

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра органической и биоорганической химии

Синтезы и реакции замещенных 2-аминохромен-3-карбонитрилов

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса 412 группы

направления 04.03.01 «Химия»

Института химии

Чернышова Ксения Александровна

Научный руководитель

проф., д.х.н., проф.

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

А. П. Кривенько

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:

д.х.н., проф.

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

А.Ю. Егорова

инициалы, фамилия

Саратов 2023

Введение

В последние два десятилетия в синтезе 2-аминопиран(хромен)-3-карбонитрилов используют методологию «зеленого» синтеза: мультикомпонентные реакции, электролиз, MW- и УЗ-активации, нано- и органокатализаторы, экологичные растворители, ионные жидкости. В литературе достаточно широко представлен синтез 2-аминохромен-3-карбонитрила на основе диарилметиленциклоалканонов и малонитрила при варьировании различных условий, однако в меньшей степени описаны "зеленые" методы, в частности УЗ-активация в синтезе 2-аминохромен-3-карбонитрилов на основе диеновых производных циклоалканов и малонитрила.

Благодаря наличию в вицинальном положении amino- и цианогрупп у хроменкарбонитрилов можно проводить реакции аннелирования дополнительных гетероциклов. Из реакций аннелирования пиримидинового цикла наиболее изучены реакции с использованием в качестве катализатора агрессивной серной кислоты. Мало представлены реакции, где применяется ОГ (оксид графена), который используется в качестве альтернативы серной кислоте.

Одним из подходов «зеленой» химии является использование углеродсодержащих катализаторов (оксид графена и др.). Синтезы хроменпиримидинов в присутствии оксида графена представлены в литературе единичными публикациями.

Актуальность работы с подобными системами заключается в их высокой биологической активности, доказанной исследованиями, не прекращающимися до сих пор. Было обнаружено, что большое количество лекарственных препаратов, содержащих хроменовый фрагмент, проявляют цитотоксическую, противоопухолевую и противовирусную активность.

Цель работы: синтез арил(гетарил)замещенных 2-аминохромен-3-карбонитрилов в различных условиях (термическая, УЗ-активация) и изучение их реакций (метилирование, гетероаннелирование).

Задачи исследования:

1. Синтез 2-амино-8-бензилиден-4-фенил-5-,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромен-3-карбонитрила и синтез 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромен-3-карбонитрила на основе циклогексадиенонов и малонитрила в условиях термической и УЗ-активации.
2. Аннелирование пиримидинового цикла к 2-аминохромен-3-карбонитрилам под действием уксусного ангидрида в условиях кислотного катализа (H_2SO_4) или в присутствии в качестве катализатора оксида графена. Синтез 5-фенил-9-бензилиден-2-метил-3,5,6,7,8,9-гексагидро-3Н-хромен-2,3-дипиримидин-4-она и 2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3Н-хромен-2,3-дипиримидин-4-она.
3. Метилирование 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромен-3-карбонитрила под действием йодистого метила. Синтез [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-ийм-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-ийм]йодида.
4. Установление строения новых соединений спектральными методами.
5. Виртуальный скрининг биологической активности полученных соединений с использованием программы PASS и изучение их антимикробного действия.

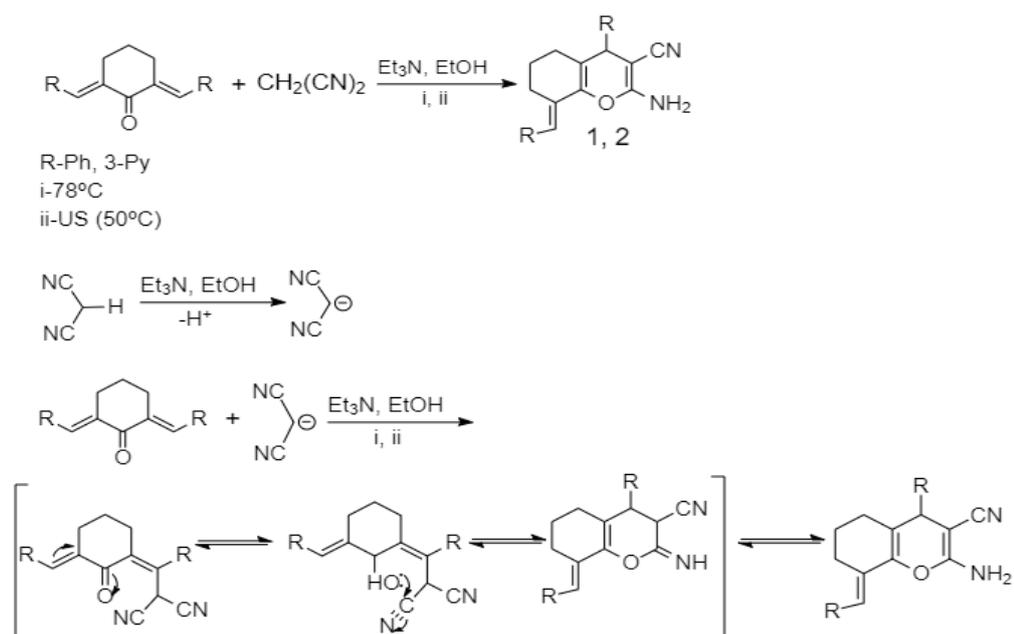
Основное содержание работы

1.1 Синтез 2-аминохромен-3-карбонитрилов

В литературе описаны реакции гидроксикумарина, бензальдегида с малонитрилом, приводящие к образованию 2-аминопиран(хромен)-3-карбонитрилов в условиях УЗ-активации. Учитывая преимущество сонохимических реакций (мягкие условия, сокращение времени, высокие выходы продукта. Нами впервые осуществлено взаимодействие диенона (2,6-добензилиденциклогексанона и 2,6-бис[(пиридин-3-ил)метилен]циклогексанона) и малонитрила в условиях УЗ-воздействия (50°C).

Для этого была воспроизведена реакция диенона (2,6-добензилиденциклогексанона и 2,6-бис[(пиридин-3-ил)метилен]циклогексанона) и малонитрила (кипячение в этаноле в присутствии каталитических количеств триэтиламина), с образованием 2-аминохромен-3-карбонитрила с выходом (76 и 68%).

Реакция в условиях УЗ-воздействия позволила сократить время реакции и увеличить выход продукта, который не нуждался в дополнительной очистке (табл. 1.1.1).



Трехкомпонентный синтез 2-аминохромен-3-карбонитрила на основе ароматического альдегида (бензальдегид и пиридин-3-карбальдегид), циклогексанона и малононитрила в соотношениях 2:1:1 (кипячение в этаноле в присутствии 30% NaOH), получены 2-аминохромен-3-карбонитрилы с выходами 79 и 74%. Трехкомпонентный синтез по сравнению с двухкомпонентным синтезом увеличил выход продукта (таблица 1.1.1).

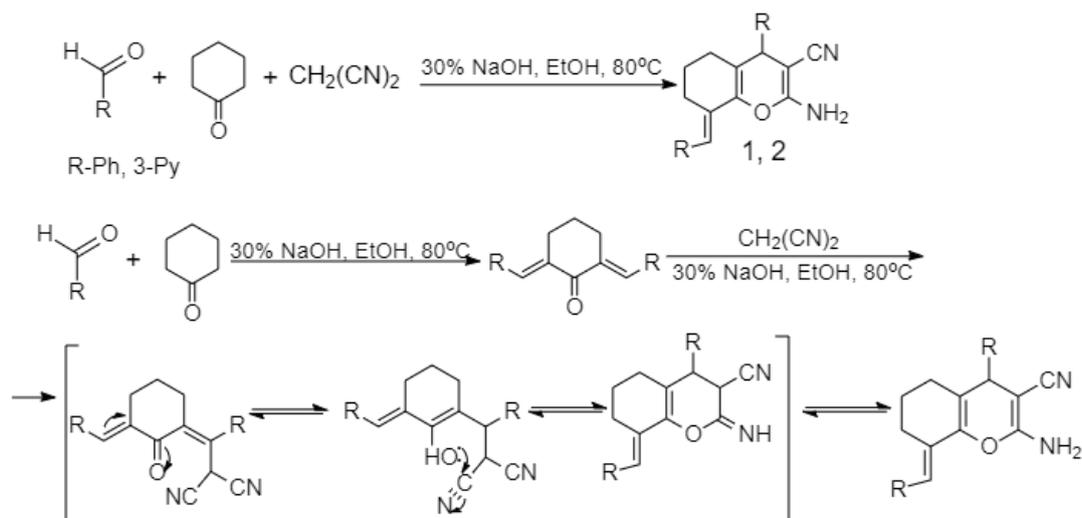
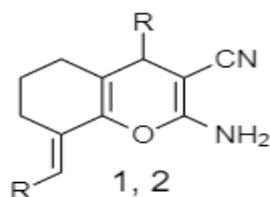


Таблица 1.1.1 – Условия и выходы 2-аминохромен-3-карбонитрила



Условия	№ соединения	R	Время, мин	Т.пл. (Лит / Эксп.), °С	Rf	Выход, %	ИК, см ⁻¹	ЯМР ¹ H (CDCl ₃), δ, м.д
Δ	1	Ph	120	227-230/ 228-230	0,34	76	3487-3419 (NH ₂)	1.60–2.76 м (5H, H7), 3.96 с (H4), 4.50 с (NH ₂), 6.10 с (=CH), 7.22–7.37 м (8H аром)
УЗ-воздействие			50			83	2240 (C≡N)	
Трехкомпонентная конденсация			120			79	1659 (C=C) 1261 (C-O-C)	
Δ	2	3-Пу	720	222-224	0,57	68	3466,3365 (NH ₂)	1.59–1.81 м (2H, H5), 2.01-2.23 м (2H, H7), 2.43–2.80 м (2H, H6), 4.03 с (1H, H4), 4.70 с (2H, NH ₂), 7.30 с (1H, =CH), 6.82–8.55 м (8H аром)
УЗ-воздействие			120			85	2187 (C≡N)	
Трехкомпонентная конденсация			360			74	2918-2835 (CH ₂) 1261 (C-O-C) 1668-1631(C=C)	

В ИК-спектре 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4H-хромено-3-карбонитрила (2) присутствуют валентные колебания первичной аминогруппы (3466, 3365 см⁻¹), цианогруппы (2187 см⁻¹), сопряженной эфирной связи C-O-C (1261 см⁻¹).

В спектре ЯМР¹H (CDCl₃-d₆) присутствуют сигналы протонов H⁴ (с., 4.03 δ, м.д), NH₂ (с., 4.70), винильного протона (с., 7.30 δ, м.д).

Трехкомпонентный синтез по сравнению с двухкомпонентным синтезом позволил сократить время реакции с 12 до 6 часов и увеличить выход 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4H-хромено-3-карбонитрила с 68 до 74% (таблица 1.1.1).

УЗ-воздействие позволило получить 2-амино-8-бензилиден-4-фенил-5-,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромен-3-карбонитрила (1) и 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромено-3-карбонитрила (2) за более короткие сроки с высоким выходами 83 и 85% (таблица 1.1.1).

1.2 Синтез хроменпиримидинов

Анализ литературных данных показал, что оксид графена используют в качестве катализатора в синтезе гетероциклических систем. Оксид графена (ОГ) проявляет амфотерные свойства, обладает большим потенциалом за счет высокой удельной поверхности и наличия различных функциональных групп (гидроксильные, эпоксидные и карбоксильные) (рис. 1).

Наиболее изученными реакциями 2-аминхромен(пиран)-3-карбонитрилов является аннелирование пиримидинового цикла, в присутствии кислотного катализатора. В связи с этим представляется целесообразным синтез хроменпиримидинов с использованием в качестве катализатора наночастиц оксида графена.

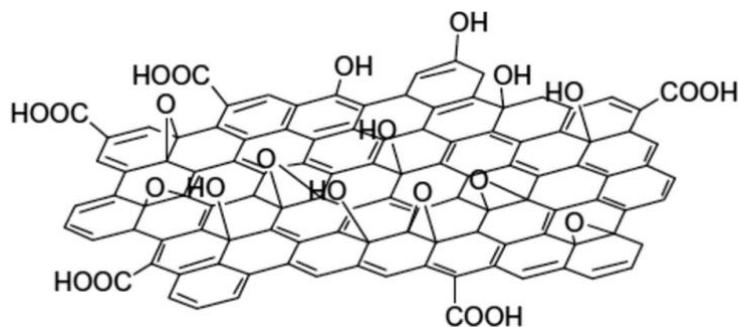


Рис. 1 – Структура оксида графена

Нами воспроизведен синтез 5-фенил-9-бензилиден-2-метил-3,5,6,7,8,9-гексагидро-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-она (3) 2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-она (4) посредством аннелирования 2-аминохромен-3-карбонитрила (2-амино-8-бензилиден-4-фенил-5-,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромен-3-карбонитрила (1) и 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-

хромено-3-карбонитрила (2) под действием уксусного ангидрида, являющегося реагентом и растворителем, в условиях кислотного катализа (H_2SO_4). 5-Фенил-9-бензилиден-2-метил-3,5,6,7,8,9-гексагидро-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-он и 2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-он были получены в течении 7 и 33 часов с выходом 89 и 64%. Проведение этой же реакции при использовании в качестве катализатора-наночастиц оксида графена, позволило незначительно уменьшить выход продукта и значительно увеличить время (табл. 1.2.1).

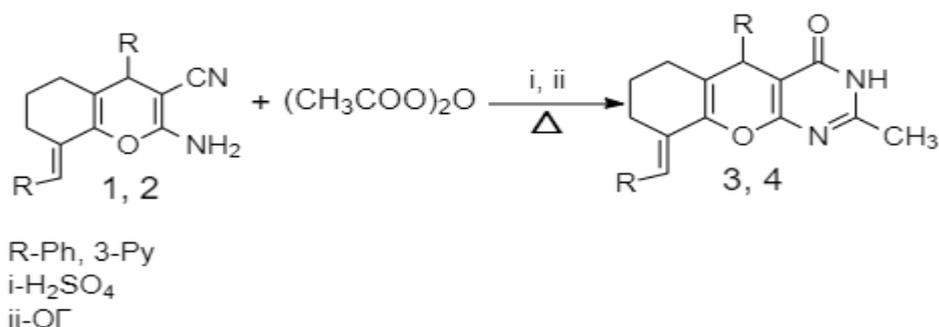
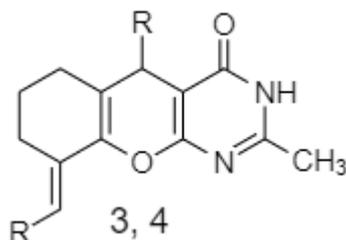


Таблица 1.2.1 – Характеристики и выходы хроменпиримидононов



Катализатор	№ соединения	R	Rf	Время, ч	Выход, %	Т. пл., °С	Найдено / Вычислено, %		
							C	H	N
H_2SO_4			0,37	7	89	262-265	C	H	N

ОГ	3	Ph	0,37	24	77	263-266	$\frac{78.72}{78.53}$	$\frac{5.24}{5.46}$	$\frac{6.97}{7.33}$
H ₂ SO ₄	4	3-Py	0,4	33	64	283-285	$\frac{71.74}{71.86}$	$\frac{5.21}{5.24}$	$\frac{13.96}{14.57}$
ОГ			0,4	65	53				

Нами впервые для синтеза хроменопиримидинонов был использован «зеленый» катализатор оксид графена, который позволил исключить использование агрессивной серной кислоты; а также впервые был синтезирован 2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-он (4) в разных условиях (H₂SO₄ и ОГ).

Состав и строение полученных веществ подтверждены элементным анализом, ИК-, ЯМР¹H, HSQC и HMBC спектроскопией.

В ИК-спектре хроменпиримидинонов 3, 4 наблюдаются интенсивная полоса валентных колебаний наблюдаются интенсивная полоса валентных колебаний группы NH (3400), C=O (1660) пиримидинового фрагмента, полоса амида (1600).

В спектре ЯМР¹H (DMSO-d₆) 2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-она (4) присутствуют синглет метильной группы (2.39 δ, м.д.), сигнал NH-протона (11.23 δ, м.д.).

В спектре HSQC (DMSO-d₆) 2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-она (4) присутствуют корреляции метиновых протонов пиранового цикла с sp³-гибридным атомом углерода и метильной группы (2.39/20.60 δ, м.д. / м.д (CH₃/CH₃)).

В спектре HMBC (DMSO-d₆) присутствует корреляция метинового протона пиранового цикла H⁵ с атомом углерода карбонильной группы (4.46/161.54 , δ, м.д. / м.д).

1.3 Синтез [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодида

Нами впервые осуществлен синтез [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодид. 2-Амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилиден)-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромено-3-карбонитрил растворяли в ацетонитриле и немедленно охлаждали до 5 °С, затем вводили раствор йодистого метила. Реакция проводилась сначала при 5 °С в течение 12 ч, затем при комнатной температуре в течение 73 ч.

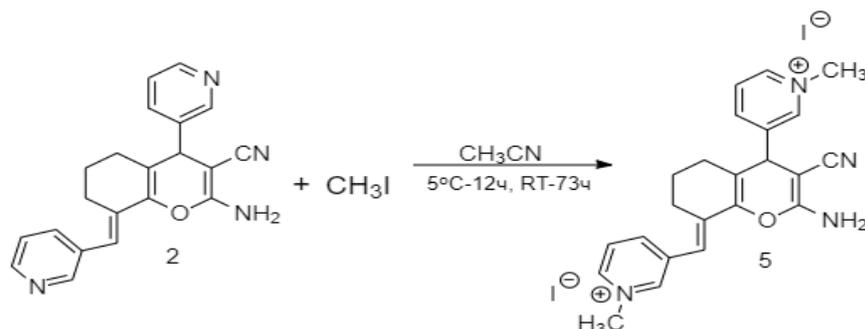


Таблица 1.3.1 – Характеристики и выход [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодид (5).

Время, ч	Выход, %	Т. пл., °С	Найдено / Вычислено, %			ИК, см ⁻¹	ЯМР ¹ Н (DMSO-d ₆), δ, м.д
			С	Н	Н		
85	86	207-210	71.47 / 72.41	6.46 / 6.9	15,87 / 16.09	3428, 3259 (NH ₂), 3063-3007 (CH sp ²), 2918–2835 (CH sp ³), 2186 (CN), 1666–1583 (C=Cсопр), 1267 (C–O–C)	1.56–1.72 м (2H, H ⁵), 2.07-2.16 м (2H, H ⁷), 2.52–2.69 м (2H, H ⁶), 4.34, 4.37 с (3H, CH ₃), 4.46 с (1H, H ⁴), 6.98 с (1H, =CH), 7.19 с (2H, NH ₂), 7.05–9.01 м (8H аром)

Впервые синтезирован [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодид (5).

В ИК-спектре присутствуют валентные колебания первичной аминогруппы ($3428, 3259 \text{ см}^{-1}$), цианогруппы (2186 см^{-1}), сопряженной эфирной связи C-O-C (1267 см^{-1}).

В спектре ЯМР¹H (DMSO-d₆) присутствуют сигналы винильного протона (с., 6.98δ , м.д), сигналы протонов NH₂ (7.19δ , м.д), и H⁴ (с., 4.46δ , м.д).

В спектре ЯМР¹³C (DMSO-d₆) присутствуют сигналы, характерные для атомов углерода метильной группы ($29.34, 21.96, \delta$, м.д).

Спектр HSQC (DMSO-d₆) присутствуют корреляции метиновых протонов пиранового цикла с sp³-гибридным атомом углерода и метильной группы ($4.33/48.50, 4.38/48.54 \delta$, м.д. / м.д (CH₃/CH₃)), $6.98/116.14 (\delta, \text{ м.д. / м.д.} =\text{C-H/} =\text{C-H})$.

1.4 Прогноз возможной биологической активности полученных соединений. Антимикробная активность полученных соединений.

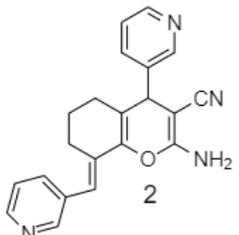
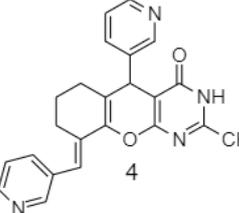
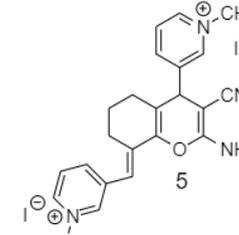
На основании компьютерного скрининга (PASS), нами была оценена вероятность проявления биологической активности полученных соединений (таблица 1.4.1).

2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4H-хромено-3-карбонитрил (2) может обладать с ингибирующим действием на цистиниламинопептидазы (79%), являться стимулятором каталазы (72%), агонистом апоптозы (68%) и антагонистом β-эстрогена (64%) (лечение рака молочной железы) (таблица 1.4.1)..

2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3H-хромено[2,3-d]пиримидин-4-он (4) может проявлять противоопухолевую активность (50%) и обладает свойством антагониста никотиновых рецепторов (60%), что может использоваться для лечения гипертонии (таблица 1.4.1).

2-амино-4-(1-метил-1-пиридин-3-ил)-8-[(1-метил-1-пиридин-3-ил)-метилендйодид]-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромено-3-карбонитрила (5) может оказывать ингибирующее действие на ферменты цистиниламинопептидазы (77%) (таблица 1.4.1).

Таблица 2.4.1 – Результаты виртуального скрининга биологической активности синтезированных веществ (программа PASS).

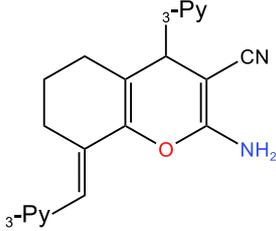
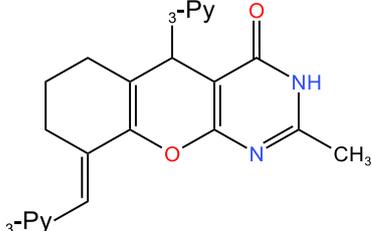
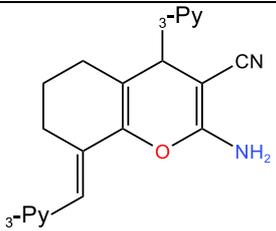
Вещество	Активность	Вероятность	
		Pa, %	Pi, %
 2	Ингибитор цистиниламинопептидазы	79,5	0,2
	Стимулятор каталазы	71,9	0,1
	Агонист апоптоза	68,0	1,7
	Са-активируемый активатор калиевых каналов с большой проводимостью	54,0	0,3
	Антагонист β-рецепторов эстрогена	64,0	0,4
 4	Антагонист никотиновых α-6 β-3 β-4 α-5 рецепторов	60,0	7,0
	Антагонист никотиновых α-2 β-2 рецепторов	55,0	6,1
	Агонисты никотиновых альфа4бета4 рецепторов	52,5	6,8
	Противоопухолевый	50,2	0,5
	Антагонист бета-рецепторов эстрогена	39,6	0,5
 5	Ингибитор цистиниламинопептидазы	77,3	0,2
	Ингибитор захвата нейротрансмиттеров	51,5	5,5
	Стимулятор каталазы	39,5	0,3
	Антагонист бета-рецепторов эстрогена	28,7	0,9
	Антагонист эстрогена	28,1	1,0

Работа была проведена на базе ИБФРМ РАН. Для изучения антибактериальной 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 [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодида, обладают антимикробной активностью по отношению к *Staphylococcus aureus*, однако 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.

Рост бактерий в каждой лунке оценивали по разнице значений оптической плотности через некоторое время. Значение EC_{50} определяли по графику зависимости роста бактерии от концентрации тестируемого вещества в среде (таблица 1.4.1).

Таблица 1.4.1 – Значения EC_{50} (жидкая среда LB) бактерий *Staphylococcus aureus* исследуемых соединений

№ соединения	Исследуемые соединения	EC_{50} , мкг/мл (<i>Staphylococcus aureus</i>)
2		36
4		110
5	 + CH3I	—
Фурацилин		5

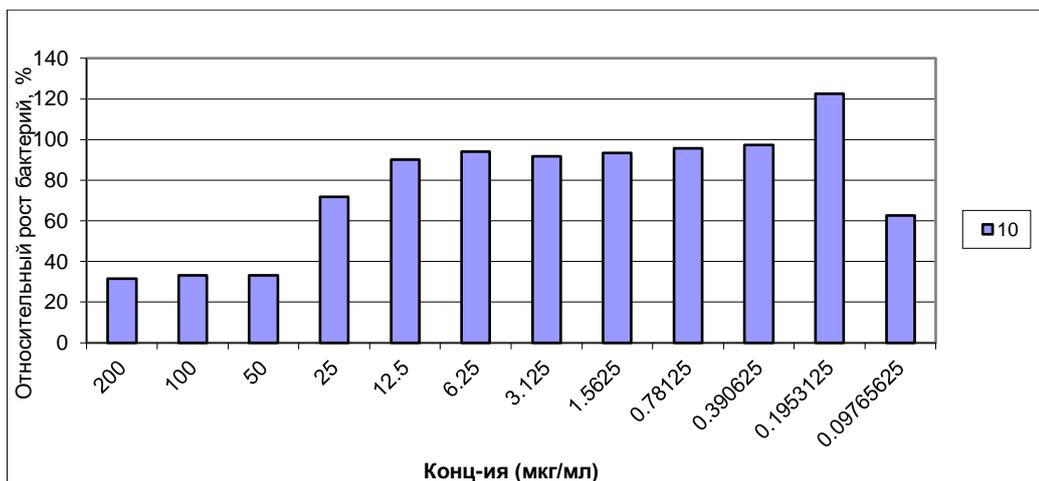


Рис. 2 – Изменение относительного роста бактерии *S.aureus* при исследовании препарата № 1

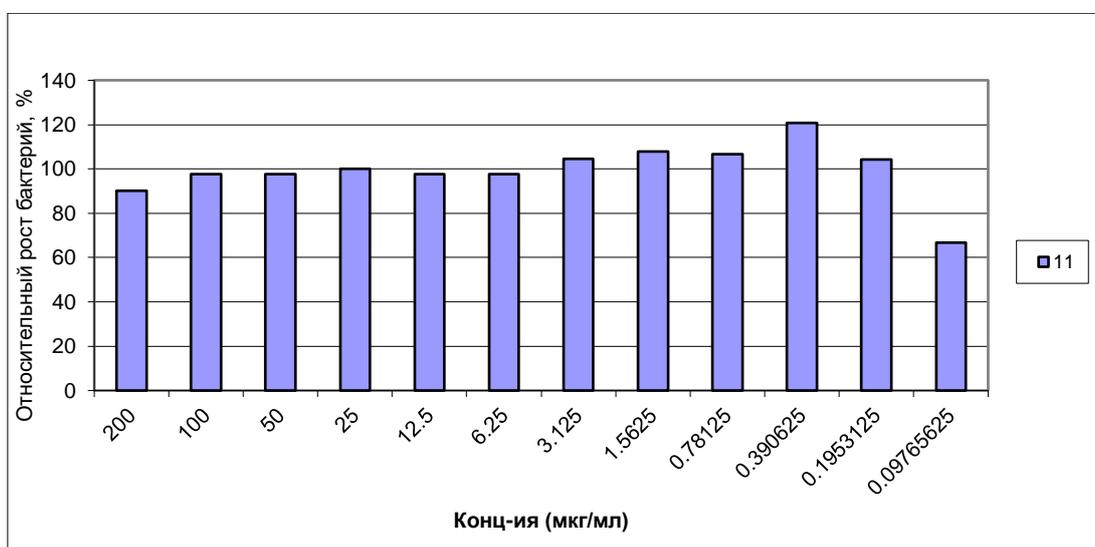


Рис. 3 – Изменение относительного роста бактерии *S.aureus* при исследовании препарата № 2

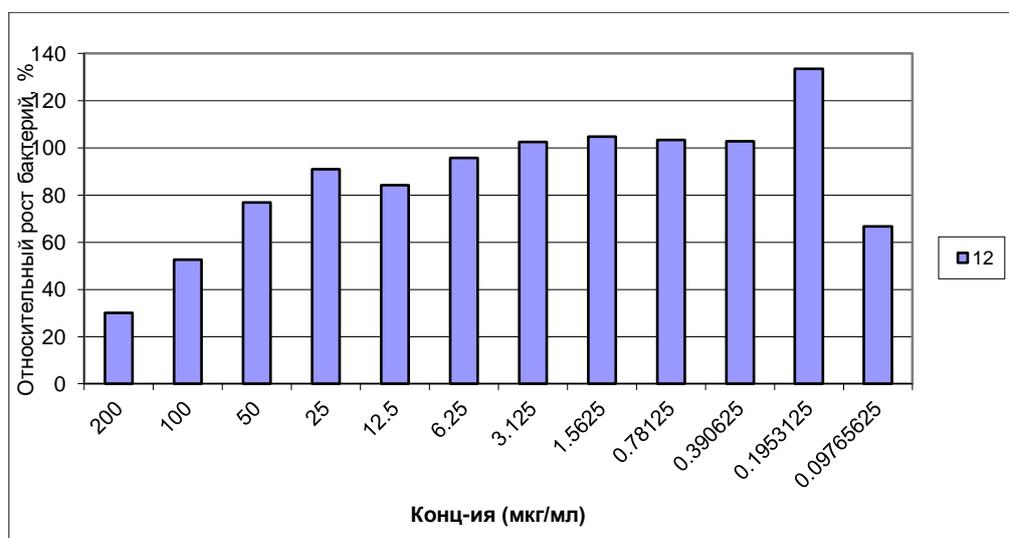


Рис. 4 – Изменение относительного роста бактерии *S.aureus* при исследовании препарата №3

По результатам проведенных исследований можно утверждать, что антимикробная активность культуры *S. aureus* понижается в ряду: № 2 > № 4 > № 5. Аннелирование пиримидинового цикла к 2-аминохромен-3-карбонитрилу № 2 привело к снижению эффективности примерно в 3 раза. [3-((2-Амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодида (5), по сравнению с исходным соединением, проявил наименьшую антимикробную активность (> 200 мкг/мл).

Выводы

1. Осуществлен синтез 2-аминохромен-3-карбонитрилов (1, 2) в условиях термической и ультразвуковой активации, трехкомпонентной конденсации. Установлена предпочтительность ультразвуковой активации (сокращение времени. Понижение температуры реакции при повышении или сохранении выходов продуктов).

2. Впервые осуществлен синтез хроменпиримидинонов (3, 4) посредством аннелирования к 2-аминохромен-3-карбонитрилу (1, 2) под действием уксусного ангидрида при использовании в качестве катализатора оксида графена, что позволило исключить ранее использованную агрессивную серную кислоту.

3. Впервые осуществлен синтез [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодида (5). Метилирование 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромено-3-карбонитрила (2) с йодистым метилом.

4. Строение и состав полученных новых соединений подтвержден с помощью элементного анализа, ЯМР-, НМВС-, HSQC- и ИК-спектроскопии.

5. С помощью программы PASS осуществлен виртуальный скрининг биологической активности полученных новых соединений.

6. Антимикробная активность культуры *S. aureus* понижается в ряду: 2-амино-4-(пиридин-3-ил)-8-(пиридин-3-илметилен)-5,6,7,8-тетрагидро-4Н-хромено-3-карбонитрил (2) > 2-метил-5-(пиридин-3-ил)-9-[(пиридин-3-ил)метилен]-3Н-хромено[2,3-d]пиримидин-4-он (4) > [3-((2-амино-3-циано-4-(1-метилпиридин-1-иум-3-ил)-6,7-дигидро-4Н-хромен-8(5Н)-илиден)метил)-1-метилпиридин-1-иум]йодид (5). Продукт метилирования, по сравнению с исходным соединением, проявил наименьшую антимикробную активность (> 200 мкг/мл).