

МПК C07D 285/16 (2006.01)

C07D 249/08 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01)

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

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 А/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-аминоадамantan). 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: адамантансвязывающий сайт вирусного белка М2 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

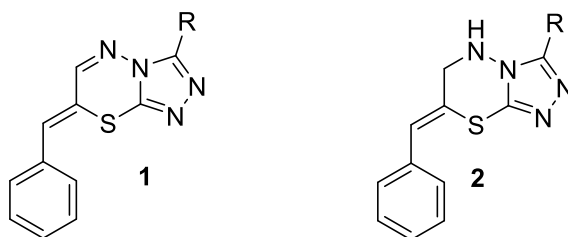
гетероциклов - азолов. Многие из соединений данного строения показали высокую противовирусную активность, метаболическую стабильность и сравнительно низкую токсичность [3-7]. Одним из самых эффективных противовирусных препаратов, не содержащих адамантильный фрагмент, является триазамирин [8]. В структуру данного препарата входят 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 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазинов – аналогов соединения **1** – заключается в алкилировании меркаптогруппы 4-амино-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиола α -галогенкетонами с последующей циклизацией полученного аддукта. В статье [9] авторы проводили алкилирование 3-фенил-4-амино-4*H*-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-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазинов из 4-амино-4*H*-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-арилденамино-3-меркапто-1,2,4-триазолов с этилбромацетатом и бромацетофеноном в диметилформамиде с двукратным избытком триэтиламина с получением 6-арил-6,7-дигидро-5*H*-[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-5*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазин-7-карбокسانيлидов.

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-4*H*-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 вышеуказанный недостаток прототипа [10].

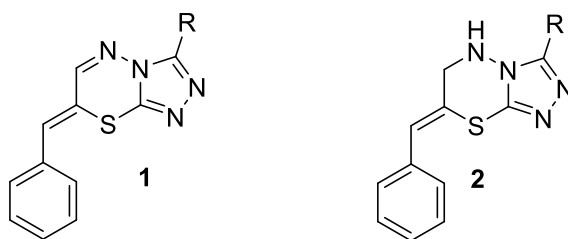
Задачей заявленного изобретения является синтез (*Z*)-7-бензилиден-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазинов **1**, (*Z*)-7-бензилиден-3-замещенных-6,7-дигидро-5*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазинов **2**, проявляющих выраженную активность против вируса гриппа А, имеющих общую формулу:



R: H, Me, Et, n-Pr

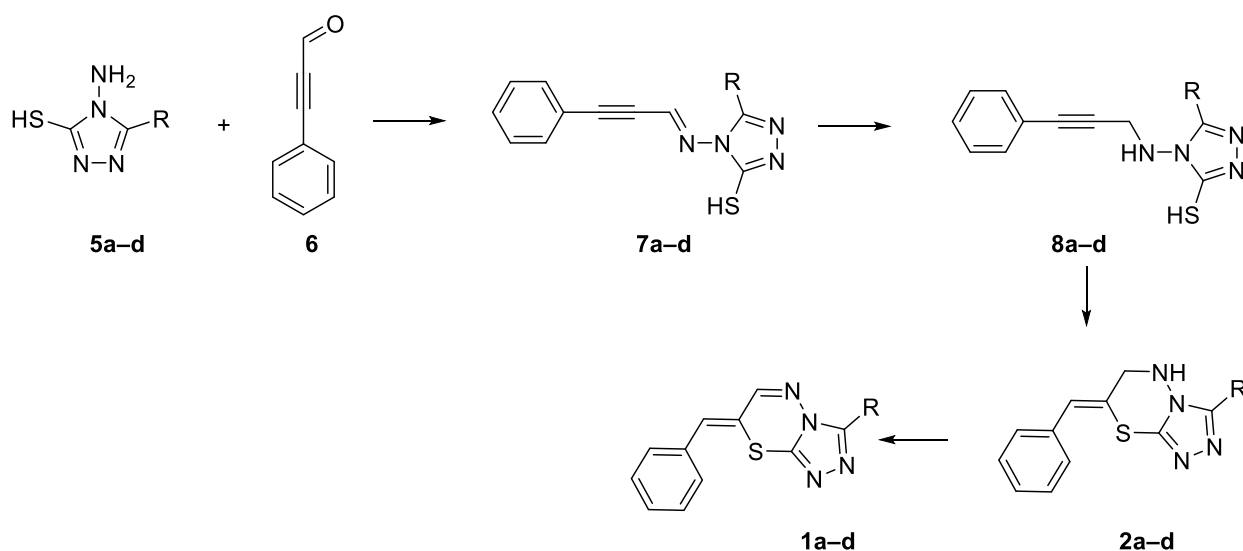
, а также разработка способа их синтеза из 3-фенил-2-пропиналя и 5-замещенных 4-амино-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиолов.

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



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-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиола **5a-c** в 20 мл изопропанола. Добавляют кристаллик *p*-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 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1489 (C_6H_5), 2201 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 2349 (SH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., *J*, Гц: 7.42 - 7.64 (3H, м, Ph), 7.68 д (2H, д, Ph, $^3J_{\text{HH}}$ 6.97), 8.91 (1H, с, $\text{C}-\underline{\text{CH}}=\text{N}$), 9.26 (1H, с, $\text{N}-\underline{\text{CH}}=\text{N}$, триазол), 14.04 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 83.97 (1C, $\underline{\text{C}}\equiv\text{C}-\text{Ph}$), 99.69 (1C, $\underline{\text{C}}-\text{Ph}$), 120.36-132.70 (6C, Ph), 138.53 (1C, $\text{N}=\underline{\text{CH}}-\text{C}$), 144.58 (1C, $\text{N}=\underline{\text{CH}}-\text{N}$), 163.48 (1C, $\underline{\text{C}}-\text{S}$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 251.0361 [$M + \text{Na}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_4\text{SNa}$: 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 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1489 (C_6H_5), 2204 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 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, $^3J_{\text{HH}}$ 6.97), 10.05 (1H, с, $\text{N}=\underline{\text{CH}}-\text{C}$), 13.86 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 11.26 (1C, CH_3), 83.94 (1C, $\underline{\text{C}}\equiv\text{C}-\text{Ph}$), 100.54 (1C, $\underline{\text{C}}-\text{Ph}$), 120.37-132.71 (6C, Ph), 146.44 (1C, $\text{N}=\underline{\text{CH}}-\text{C}$), 149.10 (1C, $\text{N}=\underline{\text{C}}-\text{N}$), 161.69 (1C, $\underline{\text{C}}-\text{S}$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 243.0699 [$M + \text{H}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{S}$: 243.0699).

5-этил-4-((3-фенилпроп-2-ин-1-илиден)амино)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол 7c. Выход 50 %. Светло-желтый аморфный порошок, т. пл. 115-116 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1490 (C_6H_5), 2201 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 2359 (SH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., *J*, Гц: 1.21 (3H, т, CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.46), 2.71 (2H, кв, CH_2 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.46), 7.37 - 7.65 (3H, м, Ph), 7.69 (2H, д, Ph, $^3J_{\text{HH}}$ 6.97), 10.01 (1H, с, $\text{N}=\underline{\text{CH}}-\text{C}$), 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, $\underline{\text{C}}\equiv\text{C}-\text{Ph}$), 100.57 (1C, $\underline{\text{C}}-\text{Ph}$), 120.36-132.73 (6C, Ph), 146.90 (1C, $\text{N}=\underline{\text{CH}}-\text{C}$),

152.87 (1C, C₂H₅-C-N), 161.82 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 257.0856 [*M* + H]⁺ (вычислено для C₁₃H₁₃N₄S: 257.0855).

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

В химическом стакане емкостью 100 мл при нагревании растворяют 0.76 ммоль 4-амино-5-пропил-4*H*-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 NaBH₄ без выделения.

Пример 3. Синтез 5-замещенных 4-((3-фенилпроп-2-ин-1-ил)амино)-4*H*-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)-4*H*-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)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиол **8a**. Выход 92 %. Бесцветный аморфный порошок, т. пл. 156-157 °С. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1488 (C₆H₅), 2334 (C≡C), 2360 (SH), 3235 (NH). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д., *J*, Гц: 4.21 (2H, с, CH₂), 6.82 (1H, уш.с, NH-CH₂), 7.26 - 7.51 (5H, м, Ph), 8.54 (1H, с, N-CH=N), 13.77 (1H, уш.с, SH). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м.д.: 39.64 (1C, CH₂-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 C₁₁H₁₁N₄S: 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 °С. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1491 (C_6H_5), 2339 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 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, $\text{CH}_2\text{-N}$), 84.50 (1C, $\text{C}\equiv\text{C-Ph}$), 85.87 (1C, $\text{C}\equiv\text{C-Ph}$), 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 [$M+\text{Na}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{SNa}$: 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 °С. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1489 (C_6H_5), 2337 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 2360 (SH), 3244 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., J , Гц: 1.19 (3H, т, CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.53), 2.78 (2H, кв, CH_2CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.53), 4.30 (2H, д, NH-CH_2 , $^3J_{\text{HH}}$ 3.21), 6.62 (1H, т, NH, $^3J_{\text{HH}}$ 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, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 38.79 (1C, $\text{CH}_2\text{-N}$), 84.51 (1C, $\text{C}\equiv\text{C-Ph}$), 85.85 (1C, $\text{C}\equiv\text{C-Ph}$), 122.33-131.67 (6C, Ph), 154.86 (1C, $\text{C-C}_2\text{H}_5$), 165.99 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 259.1014 [$M + \text{H}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{S}$: 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 °С. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1490 (C_6H_5), 2336 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 2360 (SH), 3247 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., J , Гц: 0.89 (3H, т, CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.303), 1.73-1.57 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.73 (2H, т, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $^3J_{\text{HH}}$ 7.303), 4.30 (2H, уш.с, N-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, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 26.59 (1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 38.81 (1C, N-CH_2), 84.51 (1C, $\text{C}\equiv\text{C-Ph}$), 85.90 (1C, $\text{C}\equiv\text{C-Ph}$), 122.35-131.68 (6C, Ph), 153.70 (1C, $\text{C-C}_3\text{H}_7$), 165.90 (1C, C-S). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 273.1173 [$M + H$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{S}$: 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 одnogорлой 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 КОН. 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 , cm^{-1} : 1489 (C_6H_5), 3286 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., J , Гц: 4.02-4.17 (2H, д, CH_2 , $^3J_{\text{HH}}$ 6.85), 6.91 с (1H, =CH), 7.06 (1H, т, NH, $^3J_{\text{HH}}$ 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, $\text{CH}_2\text{-N}$), 124.66 (1C, CH=C), 126.48 (1C, CH=C), 128.31-129.30 (5C, Ph), 135.22 (1C, Ph), 141.27 (1C, S-C=N), 143.96 (1C, N-CH=N). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 231.0709 [$M + H$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{S}$: 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 °C. ИК спектр, ν , cm^{-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,

c, =CH), 7.47–7.25 (5H, м, Ph). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 9.67 (1C, CH_3), 53.35 (1C, $\text{CH}_2\text{-N}$), 124.35 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 126.15 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 128.24–129.28 (5C, Ph), 135.31 (1C, Ph), 140.78 (1C, $\text{S}-\text{C}=\text{N}$), 151.12 (1C, $\text{C}-\text{C}_2\text{H}_5$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 245.0859 [$M + \text{H}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{S}$: 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 °C. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1490 (C_6H_5), 3149 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., *J*, Гц: 1.24 (3H, т, CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.53), 2.69 (2H, кв, CH_2 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.53), 4.07 (2H, д, $\text{CH}_2\text{-NH}$, $^3J_{\text{HH}}$ 6.78), 6.83 (1H, т, NH, $^3J_{\text{HH}}$ 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_3CH_2), 53.35 (1C, $\text{CH}_2\text{-N}$), 124.49 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 126.11 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 128.23–129.28 (5C, Ph), 135.32 (1C, Ph), 140.93 (1C, $\text{S}-\text{C}=\text{N}$), 155.40 (1C, $\text{C}-\text{C}_2\text{H}_5$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 259.1005 [$M + \text{H}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{S}$: 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 °C. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1489 (C_6H_5), 3166 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., *J*, Гц: 0.93 (3H, т, CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.41), 1.66 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $^3J_{\text{HH}}$ 7.41), 2.64 (2H, т, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$, $^3J_{\text{HH}}$ 7.41), 4.07 (2H, д, $\text{CH}_2\text{-N}$, $^3J_{\text{HH}}$ 6.725), 6.79–6.93 м (2H, =CH, NH), 7.22–7.56 м (5H, Ph). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.04 (1C, CH_3), 20.62 (1C, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 25.67 (1C, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 53.42 (1C, $\text{CH}_2\text{-N}$), 124.53 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 126.06 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 128.23–129.28 (5C, Ph), 135.32 (1C, Ph), 140.87 (1C, $\text{S}-\text{C}=\text{N}$), 154.26 (1C, $\text{C}-\text{C}_3\text{H}_7$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 273.1164 [$M + \text{H}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{S}$: 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-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]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 ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., J , Гц: 7.37-7.67 (6H, м, бензилиден), 8.13 (1H, с, $\text{CH}=\text{N}$), 9.10 (1H, с, $\text{N}=\text{CH}-\text{N}$). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 116.90 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 129.67-130.38 (5C, Ph), 133.97 (1C, Ph), 134.66 (1C, $\text{S}-\text{C}=\text{N}$), 136.78 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 143.64 (1C, $\text{N}-\text{CH}=\text{N}$), 149.03 (1C, $\text{CH}=\text{N}$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 251.0360 [$M + \text{Na}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_4\text{SNa}$: 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 °С. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1489 (C_6H_5), 1582 ($\text{C}=\text{N}$). 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, $\text{CH}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 9.82 (1C, CH_3), 116.36 (1C, $\text{CH}=\text{C}-\text{S}$), 129.65-130.31 (5C, Ph), 134.07 (1C, Ph), 134.32 (1C, $\text{S}-\text{C}=\text{N}$), 136.38 (1C, $\text{CH}=\text{C}$), 148.16 (1C, $\text{CH}=\text{N}$), 150.90 (1C, $\text{C}-\text{CH}_3$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 265.0516 [$M + \text{Na}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{SNa}$: 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 °С. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1490 (C_6H_5), 1581 ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., J , Гц: 1.27 (3H, т, CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.40), 2.84 (2H, кв, CH_2 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.34), 7.42 - 7.72 (6H, м, бензилиден), 8.11 (1H, с, $\text{CH}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 11.59 (1C, CH_3), 17.62 (1C, CH_2), 116.40 (1C, $\text{CH}=\text{C}-\text{S}$), 129.65-130.30 (5C, Ph), 134.06 (1C, Ph), 134.45 (1C, $\text{S}-\text{C}=\text{N}$), 136.39

(1C, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$), 148.11 (1C, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{N}$), 154.86 (1C, $\underline{\text{C}}-\text{CH}_3$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 257.0855 [$M + \text{H}$]⁺ (вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{S}$: 257.0855).

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

Id. Выход 85 %. Бесцветные кристаллы, т. пл. 163 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1491 (C_6H_5), 1581 ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д., J , Гц: 0.96 (3H, т, CH_3 , $^3J_{\text{HH}}$ 7.434), 1.72 (2H, м, $\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$, $^3J_{\text{HH}}$ 7.434), 2.80 (2H, т, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $^3J_{\text{HH}}$ 7.434), 7.41 - 7.66 (6H, м, бензилиден), 8.11 (1H, с, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 13.98 (1C, CH_3), 20.43 (1C, $\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$), 25.69 (1C, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 116.39 (1C, $\text{CH}=\underline{\text{C}}-\text{S}$), 129.64-130.30 (5C, Ph), 134.07 (1C, Ph), 134.37 (1C, $\text{S}-\underline{\text{C}}=\text{N}$), 136.40 (1C, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$), 148.14 (1C, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{N}$), 153.73 (1C, $\underline{\text{C}}-\text{C}_3\text{H}_7$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 293.0829 [$M + \text{Na}$]⁺ (вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{SNa}$: 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 °С. Анализ выживаемости клеток проводили при помощи метилтетразолиевого теста (МТТ): 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 TCID₅₀ 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 (IC₅₀), т.е. концентрацию, которая на 50% снижала степень вирусной деструкции клеток, и индекс селективности – отношение CC₅₀ к IC₅₀. Активными считали соединения, у которых SI был 10 и выше. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Цитотоксичность и противовирусная активность *in vitro* против вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 соединений **1a–d**, **2a–d**, где CC₅₀ – цитотоксическая концентрация; концентрация, вызывающая гибель 50 % клеток; IC₅₀ – эффективная концентрация; концентрация, приводящая к 50% ингибированию репликации вируса; SI – индекс селективности; отношение 50%-цитотоксической концентрации соединения и 50%-ингибирующей активности вируса гриппа (CC₅₀/IC₅₀).

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-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тиадиазинов **1** и (Z)-7-бензилиден-3-замещенных-6,7-дигидро-5Н-[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 с 87/40, Dec. 3, 1974.
2. US Pat. 4551552 C07 с 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 с.
 11. Ibrahim, Y.A. Stereospecific synthesis of 6,7-dihydro-5*H*-1,2,4-триазоло[3,4-*b*] [1,3,4]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-aryl-3-метил-6,7-dihydro-5*H*-[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.