

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра органической и биоорганической химии

**2-АМИНОХРОМЕН(ХИНОЛИН)-3-КАРБОНИТРИЛЫ.
СИНТЕЗЫ И РЕАКЦИИ.**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки IV курса 412 группы

направления 04.03.01 - Химия

Института химии

Кулиевой Виолетты Руслановны

Научный руководитель

Проф., д.х.н., проф.
должность, уч. степень, уч. звание

подпись, дата

А. П. Кривенько
инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:

Проф., д.х.н., проф.
должность, уч. степень, уч. звание

подпись, дата

А. Ю. Егорова
инициалы, фамилия

Саратов 2023

Оглавление

Введение.....	2
1. Синтез и реакции 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилов (обсуждение результатов).....	4
1.1. Синтез 2-амино-4Н-хромен-3-карбонитрилов в условиях термического и ультразвукового воздействия.....	5
1.2. Метилирование пиридинилсодержащих 2-аминотетрагидро-4Н- хромен-3-карбонитрилов. Синтез 3-[2-амино-3- цианохроменил(илиден)]-1-метилпиридиния иодидов.....	8
1.3. Аннелирование пиридининового цикла к 2-аминохромен-3- карбонитрилам. Синтез хромено[2,3-d]пиридин-4-онов.....	10
1.4. Трехкомпонентный синтез 2-аминохинолин-3-карбонитрилов	14
1.5. Аннелирование пиридининового цикла к 2-аминохинолин-3- карбонитрилам. Синтез пиримидо[4,5-b]хинолин-4-онов.....	17
1.6. Виртуальный скрининг биологической активности полученных соединений. Антибактериальная активность	20
Выводы.....	23

Введение

В литературе достаточно широко представлены реакции родственно построенных аминохромен(хинолин)карбонитрилов, приводящие к модификации функциональных групп и к аннелированию новых гетероциклов, в том числе пиримидинового цикла с образованием хромено[2,3-d]пиримидин-4-онов и пиримидо[4,5-b]хинолин-4-онов. Соединения данных рядов обладают различными видами фармакологической активности, что обуславливает перспективность синтеза новых представителей данного ряда.

Для получения 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилов в качестве препаративно доступных субстратов часто используются кросс-сопряженные диеноновые производные циклогексана, содержащие в своем составе различные арильные и гетарильные заместители. В литературе имеется достаточно сведений о реакциях симметричных диенонов с малонитрилом, и менее известно о применении халконов несимметричного строения. Наличие двух реакционных центров подразумевает протекание реакций в разных направлениях, что требует рассмотрение региоселективности.

Пиримидиновый цикл входит в состав большого числа практически значимых соединений, например, нуклеиновых кислот, витаминов, антибиотиков и т.д., что обуславливает актуальность поиска новых пиримидинсодержащих структур. Одним из универсальных способов аннелирования пиримидинового фрагмента является реакция замещённых 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилов с уксусным ангидридом в присутствии серной кислоты, являющейся агрессивным катализатором. А случаи введения кислотных гетерокатализаторов (например, оксида графена, который за последнее десятилетие был успешно применен в органическом синтезе) в реакции данного типа не известны, что требует дополнительного изучения. Преимуществом гетерогенного катализатора является возможность его повторного использования.

Цель работы:

Синтез 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилов на основе кросс-сопряженных диеновых производных циклогексана несимметричного строения и изучение их реакций (аннелирование пиримидинового цикла, метилирование).

Задачи:

- Синтез региоизомерных 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилов при различных способах активации;
- Разделение смеси региоизомеров 2-аминохромен-3-карбонитрилов методом колоночной жидкостной хроматографии;
- Метилирование пиридилсодержащих 2-аминохромен-3-карбонитрилов йодметаном;
- Аннелирование пиримидинового цикла к 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилам;
- Установление строения синтезированных веществ методами ИК-, ЯМР ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC спектроскопий;
- Прогноз биологической активности полученных соединений предикт-программой PASS и выявление среди них веществ с наибольшей антибактериальной активностью.

1. Синтез и реакции 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилов (обсуждение результатов)

В литературном обзоре представлен достаточно широкий ряд реакций близких по строению 2-аминопиран(хромен)-3-карбонитрилов, приводящих к образованию полигетероциклических систем.

Ранее на кафедре органической и биорганической химии были проведены реакции несимметричных циклогексадиенонов и малонодинитрила (пиперидин, ДМФА). Реакции диенонов, содержащих фуран-2-илметиленовый заместитель при варьировании второй терминальной группы (фенил, 4-метоксифенил, 3-нитрофенил), приводили к образованию 2-амино-4-арил-8-фуранилметилен-5,6,7,8-тетрагидрохромен-3-карбонитрилов [28]. В случае диенонов, содержащих бензилиденный заместитель при варьировании как электронодонорного (4-метоксифенил), так и электроноакцепторных заместителей (3-нитрофенил, 4-нитрофенил), реакции с малононитрилом приводили к образованию смеси региоизомерных 2-аминохромен-3-карбонитрилов. Полученные соединения вводили в реакции с уксусным ангидридом в присутствии серной кислоты, которые привели к образованию хромено[2,3-d]пиримидинонов [5].

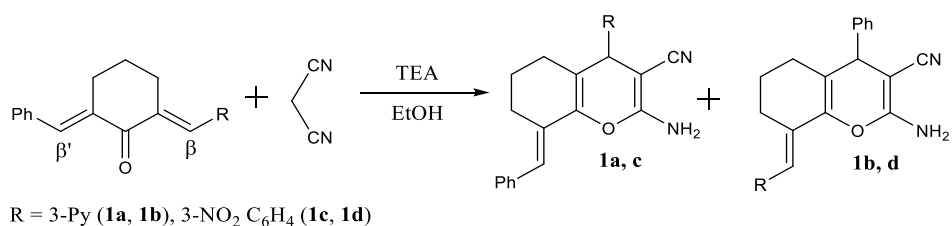
В продолжение этих исследований нами получены 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилы на основе кросс-сопряженных производных циклогексанона и малононитрила в условиях термической и УЗ-активации. На их основе проведено аннелирование пиримидинового цикла в присутствии серной кислоты и оксида графена в качестве альтернативного катализатора. Кроме того осуществлено метилирование смеси региоизомерных пиридинилсодержащих аминохроменкарбонитрилов.

В качестве субстратов нами использовались 2-бензилиден-6-(пиридин-3-илметилен)циклогексанон и 2-бензилиден-6-(3-нитробензилиден)циклогексанон, являющиеся электронными аналогами. Выбор диенонов основан на наличии у них фармакофорных фрагментов,

усиливающих цитотоксическую активность субстратов по отношению к клеточным линиям опухолей нейробластомы SH-SY5Y [31], лимфобластом Molt 4/C8, СЕМ и мышиноного лимфоцитарного лейкоза [32]. Таким образом, соединения, полученные на их основе, могут обладать биологической активностью и возможностью их дальнейшего модифицирования с целью ее усиления.

1.1. Синтез 2-амино-4Н-хромен-3-карбонитрилов в условиях термического и ультразвукового воздействия

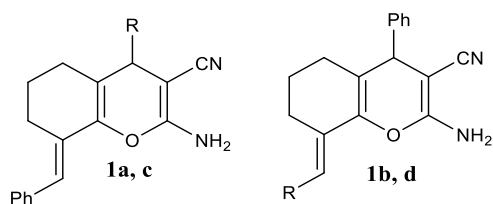
Реакция эквимольных количеств диенонов и малонитрила (EtOH, ТЭА) привела к образованию региоизомерных 2-амино-5,6,7,8-тетрагидрохромен-3-карбонитрилов **1a-d** с суммарными выходами 83-84%.



Проведение реакции в ультразвуковой ванне позволило сократить время до 10 минут при сохранении выхода (73-80%). Характеристики 2-аминохромен-3-карбонитрилов представлены в таблице 2.1.1.

Таблица 2.1.1.

Характеристики 2-аминотетрагидрохромен-3-карбонитрилов **1a-d**.



№ соедин-ия	R	Rf (гексан-этилацетат-хлороформ 2:2:1)	Δ		УЗ		Т пл. °С	Брутто-формула	Найдено / Вычислено, %		
			Время, мин	Выход, %	Время, мин	Выход, %			C	H	N
1a, 1b	3-Py	0.13 ; 0.21	60	10	83	80	232-235	C ₂₃ H ₂₀ N ₂ O	80,55 81,15	5,62 5,92	8,27 8,23
1c, 1d	3-NO ₂ C ₆ H ₄	0.71 ; 0.74	60	10	84	73	214-217	C ₂₃ H ₁₉ N ₃ O ₃	72,29 71,67	4,62 4,97	11,25 10,90

В ИК-спектрах ключевыми сигналами являются валентные колебания первичной амино- ($3426-3352\text{ см}^{-1}$) и $\text{C}\equiv\text{N}$ ($2190-2187\text{ см}^{-1}$) групп, сопряженной эфирной связи $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ($1267-1253\text{ см}^{-1}$). Наличие внеплоскостных деформационных колебаний связи $=\text{C}-\text{H}$ ($924-922\text{ см}^{-1}$) свидетельствует о s-транс-конфигурации.

В спектре ЯМР ^1H характерными являются раздвоение сигналов протонов H^4 (3.98-4.27 м. д.), NH_2 (4.60-6.36 м. д.) и винильного протона (6.80-7.11 м. д.), что свидетельствует о наличии двух региоизомеров. По интегральной интенсивности этих протонов установлены соотношения изомеров $1_a:1_b$ и $1_c:1_d$, равные 1.1:1.0.

Критерием для определения направления O-циклизации являются сигналы винильного и H^4 протонов, положения которых зависят от природы заместителей при β - и β' -центрах: электроноакцепторный заместитель вызывает сдвиг сигналов ключевых протонов в область слабого поля.

В спектрах ЯМР ^{13}C ключевыми являются сигналы атомов углерода C^4 (41.32-43.63 м.д.), C^3 (59.43-60.92 м.д.), CN группы (113.45-117.22 м.д.).

В двумерных спектрах HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) имеются корреляции метиновых протонов H^4 с sp^3 гибридным атомом углерода (H^4/C^4) и арилиденового протона с sp^2 гибридным атомом углерода $\text{C}=\text{C}_{\text{sp}^2}-\text{H}$ для каждого региоизомера. Отсутствие корреляции протонов, имеющих пики в ЯМР ^1H при 4.53-4.60 м.д. с атомом углерода позволяет отнести эти сигналы к аминогруппе.

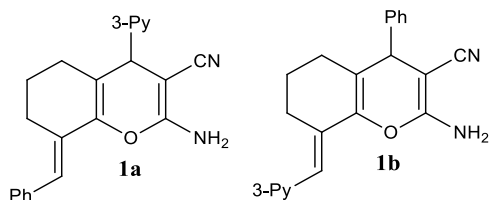
В двумерных спектрах HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) имеются корреляции метиновых протонов H^4 с атомами углерода цианогруппы H^4/CN (4.01 м.д./113.95 м.д.), C^5 (4.01 м.д./26.93 м.д.), протонов аминогруппы с атомом углерода C^3 (4.60 м.д./59.58 м.д.).

Наибольшее различие коэффициентов подвижности (Rf) изомеров 1_a , 1_b (0.13 и 0.21) предоставляет оптимальные условия для разделения региоизомеров с помощью колоночной хроматографии, что было проведено с использованием хроматографической колонки (диаметр 32 мм, длина 457

мм), активированного силикагеля (фракция 0.2-0.5 мм) и элюента хлороформ:этилацетат = 1:1. Характеристики полученных индивидуальных региоизомеров представлены в таблице 2.1.5.

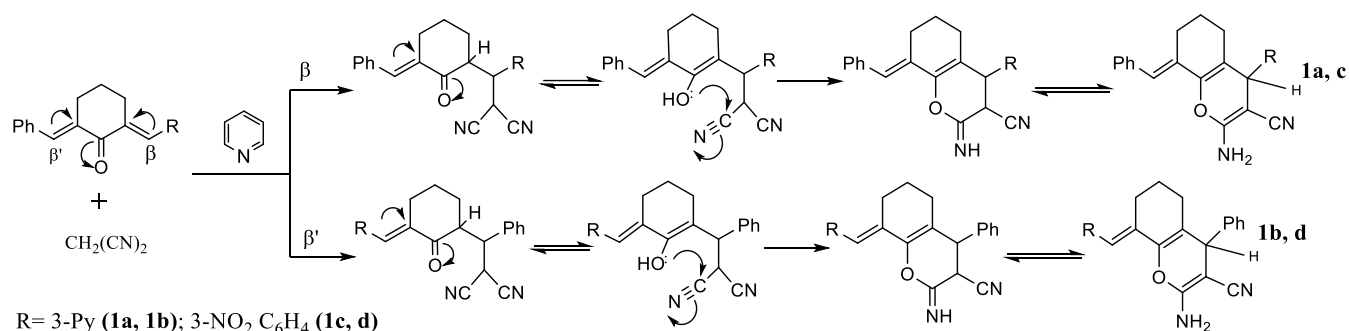
Таблица 2.1.2.

Характеристики индивидуальных 2-аминотетрагидрохромен-3-карбонитрилов 1_{a,b}.



№ соединения	Rf (этилацетат-хлороформ 1:1)	Т пл. °С	ЯМР ¹ H	
			=C-H	H ⁴
1a	0.50	239-241	6.80	4.01
1b	0.36	243-245	6.89	3.97

Вероятная схема образования хроменкарбонитрилов включает конденсацию Михаэля, внутримолекулярную О-циклизацию за счет благоприятного расположения гидроксильной и цианогрупп и имин-енаминную таутомерию:



Таким образом, нуклеофильная атака прошла практически равновероятно по обоим электронодефицитным реакционным центрам субстратов. Это связано с тем, что на направление нуклеофильной атаки влияет не только электронный эффект заместителей, но и пространственное строение субстратов. Согласно данным исследования строения кристалла 2-бензилиден-6-(пиридин-2-илметилен)циклогексанона методом РСА,

значения двугранных углов (φ) плоскостей циклов и связи C=C составляют 21.2° (для пиридинового) и 28.9° (для бензольного), что обуславливает некоторую предпочтительность нуклеофильной атаки по пиридил(3-нитрофенил)метиленовому фрагменту (по β атому углерода).

1.2. Метилирование пиридинилсодержащих 2-аминотетрагидро-4H-хромен-3-карбонитрилов. Синтез 3-[2-амино-3-цианохроменил(илиден)]-1-метилпиридиния иодидов

Наличие нескольких нуклеофильных центров у 2-аминохромен-3-карбонитрилов **1a,b** (пиридин, аминогруппа) позволяет провести реакцию алкилирования, что может привести к увеличению растворимости. Алкилирование иодистым метилом проводилось нами впервые по методике [35].

Осуществлен синтез 3-(2-амино-8-бензилиден-3-циано-5,6,7,8-тетрагидро-4H-хромен-4-ил)-1-метилпиридиния иодида (**2a**) и 3-(2-амино-4-фенил-3-циано-5,6,7,8-тетрагидро-4H-хромен-8-метилен)-1-метилпиридиния иодида (**2b**) при эквимольном соотношении реагентов в ацетонитриле. Реакция проводилась сначала при 5°C 12 ч, а затем при комнатной температуре 21,5 ч. Растворение продукта реакции наблюдалось лишь в большом объеме воды.

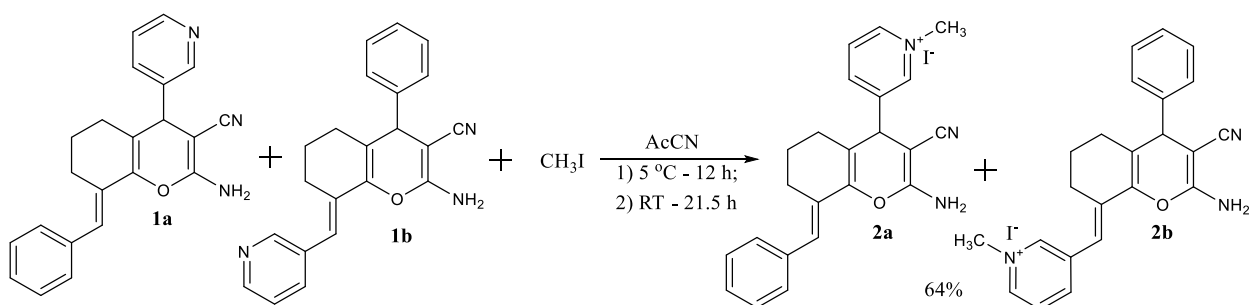
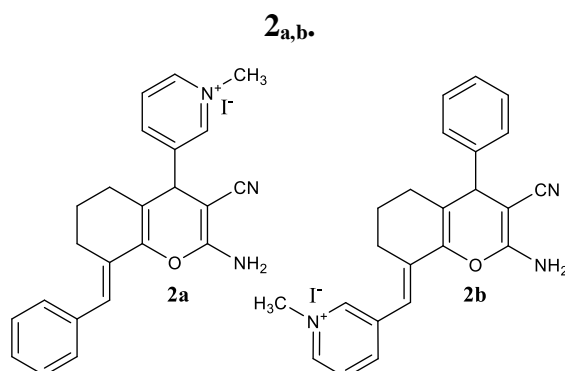


Таблица 2.2.1.

Характеристики 3-[2-амино-3-цианохроменил(илиден)]-1-метилпиридиния иодидов



№ соед-ия	Время, час	Выход, %	Т пл. °С	Брутто- формула	Найдено Вычислено, %		
					С	Н	N
2a, 2b	33.5	64	193-196	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ O	$\frac{57,85}{57,15}$	$\frac{5,24}{4,59}$	$\frac{9,25}{8,69}$

В ИК-спектрах продуктов **2_{a,b}** сохраняются уширенные валентные колебания первичной аминогруппы (3415, 3255 см⁻¹), а также присутствуют колебания СН₃ и алицикла (2955-2905 см⁻¹), С≡N (2187 см⁻¹) и сопряженной эфирной связи С-О-С (1260 см⁻¹).

В спектре ЯМР ¹Н ключевым является удвоение сигналов протонов метильных групп при атоме азота пиридинового цикла (4.32, 4.37 м.д.) при сохранении синглетов протонов аминогруппы (6.82, 7.13 м.д.). По интегральной интенсивности этих протонов установлено соотношение изомеров **2_a:2_b** 1.1:1.0, равное соотношению исходных соединений **1_a-1_b**. Сигналы протонов Н⁴ обоих изомеров после проведения реакции немного сместились в область слабого поля (4.32 и 4.03 м.д.) по сравнению с исходными 2-аминохромен-3-карбонитрилами (4.07 и 3.97 м.д.) соответственно, что связано с образованием катиона метилпиридиния, являющегося более сильным акцептором электронной плотности, чем пиридин.

В двумерном спектре HSQC (¹Н/¹³С) присутствуют две корреляции метильной группы С_{Н₃}/С_{Н₃} (4.32/48.58 и 4.37/48.62 м.д.).

В НМВС спектре наблюдаются корреляции протонов метильных групп только с атомами углерода пиридиновых колец (4.35/144.94 м.д./м.д.), что также подтверждает метилирование пиридиновых колец.

При наличии нескольких нуклеофильных реакционных центров реакция метилирования аминокроменкарбонитрилов прошла только по пиридиновым кольцам. Это связано, вероятно, с проведением реакций в ацетонитриле, апротонном растворителе, что способствовало усилению реакции кватернизации, а также с отсутствием основного катализатора, необходимого для перевода аминокруппы в основную форму, что могло позволить провести ее метилирование.

1.3. Аннелирование пиримидинового цикла к 2-аминокромен-3-карбонитрилам. Синтез хромено[2,3-d]пиримидин-4-онов

Ранее на кафедре органической и биоорганической химии (СНИГУ им Н.Г. Чернышевского) проводилось аннелирование пиримидинового цикла к 2-аминокромен-3-карбонитрилам реакцией с уксусным ангидридом в присутствии катализатора (серная или полифосфорная кислота), которое протекало с участием амино- и цианогрупп [5]. Поэтому поиск более мягких кислотных катализаторов, позволяющих сократить время реакции, а также обладающих возможностью повторного использования (например, оксид графена (ОГ)), является актуальной темой для исследования.

В последнее время в литературе накопились многочисленные данные об использовании оксида графена в органическом синтезе, например, в реакциях этерификации, альдольной конденсации, Михаэля и др. [32]. ОГ представляет собой двумерный углеродистый материал, содержащий на своей поверхности кислородсодержащие функциональные группы (гидроксильные, эпоксидные и карбоксильные (кислоты Бренстеда)), которые и выполняют каталитическую роль (рис.1). Сочетание различных активных центров на поверхности ОГ создает возможность их различного

комбинирования и может производить синергетический эффект, что придает оксиду графена кислотно-основный характер.

ОГ был получен Брудником С.В. (Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина) анодным окислением графита в электролите, основным компонентом которого является 83% серная кислота. По морфологии многослойный оксид графена представляет периодически повторяющиеся слои с толщиной менее 0.1 мкм (рис.1).

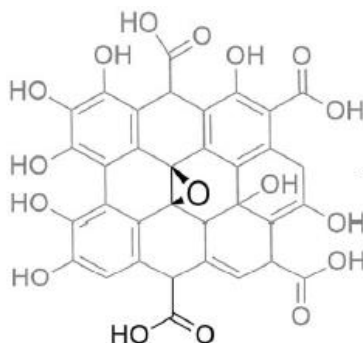
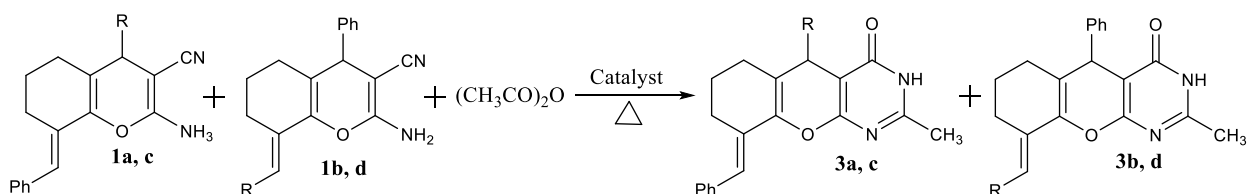


Рис.1 Структура оксида графена

Нами впервые осуществлен синтез хромено[2,3-d]пиримидинов **3_{a,b}** и воспроизведение известных соединений **3_{c,d}** на основе полученных 2-аминохромен-3-карбонитрилов **1_{a-d}** и уксусного ангидрида в условиях кислотного катализа (серная кислота) и в присутствии оксида графена (ОГ) для сравнения эффективности катализаторов.

Синтез 5-арил-9-арилметилен-2-метил-3,5,6,7,8,9-гексагидро-3H-хромено[2,3-d]пиримидин-4-онов **3_{a-d}** осуществлялся по методике, описанной в работе [1], на основе 2-амино-хромен-3-карбонитрилов **1_{a-d}**, полученных ранее, и 20-кратного избытка уксусного ангидрида (реагент и растворитель) при нагревании в присутствии каталитических количеств серной кислоты. Хромено[2,3-d]пиримидиноны были получены через 15-18 часов с выходами 77-82%.

Использование вместо серной кислоты оксида графена (10 мас.%) привело к сокращению времени реакции до 9,5-12 часов с более низким суммарными выходами (57-61%), что связано, вероятно, с потерями на этапе выделения и адсорбции на катализаторе.

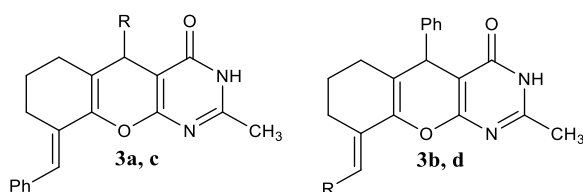


R = 3-Py (1a, b; 3a, b), 3-NO₂ C₆H₄ (1c, d; 3c, d)

Характеристики хромено[2,3-d]пиримидинонов представлены в таблице 2.3.1.

Таблица 2.3.1.

Характеристики 5-арил-9-арилметилден-2-метил-3,5,6,7,8,9-гексагидро-3H-хромено[2,3-d]пиримидин-4-онов 3_{a-d}



№ соединения	R	Rf (гексан-этилацетат-хлороформ 2:2:1)	H ₂ SO ₄		ОГ		Т пл. °С	Брутто-формула	Найдено / Вычислено, %		
			Время, ч	Выход, %	Время, ч	Выход, %			C	H	N
3a, 3b	3-Py	0.52; 0.62	17	82	9.5	61	251-254	C ₂₄ H ₂₁ N ₃ O ₂	73,10 / 75,18	4,74 / 5,92	10,03 / 10,96
3c, 3d	3-NO ₂ C ₆ H ₄	0.18; 0.23	18	77	12	57	268-271	C ₂₅ H ₂₁ N ₃ O ₄	69,71 / 70,25	4,54 / 4,95	9,66 / 9,83

В ИК-спектрах хроменопиримидинонов наблюдаются интенсивная полоса валентных колебаний NH I (3479-3371 см⁻¹), C=O группы (1671 см⁻¹), C=C (1645 см⁻¹), полоса амида II (1601 см⁻¹) и связи C-O-C (1258 см⁻¹), а также отсутствует полоса поглощения цианогруппы, характерная для хроменкарбонитрилов.

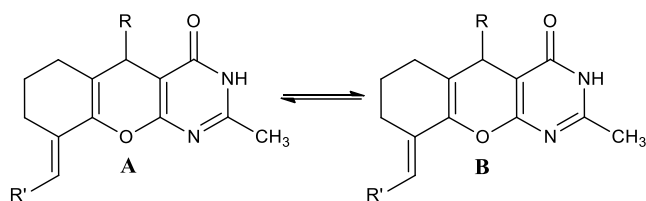
В спектрах ЯМР ¹H 3_{a-d} присутствуют синглеты протона NH (12.29-12.86 м.д.), метиленовых протонов (2.18-2.37 м.д.), винильного протона (6.92-7.39 м.д.) и метинового протона пиранового цикла H⁵ (4.42-4.55 м.д.). Наличие удвоенных сигналов протонов CH₃, H⁵, NH и =C-H подтверждает строение изомеров, соотношение которых по интегральной интенсивности составляет 1.1:1.0, что соответствует соотношениям региоизомеров исходных 2-аминохроменкарбонитрилов.

В спектрах ЯМР ^{13}C ключевыми являются сигналы атомов углерода $\text{C}=\text{O}$ (162.08-162.27 м.д.) и метильной группы (21.40-23.48 м.д.).

В двумерных спектрах HSQC присутствуют корреляции метильной группы (2.30/21.30 м.д./м.д. (CH_3/CH_3)).

В спектре HMBC хроменопиримидинов $\mathbf{3}_{a,b}$ присутствует корреляция метинового протона пиранового цикла H^5 с сигналом атома углерода карбонильной группы.

Спектральные данные убедительно подтверждают лактамное строение соединений (лактим-лактамная таутомерия), этому могли способствовать проведение реакций в условиях кислотного катализа и формирование ароматического пиримидинового цикла.



Преимуществом использования гетерогенного катализатора является возможность его повторного использования. Так, по окончании реакции реакционную смесь заливали хлороформом до полного растворения продуктов и пропускали через нейлоновую мембрану. Отделенный оксид графен был высушен и повторно использован в течение 4 циклов. Наблюдалась заметная потеря каталитической активности ОГ при увеличении времени реакции до 15 часов (табл. 2.3.2).

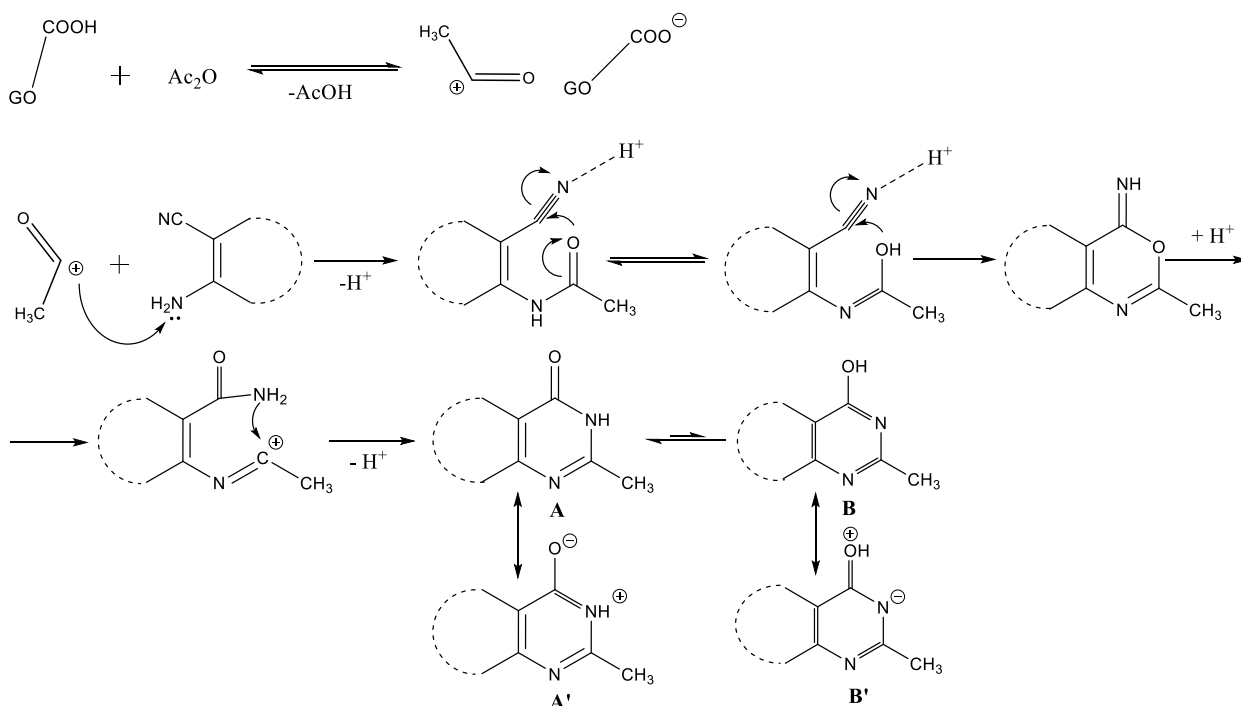
Таблица 2.3.2.

Рециркулируемость оксида графена на примере синтеза хромено[2,3-d]пиримидинов $\mathbf{3}_{a,b}$

Цикл	1	2	3	4
Время, ч	9.5	9.5	10.5	15
Выход, %	77	73	62	47

Основываясь на литературных аналогах [5], вероятная схема аннелирования пиримидинового кольца включает первоначальную

активацию ацетилирующего агента на поверхности ОГ, N-ацетилирование субстрата с последующей тандемной внутримолекулярной перегруппировкой Пиннера/Димрота.



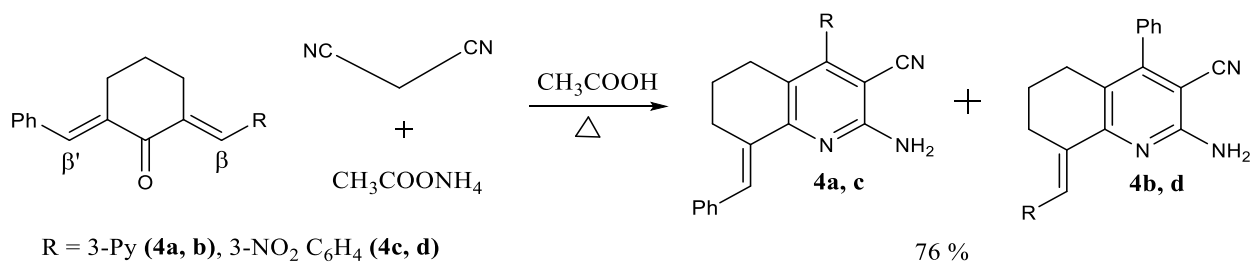
Использование оксида графена привело к сокращению времени реакции при уменьшении выходов продуктов, а выделение из реакционной смеси позволило его применить в течение 4 циклов с потерей каталитической активности. Полученные результаты дают основание для дальнейшего использования наночастиц оксида графена в качестве кислотного катализатора в реакциях данного типа.

1.4. Трехкомпонентный синтез 2-аминохинолин-3-карбонитрилов

2-Аминохинолин-3-карбонитрилы являются функциональными аналогами полученных ранее хроменкарбонитрилов. Одним из способов синтеза соединений данного ряда является трехкомпонентная конденсация диарилиденциклоалканонов [30, 31], малонитрила и ацетата аммония (источник аммиака, который выступает в качестве катализатора и реагента). В литературе имеются сведения о синтезе 2-аминохинолин-3-карбонитрилов на основе диенов симметричного строения, а халконы несимметричного

строения вовсе не использовались, что создает необходимость проведения исследований в данном направлении.

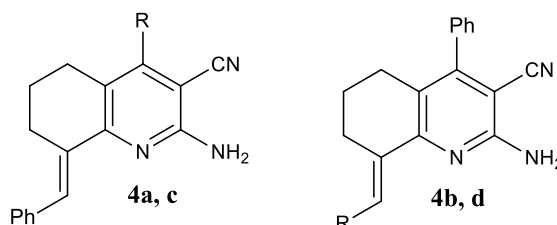
Нами осуществлена трёхкомпонентная конденсация 2-бензилиден-6-(пиридин-3-илметилен)циклогексанона и 2-бензилиден-6-(3-нитробензилиден)циклогексанона с малононитрилом и ацетатом аммония с образованием региоизомерных 2-аминохинолин-3-карбонитрилов



Характеристики 2-аминохинолин-3-карбонитрилов представлены в таблице 2.4.1.

Таблица 2.4.1.

Характеристики 2-амино-4-арил-8-арилметилен-5,6,7,8-тетрагидрохинолин-3-карбонитрилов 4a-d.



№ соед-ия	R	Rf (гексан-этилацетат-хлороформ 2:2:1)	Выход, %	Т пл. °C	Брутто-формула	Найдено / Вычислено, %		
						C	H	N
4a, 4b	3-Py	0.14 0.38	76	204-207	C ₂₂ H ₁₈ N ₄	77.75 78.11	5.52 5.33	16.20 16.57
4c, 4d	3-NO ₂ C ₆ H ₄	0.78 0.76	79	171-174	C ₂₃ H ₁₈ N ₄ O ₂	71.66 72.25	4.74 4.71	14.12 14.66

В ИК-спектрах наблюдаются валентные колебания первичной аминогруппы (3409-3385 см⁻¹), связи C≡N (2211-2204 см⁻¹), и набор частот пиридинового кольца (1636-1494 см⁻¹).

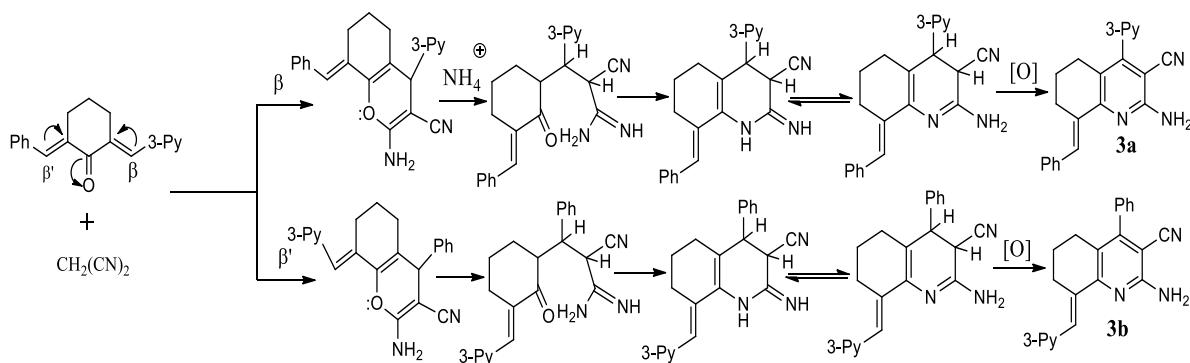
В спектре ЯМР ^1H присутствуют синглеты протонов NH_2 (6.07-6.24 м.д.) и винильного протона (8.03-8,12 м.д.). Критерием для определения направления N-циклизации является положение сигналов винильного и NH_2 протонов, значения которых зависят от природы заместителей при β и β' центрах: электроноакцепторный пиридин-3-ильный заместитель вызывает сдвиг сигналов винильного и протонов аминогруппы в область слабого поля, а фенильный – в более сильное поле.

В спектре ЯМР ^{13}C присутствуют ключевые сигналы атомов углерода CN (116.65-116.68 (**3b**) м.д.) и $=\text{C}-\text{H}$ (126.63-131.42 м.д.).

В двумерных спектрах HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) смеси региоизомеров **4a-d** ключевыми являются корреляции арилиденового протона с sp^2 гибридным атомом углерода $\text{C}=\text{C}sp^2-\text{H}$ (7.98 м.д./126.63 м.д.). Отсутствие корреляции протонов, имеющих пик в ЯМР ^1H при 6.00 м.д., с атомом углерода позволяет отнести эти сигналы к первичной аминогруппе.

По интегральной интенсивности винильного и протонов аминогруппы установлены соотношения изомеров 2-аминохинолин-3-карбонитрилов **4a:4b** и **4c:4d**, равные 1.2:1.0 и 1.3:1.0 соответственно. Аналогично 2-аминохромен-3-карбонитрилам, атака нуклеофила протекала протекла с некоторым преимуществом со стороны электроноакцепторного заместителя.

Нами предложена вероятная схема образования 2-аминохинолин-3-карбонитрилов, включающая образование 2-аминохромен-3-карбонитрилов по описанному ранее механизму, O-N рециклизацию, имино-енаминную таутомерию и ароматизацию:

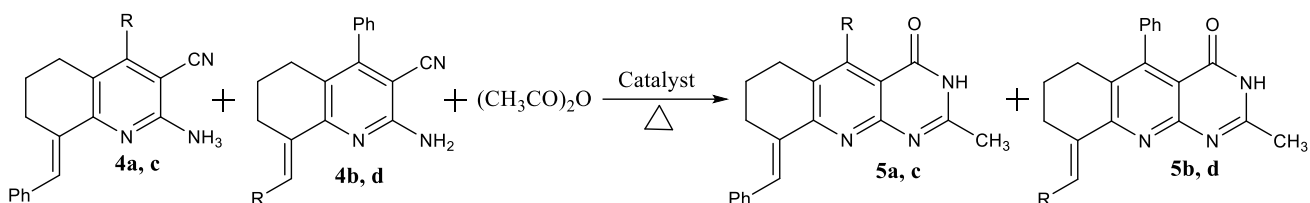


Наличие вицинальных амино- и цианогрупп создают перспективы дальнейшей модификации полученных 2-аминохиолин-3-карбонитрилов с целью получения биологически активных сложных гетероциклических систем.

1.5. Аннелирование пиримидинного цикла к 2-аминохиолин-3-карбонитрилам. Синтез пиримидо[4,5-*b*]хиолин-4-онов

Строение аналогичное 2-аминохромен-3-карбонитрилам (вицинальные амино- и цианогруппы) позволяет провести аннелирование пиримидинового цикла к 2-аминохиолин-3-карбонитрилам.

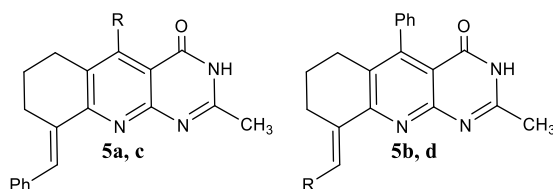
Нами осуществлён синтез 9-арилиден-2-метил-5-арил-6,7,8,9-тетрагидропиримидо[4,5-*b*]хиолин-4(3Н)-онов **5_{a-d}** на основе 2-аминохиолин-3-карбонитрилов **4_{a-d}** в условиях, аналогичных синтезу хромено[2,3-*d*]пиримидинонам **3_{a-d}** (20-кратный избыток уксусного ангидрида, каталитические количества серной кислоты или 10 мас.% оксида графена). Характеристики полученных соединений представлены в таблице 2.5.1.



R = 3-Py (**4_{a, b}**; **5_{a, b}**), 3-NO₂ C₆H₄ (**4_{c, d}**; **5_{c, d}**)

Таблица 2.5.1

Характеристики 9-арилиден-2-метил-5-арил-6,7,8,9-тетрагидропиримидо[4,5-*b*]хиолин-4(3Н)-онов **5_{a-d}**.



№ соедин-ия	R	Rf (этилацетат-хлороформ 5:1)	H ₂ SO ₄		ОГ		Т пл. °С	Брутто-формула	Найдено / Вычислено, %		
			Время, ч	Выход, %	Время, ч	Выход, %			С	Н	N
5a, 5b	3-Py	0.56; 0.48	15	65	8.5	68	237-242	C ₂₄ H ₂₀ N ₄ O	$\frac{73,94}{75,77}$	$\frac{4,53}{5,30}$	$\frac{11,45}{12,73}$
5c, 5d	3-NO ₂ C ₆ H ₄	0.09; 0.07	12	83	9	57	252-256	C ₂₅ H ₂₀ N ₄ O ₃	$\frac{69,58}{70,74}$	$\frac{5,53}{4,75}$	$\frac{12,12}{13,20}$

Использование наночастиц оксида графена в качестве катализатора привело к сокращению времени реакции с 12-15 до 8,5-9 часов, при сохранении выходов пиримидохинолинонов, полученных при использовании разных катализаторов.

В ИК-спектрах пиримидо[4,5-b]хинолинонов **5a-d** наблюдаются интенсивная полоса валентных колебаний связи NH (3485-3358 см⁻¹), полоса амида II (1554 см⁻¹), C=O группы (1736-1725 см⁻¹), пиридинового кольца (1634-1493 см⁻¹), при отсутствии полоса поглощения цианогруппы, характерной для исходных 2-аминохинолин-3-карбонитрилов.

В спектре ЯМР ¹H смеси изомеров **5a-d** присутствуют синглеты протона NH (11.88-12.85 м.д.), метиленовых протонов (2.40-2.48 м.д.), винильного протона (8.05-8.29 м.д.). Наличие удвоенных сигналов протонов CH₃ и =C-H в спектрах пиримидо[4,5-b]пиримидинонов **5a-d** подтверждает строение изомеров, соотношение которых по интегральной интенсивности составляет **5a:5b** и **5c:5d** = 1.2:1.0 и 1.3:1.0, что соответствует соотношениям региоизомеров исходных 2-аминохинолин-3-карбонитрилов.

В двумерном спектре HSQC присутствуют корреляции арилиденовых протонов с sp² гибридным атомом углерода C=C_{sp²}-H (8.05/128.65 м.д.) и метильных протонов с метильным атомом углерода (2.30/21.30 м.д./м.д. (CH₃/CH₃)).

Вероятный маршрут образования пиримидо[4,5-b]хинолинонов **5a-d** можно представить той же схемой, предложенной для образования хромено[2,3-d]пиримидинонов **3a-d**, через первоначальное N-ацетилирование

субстрата с последующей тандемной внутримолекулярной перегруппировкой Пиннера/Димрота.

Нами предложены новые примеры использования нанокатализатора оксида графена в азогетероаннелировании пиримидинового цикла к хинолинам по положениям 2, 3 с образованием пиримидохинолинонов, содержащих замещающие группы, создающие возможности для дальнейшей модификации.

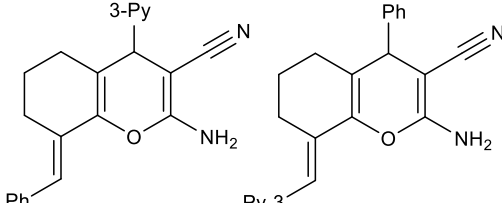
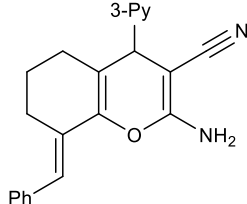
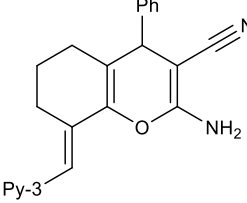
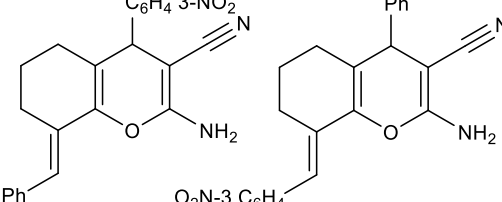
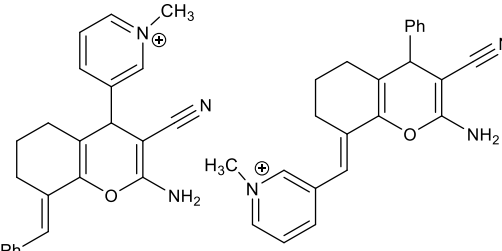
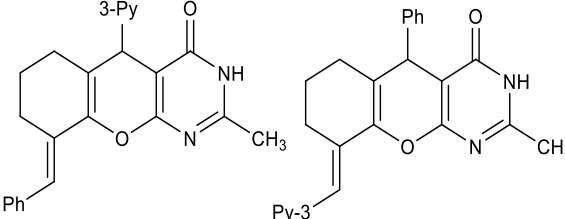
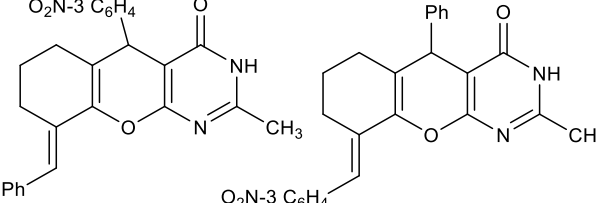
1.6. Результаты виртуального скрининга биологической активности полученных соединений. Антибактериальная активность

Оценка биологической активности синтезированных соединений была проведена при помощи пакета компьютерных программ PASS. Согласно результатам предсказаний, 2-аминохромен-3-карбонитрилы **1_{a-d}** могут проявить свойства ингибиторов по отношению к аминопептидазам (76-81%), в меньшей степени стимулятора каталазы (71-73%), агонистов апоптоз (70-71%), 3-(2-амино-3-цианохроменил)-1-метилпиридиния иодиды **2_{a,b}** могут проявить свойства ингибиторов по отношению к аминопептидазам (77-80%), в меньшей степени стимуляторов каталазы (71-73%), агонистов апоптоз (69-71%). Предсказание активностей остальных веществ показало низкую вероятность проявления биоактивностей. Приложение табл. 1

На базе ИБФРМ РАН была проведена работа по изучению антибактериальной активности. Для изучения активности были использованы бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (= B-8172), *Pseudomonas aeruginosa* (= B-6643), *Escherichia Coli* K-12 ATCC 10798, полученные из коллекции ВКПМ. Первичный скрининг показал, что все исследуемые соединения, кроме **1_{a,b}** и **3_{c,d}**, обладают слабой антимикробной активностью по отношению к *Staphylococcus aureus*, но оказались неэффективными в отношении других культур. Соединения были протестированы с помощью метода измерения оптической плотности. Определение антимикробной активности антибиотиков основано на их способности угнетать рост микроорганизмов. Приложение рис. 2-10.

Таблица 2.6.1

Значения EC₅₀ (жидкая среда LB) бактерий *Staphylococcus aureus* исследуемых соединений

№ соедин-ия	Исследуемые соединения	EC ₅₀ , мкг/мл (<i>Staphylococcus aureus</i>)
1a, 1b		-
1a		-
1b		-
1c, 1d		190
2a, 2b		148
3a, 3b		62
3c, 3d		-

4a, 4b		80
4c, 4d		178
5a, 5b		116
5c, 5d		170
Фурацилин		5

По результатам проведенных исследований (таблица 2.6.1) можно утверждать, что наибольшее угнетение роста культуры *S. Aureus* вызывают соединения **3_{a,b}** и **4_{a,b}** в концентрации 62-80 мкг/мл. Смеси соединений **1_{a,b}** и **3_{c,d}** оказались неактивными по отношению к бактериям. Введение нитрофенильного заместителя оказало отрицательное влияние на EC₅₀ препаратов. Аннелирование пиридинового цикла к пиридинилсодержащим аминокроменкарбонитрилам **1_{a,b}** привело к появлению умеренной активности (62 мкг/мл). Региоизомерные хинолинкарбонитрилы **4_{a,b}** в отличие от аналогичных аминокроменкарбонитрилов **1_{a,b}** проявили ингибирующую активность роста бактерий (80 мкг/мл), однако присоединение к ним пиридинового кольца привело к ее снижению (116 мкг/мл). Для исследования доли вклада в активность смеси каждого изомера в дальнейшем необходимо провести их хроматографическое разделение.

Выводы

1. Осуществлен синтез 2-амино-4,8-(фенил, 3-нитрофенил, 3-пиридинил)тетрагидрохромен(хинолин)-3-карбонитрилов посредством двух- и трёхкомпонентной конденсации и изучены их реакции (аннелирование пиримидинового цикла, метилирование) в различных условиях (термическая, ультразвуковая активация, гомо- и гетерогенный катализ);
2. Синтез 2-аминохромен-3-карбонитрилов посредством двухкомпонентной конденсации 2-бензилиден-6-(пиридин-3-ил)(нитрофенил)метиленциклогексанонов и малононитрила в условиях ультразвуковой активации протекает в течение меньшего времени (10 минут) по сравнению с традиционным нагреванием (60 минут) при сохранении выходов продуктов (80-83%). Методом колоночной жидкостной хроматографии на индивидуальные составляющие, с сохранением транс-конформации, была разделена смесь региоизомеров. Строение индивидуальных веществ установлено ЯМР¹H спектроскопией;
3. Изучены реакции 2-аминохромен(хинолин)-3-карбонитрилов с участием вицинальных амино- и цианогрупп (аннелирование пиримидинового цикла). Впервые в реакциях данного типа использован оксид графена, что позволило исключить в классическом варианте агрессивной серной кислоты. Установлено возможность четырёхкратного использования оксида графена.
4. Установлено, что метилирование 2-амино-8-бензилиден(пиридин-3-илметилен)-4-(пиридин-3-ил)(фенил)-5,6,7,8-тетрагидро-4H-хромен-3-карбонитрилов протекает только с участие пиридиновых колец;

5. Среди полученных веществ выявлены соединения, с выраженной антибактериальной активностью по отношению к культуре *Staphylococcus aureus*.

6. Предложены вероятные схемы образования продуктов реакций;
Состав и строение продуктов реакции установлены с использованием элементного анализа, ИК-, ЯМР ^1H , ^{13}C , HSQC и HMBC спектроскопий;