Разработка стратегии и тактики синтеза новых линейно-связанных и конденсированных гетероциклических систем, содержащих фрагмент 1,3,5-триазины и дополнительный фармакофорный цикл, на основе N,N-полинуклеофилов, таких как замещенные бигуанидины и амидинотиомочевина.

2. Обоснование выбора дополнительного фармакофорного цикла для конструирования гибридных молекул на платформе 1,3,5-триазина с потенциальной биологической активностью.
3. Разработка и оптимизация методик синтеза гибридных молекул с фрагментом 1,3,5-триазина, установление маршрутов их образования, исследование вариантов их дальнейшей структурной модификации.
4. Установление структуры полученных гетероциклических систем с применением комплекса физико-химических методов анализа.
5. Исследование направлений практического использования полученных веществ, в том числе оценка биологического действия на примере антибактериальной и антикоагулянтной активности.

Научная новизна

Оптимизированы методы синтеза 6-замещенных 4-меркапто-1,3,5-триазин-2-аминов на основе взаимодействия замещенных бигуанидинов с сероуглеродом и амидинотиомочевины с моноэлектрофилами. Установлено, что реакция их алкилирования протекает селективно с участием меркаптогруппы. Полученные S-алкилпроизводные, содержащие дополнительно линейно связанные гидрохинолиновый и индолиновый (пиперидиновый) циклы обладают избирательной ингибирующей активностью в отношении фактора свертывания Ха, но не ингибируют факторы свертывания XIa и тромбин.

Установлено, что в результате трехкомпонентной конденсации формальдегида, алкиламинов и тиазол-2-илгуанидина, полученного при взаимодействии амидинотиомочевины и диметилового эфира ацетилендикарбоновой кислоты, образуются новые N-1,3,5-триазинан-2-илиден-N-1,3-тиазол-2-амины, обладающие антибактериальной активностью в отношении *S. aureus* и *E. coli*.

Разработаны методики синтеза новых 4-арил-8-метил-2-тиоксо-1,2,3,4-тетрагидро-6H-пиримидо[1,2-a][1,3,5]триазин-6-онов и этил 4-арил-6-оксо-2-тиоксо-1,3,4,6-тетрагидро-2H-пиримидо[1,2-a][1,3,5]триазин-7-карбоксилатов, обладающих антибактериальной активностью в отношении *S. aureus* и *E. coli*, на основе взаимодействия соответствующих 4-оксопиримидин-2-илтиомочевин с арилкарбальдегидами. С помощью комплекса спектральных данных доказано образование только одного региоизомера в данных реакциях и охарактеризована его структура. Установлено, что взаимодействие 4-амино-6-фенил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1H)-тиона с ацетоуксусным эфиром и этоксиметиленмалоновым эфиром приводит к образованию такого же региоизомера.

Методом рентгеноструктурного анализа впервые доказано образование этил 8-метил-4,6-диарил-2-тиоксо-3,4,6,9-тетрагидро-2H-пиримидо[1,2-a][1,3,5]триазин-7-карбоксилатов и 1-(8-метил-4,6-дифенил-2-тиоксо-3,4,6,9-тетрагидро-2H-пиримидо[1,2-a][1,3,5]триазин-7-ил)этан-1-она в результате мультикомпонентного взаимодействия амидинотиомочевины, ариальдегидов и ацетоуксусного эфира или ацетилацетона в условиях реакции Биджинелли. Установлен наиболее вероятный маршрут образования продуктов, показано, что процесс протекает диастереоселективно с образованием смеси R,R- и S,S-энантиомеров. Такие же пиримидо[1,2-a][1,3,5]триазины получены встречным синтезом реакцией 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1H)-тионов с ариальдегидами и ацетоуксусным эфиром (ацетилацетоном). Полученные пиримидо[1,2-

a][1,3,5]триазины обладают антибактериальной активностью в отношении *S. aureus* и *E. coli*.

Теоретическая и практическая значимость работы состоит в том, что установлены закономерности протекания реакций алкилирования и ацилирования полинуклеофильных функциональных производных 1,3,5-триазинов, позволяющих получать широкий спектр гибридных молекул с 1,3,5-триазиновым каркасом. Предложен и обоснован механизм реакции Биджинелли с участием амидинотиомочевины, проводящей к формированию конденсированной матрицы пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазина. Разработан ряд доступных и эффективных способов получения серии новых гибридных линейно-связанных и конденсированных производных 1,3,5-триазина на основе замещенных бигуанидинов и амидинотиомочевины. В ходе первичного биоскрининга *in vitro* среди синтезированных соединений выявлены вещества, обладающие ингибирующей активностью в отношении фактора свертывания крови Ха, а также антибактериальной активностью по отношению к культурам *E. coli* и *S. aureus*.

Методология и методы исследования. Для установления структуры полученных в ходе работы соединений использованы современные физико-химические методы исследования – ИК-спектроскопия, ЯМР ¹H и ЯМР ¹³C спектроскопия, двумерные эксперименты (COSY, HSQC, HMBC, NOESY), элементный анализ, масс-спектрометрия, высокоэффективная хромато-масс-спектрометрия. Контроль за ходом протекания реакций осуществляли методами тонкослойной хроматографии на пластинах Merck TLC Silica gel 60 F254 (элюент – хлороформ, метанол, этилацетат, и их смеси в различных соотношениях), проявление хроматограмм – в УФ-свете, парах йода. Оценку антибактериальной активности *in vitro* осуществляли путем определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) согласно рекомендаций EUCAST и МУК на условно-патогенных штаммах микроорганизмов: *S. aureus* и *E. coli* в сравнении с известными лекарственными средствами: хлорамфеникол, сульфатиазол, метронидазол. Для исследования ингибирования тромбина и факторов свертывания Ха и XIa синтезированными соединениями измеряли кинетику гидролиза специфичных по отношению к каждому из этих ферментов субстратов в присутствии тестируемых веществ.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Взаимодействие азотсодержащих полинуклеофилов, содержащих в своей структуре скрытый бигуанидный фрагмент, в которых концевой атом азота включен в алифатический цикл пиперидина, морфолина, индолина или тетрагидрохинолина с моноэлектрофильными реагентами: арилальдегидами, диметилацеталем N,N-диметилформамида, сероуглеродом – перспективный метод получения гибридных 1,3,5-триазинов, линейно связанных с другим фармакофорным гетероциклом и содержащих реакционно способные амино- и меркаптогруппы.
2. Вариации каскадных процессов с участием амидинотиомочевины позволяют получать гибридные 1,3,5-триазины с разнообразными гетероциклическими заместителями, связанные с основным каркасом линкерными группами разной структуры.
3. Введение в реакции ацилирования и алкилирования амино- и меркаптопроизводных 1,3,5-триазинов позволяет существенно расширить спектр гибридных соединений с 1,3,5-триазиновым каркасом. При этом реакции

алкилирования протекают селективно с участием меркаптогруппы, а использование *N*-хлорацетилпроизводных гидрохинолинов в качестве алкиляторов позволяет ввести в молекулу продуктов дополнительный фармакофорный фрагмент.

4. 4-Оксопиримидин-2-илтиомочевины и 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионы являются перспективными платформами для получения новых производных конденсированной матрицы пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазина. Реакция 4-оксопиримидин-2-илтиомочевин с ариальдегидами и взаимодействие 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионов с ацетоуксусным эфиром или этоксиметиленмалоновым эфиром протекают с образованием одинаковых региоизомеров пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазинового ряда.

5. В условиях реакции Биджинелли с участием амидинотиомочевины или 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионов, ариальдегида и β-кетозфира (β-дикетона) происходит формирование 8-метил-4,6-диарил-2-тиоксо-3,4,6,9-тетрагидро-2*H*-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазинов. При этом процесс протекает диастереоселективно с образованием пар *R,R*- и *S,S*-изомеров.

6. Синтезированные соединения могут быть использованы в качестве ингибитора фактора свертывания крови Ха, а также антибактериальных препаратов.

Степень достоверности результатов. Достоверность методик синтеза новых соединений подтверждается многократным воспроизведением. Достоверность строения полученных продуктов обеспечена тщательностью проведения экспериментов, а также использованием современных физико-химических методов анализа для подтверждения структуры синтезированных соединений (ЯМР-, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ, ВЭЖХ МС).

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались на Весенней школе-конференции ХимРар по медицинской химии: (МедХимРар-21) (г. Химки, 2021 г.); 5-й Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» (г. Уфа, 2021 г.); 8-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2022»: «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств» (г. Воронеж, 2022 г.); VII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Химические проблемы современности» (г. Донецк, 2023 г.)

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 9 научных работ, из которых 4 статьи в рекомендованных ВАК РФ рецензируемых научных изданиях, 5 тезисов докладов и материалов конференций.

Личный вклад автора. Вклад автора состоит в поиске, анализе и обобщении научной литературы по теме диссертации и участии в разработке плана исследования. Лично автором осуществлены все синтетические эксперименты, включая выделение и очистку продуктов; подготовлены образцы для биологических испытаний; обработаны и обсуждены полученные данные. Обсуждение результатов и подготовка публикаций осуществлены совместно с научным руководителем.

Объем и структура работы. Работа состоит из введения, трех глав, заключения, списка цитируемой литературы (161 источник). Работа изложена на 155 страницах, содержит 44 рисунка и 38 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована цель исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Глава 1. **Обзор литературы** включает обобщение литературных данных по известным методам синтеза 1,3,5-триазинов на основе реакций циклизации полинуклеофильных реагентов и по методам синтеза конденсированных гетероциклических систем, содержащих цикл 1,3,5-триазина, а также по сферам применения производных 1,3,5-триазина. В главе 2 **Обсуждение результатов** представлены результаты собственных исследований, описание маршрутов и механизмов реакций, данные по установлению строения новых веществ. В главе 3 **Экспериментальная часть** представлен перечень используемых реактивов и материалов, список физико-химических методов и используемого оборудования, методики синтеза получаемых соединений.

В соответствии с поставленными задачами была получена серия различных функционально замещенных 1,3,5-триазинов, имеющих дополнительный гетероцикл, линейно связанный или конденсированный с триазиновым скелетом. Были исследованы возможности их модификации за счет реакционно способных amino- и меркаптогрупп. Были оптимизированы условия проведения многих реакций, установлены маршруты их протекания. Охарактеризованы структура, физико-химические свойства синтезированных соединений, проведена оценка *in silico* их биологического действия и токсичности. Для большинства синтезированных соединений проведены исследования антибактериального и антикоагулянтного действия *in vitro*.

1 Гибридные 1,3,5-триазины, линейно связанные с другими гетероциклическими фрагментами

1.1 Гибридные 1,3,5-триазины, линейно связанные с другими гетероциклическими фрагментами, на основе бигуанидинов

Известно, что бигуанидины являются перспективными субстратами для синтеза на их основе 1,3,5-триазинов в результате взаимодействия с моноэлектрофильными реагентами, такими как карбонильные соединения, ортоэфиры, галогенангидриды, сложные эфиры, сероуглерод, диметилкарбонат и т.д. Это обусловлено наличием в структуре бигуанидов 1,5-N,N-бинуклеофильного фрагмента.

Для получения гибридных 1,3,5-триазинов, линейно связанных с другим фармакофорным гетероциклом использовали соединения, имеющие в своей структуре скрытый бигуанидный фрагмент, в которых концевой атом азота включен в алифатический цикл пиперидина, морфолина, индолина или тетрагидрохинолина. Синтез таких соединений осуществляли по известным методикам при взаимодействии амина, дициандиамида в условиях кислотного катализа (Схема 1).

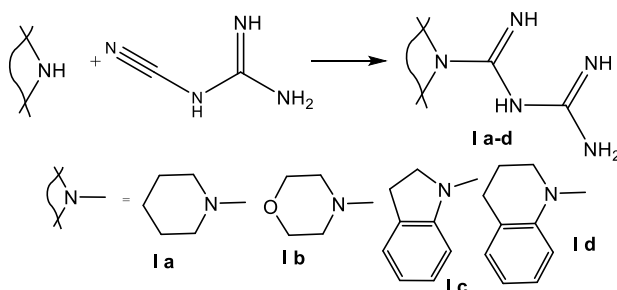


Схема 1. Синтез N,N-дизамещенных бигуанидинов

Необходимо отметить, что для *N*-арилбигуанидинов изучено большое количество реакций циклизации с образованием 1,3,5-триазинового цикла, в то время, как для *N,N*-дизамещенных бигуанидинов **I a-d** подобные процессы не описаны, хотя селективность реакций гетероциклизации для этих соединений априори должна быть выше, так как количество реакционно способных нуклеофильных центров уменьшается.

1.1.1 Взаимодействие *N,N*-дизамещенных бигуанидинов с арилальдегидами

Были изучены реакции соединений **I** с бензальдегидом (Схема 2). Для арилбигуанидинов в литературе описаны подобного рода реакции, осуществляемые как в присутствии кислот, так и в присутствии различных оснований. Установлено, что оптимальными условиями проведения процесса для соединений **I** является кипячение исходных реагентов в присутствии каталитических количеств метилата натрия в метаноле. Проведение реакции без катализатора и в условиях кислотного катализа не приводит к положительному результату.

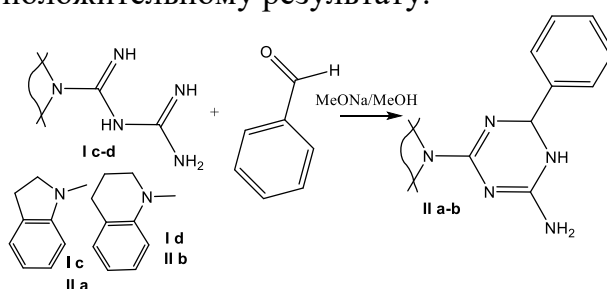


Схема 2. Синтез гибридных 1,3,5-триазинов взаимодействием *N,N*-дизамещенных бигуанидинов с бензальдегидом

Структура соединений **II a-b** подтверждена методом ВЭЖХ-МС-анализа, ЯМР ^1H -спектроскопии. ЯМР ^1H -спектры триазинов **II a-b** содержат характеристический синглет СН-протона дигидротриазинового цикла в области 6,01-6,11 м.д., уширенные синглеты 3-х NH-протонов, а также сигналы ароматических протонов и протонов заместителей в соответствующих областях. Соединения **II a-b** представляют собой белые кристаллические вещества, хорошо растворимые в спиртах, ацетоне, диметилформамиде. Аминодигидротриазины **II** могут существовать в нескольких таутомерных формах (Схема 3). Их исследование имеет существенное значение, так как эти дигидротриазины содержат эндо- и экзоциклические аминогруппы, способные к дальнейшим превращениям.

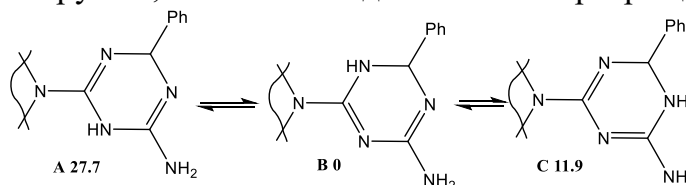


Схема 3. Возможные таутомерные формы дигидротриазина **II d** и их относительная энергия

В зависимости от таутомерной формы исходного соединения возможно образование изомерных продуктов. Анализ литературных данных для схожих структур указывает на преобладание таутомерной формы **C**, для подтверждения этих данных были проведены квантово-химические расчеты. Полуэмпирически и методом функционала плотности DFT рассчитывались заряды и электронная плотность на граничных орбиталях реакционных центров. Расчеты по методу DFT проводились с использованием программного пакета Gaussian 03, Revision C.02, при этом геометрия оптимизировалась ab initio по Хартри-Фоку (HF) в базе 3-

21G*, после чего электронная структура рассчитывалась с учетом электронной корреляции по B3LYP/6-31G**. Визуализацию результатов расчета молекулярных орбиталей в Gaussian осуществляли с помощью пакета Molelel.

На схеме 3 отражены значения относительной энергии различных таутомерных форм дигидротриазина **II d**. Как видно из рисунка наименьшей энергией обладают структуры **B** и **C**, в то время как для формы **A** значения относительной энергии выше, что согласуется с литературными данными. Соответственно, в реакциях с электрофилами с большей вероятностью будут участвовать незамещенная аминогруппа и NH-группа триазинового цикла, соседняя с ароматическим заместителем.

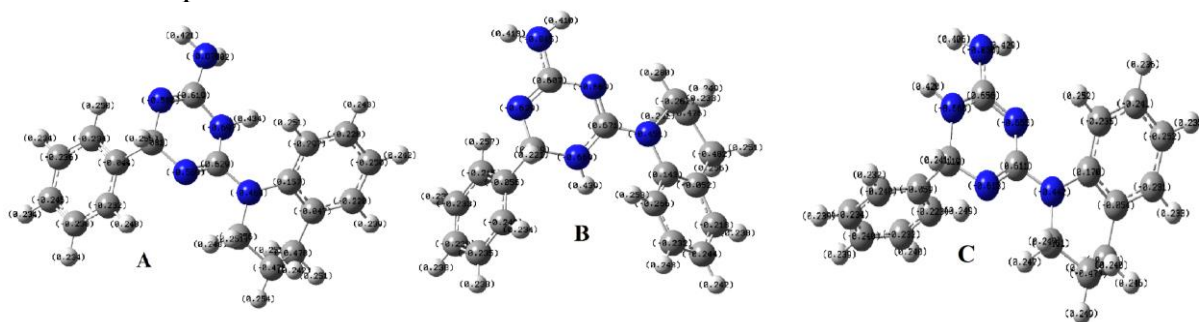


Рисунок 1. Данные квантово-химические расчеты разных таутомерных форм дигидротриазина **II d**

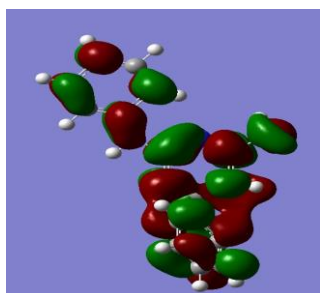


Рисунок 2. Электронная плотность LUMO для таутомерной формы **C**

Результаты расчетов показали (рис. 1), что для всех таутомерных форм аминодигидротриазинов наибольший отрицательный заряд сконцентрирован на атоме азота экзоциклической аминогруппы, по сравнению с эндоциклическими атомами азота. Соответственно, в реакции с электрофилами в первую очередь будет вступать именно экзоциклическая аминогруппа. Структура ВЗМО для таутомерной формы **B** (рис. 2) также характеризуется большей электронной плотностью на аминогруппе. Это позволяет предположить большую реакционную способность экзо-атомов азота, как в случае орбитального, так и зарядового контроля.

1.1.2 Взаимодействие N,N-дизамещенных бигуанидинов с диметилацеталем N,N-диметилформамида

Эффективным одноуглеродным электрофильным циклизующим агентом является диметилацеталь N,N-диметилформамида. Для расширения линейки гибридных аминотриазинов исследовали реакцию N,N-дизамещенных бигуанидинов с этим реагентом, приводящую к формированию производных 1,3,5-триазинов, не имеющих заместителей в 6-ом положении цикла. Для подобных синтезов можно также использовать этилортоформиат, однако предложенный подход позволяет получать триазины с большим выходом. Установлено, что оптимальными условиями для проведения процессов является кипячение исходных реагентов в изопропиловом спирте (Схема 4).

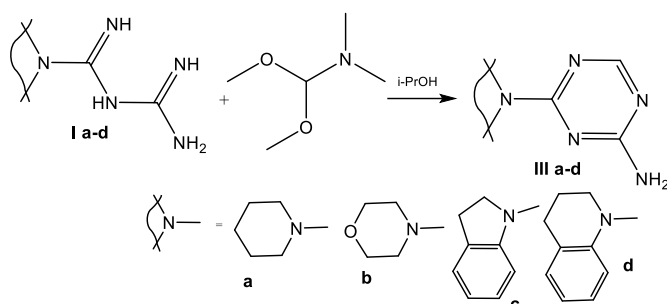


Схема 4. Синтез гибридных 1,3,5-триазинов взаимодействием *N,N*-дизамещенных бигуанидинов с димилацеталем *N,N*-диметилформамида

Полученные триазины **III a-d** представляют собой белые кристаллические вещества, ограничено растворимые в спиртах, ацетоне, хлороформе, хорошо растворимые в диметилформамиде. Структура полученных соединений подтверждена данными ЯМР ^1H спектроскопии. В ЯМР ^1H спектрах присутствуют сигналы протонов заместителей в характерных областях, уширенный синглет двух протонов аминогруппы в области 4,80-5,51 м.д., а также синглет СН-протона триазинового цикла при 8,41-8,60 м.д.

1.1.3 Взаимодействие *N,N*-дизамещенных бигуанидинов с сероуглеродом

Для получения 1,3,5-триазинов, содержащих помимо аминогруппы другие функциональные группы были исследованы реакции *N,N*-дизамещенных бигуанидинов с еще одним моноэлектрофилом – сероуглеродом.

Подобная реакция описана в литературе для *N*-арилбигуанидинов, при этом авторы показали образование двух региоизомеров за счет участия в реакции аминогруппы, связанной с арильным заместителем и соседней иминогруппы, то есть за счет N1-N4 или N2-N4. В случае бигуанидов **I** образование изомера за счет фрагмента N1-N4 исключено, так как у атома N1 оба атома водорода замещены, поэтому единственными продуктами являются 2-амино-4-меркапто-1,3,5-триазины **IV** (Схема 5).

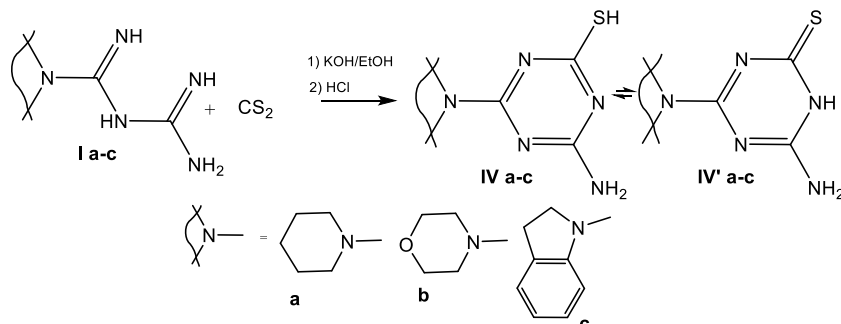


Схема 5. Синтез гибридных 1,3,5-триазинов взаимодействием *N,N*-дизамещенных бигуанидинов с сероуглеродом

Полученные триазины **IV a-c** представляют собой белые кристаллические вещества, хорошо растворимые в спиртах, ацетоне, хлороформе, диметилформамиде. Структура полученных соединений подтверждена данными ЯМР ^1H спектроскопии. Для соединений **IV** характерна тион-тиольная таутомерия, однако, судя по спектральным данным, в растворе диметилсульфоксида они существуют в форме тиола. В ЯМР ^1H спектрах видны сигнал SH-протона в области слабого поля, уширенный синглет двух протонов аминогруппы в области 4,80-5,21 м.д., а также сигналы протонов заместителей в соответствующих областях.

1.2 Гибридные 1,3,5-триазины, линейно связанные с другими гетероциклическими фрагментами, на основе амидинотиомочевины

1.2.1 Взаимодействие амидинотиомочевины с моноэлектрофилами

Амидинотиомочевина в своей структуре также содержит 1,5-N,N-бинуклеофильный фрагмент, циклизация которого с моноэлектрофилами приводит к формированию 1,3,5-триазинового цикла, однако для получения гибридных 1,3,5-триазинов проведения только стадии циклизации не достаточно, для введения фармакофорного фрагмента требуется еще одна стадия, например, алкилирования или ацилирования.

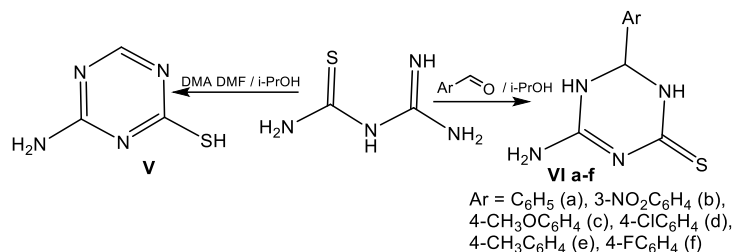


Схема 6. Синтез 1,3,5-триазинов взаимодействием амидинотиомочевины с арилальдегидами и с диметилацеталем *N,N*-диметилформамида

Реакции амидинотиомочевины с арилальдегидами, диметилацеталем *N,N*-диметилформамида были детально изучены в предыдущих работах, поэтому 4-амино-1,3,5-триазин-2-тиол **V** и 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионы **VI a-f** были синтезированы по известным методикам (Схема 6) и использованы в дальнейшем, как платформа для получения гибридных 1,3,5-триазинов.

1.2.2 Синтез гибридных 1,3,5-триазинов на основе каскадных процессов с участием амидинотиомочевины

Амидинотиомочевина – полинуклеофильный субстрат, который в зависимости от структуры электрофила ведет себя как 1,3-N,S-, 1,3-N,N-, 1,5-N,N-бинуклеофил. Примеры участия 1,5-N,N-бинуклеофильного фрагмента в реакциях с моноэлектрофилами описаны ранее. Использование различных диэлектрофильных реагентов позволяет вводить в реакцию концевые тиоамидный или амидиновый фрагменты амидинотиомочевины, вторая стадия каскадного процесса – формирование гидрированного 1,3,5-триазинового цикла в условиях одного из вариантов реакции Манниха: трехкомпонентное взаимодействие 1,3-N,N-бинуклеофилов с двукратным избытком формальдегида и эквимольным количеством амина.

Для получения гибридных 1,3,5-триазинов было предложено два варианта каскадных процессов:

1) Получение на первой стадии тиазол-2-илгуанидина в реакции амидинотиомочевины с диметил ацетилендикарбоксилатом. Вторая стадия – реакция этого гуанидина с алифатическими аминами и формальдегидом с образованием 1,3,5-триазинов.

2) Получение на первой стадии замещенных пиримидин-2-илтиомочевин реакцией амидинотиомочевины с этоксиметилен- или арилиденпроизводными ацетоуксусной и малоновой кислот. Вторая стадия повторяет первый вариант, но в качестве 1,3-N,N-бинуклеофила используется полученная тиомочевина.

1.2.2.1 Синтез гибридных 1,3,5-триазинов на основе тиазол-2-илгуанидина

На основании литературных данных при взаимодействии амидинотиомочевины с диметил ацетилендикарбоксилатом можно предположить

образование производных имидазолон, пиримидинона, тиазинона, 1,3,5-тиодиазепина и тиазолон. В предыдущих работах научной группы кафедры органической химии доказана селективность этой реакции в различных условиях и образование исключительно метил (2*Z*)-[2[(диаминометилен)амино]-4-оксотиазол-5(4*H*)-илиден]ацетата **VII**.

Известны примеры изомеризации 1,3-тиазолов, близких по структуре к соединению **VII**, в соответствующие 1,3-тиазины при нагревании в метаноле или в водном растворе NaOH. В рамках данной работы была исследована возможность проведения такой изомеризации, однако в результате ВЭЖХ-МС мониторинга установлено, что образования 1,3-тиазина **VIII** даже в незначительных количествах не происходит (Схема 7).

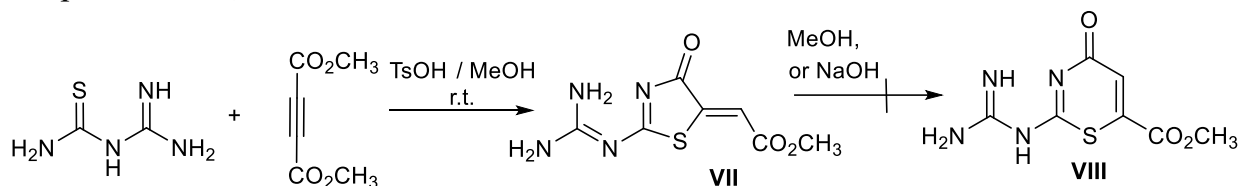
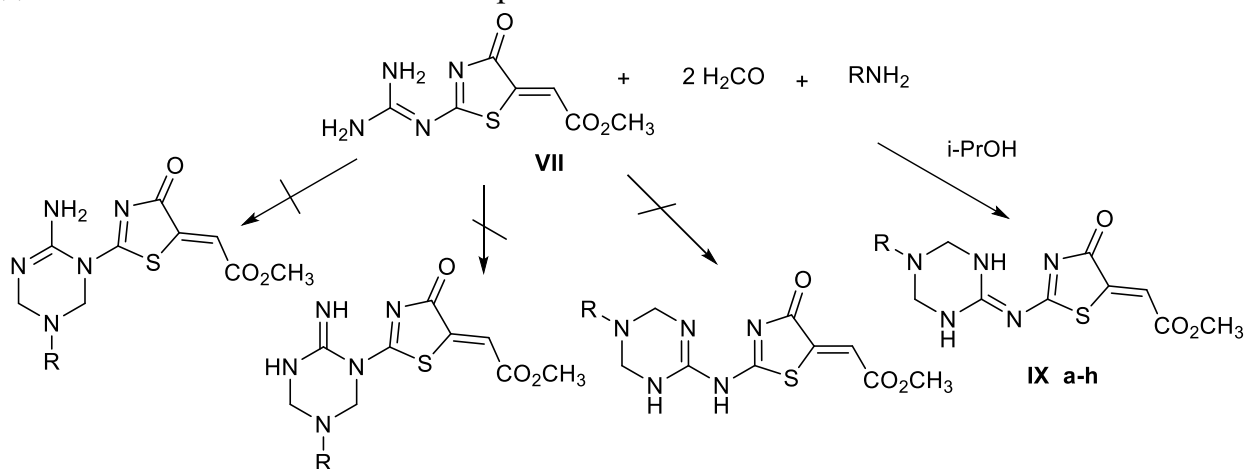


Схема 7. Взаимодействие амидинотиомочевины и диметил ацетилендикарбоксилата

Для получения гибридных 1,3,5-триазинов, линейно связанных с тиазолиноновым циклом была изучена конденсация **VII** с алкиламинами и формальдегидом (Схема 8). Установлено, что в результате реакции **VII** с первичными алифатическими аминами и формальдегидом образуются 1,3,5-триазины **IX a-h** с экзоциклической кратной связью. Исключить образование альтернативных продуктов, представленных на схеме 7 можно на основании данных ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C -спектроскопии.



R = *i*-C₃H₇ (a), C₄H₉ (b), C₅H₁₁ (c), 4-CH₃OC₆H₄CH₂ (d), 2-CH₃OC₆H₄CH₂ (e), циклогексил (f), 2-фурилCH₂ (g), 3-пиридилCH₂- (h)

Схема 8. Синтез гибридных 1,3,5-триазинов взаимодействием метил (2*Z*)-[2[(диаминометилен)амино]-4-оксотиазол-5(4*H*)-илиден]ацетата с алкиламинами и формальдегидом

Так в ЯМР ^1H спектрах две группы CH₂ и две группы NH видны в виде синглетов в области 4.27-4.41 и 9.01-9.14 м.д., соответственно. В спектрах ЯМР ^{13}C оба углерода CH₂-групп триазинового цикла видны в виде одного сигнала при 57.5-60.6 м.д. Для альтернативных региоизомеров и таутомеров вид спектров был бы другим. Сложноэфирная и карбонильная группа в реакцию с аминами не вступают. Дополнительно структура продуктов **IX a-h** доказана методом ВЭЖХ-МС-анализа. Необходимо отметить, что введение в реакцию гетероциклических аминов позволяет получить гибридные 1,3,5-триазины, содержащие помимо

дополнительного тиазольного цикла еще один фармакофорный фрагмент, например, фурановое или пиридиновое кольцо.

1.2.2.2 Синтез гибридных 1,3,5-триазинов на основе пиримидин-2-илтиомочевин

Из данных литературы известно, что использование 1,3-бизлектрофилов, не содержащих подвижные атомы галогенов, позволяет вводить в реакцию 1,3-N,N-бинуклеофильный фрагмент амидинотиомочевины, в частности, концевую амидиновую группу.

Как уже было отмечено ранее, первой стадией второго варианта получения гибридных 1,3,5-триазинов на основе каскадных процессов было взаимодействие амидинотиомочевины с ацетоуксусным эфиром и этоксиметилен- или арилиденпроизводными ацетоуксусной и малоновой кислот.

Часть из этих процессов ранее уже были изучены на кафедре органической химии, но в данной работе обнаружены новые аспекты некоторых реакций и существенно оптимизированы условия проведения реакций (Схема 9).

4-Метил-6-оксопиримидин-2-илтиомочевина **X** была получена по известной методике при взаимодействии амидинотиомочевины с ацетоуксусным эфиром при кипячении исходных реагентов в диоксане с добавлением каталитических количеств уксусной кислоты в течение 7 часов. Некоторые реакции амидинотиомочевины с этоксиметиленпроизводными малоновой и ацетоуксусной кислот были описаны ранее. Было доказано, что сера не участвует в данном процессе, циклизация осуществляется за счет амидинового фрагмента.

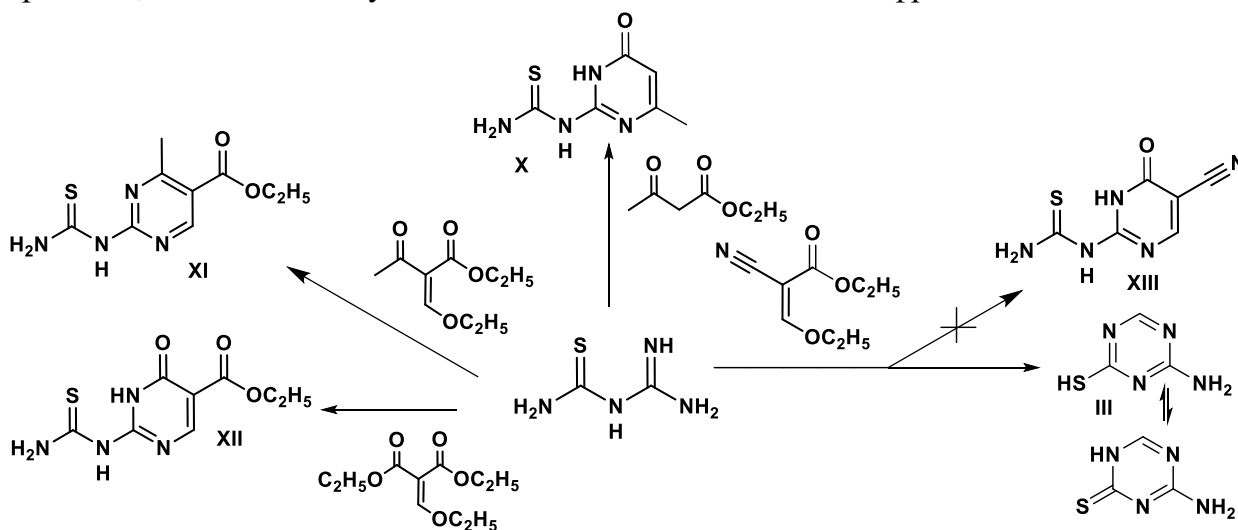


Схема 9. Взаимодействие амидинотиомочевины с производными ацетоуксусной и малоновой кислот

Соединения **XI-XII** были получены при взаимодействии амидинотиомочевины с этоксиметиленациацетоуксусным эфиром и диэтил этоксиметиленмалонатом, соответственно. Реализуется двухстадийный процесс, где первая стадия – присоединение по активированной кратной связи с отщеплением молекулы этанола, вторая – внутримолекулярное нуклеофильное присоединение аминогруппы к электрофильному атому углерода интермедиата. Впервые доказано, что в реакциях с этоксиметиленмалоновым эфиром и этоксиметиленациацетоуксусным эфиром помимо целевых продуктов **XI-XII** наблюдается образование триазина **III**. В случае реакции амидинотиомочевины с этоксиметиленцианоуксусным эфиром образуется только триазин **III**, образования тиомочевины **XIII** не наблюдается. Это подтверждают данные ВЭЖХ МС-анализа

продуктов и реакционной массы. Механизм образования данного триазина, вероятно, следующий: образующийся на первой стадии интермедиат, представляющий собой продукт сшивки амидинотиомочевины через метиновое звено с метиленактивным соединением (X и Y – электроноакцепторные группы: $-\text{COCH}_3$, $-\text{CO}_2\text{Et}$, $-\text{CN}$), претерпевает внутримолекулярное присоединение по Михаэлю иминогруппы к активированной двойной связи. В результате последующего сигматропного переноса протона и тион-тиольных таутомерных превращений происходит отщепление метиленактивного компонента и образование триазина **III**, стабилизированного за счет ароматизации (Схема 10).

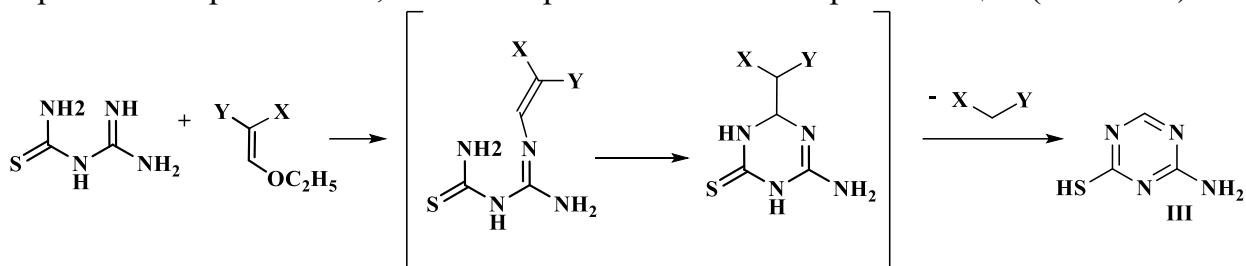


Схема 10. Механизм образования 4-амино-1,3,5-триазин-2-тиола в реакции амидинотиомочевины с этоксиметиленпроизводными ацетоуксусной и малоновой кислот

Эта побочная реакция значительно затрудняет выделение чистых целевых тиомочевин. Изменение условий проведения реакции, варьирование растворителями не привело к желаемому результату. Снизить количество триазина удалось при использовании следующего приема: смешение горячих растворов исходных соединений в смеси диоксан и диметилформамид в соотношении 2 : 1 с последующим кипячением реакционной массы. Необходимо отметить, что при этом существенно сокращается время реакции с 7-8 ч до 15-30 минут и, соответственно, уменьшается количество побочного 1,3,5-триазина.

1.3 Гибридные 1,3,5-триазины, линейно связанные с другими гетероциклическими фрагментами, полученные в результате модификации за счет реакций amino- и меркаптогрупп

Большинство из полученных 1,3,5-триазинов имеют с своей структуре реакционноспособные функциональные группы: аминогруппу и/или меркаптогруппу. Для расширения комбинаторных библиотек гибридных 1,3,5-триазинов были исследованы процессы модификации полученных ранее производных с помощью реакций ацилирования и алкилирования.

1.3.1 Гибридные 1,3,5-триазины, линейно связанные с другими гетероциклическими фрагментами, полученные в результате ацилирования аминогруппы

Исследование реакций ацилирования начали с 1,3,5-триазинов **III**, содержащих только один реакционноспособный центр – аминогруппу (Схема 11).

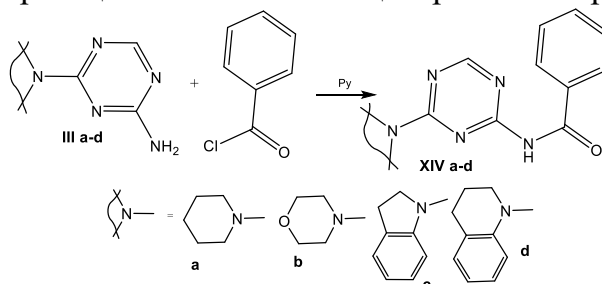


Схема 11. Ацилирование 4-R-1,3,5-триазин-2-аминов бензоилхлоридом

Было найдено, что с максимальной степенью конверсии исходных реагентов взаимодействие с бензоилхлоридом протекает при кипячении с пиридине, который вступает и в качестве акцептора выделяющегося хлороводорода. В более мягких классических условиях реакции ацилирования: в диметилацетамиде в присутствии избытка триэтиламина или в пиридине на холоду – процесс не протекает, вероятно, это обусловлено пониженной нуклеофильностью аминогруппы ввиду акцепторного действия триазинового цикла. Реакция протекает с высокими выходами, структура полученных соединений подтверждена данными ЯМР ^1H -спектроскопии. В спектрах продуктов, по сравнению со спектрами исходных соединений исчезает синглет двух протонов аминогруппы, но в более слабом поле (10,70-10,75 м.д.) появляется синглет NH-протона амидной группы, а также в области 7,70-7,90 м.д. появляются сигналы 5-ти протонов бензольного кольца, положение сигналов протонов заместителей, а также синглета СН-протона триазинового цикла практически не изменяется.

Таким образом, реакции ацилирования являются простым и эффективным методом, позволяющим расширить комбинаторные библиотеки гибридных 1,3,5-триазинов.

1.3.2 Гибридные 1,3,5-триазины, линейно связанные с другими гетероциклическими фрагментами, полученные в результате алкилирования меркаптогруппы

4-Амино-6-R-1,3,5-триазин-2-тиолы **IV a-c** имеют два нуклеофильных центра: амино- и меркаптогруппу, поэтому могут быть введены в последующие реакции с электрофильными реагентами, например, алкилгалогенидами. Для получения новых гибридных молекул в качестве алкилирующих агентов были использованы метилйодид, хлорацетанилид. Было установлено, что алкилирование 4-амино-6-R-1,3,5-триазин-2-тиолов **IV a-c** протекает селективно только по более нуклеофильному атому серы, не затрагивая аминогруппу (Схема 12-13). Исходные триазинтиолы предварительно превращали в соответствующие натриевые соли обработкой раствором метилата натрия.

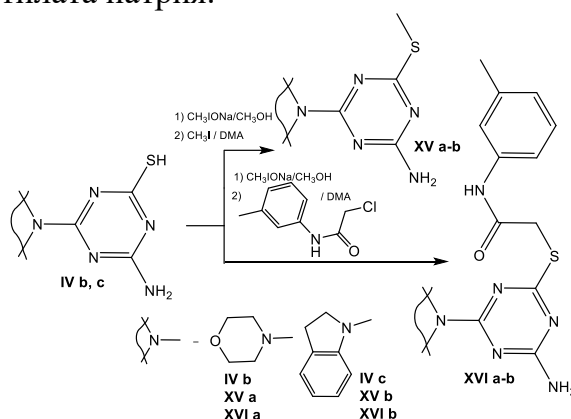


Схема 12. Алкилирование 2-амино-4-R-1,3,5-триазин-2-тиолов

Структура соединений **XV-XVI** подтверждена методом ЯМР ^1H -спектроскопии. В спектрах ЯМР ^1H соединений **XV a-b** по сравнению со спектрами исходных амино-1,3,5-триазинтиолов исчезает сигнал меркаптогруппы и появляется синглет метильной группы в области 2,50-2,53 м.д. В спектрах соединений **XVI a-b** появляются синглет метиленовой группы в области сильного поля, синглет амидного NH-протона в области 9,81-10,20 м.д. и сигналы протонов арильного заместителя в соответствующих областях.

На данный момент имеются сведения об антималярийной, антипаразитарной, антибактериальной и противогрибковой активности гибридных молекул, сочетающих в своей структуре хинолиновый и 1,3,5-триазиновый циклы. В связи с этим для получения гибридных 1,3,5-триазинов, имеющих в своей структуре дополнительный фармакофорный гидрохинолиновый фрагмент в качестве алкилирующих агентов использовали – N-хлорацетилпроизводные гидрохинолинов **XVII a-d** (Схема 13). Последние широко используются в синтезе разнообразных гетероциклических матриц, содержащих гидрохинолиновый заместитель.

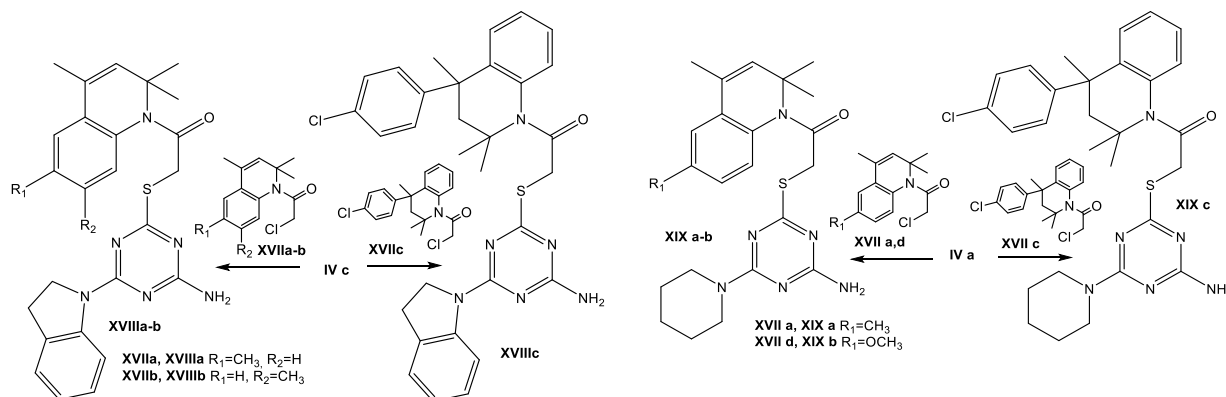


Схема 13. Алкилирование 2-амино-4-*R*-1,3,5-триазин-2-тиолов хлорацетилпроизводными гидрохинолина

Структура соединений **XVIII-XIX** подтверждена методами ЯМР ^1H - и ^{13}C -спектроскопии. В спектрах ЯМР ^1H присутствуют характеристические синглеты группы SCH_2 в области 4,04-4,16 м.д., сигналы аминогруппы видны в виде двух уширенных синглетов в области 6,48-6,64 м.д. для соединений **XIX a-c** и при 7,88-8,43 м.д. для соединений **XVIII a-c**. Сигналы ароматических протонов хинолинового и индолинового циклов видны в области 6,73-7,49 м.д. В спектрах присутствуют так же сигналы протонов заместителей в гидрохинолиновом фрагменте, а также мультиплеты CH_2 -групп индолинового (пиперидинового) циклов в соответствующих областях. Для соединений **XVIII a-b** и **XIX a-b** характеристическим является синглет CH -протона пиридинового цикла гидрохинолинового фрагмента, который виден в области 5,56-5,61 м.д. В свою очередь в спектрах соединений **XVIII c** и **XIX c** присутствует характеристический сигнал CH_2 -группы гидропиридинового цикла хинолинового фрагмента в виде двух наборов мультиплетов при 0,99-1,09 и 1,61-1,71 м.д. Также в этом случае положение сигналов геминальных метильных групп значительно отличаются друг от друга, синглеты этих протонов видны при 1,06 и 1,28 м.д. Синглет метильной группы в 4-ом положении смещается в область более сильного поля и виден при 1,51 м.д., в то время, как в спектрах соединений **XVIII a-b** синглет этой метильной группы виден при 1,93-1,94 м.д.

Использование N-хлорацетилпроизводных гидрохинолинов в качестве алкиляторов – универсальный подход, позволяющий получать 1,3,5-триазины, линейно связанные с гидрохинолиновым циклом, представляющие интерес как биологически активные вещества.

2 1,3,5-Триазины, конденсированные с другими гетероциклическими фрагментами

Для получения конденсированных систем, содержащих цикл 1,3,5-триазина можно использовать две различные стратегии:

- использование функциональных производных 1,3,5-триазинов и биелектрофильных реагентов для замыкания дополнительного гетероцикла;
- замыкание 1,3,5-триазинового цикла в субстратах, содержащих структурный фрагмент N-C-N-C-N.

Нами были использованы обе стратегии. В качестве исходных реагентов при реализации первого варианта использовали 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионы **VI a-f**. Для замыкания 1,3,5-триазинового цикла использовали N-(4-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-2-ил)тиомочевину **X** и этил 4-оксо-2-тиоуреидо-1,6-дигидропиримидин-5-карбоксилат **XII**.

2.1 Синтез 4-арил-2-тиоксо-3,4-дигидро-1*H*-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазин-6(2*H*)-онов

Известно, что конденсированные пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазины обладают антиканцерогенным, антибактериальным, противовирусным действием. Были исследованы хемо- и региоселективность реакций замещенных N-4-оксопиримидин-2-илтиомочевин и арилальдегидов для получения новых 4-арил-2-тиоксо-3,4-дигидропиримидо[1,2-а][1,3,5]триазин-6-онов, перспективных для исследования их биологически-активных свойств.

В зависимости от того, какая из таутомерных форм **X (XII)** или **X' (XII')** будет принимать участие в реакции с арилкарбальдегидом возможно образование двух региоизомеров **XX** или **XXI** (Схема 18). Известно, что для пиримидин-4-онов более характерной таутомерной формой является амидная форма, вероятно, и для 4-оксопиримидин-2-илтиомочевин предпочтительной будет таутомерная форма **X (XII)**.

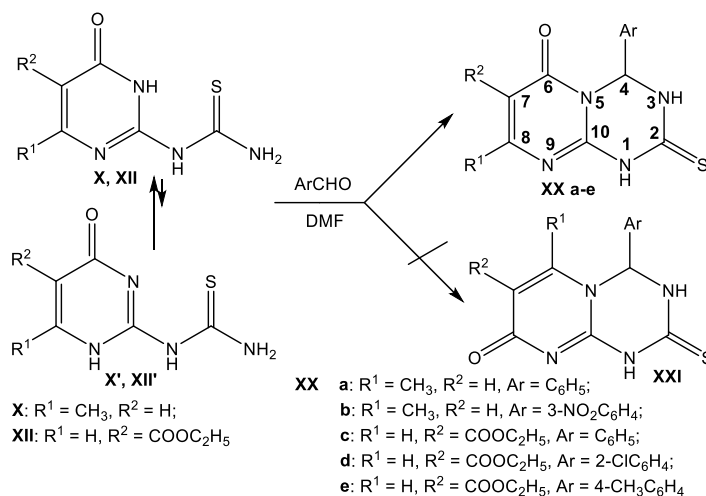


Схема 14. Взаимодействие 4-оксопиримидин-2-илтиомочевин с арилальдегидами

Кроме этого следует отметить, что известны реакции тиолов с арилкарбальдегидами, приводящие к образованию серусодержащих гетероциклов триазинов или тиазолов. Для соединений, имеющих в своей структуре тиоамидный фрагмент возможна тион-тиольная таутомерия. Таким образом, в реакциях 4-оксопиримидин-2-илтиомочевин **X** и **XII** с арилкарбальдегидами можно предположить образование еще двух продуктов – региоизомерных тиадизинов.

Однако, на основании комплекса спектральных данных для полученных в ходе реакции замещенных 4-оксопиримидин-2-илтиомочевин с арилкарбальдегидами соединений можно сделать вывод об образовании 4-арил-6-оксо-2-тиоксо-1,3,4,6-тетрагидро-2*H*-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазинов **XX a-e**. Конкурентное образование хемо- и региоизомеров не наблюдалось. Этоксикарбонильная группа в 5-ом положении пиримидинового цикла тиомочевин **XII** не

оказывает влияния на направление процесса: в реакции участвует незамещенная аминогруппа тиомочевины и NH-группа дигидропиримидинового цикла, соседняя с карбонильной группой.

Структура синтезированных соединений **XX a-e** доказана комплексом спектральных данных ЯМР ^1H , ЯМР ^{13}C , включая двумерные эксперименты COSY, HSQC, HMBC, NOESY. В спектрах ЯМР ^1H соединений **XX a-e** видны сигналы ароматических протонов в области 7,15-8,28 м.д., синглет СН-протона (4) триазинового цикла в области 6,70-6,88 м.д. и два уширенных синглета NH-групп (1,3) триазинового цикла при 10,59-10,80 и 12,00-12,52 м.д., соответственно. Положение СН-протона (7) пиримидинового цикла для соединений **XX a-b** наблюдается при 6,06-6,09 м.д., в то время, как для соединений **XX c-e** синглет СН-протона (8) расположен при 8.51 м.д. Такое смещение сигнала СН-протона в спектрах соединений **XX c-e** обусловлено акцепторным влиянием соседней этоксикарбонильной группы. В спектрах ЯМР ^1H соединений **XX a-b** присутствует синглет метильной группы при 2,15-2,18 м.д., а в спектрах соединений **XX c-e** сигналы протонов сложноэфирной группы: триплет трех протонов CH_3 -группы при 1,21-1,24 м.д. и мультиплет CH_2 -группы при 4,13-4,23 м.д. Сделать соотнесение СН-протонов и NH-протонов позволяет спектр COSY соединения **XX a**. В нем видны взаимодействия NH(3) и CH(4) протонов триазинового цикла. Можно сделать вывод, что уширенный синглет в области более сильного поля (при 10,59 м.д) соответствует NH-группе (3), связанной с CH(4), а уширенный синглет при 12,00 м.д. соответствует NH-группе (1), связанной с тиокарбонильной группой (2). Наличие такого взаимодействия позволяет исключить образование пиримидотиадиазинов в этой реакции.

Однозначный выбор в пользу образования региоизомера **XX a-e**, а не **XXI**, можно сделать на основании анализа спектра NOESY соединения **XX a**. В спектре отсутствуют какие-либо взаимодействия протонов ароматического кольца с другими протонами. Но для региоизомера **XXI** протоны метильной группы и протоны бензольного кольца должны были бы взаимодействовать друг с другом. Образование региоизомеров **XX a-e** косвенно подтверждают литературные данные, в которых представлена подобная реакция для 6-алкил-4-оксопиримидин-2-илгуанидинов. Структура соединений **XX a-e** подтверждена также методом ВЭЖХ-МС-анализа.

2.2 Диастереоселективный синтез 4,6-диарил-2-тиоксо-3,4,6,9-тетрагидро-2H-пиримидо[1,2-a][1,3,5]триазинов

Была исследована трехкомпонентная конденсация амидинотиомочевины, арилальдегидов и ацетоуксусного эфира (ацетилацетона). В молекуле амидинотиомочевины имеется четыре N-нуклеофильных центра, поэтому она может вступать в конденсацию Биджинелли аналогично тиомочевине или гуанидинам. В результате можно ожидать образования продуктов **A-E** (схема 15) или их смесей. Для выбора оптимальных условий проведения реакции был проведен мониторинг на примере взаимодействия амидинотиомочевины, бензальдегида и этилацетоацетата. Было установлено, что в большинстве случаев происходит образование продуктов **A**. Выбор условий основан на литературных данных. Было найдено, что при кипячении смеси амидинотиомочевины, дикарбонильного соединения и арилальдегида в присутствии каталитических количеств HCl достигается наибольший выход продукта **XXII a** (таблица 1).

Реакции проводили до полного расходования амидинотиомочевины, ход реакции контролировали с помощью тонкослойной хроматографии.

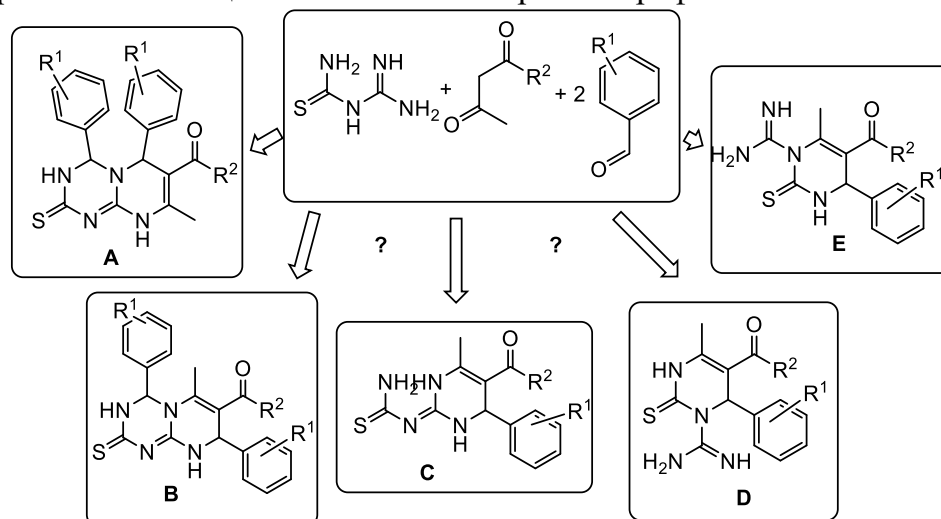


Схема 15. Возможные продукты реакции Биджинелли с участием амидинотиомочевины

Таблица 1. Данные мониторинга условий реакции Биджинелли с участием амидинотиомочевины на примере синтеза соединения **XXII a**

Условия реакции	Время реакции, ч	Выход, %
Ацетон / I ₂	8	25
Этанол / HCl	8	40
Ацетон / сульфаминовая кислота	8	15
ДМФА	1	Продукты не идентифицированы
ДМФА / микроволновая активация	1	Продукты не идентифицированы
Этанол / InCl ₃	8	22
Этанол / FeCl ₃	10	16
Этанол / триметилхлорсилан	10	18

Как видно из таблицы 1, когда реакцию проводили в ацетонитриле с каталитическим количеством йода или в ацетоне в присутствии каталитических количеств сульфаминовой кислоты, выходы соединения **XXIIa** низкие. При использовании ДМФА в качестве растворителя, в том числе и при микроволновом облучении образовывалась трудноразделимая смесь продуктов. Было также обнаружено, что без вышеуказанных катализаторов реакция не протекает или протекает с образованием большого количества неидентифицируемых побочных продуктов. Использование кислот Льюиса (InCl₃ и FeCl₃) в качестве катализатора приводит к образованию продукта с меньшим выходом за то же время. Необходимо отметить, что в этих условиях в больших количествах согласно данным ВЭЖХ-МС-анализа образуется триазин **VI a** (Схема 15). Далее, в выбранных условиях: кипячением смеси амидинотиомочевины, β-кетоэфира (β-дикетона) и арилальдегидов в этаноле в присутствии каталитических количеств HCl – был синтезирован ряд новых 4,6-диарил-8-метил-2-тиоксо-3,4,6,9-тетрагидро-2H-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазинов **XXII a-h**. Показано, что замена соляной кислоты на триметилхлорсилан не приводит к увеличению выхода продукта.

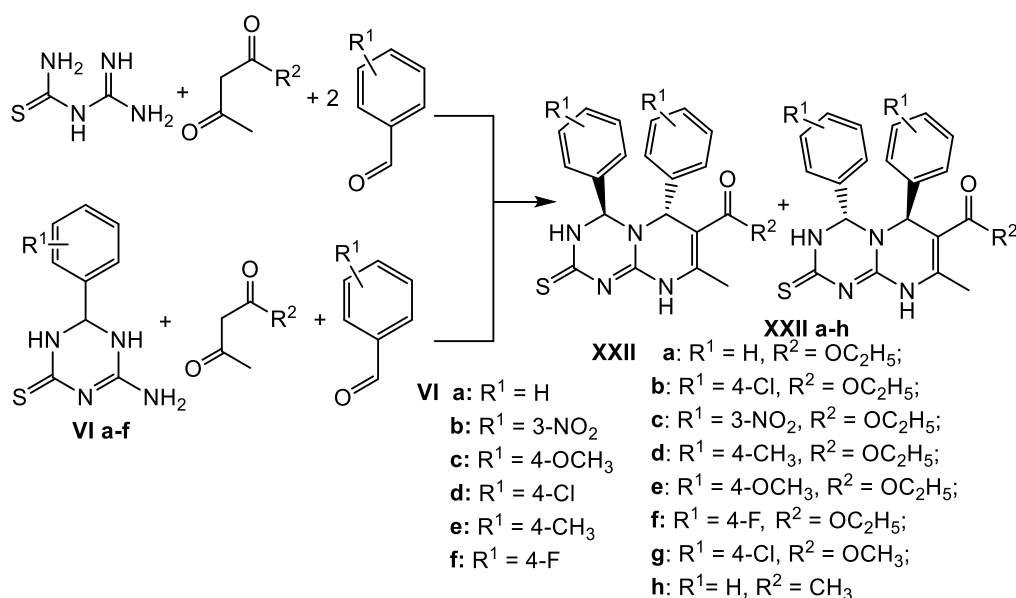


Схема 16. Взаимодействие амидинотиомочевины, этил (или метил) ацетоацетата (ацетилацетона) и ариалальдегидов

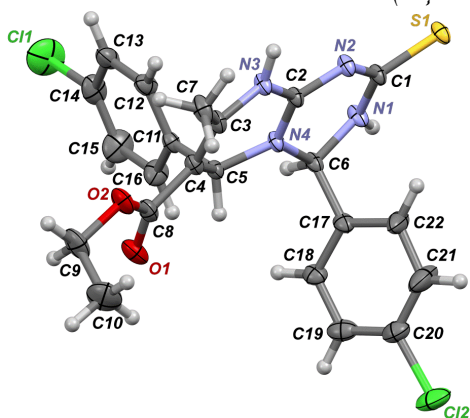


Рисунок 3. Данные РСА для соединения XXII a

методом ВЭЖХ-МС анализа. В спектрах ЯМР ¹H продуктов XXII a-h присутствуют сигналы протонов двух ароматических систем, а также двух СН-протонов триазинового и пиримидинового циклов и двух уширенных синглетов протонов NH-групп. Структура XXII b была однозначно доказана методом РСА (рисунок 3).

Таким образом, нами разработан диастереоселективный метод синтеза производных пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазина, основанный на реакции Биджинелли, с участием амидинотиомочевины, ариалальдегидов и этил (или метил) ацетоацетата (ацетилацетона). Структура соединений XXII a-h подтверждена данными ЯМР ¹H, ЯМР ¹³C-спектроскопии, ВЭЖХ-МС-анализа и рентгено-структурного анализа.

3 Исследование биологической активности гибридных 1,3,5-триазинов, содержащих в своей структуре дополнительный гетероцикл

Среди соединений ряда 1,3,5-триазина, встречаются вещества, обладающие антибактериальной активностью. В связи с этим было исследовано антибактериальное действие для синтезированных соединений. За проведенные исследования автор выражает благодарность научной группе медико-биологического факультета под руководством д.б.н., проф. Холявка Марины Геннадьевны. Для исследования антимикробной активности полученных соединений по отношению к культурам *E. coli* и *S. aureus* применяли *in vitro*

Было обнаружено, что реакция протекает диастереоселективно с участием двух молекул альдегида и образованием в результате пары *R,R*- и *S,S*-энантимеров соединений XXII a-h. Образование последних подтверждено рядом спектральных методов, в частности, одним набором сигналов в их ЯМР-спектрах, а также наличием только одного пика на хроматограммах, полученных

микрометод двукратных серийных разведений в жидкой среде. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты антибактериальных испытаний синтезированных соединений

Шифр	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
	Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл	
Хлорамфеникол	128	256
Метронидазол	128	256
Сульфатиазол	128	256
VIa	256	256
VIc	256	256
VI d	256	256
VII	256	256
IXa	256	256
IXb	256	256
IXc	256	256
IXd	256	256
IXe	256	256
IXf	256	256
XXa	256	256
XXb	256	256
XXc	256	256
XXd	256	256
XXe	256	256
XXIIa	256	128
XXIIb	256	256
XXIIc	256	256
XXIId	256	256
XXIIe	256	256
XXIIf	256	256
XXIIh	256	256

Как видно из таблицы 2 некоторые синтезированные соединения демонстрируют активность в отношении золотистого стафилококка и кишечной палочки сравнимую с внедренными в практику антибиотиками.

Для 1,3,5-триазинов, имеющих в своей структуре дополнительный хинолиновый цикл было проведено исследование антикоагулянтной активности на панели факторов свертывания крови. Выбор этих соединений обусловлен тем, что хинолиновый цикл входит в структуру внедренных в практику антикоагулянтов. Осуществлен первичный скрининг *in vitro* с целью определения относительной ингибирующей активности в отношении тромбина и факторов свертывания Ха и XIa. Как оказалось, соединения не проявляют ингибирующей активности в отношении тромбина и фактора XIa, однако умеренно ингибируют фактор Ха (Таблица 3). То есть исследуемая матрица может быть перспективной для создания селективных ингибиторов фактора Ха за счет оптимизации ее структуры. Антикоагулянтную активность исследовали в Центре коллективного пользования ЦТП ФХФ РАН «Современные методы экспериментальной биофизики». Для исследования ингибирования тромбина и факторов свертывания Ха и XIa различными соединениями измеряли кинетику гидролиза специфичных по отношению к каждому их этих ферментов субстратов в присутствии тестируемых веществ. В случае фактора Ха использовали специфичный низкомолекулярный

хромогенный субстрат S2765 (Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA•2HCl, Chromogenix, Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421, USA), для фактора XIa субстрат S2366 (pyroGlu-Pro-Arg-pNA•HCl, Chromogenix, Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421, USA), для тромбина был использован субстрат Tos-Gly-Pro-Arg-NH-Ph.

Таблица 3. Активность тромбина и факторов Ха и XIa в присутствии полученных соединений по отношению к активности в их отсутствие, %

Соединение	Тромбин	Фактор Ха	Фактор XIa
XVIIIa	85±7,0	27±5,0	99±1,0
XVIIIb	98±5,0	92±1,0	99±1,0
XVIIIc	92±1,0	95±2,0	97±1,0
XIXa	96±1,6	57±0,8	83±0,2
XIXb	98±1,3	72±4,8	96±2,0
XIXc	83±11,0	65±1,0	96±1,0

Как оказалось, соединения не проявляют ингибирующей активности в отношении тромбина и фактора XIa, однако триазины **XIX** умеренно ингибируют фактор Ха, а триазин **XVIIIa** является эффективным ингибитором фактора Ха. То есть исследуемая матрица является перспективной платформой для создания селективных ингибиторов фактора Ха за счет оптимизации ее структуры.

Таким образом, синтезированные соединения являются перспективными платформами для получения комбинаторных библиотек биологически активных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что разработка методов синтеза новых гибридных 1,3,5-триазинов с дополнительным гетероциклическим фрагментом, линейно связанным или конденсированным с основным циклом, является перспективным направлением для синтеза биологически активных соединений, обладающих широким спектром биологической активности.

По результатам работы можно сделать следующие выводы:

1) Установлено, что реакция N,N-дизамещенных бигуанидинов, в которых концевой атом азота включен в алифатический цикл пиперидина, морфолина, индолина или тетрагидрохинолина с моноэлектрофильными реагентами: арилальдегидами, диметилацеталем N,N-диметилформамида, сероуглеродом приводит к замыканию 1,3,5-триазинового цикла, содержащего реакционно способные амино- или меркаптогруппу. Найдено, что в реакции с бензальдегидом образуются дигидро-1,3,5-триазины, в то время как с замещенными арилальдегидами протекает дальнейшая ароматизация с образованием 1,3,5-триазинов.

2) На примере метил (2Z)-[2[(диаминометилен)амино]-4-оксотиазол-5(4H)-илиден)ацетата показано, что тиазол-2-илгуанидины, полученные на основе амидинотиомочевины, в условиях реакции Манниха с аминами и двукратным избытком формальдегида приводят к образованию N-1,3,5-триазиан-2-илиден-N-1,3-тиазол-2-аминов, представляющих интерес как потенциальные физиологически активные соединения. Найдено, что пиримидин-2-илтиомочевины в этих условиях в реакцию формирования 1,3,5-триазинового цикла не вступают.

3) Найдено, что в реакции ацилирования амино-1,3,5-триазинов протекают в достаточно жестких условиях – при нагревании в пиридине в течение 2-5 часов. В

случае введения в реакцию гидрированных аминотриазинов процесс протекает селективно по экзоциклической аминогруппе.

4) Показано, что в реакциях алкилирования 4-амино-1,3,5-триазин-2-тиолов участвует только меркаптогруппа. Использование N-хлорацетилпроизводных гидрохинолинов в качестве алкиляторов позволяет ввести в молекулу продуктов дополнительный фармакофорный фрагмент.

5) Доказано, что реакции 4-оксопиримидин-2-илтиомочевин с арилальдегидами и 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионов с ацетоуксусным эфиром или этоксиметиленмалоновым эфиром протекают региоселективно с образованием 4-арил-2-тиоксо-3,4-дигидро-1*H*-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазин-6(2*H*)-онов.

6) Найдено, что с максимальным выходом реакции Биджинелли с участием амидинотиомочевины или 4-амино-6-арил-5,6-дигидро-1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионов, арилальдегида и β-кетоксиэфира (β-дикетона) притекает при кипячении смеси исходных реагентов в этаноле в присутствии каталитических количеств соляной кислоты. Показано, что при использовании амидинотиомочевины в качестве нуклеофильного реагента в реакции участвует две молекулы арилальдегида. Установлено, что процессы протекают диастереоселективно с образованием пары *R,R*- и *S,S*-энантиомеров 8-метил-4,6-диарил-2-тиоксо-3,4,6,9-тетрагидро-2*H*-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазинов.

7) Для некоторых полученных соединений экспериментально установлена ингибирующая активность по отношению к фактору свертывания крови Ха, а также антимикробная активность по отношению к культурам *E. coli* и *S. aureu*.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с поиском новых сфер применения синтезированных соединений, в том числе в качестве биологически активных соединений, а также с использованием разработанных методик для получения комбинаторных библиотек 1,3,5-триазинов, содержащих заданные заместители, с широким спектром практически полезных свойств.

Основные публикации по теме диссертации:

Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций:

1. Synthesis and some reactions of 5-carbomethoxymethylidene-4-oxo-1,3-thiazol-2-ylguanidine / N. V. Stolpovskaya, **Do Van Quy**, A. A. Kruzhilin, E. S. Shvetsova, K. S. Shikhaliev, F. I. Zubkov // *Arkivoc.* – 2022. – V. ii. – P. 130-139.

2. An efficient synthesis of novel 4-aryl-2-thioxo-3,4-dihydro-1*H*-pyrimido[1,2-a][1,3,5]triazin-6(2*H*)-ones and their antibacterial activity / **Do Van Quy**, Nguyen Van Hung, N. Stolpovskaya, A. Kruzhilin, S. S. Olshannikova, M. Holyavka, V. Sulimov and K. Shikhaliev // *Molbank.* – 2022. – V. 2022. – Paper number M1417. <https://doi.org/10.3390/M1417>.

3. Diastereoselective synthesis of pyrimido[1,2-a][1,3,5]triazines based on the Biginelli reaction / **Do Van Quy**, A. A. Kruzhilin, N. V. Stolpovskaya, S. V. Baranin, M. A. Prezent, M. E. Minyaev, K. S. Shikhaliev // *Tetrahedron.* – 2023. – V. 134. – Paper number 133298.

4. Синтез новых гибридных молекул с фрагментами 1,3,5-триазина и гидрохинолина / **До Ван Куи**, Фунг Тхи Чинь, Н. В. Столповская, А. Ю. Потапов, Х. С. Шихалиев // *Известия высших учебных заведений. Серия «Химия и химическая технология».* – 2023. – V. 66, N. 4. – С. 17-26.

Статьи в сборниках научных трудов и материалов конференций:

5. Эффективный синтез 8-метил-4-арил-2-тиоксо-3,4-дигидро-1*H*-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазин-6(2*H*)-онов / Ю. В. Асеева, **До Ван Куи**, Н. В. Столповская, А. А. Кружилин, Х. С. Шихалиев // Сборник материалов Весенней школы-конференции ХимРар по медицинской химии : (МедХимРар-21). – Химки, 2021. – С. 58.
6. Эффективный синтез 7-карбэтокси-4-арил-2-тиоксо-3,4-дигидро-1*H*-пиримидо[1,2-а][1,3,5]триазин-6(2*H*)-онов / **До Ван Куи**, Нгуен Ван Хунг, Н. В. Столповская, А. А. Кружилин, Х. С. Шихалиев // Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений : сборник тезисов 5-й Всероссийской молодежной конференции. – Уфа, 2021. – С. 19-20.
7. Гибридные тиазолы на основе реакции амидинотиомочевин с диметилловым эфиром ацетилендикарбоновой кислоты: синтез и антибактериальная активность / Ю. В. Асеева, **До Ван Куи**, Н. В. Столповская, А. А. Кружилин, Х. С. Шихалиев, С. С. Ольшанникова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2022». – Воронеж, 2022. – С. 25-30.
8. Синтез и антибактериальная активность серии новых гидрированных 1,3,5-триазин-2(1*H*)-тионов / **До Ван Куи**, Фунг Тхи Чинь, Н. В. Столповская, А. А. Кружилин, Х. С. Шихалиев, Ю. А. Редько // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2022». – Воронеж, 2022. – С. 169-173.
9. Синтез новых гибридных производных 1,3,5-триазина, содержащих гидрохинолиновый цикл / **До Ван Куи**, Фунг Тхи Чинь, Н. В. Столповская, Х. С. Шихалиев // VII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Химические проблемы современности» : сборник материалов конференции. – Донецк, 2023. – С. 149-152.