

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого
Президента России Б.Н. Ельцина»

На правах рукописи



Дрокин Роман Александрович

**4-ГИДРОКСИ-1,4-ДИГИДРОАЗОЛО[5,1-С][1,2,4]ТРИАЗИНЫ: СИНТЕЗ И
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата

химических наук

Екатеринбург – 2022

Работа выполнена на кафедре органической и биомолекулярной химии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН,
РУСИНОВ Владимир Леонидович

Официальные оппоненты: **МАМЕДОВ Вахид Абдулла оглы**,
доктор химических наук, профессор, Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань, заведующий лабораторией химии гетероциклических соединений;

Старосотников Алексей Михайлович,
доктор химических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва, ведущий научный сотрудник лаборатории ароматических азотсодержащих соединений;

Харитонов Юрий Викторович,
доктор химических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, ведущий научный сотрудник отдела медицинской химии

Защита диссертации состоится «21» ноября 2022 г. в 14:00 ч на заседании диссертационного совета УрФУ 1.4.03.09 по адресу: 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, ауд. И-420 (зал Ученого совета)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»: <https://dissovet2.urfu.ru/mod/data/view.php?id=12&rid=3851>

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Поспелова Татьяна Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. Направленный поиск органических соединений, обладающих полезными биологическими свойствами, с целью создания и внедрения новых лекарственных препаратов является одной из важнейших задач, стоящих перед современной органической химией. Наиболее интересным кластером соединений, проявляющим биологическую активность, являются азагетероциклические соединения, к которым относятся как природные алкалоиды, некоторые аминокислоты, нуклеотиды и др., так и синтетические соединения, в основе которых лежит азагетероцикл. К перспективным синтетическим гетероциклическим соединениям можно отнести азоло[5,1-с][1,2,4]триазины – соединения, представляющие огромный интерес из-за их структурного сходства с известными противовирусными препаратами, применяемыми в медицинской практике (триазавирин, ацикловир, ганцикловир, абакавир, диданозин, энтекавир и др.), пуриновыми антиметаболитами (меркаптопурин, флударабин, неларабин, пеметрексед) и другими соединениями, входящими в перечень важнейших лекарственных препаратов. Таким образом, азолотриазины являются перспективным базисом для формирования на их основе соединений с полезной биологической активностью.

Синтез азолотриазинов многоступенчат и зачастую сопровождается низкой селективностью, что ведет к конечному удорожанию продукта. Дизайн недоступных ранее азолотриазинов, разработка селективных и эффективных методов синтеза является важной, самостоятельной задачей, так как в последние годы значительно увеличилось число публикаций по их синтезу, связанных с поиском биологически активных соединений в отношении известных и новых инфекционных возбудителей.

Целью диссертационной работы является разработка доступных методов синтеза новых азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов, изучение возможностей их структурной функционализации, а также исследование биологической активности полученных соединений.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

- Изучить литературные данные по методам синтеза и биологической активности соединений азолотриазиновой природы;
- Провести виртуальный скрининг *in silico* предполагаемых азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов;
- Разработать препаративно доступные методы синтеза ключевых полупродуктов (пуш-пульных енаминов и нитрокарбонильных соединений) для синтеза целевых соединений и оценить возможности их применения в препаративном синтезе;
- Разработать универсальный метод синтеза азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с использованием диазоазолов и полученных СН-активных двухуглеродных синтонов
- Исследовать возможности модификации полученных азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов;
- Провести комплекс физико-химических исследований по доказательству структуры синтезированных соединений;
- Изучить биологические свойства целевых азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и соединений, полученных на их основе.

Научная новизна и теоретическая значимость работы:

- На основании литературного обзора предложены структуры азоло[5,1-с][1,2,4]триазиновой природы и проведен их виртуальный скрининг;
- Предложен новый подход к синтезу стабильных форм нитрокарбонильных соединений и показана возможность их применения в препаративном синтезе;
- Разработан новый метод синтеза 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с использованием калиевой соли нитроуксусного альдегида, показана

возможность модификации триазинового фрагмента, получены экспериментальные данные о предполагаемом механизме протекания реакции;

● Предложен метод синтеза новых 3-нитро-4-гидрокси-4-алкил-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с использованием солей α -нитрокетонов;

● Разработан новый метод синтеза 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов, 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов, 3-этоксикарбонил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с использованием пуш-пульных енаминов, предположен механизм протекания реакции азосочетания;

● Исследованы биологические свойства полученных азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и их производных.

Практическая значимость работы

Разработаны простые и доступные методы синтеза стабильных форм нитрокарбонильных соединений, показана возможность применения данных соединений в препаративном синтезе. Синтезированы 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины, 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины, 3-этоксикарбонил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины, 3-нитро-4-алкил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины. Выявлено, что новые синтезированные дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины обладают противовирусной, антигликирующей и антигликоксидационной активностями. Показана возможность синтезированных соединений вступать во взаимодействие с π -избыточными ароматическими соединениями с образованием стабильных σ^H -аддуктов. Для полученных σ^H -аддуктов 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с полифенолами определена антиоксидантная емкость (АОЕ), что позволяет предположить двойную активность – противовирусную и антиоксидантную. Все полученные дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины являются близкими аналогами лекарственному препарату «Триазавирин» (натриевая соль 3-нитро-7-метилтио-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-4-она, дигидрат), который разрешён к медицинскому применению и используется для лечения гриппа, ОРВИ, клещевого энцефалита, а также применяется для профилактики SARS-CoV-2.

Методология и методы диссертационного исследования

Работа выполнялась последовательно: первоначально был выполнен анализ литературных данных по теме исследования, выявлены перспективные объекты, в отношении которых было целесообразно провести виртуальные расчеты противовирусной активности. На основе полученных материалов выполнен целевой органический синтез с использованием современных подходов и методов. Установление структуры соединений осуществлялось с помощью комплекса физико-химических методов: данных спектроскопии ЯМР 1H , ^{13}C , ^{11}B , ^{19}F , двумерных корреляций, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, рентгеноструктурного и элементного анализов.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Методы получения стабильных форм нитрокарбонильных соединений с помощью гидролиза пуш-пульных енаминов.

2. Синтез новых 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с использованием нитрокарбонильных соединений и пуш-пульных енаминов.

3. Методы модификации триазинового фрагмента в полученных 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазилах.

4. Данные по структуре и физико-химическим свойствам синтезированных гетероциклов.

5. Изучение биологических свойств полученных азогетероциклов.

6. Определение антиоксидантной емкости (АОЕ) σ^H -аддуктов 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с полифенолами.

Личный вклад соискателя. Диссертант принимал участие в формулировании цели и задач исследовательской работы, в анализе литературных данных, планировании и

проведении экспериментов, а также в интерпретации полученных результатов, написании и оформлении публикаций по результатам исследования, в выступлениях на конференциях.

Степень достоверности результатов обеспечена использованием современных физико-химических методов исследования, применением сертифицированного оборудования в центрах коллективного пользования УрФУ и Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, а также воспроизводимостью экспериментальных результатов.

Апробация работы. Результаты проведенных исследований доложены в постерных и устных докладах на Всероссийских и международных конференциях: I Международная конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (Екатеринбург, 2017), 3rd Russian Conference on Medicinal Chemistry (Казань, 2017), V Всероссийская конференция с международным участием по органической химии (Владикавказ, 2018), "Актуальные проблемы органической химии" (Новосибирск-Шерегеш, 2018), 4-я российская конференция по медицинской химии с международным участием (Екатеринбург 2019), Марковниковский конгресс по органической химии MC150 (Москва-Казань, 2019), «Химия нитросоединений и родственных азот-кислородных систем (АКС-2019)»(Москва 2019), Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии (Екатеринбург, 2020), Первой школы по медицинской химии MedChemSchool-2021 (Новосибирск, 2021)

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 7 статей в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным Советом УрФУ и входящих в международные базы Scopus и Web of Science, а также 8 тезисов и докладов на Всероссийских и международных конференциях, 2 патента РФ на изобретения.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 144 страницах, состоит из оглавления, введения, трех глав: литературный обзор (глава 1), обсуждение результатов (глава 2), экспериментальная часть (глава 3), заключение, список сокращений и условных обозначений. Диссертация содержит 118 схем, 10 таблиц, 18 рисунков. Библиографический список цитируемой литературы содержит 177 наименований.

Благодарность. Автор выражает глубокую и искреннюю благодарность руководителю работы чл.-корр. РАН профессору Русинову В.Л., профессору Уломскому Е.Н. за всестороннюю помощь в работе, к.х.н. Котовской С.В. за курирование биологических исследований, доценту к.х.н. Ельцову О.Н. (Уральский Федеральный Университет, г. Екатеринбург) за проведение исследований методом спектроскопии ЯМР, к.х.н. Слепухину П.А. (Институт органического синтеза УрО РАН, г. Екатеринбург) за проведение рентгеноструктурных исследований, к.х.н. Щур И.В. (Институт органического синтеза УрО РАН, г. Екатеринбург) за проведение исследований по элементному анализу, научной группе под руководством д.б.н. Зарубаева В.В. (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) за исследования биологической активности соединений в отношении вируса Коксаки В3 и вируса гриппа, научной группе под руководством академика, д.м.н. Спасова А.А. (Государственный медицинский университет, г. Волгоград) за исследования антигликирующей и антигликоксидационной активности соединений в отношении противодиабетических мишеней, д.х.н., Буторину И.И. за проведение квантово-химических расчетов, всем сотрудникам кафедры органической и биомолекулярной химии за поддержку.

Результаты получены в рамках выполнения Государственных заданий Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, № 4.6351.2017/8.9 (Н687.42Б006/17), № FEUZ-2020-0058 (Н687.42Б.223/20) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 19-33-90086 «Аспиранты»).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты данной диссертационной работы изложены в трех основных разделах. Во **введении** показана актуальность и практическая значимость работы, обозначена цель, сформулированы задачи исследования. В обзоре литературы (**Глава 1**) изучены методы синтеза и применение азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и их аналогов. В обсуждении результатов (**Глава 2**) представлены собственные исследования. В экспериментальной части (**Глава 3**) представлены изученные объекты, оборудование, реактивы и материалы, методы и методики проведения синтеза.

Глава 2. Обсуждение результатов

2.1. Виртуальный скрининг *in silico* 1,4-дигидразоло[5,1-с][1,2,4]триазинов в белки энтеровирусов, ретровирусов, вирусов гриппа, вируса SARS-CoV-2*

В настоящее время в процессе создания лекарственных препаратов используются методы компьютерного моделирования для предварительной оценки синтезируемых соединений с точки зрения их эффективности, направленности действия и безопасности.

В рамках реализации данного подхода методом молекулярного моделирования было оценено сродство соединений ряда 1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов к их потенциальным вирусным биологическим мишеням – белкам, регулирующим ключевые процессы в жизненном цикле вирусов:

-гриппа: модельный организм – вирус штамма A/H1N1/California/2009, мишень – РА эндонуклеаза РНК-зависимой РНК-полимеразы;

-энтеровирусов: модельный организм – вирус Коксаки В3, мишень – РНК-полимераза вируса;

-ретровирусов: модельный организм – ВИЧ-1 дикого типа, мишень – обратная транскриптаза ВИЧ-1;

Молекулярный докинг проводится в программном обеспечении Small Molecule Drug Discovery Suite (SMDDDS) компании Schrodinger с использованием модуля Glide.

По результатам молекулярного моделирования противовирусной активности соединений 1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинового ряда были обнаружены перспективные противовирусные агенты, потенциально активные в отношении вирусов Коксаки В3 и гриппа H1N1.

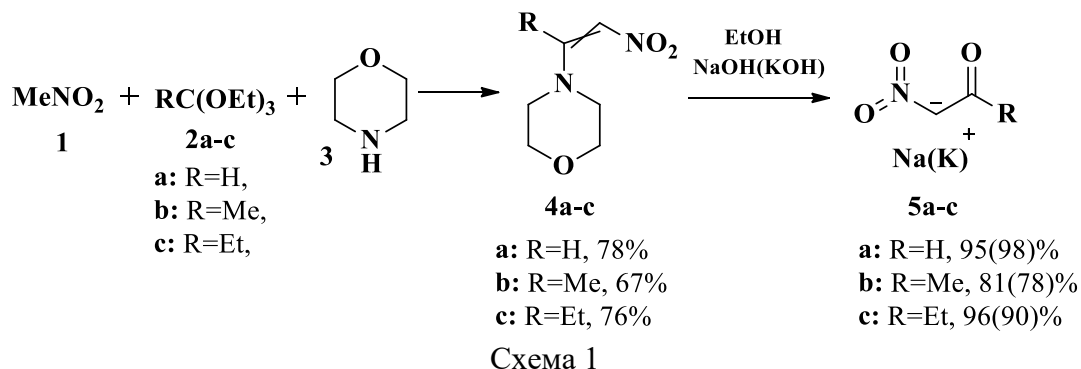
2.2. Разработка методов синтеза стабильных форм нитрокарбонильных соединений с использованием пуш-пульных енаминов, их практическое применение в органическом синтезе

Анализ литературных данных показал, что перспективными строительными блоками для синтеза 1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов являются СН-активные двухуглеродные синтоны, которые используются в реакциях азосочетания с дазолами по типу [4+2]. В качестве таких соединений выбраны нитрокарбонильные соединения и пуш-пульные енамины, содержащие акцепторные заместители. В роли нитрокарбонильных соединений выбраны нитроуксусный альдегид и α -нитрокетоны – высокорекреационные соединения с широким синтетическим потенциалом. Данные соединения содержат два реакционных центра: нуклеофильный и электрофильный, эта структурная особенность обуславливает их малую стабильность, трудность в получении и хранении. С этой точки зрения использование пуш-пульных систем в качестве скрытых форм нитрокарбонильных соединений является перспективным направлением. В работе в качестве предшественников нитрокарбонильных соединений были использованы легкодоступные 1-нитро-2-морфолиноэтилен **4a**, 1-нитро-2-морфолинопропилен-1 **4b** и 1-нитро-2-морфолинобутилен-1 **4c**.

Пуш-пульные енамины **4a-c** были получены трехкомпонентной конденсацией коммерчески доступных нитрометана **1**, морфолина **3** и триэтилортоэфиров **2a-c**, выходы составляли 78%, 67% и 76%, соответственно (схема 1). Использование морфолина в конденсации обусловлено более высокими выходами и экономической выгодой.

*За проведение виртуальных расчётов автор выражает благодарность Буторину Илье Игоревичу

Перемешивание 1-нитро-2-морфолиноэтилена **4a**, 1-нитро-2-морфолинопропилена-1 **4b** и 1-нитро-2-морфолинобутилена-1 **4c** в спиртовом растворе NaOH (KOH) приводит к образованию соответствующих солей нитроуксусного альдегида **5a**, нитроацетона **5b** и 1-нитробутан-2-она **5c** с выходами, близкими к количественным (Схема 1). Соединения были выделены и охарактеризованы методами ¹H ЯМР, ¹³C ЯМР, ИК-спектроскопии. При проведении реакции в водном растворе щелочи также происходит гидролиз нитроенаминов, однако, соли нитрокарбонильных соединений возможно использовать в дальнейших реакциях *in situ*.



1-Нитро-2-морфолинобутилен-1 **4c** был синтезирован впервые, его структура была подтверждена методами ¹H ЯМР, ¹³C ЯМР, ИК-спектроскопии, данными элементного и рентгеноструктурного анализа (Рисунок 1).

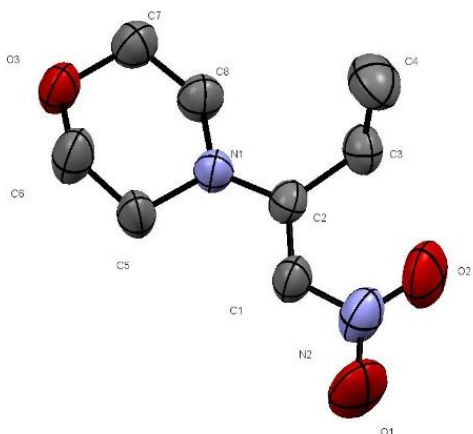


Рисунок 1. Молекулярная структура **4c**, атомы представлены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью (CCDC 1948033).

Для демонстрации синтетического потенциала полученные представленным методом соли нитроуксусного альдегида **5a** и α-нитрокетонов **5b,c** использовались в реакции тройной конденсации с ароматическими альдегидами **6a,b** и мочевиной **7**, которая описана для нитроацетона **5b**, с образованием замещенных пиримидинов **8a-f** с выходами 80-89% (Схема 2).

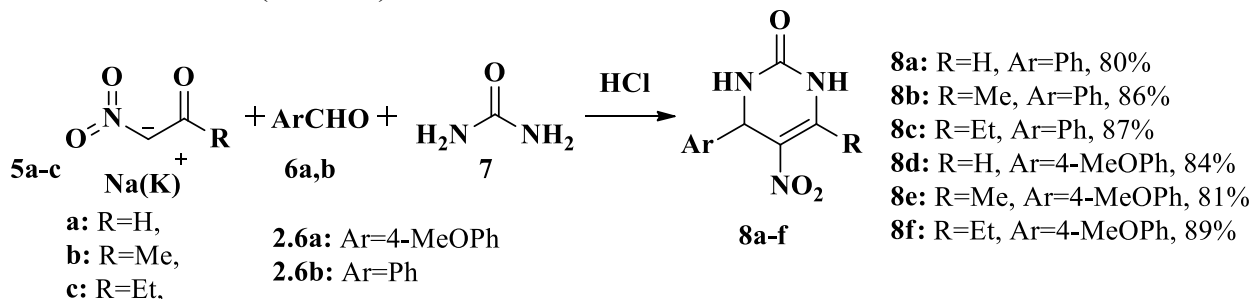


Схема 2

Структура 6-этил-5-нитро-4-фенил-3,4-дигидропиримидинона **8c** подтверждена данными рентгеноструктурного анализа (Рисунок 2).

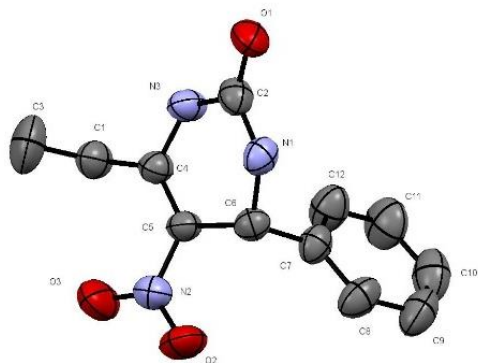


Рисунок 2. Молекулярная структура **8c**, атомы представлены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью (CCDC 1948034)

Другой пример возможности использования солей нитроуксусного альдегида и α -нитрокетонов, полученных по предложенной схеме, – синтез β -фенилазо- β -нитроацетальдегида **11a** и 1-(2-фенилгидразоно)-1-нитрокетонов **11b,c**. При взаимодействии фенилдиазония **10** с натриевыми солями нитроуксусного альдегида, нитроацетона и 1-нитробутан-2-она **5a-c** были получены соответствующие 1-(2-фенилгидразоно)-1-нитрокарбонилы **11a-c** (Схема 3)

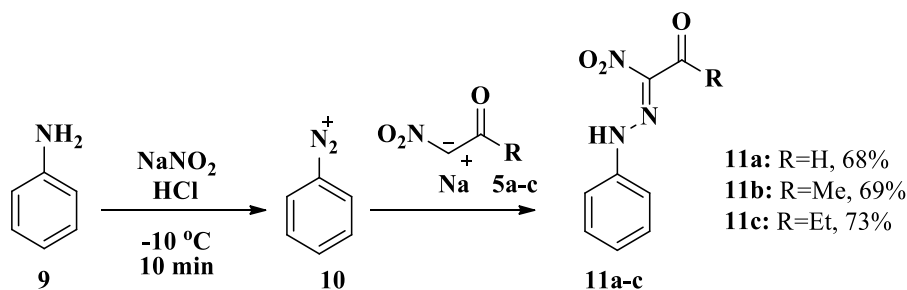


Схема 3

2.3. Синтез 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с использованием солей нитрокарбонильных соединений и пуш-пульных енаминов

Литературный обзор и молекулярный докинг продемонстрировали, что 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазины представляют интерес как потенциально биологически активные соединения с противовирусным действием.

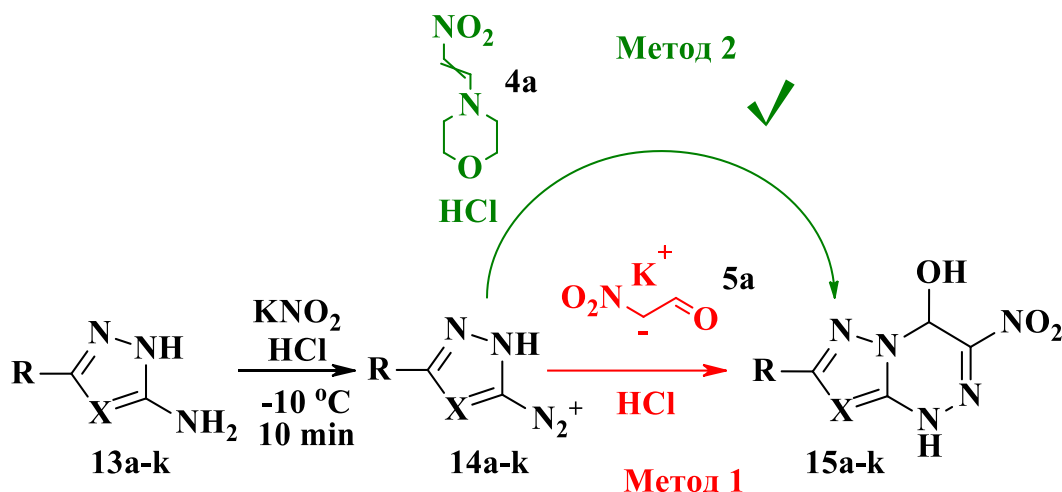
Известны методы синтеза азолазинов с использованием нитроацетальдегида и нитромалонового диальдегида. Данные синтетические эквиваленты СН-активных двухуглеродных синтонов обладают огромным потенциалом, но их использование осложнено низкой доступностью и стабильностью. Разработанный подход к синтезу солей нитрокарбонильных соединений **5a-c** позволяет избежать данных трудностей.

Калиевая соль нитроацетальдегида **5a**, полученная обработкой 1-нитро-2-морфолиноэтилена **4a** водным раствором гидроксида калия, вступает в реакцию с солями азолилдiazония **14a-k** в кислой среде с образованием целевых 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **15a-k**. Для оптимизации процесса были проведены реакции азосочетания солей азолилдiazония с калиевой солью нитроацетальдегида в различных условиях: в основных и нейтральных средах выделить продукт не удалось (Схема 4, Метод 1).

Выходы синтезированных 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **15a-k** с использованием соли нитроуксусного альдегида **5a** составляет

10-50%. В рамках оптимизации методики в работе предложен метод азосочетания солей азолилдiazония **14a-k** непосредственно с 1-нитро-2-морфолиноэтиленом **4a**.

При варьировании условий проведения реакции было установлено, что наибольший выход целевых 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **15a-k** достигается при взаимодействии раствора одного эквивалента 1-нитро-2-морфолиноэтилена **4a** в ацетонитриле с солями азолилдiazония **14a-k** в избытке соляной кислоты. В зависимости от исходного аминоазола **13a-k** в данных условиях выход 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **15a-k** составляет 60-80%. Также преимуществом разработанного метода является исключение трудоемкой и затратной хроматографической очистки целевых соединений, которую необходимо осуществлять при использовании солей нитроацетальдегида **5a** (Схема 4, Метод 2).



Соединения 15	Заместители		Выход соединений 15, % (метод 1)	Выход соединений 15, % (метод 2)
	R	X		
a	H	N	40	81
b	Me	N	41	77
c	SMe	N	28	75
d	COOEt	N	11	67
e	Ph	N	18	60
f	CF ₃	N	14	25
g	α -Thienyl	N	9	49
h	H	CCOOEt	49	83
i	SEt	N	15	74
j	S- <i>n</i> Pr	N	14	81
k	S-propargyl	N	18	65

Схема 4

Для соединений **15a-k** приведен широкий диапазон спектральных характеристик, а также рентгеновские данные, которые подтверждают структуру полученных соединений (Рисунок 3).

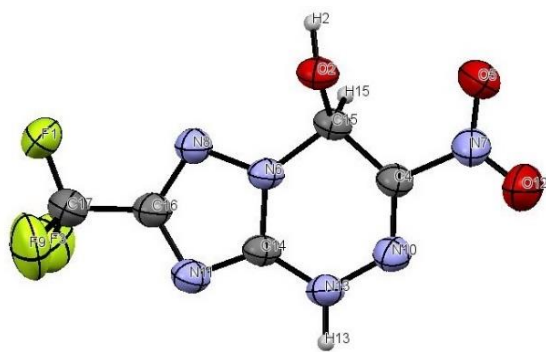
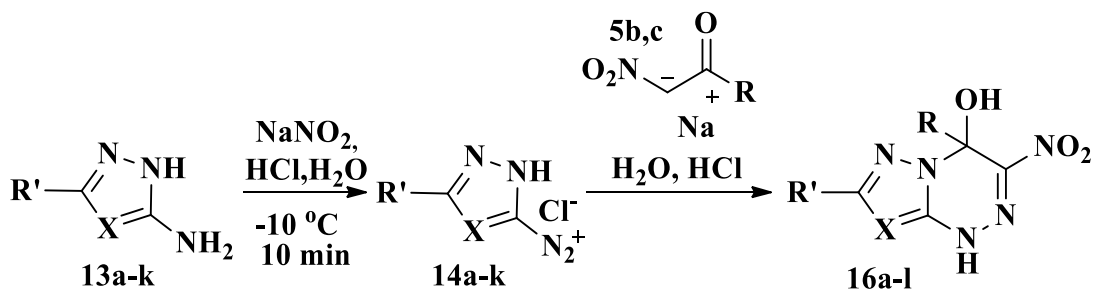


Рисунок 3. Молекулярная структура **15f**, атомы представлены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью (CCDC 1529899)

Аналогично методу синтеза 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **15a-k** с использованием калиевой соли нитроацетальдегида **5a** были разработаны методы получения 3-нитро-4-метил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **16a-f** и 3-нитро-4-этил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **16g-l** с использованием описанных ранее в работе солей 1-нитро-2-пропанона **5b** и 1-нитро-2-бутанона **5c**.

Азосочетание натриевой соли 1-нитро-2-пропанона **5b** и 1-нитро-2-бутанона **5c** с солями азолдидазония **14a-k** в присутствии избытка соляной кислоты приводит к образованию новых 4-метил-3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **16a-f** и 4-этил-3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **16g-l** с выходом 25-53% (Схема 5). В целях оптимизации процесса реакцию азосочетания проводили: в ацетатном буфере в присутствии пиридина, в слабощелочной и сильнощелочной среде, а также непосредственно с использованием в качестве синтетического эквивалента 1-нитро-2-морфолинопропилена-1 **4b** и 1-нитро-2-морфолинобутилена-1 **4c**, однако, получить целевые соединения **16a-l** не удалось.



Соединения 16	Заместители			Выход соединений 16, %
	R'	X	R	
a	H	N	Me	36
b	Me	N	Me	25
c	SMe	N	Me	26
d	COOEt	N	Me	41
e	CF ₃	N	Me	32
f	H	CCOOEt	Me	50
g	H	N	Et	51
h	Me	N	Et	43
i	SMe	N	Et	46
j	COOEt	N	Et	40
k	CF ₃	N	Et	53
l	H	CCOOEt	Et	50

Схема 5

Для кристалла соединения **16k** были получены данные РСА (Рисунок 4), которые подтверждают структуру полученных соединений.

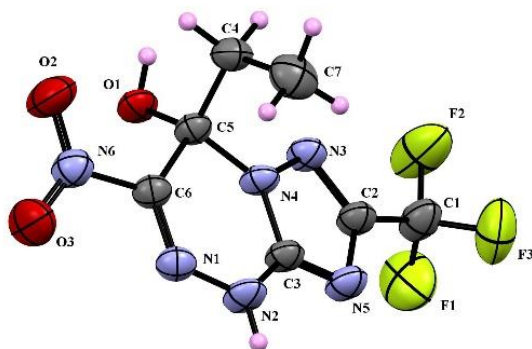


Рисунок 4. Молекулярная структура соединения **16k**, атомы представлены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью (CCDC 2042591)

На примере соединения **16k** было продемонстрировано, что 3-нитро-4-алкил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины **16a-l** могут подвергаться дегидратации при постепенном нагревании с образованием сопряженной триазолотриазиновой системы **17** (Схема 6).

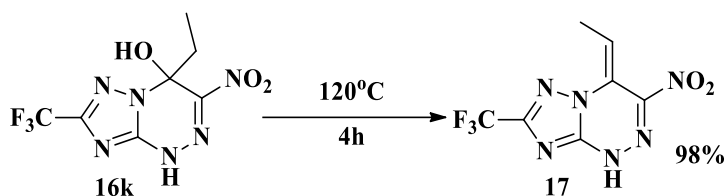


Схема 6

Структура соединения **17** была подтверждена данными спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C (Рисунок 5). Характерным является дублет в области 2.25 м.д., соответствующий метильной группе, и кватрет, соответствующий метиленовому фрагменту в области 5.75 м.д. Для соединения **17** были также получены данные ИК спектроскопии и элементного анализа.

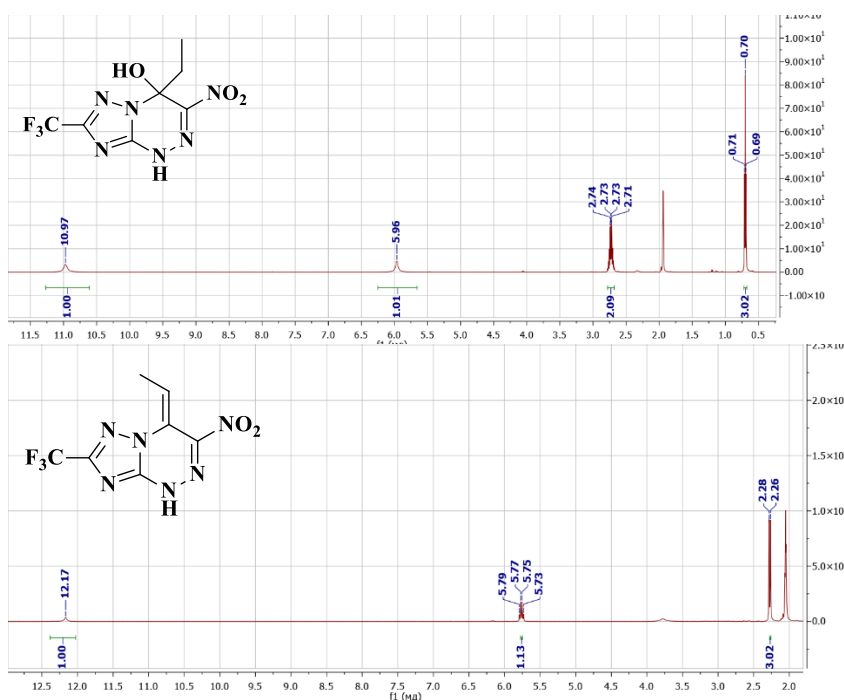
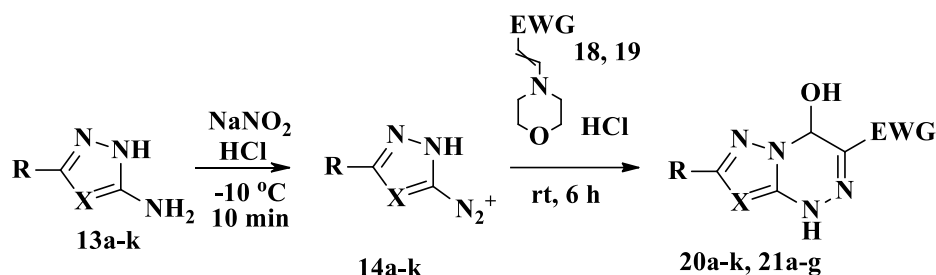


Рисунок 5. Спектры ЯМР ^1H соединения **16k** и **17**

Виртуальный скрининг показал, что интерес представляют не только 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины **15a-k**, **16a-l**, но и соединения, имеющие в качестве заместителя в 1,2,4-триазиновом фрагменте другие акцепторные группы. В соответствии с этим, по аналогии с разработанным методом синтеза нитроазолотриазинов **15a-k** была предложена схема синтеза азоло-1,2,4-триазиновых систем, содержащих в третьем положении 1,2,4-триазинового цикла нитрильную либо этоксикарбонильную группу. Для этого в качестве синтетических эквивалентов использовались 1-морфолино-2-цианоэтилен **18** и 1-морфолино-2-этоксикарбонилэтилен **19**. В обоих случаях наибольшие выходы были достигнуты при проведении реакции азосочетания в избытке соляной кислоты. Выход целевых 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов **20a-k** и 3-этоксикарбонил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов **21a-g** варьируется от 45% до 90% в зависимости от строения и растворимости исходных аминоазолов **13a-k** (Схема 7).



Соединения 20	Заместители			Выход соединений, %
	R	X	EWG	
a	H	N	CN	77
b	Me	N	CN	71
c	SMe	N	CN	81
d	COOEt	N	CN	88
e	Ph	N	CN	56
f	CF ₃	N	CN	55
g	α -Thienyl	N	CN	45
h	H	CCOOEt	CN	70
i	SEt	N	CN	79
j	S- <i>n</i> Pr	N	CN	82
k	S-propargyl	N	CN	68
Соединения 21				
a	H	N	COOEt	80
b	Me	N	COOEt	77
c	SMe	N	COOEt	69
d	COOEt	N	COOEt	81
e	CF ₃	N	COOEt	49
f	SEt	N	COOEt	65
g	H	CCOOEt	COOEt	90

Схема 7

1-Морфолино-2-цианоэтилен **18** получен по описанному в литературе методу, заключающемуся в тройной конденсации циануксусной кислоты **22** с морфолином **3** и триэтилортоформиатом **2a**. В данном случае использование морфолина в качестве вторичного амина обуславливается его доступностью и высоким выходом целевого соединения **18** (Схема 8).

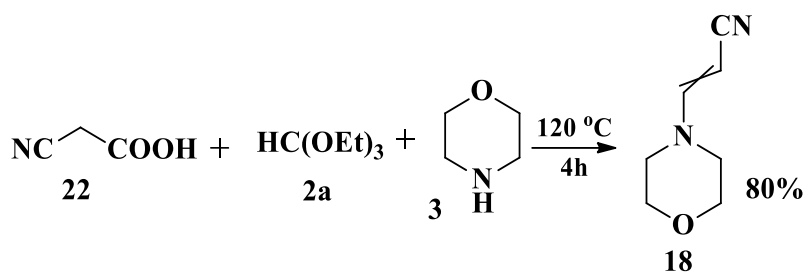


Схема 8

1-Морфолино-2-этоксикарбонилэтилен **19** был получен в результате реакции присоединения с использованием морфолина **3** и этилпропионата **23** при пониженных температурах с последующей хроматографической очисткой продукта (Схема 9).

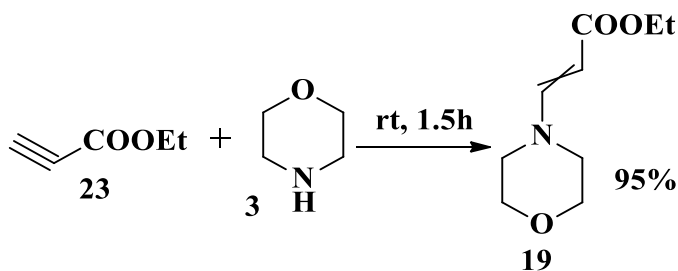


Схема 9

Полученные 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины **20a-k** и 3-этоксикарбонил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины **21a-g** ранее не описаны и представлены впервые. Их структура подтверждена спектрами ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{19}F , данными ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа, рентгеноструктурного анализа (Рисунок 6).

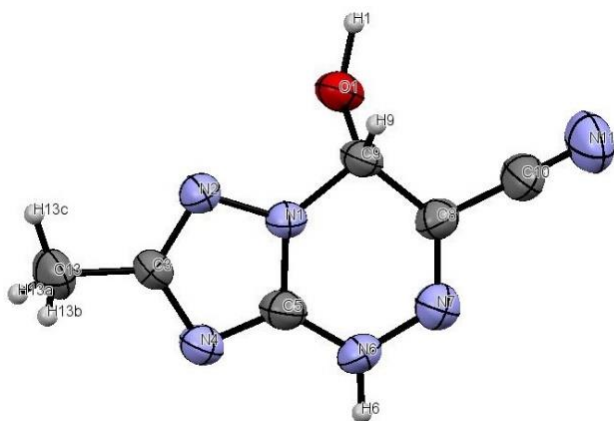


Рисунок 6. Молекулярная структура соединения **20b** согласно данным рентгеноструктурного анализа. Атомы представлены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью

В случае проведения реакции азосочетания соли азолилдiazония **14b** с 1-морфолино-2-цианоэтиленом **18** в ацетатном буфере выход целевого продукта снижался до 25–30%, а также наблюдался побочный продукт, который выделить индивидуально не удалось. Из реакционной массы был выращен кристалл и методом рентгеноструктурного анализа получены данные, подтверждающие структуру побочного соединения **24** (Рисунок 7).

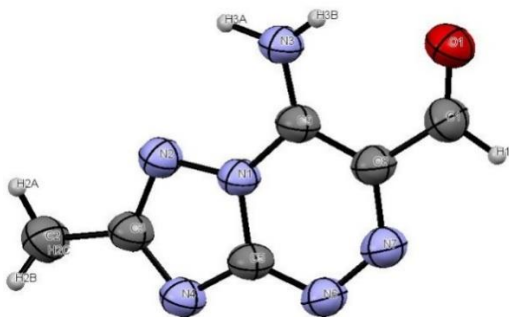


Рисунок 7. Молекулярная структура соединения **24** согласно данным рентгеноструктурного анализа. Атомы представлены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью

Полученные данные позволяют предположить механизм реакции азосочетания, в процессе которого образуется гидразон **25**. Дальнейшая внутримолекулярная циклизация гидразона **25** может протекать по двум направлениям с участием одного из двух конкурирующих электрофильных реакционных центров (атомы углерода альдегидной либо нитрильной группы), приводя к соответствующим азолотриазинам **20** и **24** (Схема 10).

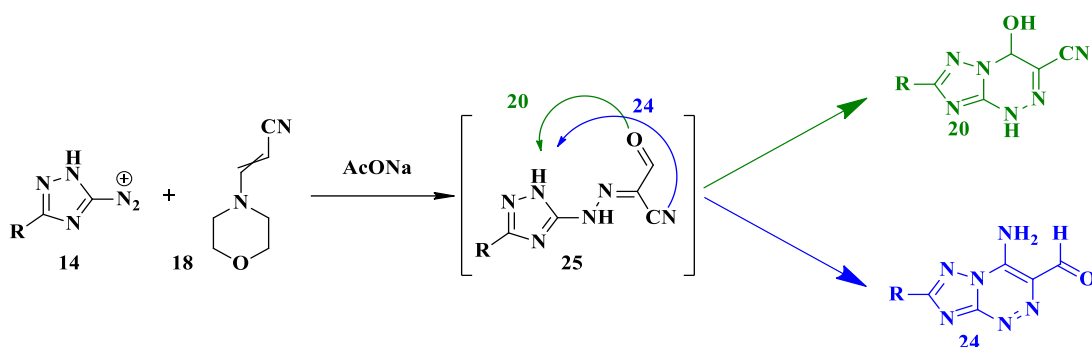


Схема 10

2.4. Разработка метода модификации 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с использованием С-нуклеофилов

Известно, что в качестве объектов нуклеофильного присоединения нитроазины обладают высокой реакционной способностью. Их склонность вступать в реакции нуклеофильного присоединения в литературе представлена достаточно широко, однако, стабильность образующихся при этом σ^H -аддуктов не всегда очевидна. 3-Нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины **15c** и **15h** в условиях кислотного катализа (трифторуксусная кислота) вступают во взаимодействие с π -избыточными ароматическими соединениями **Nu-H a-f** с образованием стабильных продуктов C^4 -присоединения **26a-f**, **27a-f** (Схема 11).

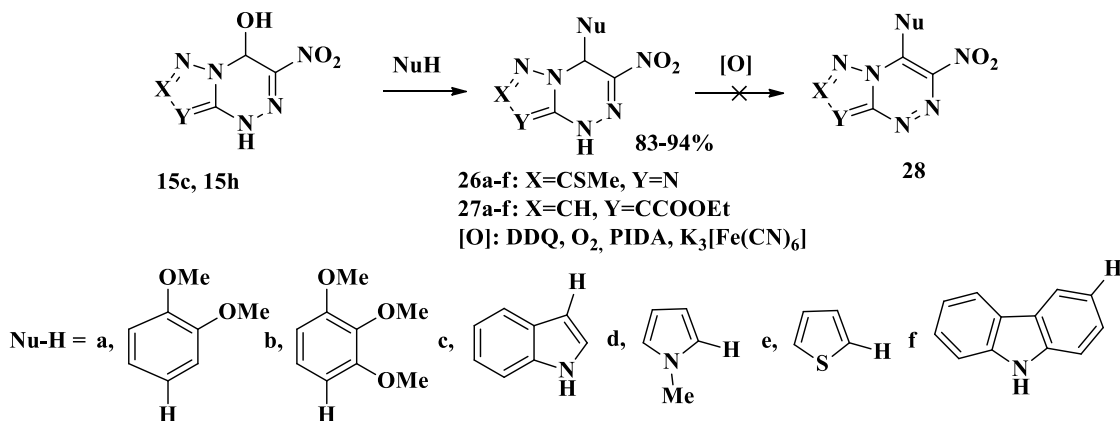


Схема 11

Структура полученных соединений подтверждена на основании данных ^1H , ^{13}C ЯМР, элементного анализа. Полученные при этом σ^{H} -аддукты оказываются стабильными системами и не подвергаются окислению действием классических дегидрирующих агентов (DDQ, O_2 , PIDA, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) до соответствующих продуктов **28**.

При рассмотрении механизма взаимодействия 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов **15c**, **15h** с нуклеофилами среди возможных вариантов логично остановиться на наиболее вероятных: по типу бимолекулярного нуклеофильного замещения ($\text{S}_{\text{N}}2$) и отщепления-присоединения ($\text{S}_{\text{N}}(\text{E}-\text{A})$). Для присоединения нуклеофила (Nu) можно предположить два пути образования σ^{H} -аддукта (Путь 1 и Путь 2) (Схема 12).

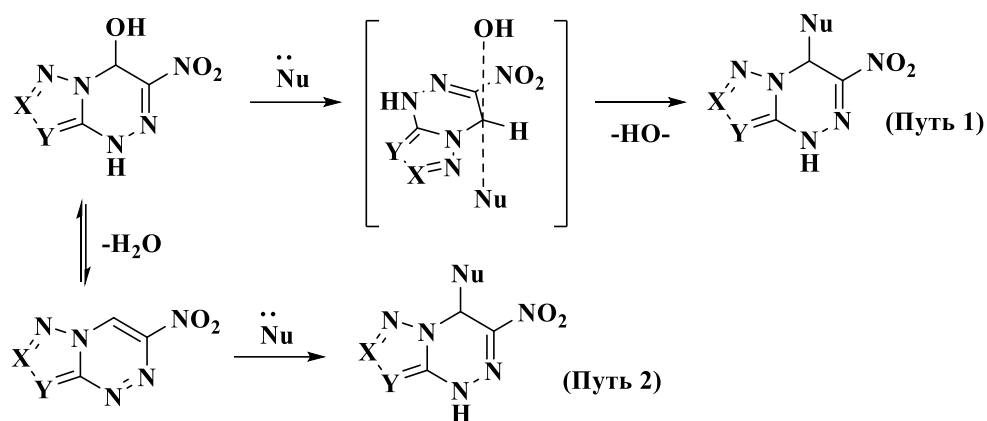


Схема 12

Для определения приоритетного направления протекания реакции было проведено алкилирование соединения **15c** по атому N^1 азолотриазиновой системы. Алкилпроизводное представляет собой неспособную к диссоциации закрепленную форму ковалентного сольвата (Схема 13).

Триазолотриазин **15c** алкилировали метилиодидом в присутствии диизопропилэтиламина в ДМФА. Строение соединения **29** было подтверждено методами ^1H , ^{13}C , двухмерной ЯМР спектроскопии, ИК спектроскопии, данными элементного анализа.

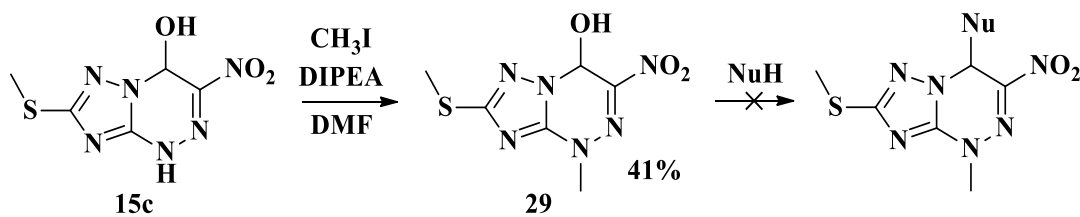
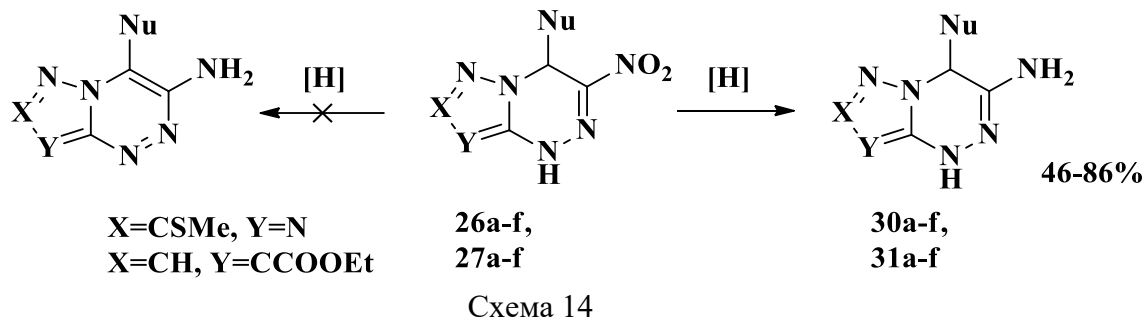


Схема 13

Установлено, что полученное соединение **29** не вступает во взаимодействие с нуклеофильными агентами в исследуемых условиях. Введение метильной группы по атому N^1 нитроазолотриазина **15c** не должно существенно влиять на протекание реакции по механизму $\text{S}_{\text{N}}2$ (Путь 1, Схема 12), можно сделать вывод, что взаимодействие нитроазолотриазина **15c** с нуклеофилами вероятнее всего осуществляется по механизму отщепления-присоединения ($\text{S}_{\text{N}}(\text{E}-\text{A})$, Путь 2, Схема 12).

Структурное сходство 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с 6-нитроазоло[1,5-*a*]пиримидинами дает основание предполагать возможное подобие химических свойств этих классов соединений, что находит подтверждение в стабильности и устойчивости к окислению их дигидропроизводных. В то же время было установлено,

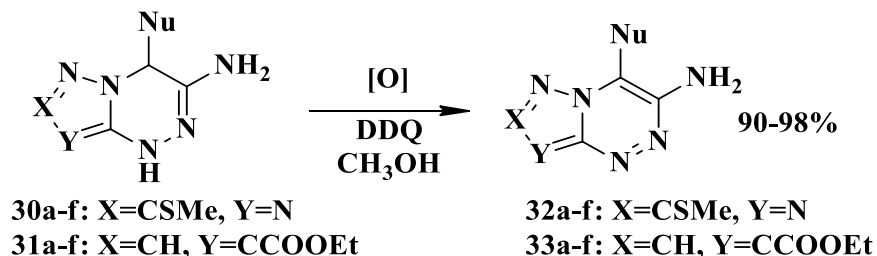
что в отличие от σ^H -аддуктов 6-нитро-4,7-дигиазоло[1,5-а]пиримидинов дигидропроизводные **26a-f**, **27a-f** в условиях восстановления нитрогруппы не претерпевают ароматизацию дигидротриазинового цикла. В условиях восстановления нитрогруппы были получены только соответствующие 3-амино-1,4-дигидро-1-R-азоло[5,1-с]триазины **30a-f**, **31a-f** (Схема 14).



Для восстановления нитрогруппы в σ^H -аддуктах **26a-f**, **27a-f** были использованы различные условия восстановления: для аддуктов **26a-f** применялся дитионит натрия в водно-щелочном растворе (поскольку каталитическое гидрирование сопровождается частичным гидрогенолизом метилсульфанильной группы, что затрудняет выделение целевого продукта); для аддуктов **27a-f**, напротив, восстановление нитрогруппы осуществлялось водородом на палладиевом катализаторе (восстановление дитионитом в основной среде недопустимо вследствие легкого гидролиза этоксикарбонильной группы пиразольного фрагмента молекулы). Образующиеся 3-аминоазолотриазины **30a-f** и **31a-f** в кристаллическом состоянии представляют собой стабильные соединения, в то же время растворы этих соединений весьма неустойчивы, что затрудняет выделение последних из реакционной массы после проведения каталитического гидрирования.

Для дегидрирования аминопроизводных **30a-f** и **31a-f** наиболее приемлемым окислителем является дихлордистицианбензохинон (DDQ) в спиртовой среде, поскольку в случае использования других окислителей (перманганат калия, пероксид водорода, гексацианоферрата калия, персульфат аммония, фенилйоддиацетат) процесс либо протекал чрезвычайно медленно, либо наблюдалось образование многочисленных побочных продуктов и осомление реакционной массы.

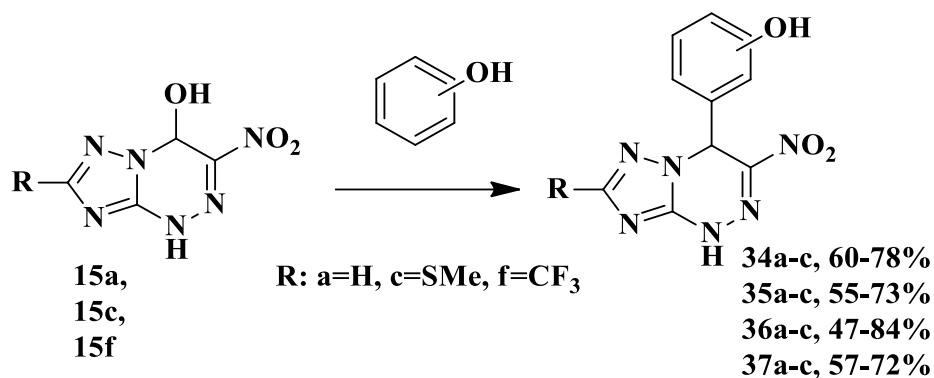
В результате проведенных превращений были выделены с высокими выходами (90-98%) соответствующие ароматические производные 3-аминоазоло[5,1-с]триазины **32a-f**, **33a-f** (Схема 15).



Таким образом, исследованы свойства σ^H -аддуктов 3-нитро-1,4-дигидроазоло[5,1-с]триазинов в качестве базовых субстратов в реакции нуклеофильного замещения, на основе экспериментальных данных предположен механизм взаимодействия нитроазолотриазинов с нуклеофильными агентами.

Изучив способ модификации четвёртого положения в 3-нитро-1,4-дигидроазоло[5,1-с]триазилах и в соответствии с прогнозами биологической активности, 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазины **15a,c,f** были модифицированы различными полифенолами.

Условия синтеза σ^H -аддуктов с полифенолами не удалось унифицировать в одной процедуре из-за разной реакционной способности последних и их стабильности в реакционной среде. Для получения желаемых аддуктов исходные 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины **15a,c,f** кипятили с обратным холодильником или выдерживали при комнатной температуре с соответствующими полифенолами (резорцин **34**, флороглюцин **35**, пирогаллол **36**, пирокатехин **37**) в различных растворителях: ацетонитриле, этаноле или трифторуксусной кислоте (Схема 16).



Соединения	*OH				
	15a	34a 78%	35a 73%	36a 84%	37a 71%
	15c	34b 63%	35b 63%	36b 59%	37b 57%
	15f	34c 60%	35c 55%	36c 47%	37c 72%

Схема 16

В спектрах ЯМР ^1H σ^H -аддуктов отсутствуют сигналы, соответствующие паре H^4 -OH, вместо них появляется одиночный пик, соответствующий протону H^4 , а также сигналы протонов полифенольного фрагмента.

2.5. Биологическая активность и антиоксидантные свойства синтезированных 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и их производных

2.5.1. Противовирусное действие 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов

Синтезированные 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины были испытаны на противовирусную активность в отношении вируса гриппа, штамм A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) и вируса Коксаки В3 в культуре клеток в лаборатории

экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (г. Санкт-Петербург).

Два соединения – 3-нитро-4-гидрокси-7-пропаргилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **15k** и 3-нитро-4-гидрокси-7-этилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **15i** обладают выраженным противовирусным действием в отношении энтеровируса Коксаки группы В3, размножающегося в клетках миокарда и вызывающего миокардиты у человека. На сегодняшний день химиопрепаратов и вакцин от вируса Коксаки нет. Данные соединения представляют интерес для изучения и стали предметом для патента.

Токсичность соединений была изучена в отношении клеток Vero. Значения CC_{50} для изучаемых соединений составили **153,7** и **138,1** мкг/мл, соответственно. Полученные данные свидетельствуют о низкой цитотоксичности полученных соединений для культуры клеток. Противовирусную активность соединений изучали в культуре клеток Vero в отношении вируса Коксаки В3. Полученные в результате экспериментов значения IC_{50} для соединений составили 0,5 и 1,2 мкг/мл. Таким образом, величины индексов селективности оказались, соответственно 307 и 115. Эти показатели намного превосходят пороговое значение $SI=10$, на основании которого делается заключение о перспективности того или иного соединения как потенциального противовирусного средства, что убедительно доказывает высокие вирусингибирующие характеристики соединений.

Для 3-нитро-4-гидрокси-7-пропаргилтио-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4] триазина **15k** и 3-нитро-4-гидрокси-7-этилтио-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазина **15i** была определена острая токсичность при внутрибрюшинном введении мышам (Таблица 1).

Таблица 1 – Токсикологические показатели соединений при однократном внутрибрюшинном введении белым беспородным мышам

Показатели смертности животных	Концентрация 15k , мг/кг		
	500	170	50
Погибло, шт.	6	0	0
Выжило, шт.	0	6	6
Смертность, %	100	0	0
	Концентрация 15i , мг/кг		
	500	170	50
Погибло, шт.	6	0	0
Выжило, шт.	0	6	6
Смертность, %	100	0	0
	Плацебо		
		0	
Погибло, шт.		0	
Выжило, шт.		6	
Смертность, %		0	

Неспецифической смертности в группе плацебо не наблюдалось. Все животные, получившие любое из соединений в дозе 500 мг/кг, погибли, тогда как ни в одной из остальных групп, получивших меньшие дозы веществ, смертности не отмечалось. На основании полученных данных значение LD_{50} для обоих соединений составляет 294 мг/кг, что позволяет отнести соединения к умеренно токсичным (3 класс, 40-1250 мг/кг, «Правила организации и проведения доклинических исследований лекарственных средств – GLP», ФГБУ НИЦЭСМП Минздрава России).

2.5.2. Исследование антигликирующей и антигликооксидационной активности

Для синтезированных 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов были исследованы *in vitro* антигликирующая и антигликооксидационная активность. В качестве вещества сравнения использовали ингибитор неферментативного гликозилирования – аминогуанидин. Антигликирующую активность рассчитывали по отношению к показателю флуоресценции контрольных образцов.

Результатом исследования стало выявление соединения лидера – 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазина **20a**, которое стало предметом для заявки на патент РФ. Для данного соединения были проведены углубленные исследования антигликирующей и антигликооксидационной активности. В качестве вещества сравнения использовали эпросартан и аминугуанидин.

Установлено, что 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **20a** показал в 2 раза более высокую активность в максимальной изученной концентрации, и был более, чем в 3 раза, активнее по показателю IC₅₀, чем выбранный референт в фосфатном буферном растворе pH 7.4 (Таблица 2).

Таблица 2 – Гликирование глюкозой в фосфатном буферном растворе pH 7.4

Соединение	Активность, %		IC ₅₀ , мкМ
	1000 мкМ	100 мкМ	
20a	64,0±0,2*	31,3±6,9*	345,0
Аминугуанидин	30,3±1,2*	7,9±4,5	>1000

Примечание:

* - статистически значимые различия,

В результате постановки методики гликооксидации (гликирование глюкозой в буферной среде HEPES в присутствии Cu²⁺ и pH 5.8) установлено, что 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **20a** проявляет активность, в 4,9 раза превосходящую дополнительный референт эпросартан и в 2,3 раза основной референт аминугуанидин (Таблица 3).

Таблица 3 – Гликирование глюкозой в буферной среде HEPES в присутствии Cu²⁺, pH 5.8 (гликооксидация)

Соединение	Активность, %		IC ₅₀ , мкМ
	1000 мкМ	100 мкМ	
20a	69,5±0,9*	31,7±2,2*	341,5
Эпросартан	33,2±2,7*	31,7±2,1*	1661,8
Аминугуанидин	55,5±2,5*	17,6±3,3	797,0

Примечание:

* - статистически значимые различия,

Гликирование коллагена вносит значительный вклад в формирование многих КПП-ассоциированных патологий, например, микрососудистых поздних осложнений сахарного диабета и др. В качестве модели коллагена выступает растворенный гидролизат сухожилий хвоста крыс. Для 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **20a** установлена более высокая активность в отношении обоих типов образующихся КПП, чем для аминугуанидина (Таблица 4).

Таблица 4 – Гликирование растворимого гидролизата сухожилий хвоста крыс глюкозой в фосфатном буферном растворе pH 7.4

Соединение	Подавление весперлизиновых КПП, активность, %	Подавление пентозидиновых КПП, активность, %
20a	57,4±0,5*	46,8±0,3*
Аминугуанидин	14,0±14,2	39,6±5,4*

Примечание:

* - статистически значимые различия,

Кристаллин является биологически релевантной мишенью для гликирования при изучении потенциала соединений подавлять образование КПП в хрусталике глаза.

Установлено, что на модели гликирования кристаллин-содержащего гидролизата глюкозой в условиях нормальной рН фосфатной буферной системы, 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **20a** обладает активностью превосходящей аминогуанидин по способности подавлять образование обоих изучаемых типов КПП, как веспер-лизиновых, так и пентозидиновых (Таблица 5).

Таблица 5 – Гликирование растворимого гидролизата хрусталиков глюкозой в фосфатном буферном растворе рН 7.4

Соединение	Подавление веспер-лизиновых КПП, активность, %	Подавление пентозидиновых КПП, активность, %
20a	81,0±1,2*	74,1±2,1*
Аминогуанидин	31,1±1,7*	40,3±1,1*

Примечание:

* - статистически значимые различия,

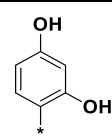
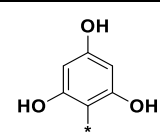
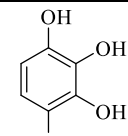
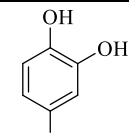
В исследовании установлено, что 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **20a** проявляет высокую антигликирующую и антигликоксидационную активности, превосходя аминогуанидин и эпросартан. 3-Циано-4-гидрокси-1,4-дигидро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин **20a** активен на основном модельном белке бычьего сывороточного альбумина (БСА), а также на белках фракций коллагенов и кристаллинов, входящих в качестве доминирующего компонента в состав гидролизатов соединительных тканей хвоста и хрусталика крыс соответственно.

2.5.3. Определение АОЕ синтезированных σ^H -аддуктов 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с полифенолами

Возникновение вирусных заболеваний сопровождается избыточной генерацией активных форм кислорода радикальной и нерадикальной природы. Окислительный стресс, индуцированный вирусным заболеванием, играет важную роль в патогенезе вирусных инфекций. Окислительный стресс включает не только вмешательство в ведущие метаболические процессы организма, но и регулирует репликацию вируса. Отмечается также угнетение антиоксидантной защиты организма у больных вирусными заболеваниями.

Поэтому синтез препаратов, обладающих одновременно противовирусным и антиоксидантным действием, и их исследование по отношению к окислителям радикальной природы, является актуальной задачей.

Таблица 6 – Результаты определения АОЕ **34-37**

				
	34 -	35 2,84±0,23 (0,08)	36 5,15±0,11 (0,02)	37 5,91±0,26(0,04)
15a	34a -	35a 1,49±0,03 (0,02)	36a 2,93±0,03 (0,01)	37a 3,56±0,07 (0,02)
15c	34b 1,23±0,02 (0,02)	35b 1,37±0,03 (0,02)	36b 4,21±0,09 (0,02)	37b 2,85±0,23 (0,08)
15f	34c 0,97±0,07 (0,07)	35c 1,32±0,05 (0,04)	36c 3,18±0,03 (0,01)	37c 4,31±0,04 (0,01)

Практически все аддукты, за исключением резорцина и его производного **34a**, проявляют антиоксидантные свойства. Снижение АОЕ аддуктов относительно полифенолов согласуется с литературными данными. Как и предполагалось ранее, соединения с фрагментами пирокатехина, пирогаллола проявляют большую АОЕ относительно аддуктов, содержащих резорциновый и флороглюциновый фрагмент.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении диссертационного исследования получены следующие результаты:

1. С использованием виртуального скрининга *in silico* выявлены перспективные соединения в ряду 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов.
2. Предложен и реализован метод получения стабильных форм нитрокарбонильных соединений гидролизом соответствующих нитроенаминов.
3. Разработан новый метод синтеза 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов и 3-нитро-4-алкил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с использованием солей нитрокарбонильных соединений.
4. Разработаны методы синтеза недоступных ранее 3-циано- и 3-этоксикарбонил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с использованием ключевых синтонов – пуш-пульных енаминов, предположен механизм реакции.
5. Предложен метод модификации 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с использованием *S*-нуклеофилов, предложен возможный механизм исследуемого превращения.
6. Для синтезированных 4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов была оценена биологическая активность (противовирусная, антигликирующая и антигликоксидационная). В результате исследования 3 соединения стали предметом заявки на патент.
7. Для σ^H -аддуктов 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с полифенолами определено значение антиоксидантной емкости.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты данной работы позволяют утверждать, что в ряду 1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов есть перспективные соединения, обладающие противовирусными и противодиабетическими свойствами. Интерес представляет изучение свойств чистых энантиомеров соединений, показавших биологическую активность. Изучение возможности получения σ^H -аддуктов 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов и 3-этоксикарбонил-4-гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с нуклеофилами позволит определить дальнейшее направление синтеза.

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ:

1. **Drokin, R.A.** Methods of synthesis and antiviral activity of new 4-alkyl-3-nitro-1,4-dihydroazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazin-4-ols / **R. A. Drokin**, D. V. Tiufiakov, E. K. Voinkov, P. A. Slepukhin, E. N. Ulomsky, I. L. Esaulkova, A. S. Volobueva, K. S. Lantseva, M. A. Misyurina, V. V. Zarubaev, V. L. Rusinov // Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 2021. – Vol. 57. Issue 4. – P. 473-478 (0,375 п.л./0,034 п.л.) (Scopus, Web of Science).
2. Litvinov, R. A. Prediction of antiglycation activity by calculating the energies of frontier molecular orbitals for new 4-hydroxy-1,4-dihydroazolo[5,1-*c*]-1,2,4-triazines used as an example. / R. A. Litvinov, **R. A. Drokin**, D. D. Shamshina, M. Y. Kalenova, L. E. Usmianova, E. A. Muraveva, A. A. Spasov, V. L. Rusinov // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2020. – Vol. 46. Issue 6. – P. 1278-1284 (0,438 п.л./0,055 п.л.) (Scopus, Web of Science).
3. Ivanova, A. V. The antioxidant screening of potential materials for drugs based on 6-nitro-1,2,4-triazoloazines containing natural polyphenol fragments / A. V. Ivanova, E. L. Gerasimova, E. R. Gazizullina, M. V. Borisova, **R. A. Drokin**, E. B. Gorbunov, E. N. Ulomskiy, V. L. Rusinov // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2020. – Vol. 412. Issue 21. – P. 5147-5155, (0,563 п.л./0,070 п.л.) (Scopus, Web of Science).
4. Ulomskiy, E. N. Synthesis and biological evaluation of 6-nitro-1,2,4-triazoloazines containing polyphenol fragments possessing antioxidant and antiviral activity. / E. N. Ulomskiy, A. V. Ivanova, E. B. Gorbunov, **R. A. Drokin**, I. L. Esaulkova, A. V. Slita, E. O. Sinegubova, E. K. Voinkov, E. L. Gerasimova, E. R. Gazizullina, V. L. Rusinov, V. V. Zarubaev // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. – 2020. – Vol. 30, Issue 13. – № 127216 (Scopus, Web of Science).

5. Rusinov, V. L. Synthesis and properties of the salts of 1-nitropropan-2-one and 1-nitrobutan-2-one. / V. L. Rusinov, **R. A. Drokin**, D. V. Tyufia00kov, E. K. Voinkov, E. N. Ulomskiy // Mendeleev Communications. – 2020. – Vol. 30, Issue 2. – P. 177-179, (0,188 п.л./0,038 п.л.) (Scopus, Web of Science).

6. Gorbunov, E. B. First example of C-H functionalisation in the 6-nitroazolo[5,1-*c*]triazine series / E. B. Gorbunov, E. N. Ulomskiy, E. K. Voinkov, **R. A. Drokin**, D. N. Lyapustin, G. L. Rusinov, V. L. Rusinov, V. N. Charushin, O. N. Chupakhin // Synthesis (Germany). – 2018. – Vol. 50, Issue 24. – P. 4889-4896 (0,500 п.л./0,056 п.л.) (Scopus, Web of Science).

7. Voinkov, E. K. 1-Morpholino-2-nitroethylene as a precursor of nitroacetaldehyde in the synthesis of azolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines. / E. K. Voinkov, E. N. Ulomskiy, **R. A. Drokin**, V. V. Fedotov, E. B. Gorbunov, V. L. Rusinov // Mendeleev Communications. – 2017. – Vol. 27, Issue 3. – P. 285-286 (0,125 п.л./0,021 п.л.) (Scopus, Web of Science).

Патенты:

8. Патент РФ, RU2775551C2 30.12.2019. 3-Нитро-4-гидрокси-7-пропаргилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин и 3-нитро-4-гидрокси-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин, обладающие противовирусной активностью // Патент России №0002775551. 2022. / Русинов В. Л., **Дрокин Р. А.**, Чупахин О. Н. и др.

9. Патент РФ, RU2775567C2 13.10.2020. 3-циано-4-гидрокси-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин, соединение, обладающее антигликирующей и антигликоксидационной активностями // Патент России №0002775567. / Русинов В. Л., Султанова К. Т., **Дрокин Р. А.**, и др.

Другие публикации:

10. **Дрокин, Р. А.** New methods for the synthesis of biologically active triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines / **Р. А. Дрокин**, Д. В.Тюфяков, Е. К. Воинков, Е. Н. Уломский, А. С. Волобуева, Я. Л. Есаулкова, Е. О. Синегубова, В. В. Зарубаев, В. Л. Русинов // 4-я российская конференция по медицинской химии с международным участием МедХим-Россия 2019 г. Екатеринбург 9-14 июня 2019 года. С. 180 (0,03 п.л./ 0,005 п.л.).

11. **Дрокин, Р.А.** 1-Morpholino-2-cyanoethylene In the synthesis of azolo[5,1-*c*][1,2,4]triazine / **Р. А. Дрокин**, Е. Н. Уломский, В. Л. Русинов //Марковниковский конгресс по органической химии МС150, г. Москва 21 июня 2019, г. Казань 24-28 июня 2019. С. 50 (0,03 п.л./ 0,01 п.л.).

12. **Дрокин, Р. А.** Enamines in the synthesis of azolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines / **Р. А. Дрокин**, Е. Н. Уломский, В. Л. Русинов // XXI МЕНДЕЛЕЕВСКИЙ СЪЕЗД ПО ОБЩЕЙ И ПРИКЛАДНОЙ ХИМИИ 9 - 13 сентября 2019 года в Санкт-Петербурге. С. 115 (0,03 п.л./ 0,01 п.л.).

13. Тюфяков, Д. В. Калиевые соли нитрокарбонильных соединений в синтезе нитроазоло[5,1-*c*][1,2,4] триазинов / Д. В.Тюфяков, **Р. А. Дрокин**, Е. К. Воинков, Е. Н. Уломский, В. Л. Русинов // Проблемы теоретической и экспериментальной химии ХХІХ Российская молодежная научная конференция с международным участием, посвященной 150-летию Периодической таблицы химических элементов Екатеринбург, 23–26 апреля 2019 года. С.407 (0,03 п.л./ 0,01 п.л.).

14. **Дрокин, Р. А.** / Калиевые соли нитрокарбонильных соединений в синтезе Азотсодержащих гетероциклических соединений / **Р. А. Дрокин**, Д. А. Газизов, Д. В. Филяков, Е. В. Воинков, Е. Б. Горбунов, Е. Н. Уломский, В. Л. Русинов, Г. Л. Русинов // Всероссийская конференция «Химия нитросоединений и родственных азот-кислородных систем» (АКС-2019) г. Москва 23 - 25 октября, 2019. С. 187(0,03 п.л./ 0,01 п.л.).

15. **Дрокин, Р. А.** Nucleophilic substitution of nitro group In dihydroazole[5,1-*c*][1,2,4]triazines / **Р. А. Дрокин**, Д. В. Тюфяков, Е. К. Воинков, Е. Н. Уломский, В. Л. Русинов/ III Международная конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (MOSM2019) г.Екатеринбург, 13-16 ноября 2019 года. СД-27. (0,03 п.л./ 0,01 п.л.).

16. **Дрокин, Р. А.** Получение стабильных σ -аддуктов азоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с полифенолами / **Р. А. Дрокин**, Е. К. Воинков, Е. Н. Уломский, В. В. Федотов, Д. Н. Ляпустин, В. Л. Русинов // Всероссийская молодежная школа-конференция Актуальные проблемы органической химии 2018 - пгт. Шерегеш Кемеровская обл. 9-16 марта 2018 г. С. 122. (0,03 п.л./ 0,01 п.л.).

17. Тюфяков, Д. В. Калиевая соль нитроацетона в синтезе 6- нитро- 7- метилазоло[5,1-*c*][1,2,4] триазинов / Д. В.Тюфяков, **Р. А. Дрокин**, Е. Н. Уломский, В. Л. Русинов // 28 Российская молодежная школа конференция с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии – XXVIII» г. Екатеринбург, 25–27 апреля 2018 года. С. 398 (0,03 п.л./ 0,01 п.л.).