РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 824 814**(13) **C2**

(51) МПК
C07D 513/04 (2006.01)
C07D 285/16 (2006.01)
A61K 31/549 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C07D 513/04 (2024.01); C07D 285/16 (2024.01); A61K 31/549 (2024.01); A61P 31/16 (2024.01)

(21)(22) Заявка: **2022132591, 12.12.2022**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
12.12.2022

Дата регистрации:
14.08.2024

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **12.12.2022**

(43) Дата публикации заявки: **13.06.2024** Бюл. № 17

(45) Опубликовано: **14.08.2024** Бюл. № 23

Адрес для переписки:
190013, Санкт-Петербург, пр. Московский, 24-26/49, литер А, ФГБОУ ВО "СПбГТИ(ТУ)", УНИ

(72) Автор(ы):
Храмчихин Андрей Владимирович (RU),
Скрыльникова Мария Алексеевна (RU),
Зарубаев Владимир Викторович (RU),
Островский Владимир Аронович (RU)

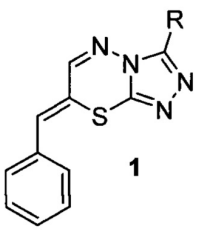
(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **Skryl'nikova, M. A.; Khramchikhin, A. V.; Krivchun, M. N., A new approach to the synthesis of 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines, Russian Journal of General Chemistry, 87(6), 1321-1322, 2017. Joshua C. Worch, Connor J. Stubbs, Matthew J. Price, and Andrew P. Dove, Click Nucleophilic Conjugate Additions to Activated Alkynes: Exploring** (см. прод.)

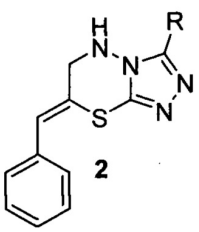
(54) [1,2,4]Триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазины, проявляющие активность против вируса гриппа А, и способ их получения

(57) Реферат:

Изобретение относится к области органической химии, а именно к производным (Z)-7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4] тиадиазина формулы 1a-d и 2a-c, где R является водородом (a), этильной (b), н-пропильной (c) и метильной (d) группами.



1



2

R: H, Me, Et, n-Pr

Также изобретение относится к способу получения соединений формул 1a-d и 2a-c. Технический результат: получены новые производные (Z)-7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло [3,4-b][1,3,4]тиадиазина (1, 2), проявляющие активность против вируса гриппа А, и разработан способ их получения, основанный на взаимодействии 3-фенил-2-пропиналя и 5-замещенных 4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов. 2 н. и 2 з.п. ф-лы, 1 табл., 8 пр.

RU 2824814 C2

RU 2824814 C2

(56) (продолжение):
Thiol-yne, Amino-yne, and Hydroxyl-yne Reactions from (Bio)Organic to Polymer Chemistry, Chem. Rev., 121, 6744–6776, 2021. CN109305979 A, 05.02.2019. RU 2775551C2, 04.07.2022.

RU 2824814 C2

RU 2824814 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 824 814**(13) **C2**

(51) Int. Cl.
C07D 513/04 (2006.01)
C07D 285/16 (2006.01)
A61K 31/549 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C07D 513/04 (2024.01); C07D 285/16 (2024.01); A61K 31/549 (2024.01); A61P 31/16 (2024.01)

(21)(22) Application: **2022132591, 12.12.2022**

(24) Effective date for property rights:
12.12.2022

Registration date:
14.08.2024

Priority:
(22) Date of filing: **12.12.2022**

(43) Application published: **13.06.2024** Bull. № **17**

(45) Date of publication: **14.08.2024** Bull. № **23**

Mail address:
190013, Sankt-Peterburg, pr. Moskovskij, 24-26/49, liter A, FGBOU VO "SPbGTI(TU)", UNI

(72) Inventor(s):
Khramchikhin Andrej Vladimirovich (RU),
Skrylnikova Mariya Alekseevna (RU),
Zarubaev Vladimir Viktorovich (RU),
Ostrovskij Vladimir Aronovich (RU)

(73) Proprietor(s):
Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniya "Sankt-Peterburgskij gosudarstvennyj tekhnologicheskij institut (tekhnicheskij universitet)" (RU)

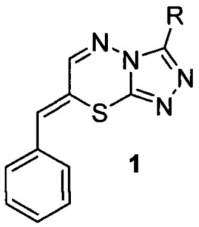
RU 2824814 C2

(54) [1,2,4]TRIAZOLO[3,4-B][1,3,4]THIADIAZINES EXHIBITING ACTIVITY AGAINST INFLUENZA VIRUS, AND METHOD FOR PRODUCTION THEREOF

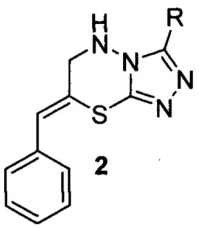
(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to organic chemistry, specifically to (Z)-7-benzylidene-7H-[1,2,4] triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine derivatives of formula 1a-d and 2a-c, where R is hydrogen (a), ethyl (b), n-propyl (c) and methyl (d) groups.



1



2

R: H, Me, Et, n-Pr

Invention also relates to a method of producing compounds of formulas 1a-d and 2a-c.

EFFECT: obtaining novel derivatives of (Z)-7-benzylidene-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine (1, 2), exhibiting activity against influenza A virus, and a method for production thereof is developed, based on reaction of 3-phenyl-2-propinal and 5-substituted 4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-thiols.

4 cl, 1 tbl, 8 ex

RU 2824814 C2

Изобретение относится к области медицинской химии, химии [1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов, которые могут рассматриваться как перспективные вещества-кандидаты на роль лекарственных противовирусных веществ, используемых для лечения заболеваний, вызываемых вирусом гриппа А, в том числе пандемически опасного штамма вируса A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). Предлагаемое изобретение может быть использовано при производстве лекарственных средств, применяемых в терапии заболеваний, вызываемых возбудителями вирусных инфекций.

Одним из первых известных противовирусных препаратов был амантадин (1-аминоадамантан). Он положил начало целому классу противовирусных препаратов, содержащих в молекулярной структуре адамантильный фрагмент. В СССР, вместо амантадина, в практику лечения гриппозной инфекции был внедрен более эффективный и менее токсичный препарат ремантадин [1, 2]. Амантадин и ремантадин имеют одну и ту же мишень: адамантан связывающий сайт вирусного белка M2 Про25-Сер31. Однако резистентные вирусные штаммы, являющиеся причиной пандемии гриппа в 21-м веке, такие как вирус гриппа А (H1N1), устойчивы к действию указанных выше препаратов. В связи с этим чрезвычайно актуальными являются поиск и разработка новых, активных в отношении вируса гриппа А лекарственных средств с альтернативными мишенями и механизмами действия. Перспективным направлением создания более эффективных лекарственных веществ - аналогов амантадина и ремантадина - является синтез адамантильных производных пятичленных азотсодержащих гетероциклов - азолов. Многие из соединений данного строения показали высокую противовирусную активность, метаболитическую стабильность и сравнительно низкую токсичность [3-7]. Одним из самых эффективных противовирусных препаратов, не содержащих адамантильный фрагмент, является триазавирин [8]. В структуру данного препарата входит конденсированные 1,2,4-триазольный и 1,2,4-триазиновый циклы с экзоциклическим атомом серы, что указывает на потенциальную активность серосодержащих конденсированных 1,2,4-триазолов.

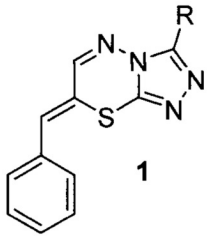
Один из способов синтеза 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов - аналогов соединения 1 - заключается в алкилировании меркаптогруппы 4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиола α-галогенкетонами с последующей циклизацией полученного аддукта. В статье [9] авторы проводили алкилирование 3-фенил-4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиола бромацетофеноном в этаноле с поташом при нагревании в течение трех часов. Замыкание полученного соединения в тиадиазин было осуществлено с помощью трихлорфосфата при нагревании в течение 15 минут. Выход реакции составил 43%. В патенте [10] был предложен способ синтеза 7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов из 4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов и полуторного избытка α-бромкоричного альдегида в присутствии двукратного избытка триэтиламина. Реакцию проводили в кипящем этаноле. Выходы составили 45-77%. В статье [11] авторы описали закономерности взаимодействия 4-арилиденамино-3-меркапто-1,2,4-триазолов с этилбромацетатом и бромацетофеноном в диметилформамиде с двукратным избытком триэтиламина с получением 6-арил-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов - аналогов соединения 2. В работе [12] описали подобную реакцию с участием замещенных α-хлорацетанилидов и получением 6-арил-3-метил-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин-7-карбоксанилидов.

Наиболее близкие по структуре соединения представлены в патенте [10]. Противовирусная активность данных веществ не исследовалась.

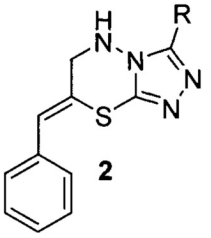
В качестве прототипа способа получения соединений 1, 2 выбран наиболее близкий по техническому результату способ в известном изобретении [10]. Известный способ

предполагает взаимодействие 3-замещенных 4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов и полуторного избытка α-бромкоричного альдегида в присутствии двукратного избытка триэтиламина. Недостатком этого способа является ограниченная доступность α-бромкоричных альдегидов. В качестве альтернативы мы предлагаем введение в реакцию более доступных α,β-ацетиленовых альдегидов. Заявленный способ восполняет вышеуказанные недостаток прототипа [10].

Задачей заявленного и изобретения является синтез (Z)-7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов 1, (Z)-7-бензилиден-3-замещенных-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов 2, проявляющих выраженную активность против вируса гриппа А, имеющих общую формулу:



1

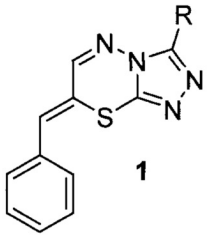


2

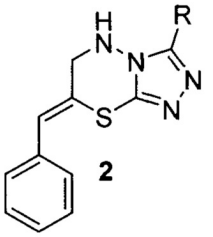
R: H, Me, Et, n-Pr

, а также разработка способа их синтеза из 3-фенил-2-пропиналя и 5-замещенных 4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов.

Предложены соединения формулы 1 и 2, проявляющие активность против вируса гриппа А:



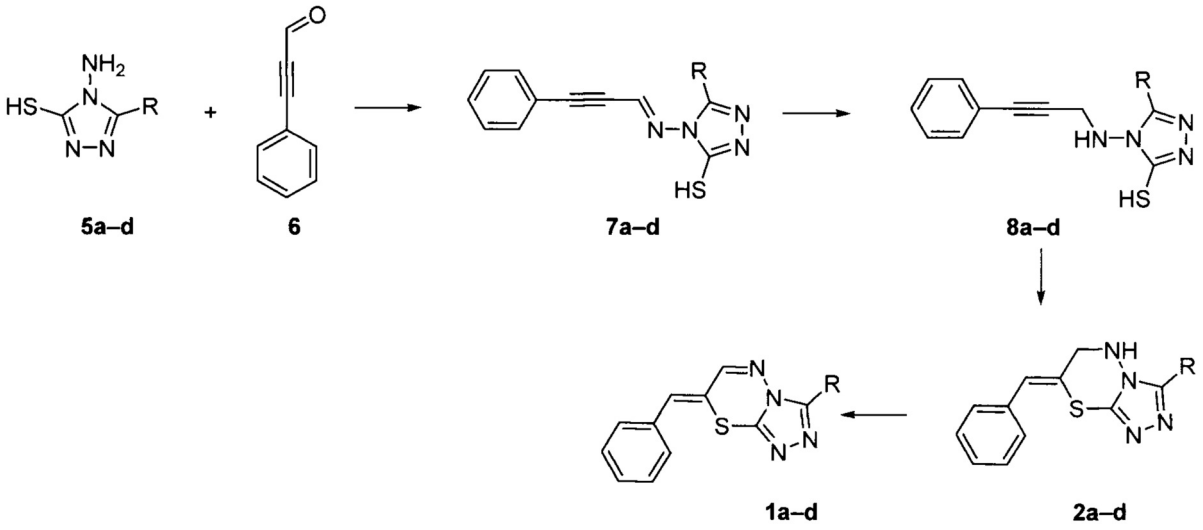
1



2

R: H, Me, Et, n-Pr

Разработан способ синтеза новых (Z)-7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов 1 и (Z)-7-бензилиден-3-замещенных-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов 2 из 3-фенил-2-пропиналя и 4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов, заключающийся в получении азометина 7 в изопропиловом или метиловом спирте на первой стадии с дальнейшим гидрированием связи C=N борогидридом натрия, подкислением, циклизацией полученного продукта 8 в ДМФА при нагревании в присутствии каталитического количества 50%-водного раствора KOH; дальнейшее дегидрирование связи C-NH тиадиазинового фрагмента соединения 2 диоксидом марганца в кипящем ацетонитриле приводит к получению соединения 1:



R: H (**a**), Me (**b**), Et (**c**), n-Pr (**d**)

Циклизацию соединений 8 целесообразно проводить при 80-100°C.

Заявленный способ апробирован в лабораторных условиях в Санкт-Петербургском государственном технологическом институте (техническом университете) и Санкт-Петербургском НИИЭиМ им Пастера. Результаты апробации, полученные в режиме реального времени, представлены в виде конкретных примеров:

Пример 1. Синтез 5-замещенных 4-((3-фенилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов (7a-c)

В химическом стакане емкостью 100 мл при нагревании растворяют 17.2 ммоль 4-амино-5-замещенного-4H-1,2,4-триазол-3-тиола 5a-c в 20 мл изопропанола. Добавляют кристаллик п-толуолсульфокислоты и 17.2 ммоль 3-фенил-2-пропиналя 6. При охлаждении до комнатной температуры начинает выпадать осадок. Реакционную массу оставляют на ночь в морозильной камере, затем отфильтровывают. Полученные соединения охарактеризовали и использовали без дальнейшей очистки.

4-((3-фенилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол 7a. Выход 57%. Светло-желтый аморфный порошок, т.пл. 140-141°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1489 (C_6H_5), 2201 (C≡C), 2349 (SH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 7.42 - 7.64 (3H, м, Ph), 7.68 д (2H, д, Ph, $^3J_{HH}$ 6.97), 8.91 (1H, с, C-CH=N), 9.26 (1H, с, N-CH=N, триазол), 14.04 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР,^3C, δ, м.д.: 83.97 (1C, C≡C-Ph), 99.69 (1C, C-Ph), 120.36-132.70 (6C, Ph), 138.53 (1C, N=CH-C), 144.58 (1C, N=CH-N), 163.48 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 251.0361 $[M+Na]^+$ (вычислено для $C_{11}H_8N_4SNa$: 251.0362).

5-метил-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол 7b. Выход 55%. Светло-желтый аморфный порошок, т.пл. 161-162°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1489 (C_6H_5), 2204 (C≡C), 2358 (SH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 2.33 (3H, с, CH_3), 7.47 - 7.57 (3H, м, Ph), 7.69 (2H, д, Ph, $^3J_{HH}$ 6.97), 10.05 (1H, с, N=CH-C), 13.86 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 11.26 (1C, CH_3), 83.94 (1C, C=C-Ph), 100.54 (1C, C-Ph), 120.37-132.71 (6C, Ph), 146.44 (1C, N=CH-C), 149.10 (1C, N=C-N), 161.69 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 243.0699 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{12}H_{11}N_4S$: 243.0699).

5-этил-4-((3-фенрилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол 7c. Выход

50%. Светло-желтый аморфный порошок, т.пл. 115-116°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1490 (C_6H_5), 2201 (C≡C), 2359 (SH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 1.21 (3H, т, CH_3, $^3J_{HH}$ 7.46), 2.71 (2H, кв, CH_2, $^3J_{HH}$ 7.46), 7.37 - 7.65 (3H, м, Ph), 7.69 (2H, д, Ph, $^3J_{HH}$ 6.97), 10.01 (1H, с, N=CH-C), 13.89 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 10.48 (1C, CH_3), 18.64 (1C, CH_2), 83.94 (1C, C≡C-Ph), 100.57 (1C, C-Ph), 120.36-132.73 (6C, Ph), 146.90 (1C, N=CH-C), 152.87 (1C, C_2H_5-C-N), 161.82 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 257.0856 $[M+H]^+$ (вычислено для $C_{13}H_{13}N_4S$: 257.0855).

Пример 2. Синтез 5-пропил-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола (7d)

В химическом стакане емкостью 100 мл при нагревании растворяют 0.76 ммоль 4-амино-5-пропил-4H-1,2,4-триазол-3-тиола в 10 мл метанола. Добавляют 0.76 ммоль 3-фенил-2-пропиналя и 0.91 ммоль серной кислоты. Окончание реакции контролируют с помощью ТСХ в системе этилацетат/петролейный эфир в соотношении 1:3 по объему. Полученное вещество гидрируют $NaBH_4$ без выделения.

Пример 3. Синтез 5-замещенных 4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов (8a-c)

В круглодонной колбе емкостью 250 мл, снабженную перешивающим устройством и обратным холодильником, растворяют 9.8 ммоль 5-замещенного-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола 7a-c в 50 мл метанола. К полученному раствору порциями добавляют 14.8 ммоль борогидрид натрия, избегая значительного пенообразования. Затем реакционную массу кипятят в течение 5 минут, охлаждают и разбавляют 180 мл холодной воды. Охлажденный раствор подкисляют соляной кислотой до pH=2. Выпавший осадок отфильтровывают. Перекристаллизацию проводят из водного спирта.

4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол 8a. Выход 92%. Бесцветный аморфный порошок, т.пл. 156-157°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1488 (C_6H_5), 2334 (C≡C), 2360 (SH), 3235 (NH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д., J, Гц: 4.21 (2H, с, CH_2), 6.82 (1H, уш.с, NH-CH_2), 7.26 - 7.51 (5H, м, Ph), 8.54 (1H, с, N-CH=N), 13.77 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 39.64 (1C, CH_2-N), 85.08 (1C, C≡C-Ph), 85.56 (1C, C≡C-Ph), 122.42-131.78 (6C, Ph), 143.18 (1C, N=CH-N), 165.42 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 231.0699 $[M+H]^+$ (вычислено для $C_{11}H_{11}N_4S$: 231.0699).

5-метил-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол 8b. Выход 91%. Бесцветный аморфный порошок, т.пл. 145-146°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1491 (C_6H_5), 2339 (C≡C), 2360 (SH), 3215 (NH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 2.36 (3H, с, CH_3), 4.23 (1H, с, CH), 4.24 (1H, с, CH), 6.48 (1H, уш.с, NH), 7.33 (5H, с, Ph), 13.45 (1H, с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 11.04 (1C, CH_3), 38.90 (1C, CH_2-N), 84.50 (1C, C≡C-Ph), 85.87 (1C, C≡C-Ph), 122.33-131.67 (6C, Ph), 150.80 (1C, C-CH_3), 165.80 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 267.0675 $[M+Na]^+$(вычислено для $C_{12}H_{12}N_4SNa$: 267.0675).

5-этил-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол 8c. Выход 90%. Бесцветный аморфный порошок, т.пл. 111-112°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1489 (C_6H_5), 2337

(C≡C), 2360 (SH), 3244 (NH). Спектр ЯМР ^{1}H, δ, м.д, J, Гц: 1.19 (3H, т, CH_3, $^{3}J_{HH}$ 7.53), 2.78 (2H, кв, $\underline{CH_2}CH_3$, $^{3}J_{HH}$ 7.53), 4.30 (2H, д, NH-$\underline{CH_2}$, $^{3}J_{HH}$ 3.21), 6.62 (1H, т, NH, $^{3}J_{HH}$ 3.21), 7.28 - 7.46 (5H, м, Ph), 13.56 (1H, с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 10.76 (1C, CH_3), 18.44 (1C, $\underline{C}H_2$-CH_3), 38.79 (1C, $\underline{C}H_2$-N), 84.51 (1C, $\underline{C}$≡C-Ph), 85.85 (1C, C≡$\underline{C}$-Ph), 122.33-131.67 (6C, Ph), 154.86 (1C, $\underline{C}$-C_2H_5), 165.99 (1C, $\underline{C}$-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 259.1014 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{13}H_{15}N_4S$: 259.1012).

Пример 4. Синтез 5-пропил-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола (8d)

К полученному ранее раствору 5-пропил-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола 7d в метаноле порционно добавляют 1.5 ммоль борогидрида натрия, избегая значительного пенообразования. Затем реакционную массу кипятят в течение 5 минут, охлаждают и разбавляют 50 мл холодной воды. Охлажденный раствор подкисляют соляной кислотой до pH 2. Выпавший осадок отфильтровывают. Перекристаллизацию проводят из водного спирта. Общий выход 40%. Бесцветный аморфный порошок, т.пл. 113-114°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1490 (C_6H_5), 2336 (C≡C), 2360 (SH), 3247 (NH). Спектр ЯМР ^{1}H, δ, м.д, J, Гц: 0.89 (3H, т, CH_3 $^{3}J_{HH}$ 7.303), 1.73-1.57 (2H, м, $CH_2\underline{CH_2}CH_3$), 2.73 (2H, т, $CH_2\underline{CH_2}CH_3$,$^{3}J_{HH}$ 7.303), 4.30 (2H, уш.с, N-$\underline{CH_2}$), 6.66 (1H, уш.с, NH), 7.37 (5H, м, Ph), 13.59 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 13.95 (1C, CH_3), 19.52 (1C, $CH_2\underline{C}H_2CH_3$), 26.59 (1C, $\underline{C}H_2$-CH_2-CH_3), 38.81 (1C, N-$\underline{C}H_2$), 84.51 (1C, $\underline{C}$≡C-Ph), 85.90 (1C, C≡$\underline{C}$-Ph), 122.35-131.68 (6C, Ph), 153.70 (1C, $\underline{C}$-C_3H_7), 165.90 (1C, $\underline{C}$-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 273.1173 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{14}H_{17}N_4S$: 273.1168).

Пример 5. Синтез 3-замещенных (Z)-7-бензилиден-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов (2a-d) циклизацией 5-замещенных 4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов (8a-d)

В одногорлой колбе объемом 50 мл растворяют 9.1 ммоль 5-замещенного 4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола 8a-d в 10 мл ДМФА. В качестве катализатора добавляют 2 капли 50% водного раствора KOH. Нагревают в течение 2,5 часов при 80-100°C. За ходом реакции следят с помощью ТСХ в системе этилацетат/петролейный эфир в соотношении 1:2 по объему. Затем реакционную массу разбавляют 40 мл холодной воды. Образовавшуюся суспензию охлаждают до +5°C, выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из водного спирта.

(Z)-7-бензилиден-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин 2a. Выход 88%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 194-195°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1489 (C_6H_5), 3286 (NH). Спектр ЯМР ^{1}H, δ, м.д., J, Гц: 4.02-4.17 (2H, д, CH_2, $^{3}J_{HH}$ 6.85),6.91 с (1H,=CH), 7.06 (1H, т, NH, $^{3}J_{HH}$ 6.85), 7.26-7.54 (5H, м, Ph), 8.69 (1H, с N=CH-N). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 53.15 (1C, CH_2-N), 124.66 (1C, CH=$\underline{C}$), 126.48 (1C, $\underline{C}$H=C), 128.31-129.30 (5C, Ph), 135.22 (1C, Ph), 141.27 (1C, S-$\underline{C}$=N), 143.96 (1C, N-CH=N). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 231.0709 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{11}H_{11}N_4S$: 231.0699).

(Z)-7-бензилиден-3-метил-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин 2b.

Выход 80%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 202-203°С. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1490 (C_6H_5), 3162 (NH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д., J, Гц: 2.29 (3H, с, CH_3), 4.01 (1H, с, CH_2), 4.03 (1H, с, CH_2), 6.71 (1H, уш.с, NH), 6.82 (1H, с, =CH), 7.47-7.25 (5H, м, Ph). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 9.67 (1C, CH_3), 53.35 (1C, $\underline{C}H_2$-N), 124.35 (1C, CH=$\underline{C}$), 126.15 (1C, $\underline{C}$H=C), 128.24-129.28 (5C, Ph), 135.31 (1C, $\underline{Ph}$), 140.78 (1C, S-$\underline{C}$=N), 151.12 (1C, $\underline{C}$-C_2H_5). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 245.0859 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{12}H_{13}N_4S$: 245.0855).

(Z)-7-бензилиден-3-этил-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин 2c. Выход 78%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 208-209°С. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1490 (C_6H_5), 3149 (NH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 1.24 (3H, т, CH_3, $^3J_{HH}$ 7.53), 2.69 (2H, кв, CH_2, $^3J_{HH}$ 7.53), 4.07 (2H, д, $\underline{C}H_2$-NH, $^3J_{HH}$ 6.78), 6.83 (1H, т, NH, $^3J_{HH}$ 6.78), 6.88 (1H, с,=CH), 7.25 - 7.40 (1H, м, Ph), 7.41 - 7.58 (4H, м, Ph). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 11.93 (1C, CH_3), 17.48 (1C, $CH_3\underline{C}H_2$), 53.35 (1C, $\underline{C}H_2$-N), 124.49 (1C, CH=$\underline{C}$), 126.11 (1C, $\underline{C}$H=C), 128.23-129.28 (5C,Ph), 135.32 (1C, Ph), 140.93 (1C, S-$\underline{C}$=N), 155.40 (1C, $\underline{C}$-C_2H_5). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 259.1005 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{13}H_{15}N_4S$: 259.1012).

(Z)-7-бензилиден-3-пропил-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин 2d. Выход 75%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 196-198°С. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1489 (C_6H_5), 3166 (NH). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 0.93 (3H, т, CH_3, $^3J_{HH}$ 7.41), 1.66 (2H, м, $CH_2\underline{C}H_2CH_3$, $^3J_{HH}$ 7.41), 2.64 (2H, т, $\underline{C}H_2$-CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ 7.41), 4.07 (2H, д, $\underline{C}H_2$-N, $^3J_{HH}$ 6.725), 6.79-6.93 м (2H,=$\underline{C}$H, $\underline{N}$H), 7.22-7.56 м (5H, Ph). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 14.04 (1C, CH_3), 20.62 (1C, $CH_2\underline{C}H_2CH_3$), 25.67 (1C, $\underline{C}H_2CH_2CH_3$), 53.42 (1C, $\underline{C}H_2$-N), 124.53 (1C, CH=$\underline{C}$), 126.06 (1C, $\underline{C}$H=C), 128.23-129.28 (5C, Ph), 135.32 (1C, Ph),140.87 (1C, S-$\underline{C}$=N), 154.26 (1C, $\underline{C}$-C_3H_7). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 273.1164 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{14}H_{17}N_4S$: 273.1168).

Пример 6. Синтез 3-замещенных (Z)-7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4] тиадиазинов (1a-d) окислением 3-замещенных (Z)-7-бензилиден-6,7-дигидро-5H-[l,2,4] триазоло[3,4-b][l,3,4]тиадиазинов (2a-d)

В плоскодонной колбе емкостью 150 мл, снабженной магнитной мешалкой и обратным холодильником, растворяют 0.6 ммоль 3-замещенного (Z)-7-бензилиден-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазина 2a-d в 50 мл ацетонитрила и добавляют 5 вес.ч. по отношению к тиадиазину активного диоксида марганца. Реакционную смесь кипятят при интенсивном перемешивании в течение 5-6 часов. Окончание реакции контролируют с помощью ТСХ в чистом этилацетате. Далее отфильтровывают диоксид марганца и к фильтрату добавляют 100 мл воды. Образовавшийся осадок отфильтровывают.

(Z)-7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин 1a.

Выход 88%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 226-227°С. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1489 (C_6H_5), 1580 (C=N). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д., J, Гц: 7.37-7.67 (6H, м, бензилиден), 8.13 (1H, с, $\underline{C}$H=N), 9.10 (1H, с, N=$\underline{C}$H-N). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 116.90 (1C, CH=$\underline{C}$), 129.67-130.38

(5C, Ph), 133.97 (1C, Ph), 134.66 (1C, S-C=N), 136.78 (1C, CH=C), 143.64 (1C, N-CH=N,), 149.03 (1C, CH=N). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 251.0360 $[M+Na]^+$(вычислено для $C_{11}H_8N_4SNa$: 251.0362).

(Z)-7-бензилиден-3-метил-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4] тиадиазин 1b. Выход 91%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 201-202°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1489 (C_6H_5), 1582 (C=N). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 2.44 (3H, с, CH_3), 7.44 - 7.63 (6H, м, бензилиден), 8.12 (1H, с, CH=N). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 9.82 (1C, CH_3), 116.36 (1C, CH=C-S), 129.65-130.31 (5C, Ph), 134.07 (1C, Ph), 134.32 (1C, S-C=N), 136.38 (1C, CH=C), 148.16 (1C, CH=N), 150.90 (1C, C-CH_3). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 265.0516 $[M+Na]^+$(вычислено для $C_{12}H_{10}N_4SNa$: 265.0518).

(Z)-7-бензилиден-3-этил-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин 1c. Выход 88%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 165-166°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1490 (C_6H_5), 1581 (C=N). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д, J, Гц: 1.27 (3H, т, CH_3, $^3J_{HH}$ 7.40), 2.84 (2H, кв, CH_2, $^3J_{HH}$ 7.34), 7.42 - 7.72 (6H, м, бензилиден), 8.11 (1H, с, CH=N). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 11.59 (1C, CH_3), 17.62 (1C, CH_2), 116.40 (1C, CH=C-S), 129.65-130.30 (5C, Ph), 134.06 (1C, Ph), 134.45 (1C, S-C=N), 136.39 (1C, CH=C), 148.11 (1C, CH=N), 154.86 (1C, C-CH_3). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 257.0855 $[M+H]^+$(вычислено для $C_{13}H_{13}N_4S$: 257.0855).

(Z)-7-бензилиден-3-пропил-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин 1d. Выход 85%. Бесцветные кристаллы, т.пл. 163°C. ИК спектр, ν, $см^{-1}$: 1491 (C_6H_5), 1581 (C=N). Спектр ЯМР ^1H, δ, м.д., J, Гц: 0.96 (3H, т, CH_3, $^3J_{HH}$ 7.434), 1.72 (2H, м, $CH_2CH_2CH_3$, $^3J_{HH}$ 7.434), 2.80 (2H, т, $CH_2CH_2CH_3$, $^3J_{HH}$ 7.434), 7.41 - 7.66 (6H, м, бензилиден), 8.11 (1H, с, CH=N). Спектр ЯМР ^{13}C, δ, м.д.: 13.98 (1C, CH_3), 20.43 (1C, $CH_2CH_2CH_3$), 25.69 (1C, $CH_2CH_2CH_3$), 116.39 (1C, CH=C-S), 129.64-130.30 (5C, Ph), 134.07 (1C, Ph), 134.37 (1C, S-C=N), 136.40 (1C, CH=C), 148.14 (1C, CH=N), 153.73 (1C, C-C_3H_7). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z: 293.0829 $[M+Na]^+$(вычислено для $C_{14}H_{14}N_4SNa$: 293.0831).

Пример 7. Оценка биологической активности соединений. В отдельной серии экспериментов оценивали цитотоксические свойства соединений. Из исследуемых веществ готовили серию трехкратных разведений (300-3.7 мкг/мл), после чего вносили их в лунки планшетов с монослоем клеток MDCK (ATCC CCL-34). Планшеты инкубировали 72 ч при 36°C. Анализ выживаемости клеток проводили при помощи метилтетразолиевого теста (MTT): в лунки вносили раствор метилтетразолийбромида (0.5 мг/мл), который под действием митохондриальных ферментов переходит в нерастворимое фиолетовое производное формазана. Планшеты с клетками выдерживали в течение 2 ч. Осадок растворяли в 0.1 мл на лунку ДМСО. Оптическую плотность в лунках измеряли на планшетном ридере Thermo Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, USA) при длине волны 540 нм. На основании полученных данных рассчитывали значение CC_{50}, т.е. концентрацию соединения, приводящую к снижению оптической плотности вдвое по сравнению с лунками без добавления веществ.

Пример 8. Оценку противовирусной активности соединений проводили при помощи

теста на снижение степени цитопатического действия. В опытах использовали вирус гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) из коллекции вирусных штаммов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Изучаемые вещества в диапазоне концентраций 4-300 мкг/мл вносили к клеткам в лунках планшета, инкубировали в течение 1 ч, затем клетки заражали вирусом в дозе 0.01 $TCID_{50}$ на клетку. Клетки инкубировали в течение 72 ч, после чего проводили анализ выживаемости клеток при помощи метилтетразолиевого теста, как описано выше. На основании полученных данных рассчитывали 50% ингибирующую концентрацию для каждого соединения (IC_{50}), т.е. концентрацию, которая на 50% снижала степень вирусной деструкции клеток, и индекс селективности - отношение CC_{50} к IC_{50}- Активными считали соединения, у которых SI был 10 и выше. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Цитотоксичность и антивирусная активность *in vitro* против вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 соединений **1a–d**, **2a–d**, где CC_{50} – цитотоксическая концентрация; концентрация, вызывающая гибель 50 % клеток; IC_{50} – эффективная концентрация; концентрация, приводящая к 50% ингибированию репликации вируса; SI – индекс селективности; отношение 50%-цитотоксической концентрации соединения и 50%-ингибирующей активности вируса гриппа (CC_{50}/IC_{50}).

Соединение	CC_{50}, мкмоль	IC_{50}, мкмоль	SI
1a	578.2±32.3	34.2±4.2	17
1b	433.3±37.6	99.9±11.8	4
1c	979±55.1	117.8±12.7	8
1d	>1100	33.6±4.4	>33
2a	>1300	39.5±5.1	>33
2b	>1200	>1200	1
2c	>1100	50.3±6.2	>23
2d	>1100	58±6.6	>19
Ремантадин	312.3±22.8	64.1±7.2	5

Техническим результатом заявленного способа является синтез серии новых 3-замещенных [1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов формулы 1 и 2, проявляющих активность против пандемически опасного вируса гриппа А, а также разработка способа их синтеза.

Заявленные способы получения (Z)-7-бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4] тиадиазинов 1 и (Z)-7-бензилиден-3-замещенных-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b] [1,3,4]тиадиазинов 2, проявляющих активность против вируса гриппа А, имеют существенные технико-экономические преимущества по сравнению с известным мировым уровнем техники: он позволяет упростить выделение продуктов; использует условия с высоким выходом; все операции, входящие в данный процесс, легко масштабируемы, данный способ может быть использован для производства укрупненных количеств целевых продуктов. Соединения 1 и 2 показали высокую активность против вируса гриппа, устойчивого к блокатору М2-белка - ремантадину, что говорит об их альтернативном механизме противовирусного действия.

Источники научно-технической информации

1. US Pat. 3852352 C07 c 87/40, Dec. 3, 1974.

2. US Pat. 4551552 C07 c 85/11, Nov. 5, 1985.

3. Киселев О.Н. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. - СПб: «Росток», 2012. 272 с.

4. RU Патент РФ №2280032.

5. Сараев В.В, Гаврилов А.С, Голод Е.Л. Адаматилтетразолы II. Реакции 1-Адамантанола с тетразолом и 5-замещенными тетразолами в серной кислоте. Журн. Орг.Хим, 1999, т. 35, вып.7, с. 1093-1096.

6. Zarubaev V.V. Synthesis and anti-viral activity of azolo-adamantanes against influenza A virus / V.V. Zarubaev, E.L. Golod, P.M. Anfimov, A.A. Shtro, V.V. Saraev, A.S. Gavrilov, A.V. Logvinov, O.I. Kiselev // Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2010, vol. 18, p. 839-848.

7. RU Патент РФ №2553987.

8. Противовирусный препарат Триазавирин: от скрининга до клинической апробации [Текст] / Э.Г. Деева, В.Л. Русинов, В.Н. Чарушин, О.Н. Чупахин, О.И. Киселев // Разработка и регистрация лекарственных средств, 2014, №2., с. 144-151.

9. El-Shafei, A.K. Polyfused heterocyclic systems derived from 5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-4-ine-2-thione / A. K. El-Shafei, A. -B. A. G. Ghattas, A. Sultan, H.S. El-Kashef, G. Vernin // Gazz. chim. ital., 1983., vol. 14, N 9, p. 29-30.

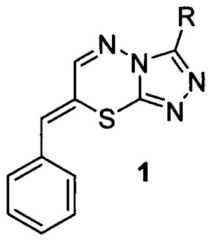
10. Patent №US2006/40926 A1 (USA). Fluorescent fused-ring triazoles that inhibit cell proliferation and uses thereof / J.D. Laskin, N. Heindel, D. Heck, A.M. Vetrano, Chr. Guillon, P. DeMatteo. 23.02.2006. - 10 c.

11. Ibrahim, Y.A. Stereospecific synthesis of 6,7-dihydro-5H-1,2,4-триазоло[3,4-b] [l,3,4] thiadiazines / Y.A. Ibrahim, A.H.M. Elwahy, A.E.M. El-fiky // Heteroatom Chem., 1994, vol. 5, N 4, p. 321-325.

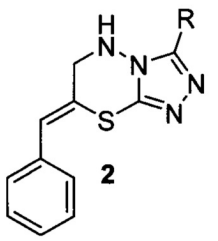
12. Yanchenko, V.A. New synthesis of derivatives of 6-агу1-3-метил-6,7-dihydro-5H-[1,2,4] триазоло[3,4-b][1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid / V.A. Yanchenko, V.V. Malyshev, A.M. Demchenkol, M.O. Lozinskii // Chem. Heterocycl. Compd., 2003, vol. 39, N 4, p. 547-548.

(57) Формула изобретения

1. (Z)-7-Бензилиден-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазины формулы la-d и (Z)-7-бензилиден-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазины формулы 2a-c, обладающие противовирусной активностью, где R является водородом (a), этильной_ (b), н-пропильной_(c) и метильной (d) группами:



1



2

2. Соединения формулы 1 и 2 по п. 1, проявляющие активность против вируса гриппа А, в том числе против пандемически опасного штамма вируса A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), которые могут быть использованы в качестве лекарственных веществ.

3. Способ получения соединений формулы 1 и 2 по любому из пп. 1 и 2, основанный на взаимодействии 3-фенил-2-пропиналя и 5-замещенных 4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов в спирте с получением азометинов, в которых гидрируют связь C=N борогидридом натрия, подкисляют до нейтральной или кислой среды, проводят циклизацию образовавшегося амина в ДМФА при нагревании в присутствии каталитического количества 50% водного раствора KOH с получением соединения

общей формулы 2, и дегидрируют связь C-NH диоксидом марганца в кипящем ацетонитриле с получением соединения общей формулы 1.

4. Способ получения соединений формулы 1 и 2 по п. 3, в котором нагревание проводят при 80-100°C.