

Національна академія наук України
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря

Національна академія наук України
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КОРНІЙ ЮРІЙ ЄВГЕНОВИЧ

УДК 547.783+615.281.8+615.277.3

ДИСЕРТАЦІЯ

**СИНТЕЗ НОВИХ ІМІНОГІДАНТОЇНОВИХ ПОХІДНИХ
З ПРОТИВІРУСНОЮ ТА ПРОТИРАКОВОЮ АКТИВНІСТЮ**

102 – Хімія

Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ (Ю. Є. Корній)

Науковий керівник:

Броварець Володимир Сергійович

доктор хімічних наук, професор

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Корній Ю. Є. Синтез нових іміногідантоїнових похідних з противірусною та протираковою активністю. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 "Хімія" (10 – Природничі науки). – Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря. – Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря, Київ, 2021.

Дисертація присвячена розробці нових підходів до синтезу різноманітних іміногідантоїнових похідних, головним чином – із фармакофорним сульфамідним угрупованням, у тому числі з фрагментами амінокислот і трифлуорометилдіазирину, а також пошуку серед синтезованих речовин нових протиракових та противірусних засобів.

Завдяки аналізу літературних даних щодо застосування *N*-ацил-2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрилів для синтезу різноманітних гетероциклічних структур встановлено, що циклізації за участю *N*-карбамоїл-2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрилів, які ведуть до утворення імідазолідинових похідних, досліджені лише на кількох прикладах. Ці перетворення могли б стати зручним інструментом для одержання різноманітних похідних іміногідантоїну із (що вкрай важливо для подальшого практичного використання) високим ступенем функціоналізації. Саме цей напрям і був головним у представлений роботі.

До нашого дослідження було відомо лише декілька похідних *N*-карбамоїл-2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрилу, і їх одержання не є тривіальною задачею. Нами було показано, що їх синтез шляхом взаємодії 2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрилу (ADAN) із активними похідними карбонатної кислоти є препаративно доцільним принаймні у випадку фенілізоціанату. З ізотіоціанатами ADAN за кімнатної температури не реагує, а при нагріванні суміш осмольється. Ацилювання ADAN діалкіламінокарбонілхлоридами (малодоступними реагентами) відбувається занадто повільно, і задовго до досягнення

прийнятної конверсії починає розкладатись ADAN. Натомість із поліфункціональними похідними – 2-хлороетил- та 3-хлоропропілізоціанатами – ADAN реагує добре з утворенням відповідних сечовин з високими виходами. На жаль, при спробі гетероциклізації останніх виникають певні складнощі. Додавання основи до таких сечовин спричиняє часткове осмолення реакційної суміші, проте хроматографічно все ж вдається виділити основний продукт. У випадку хлоропропільної похідної після короткотривалого кип'ятіння в присутності основи було отримано 1-(3-хлоропропіл)-4-(дихлорометилен)-5-іміноімідазолідин-2-он. Хлороетильна похідна також швидко циклізується в 1-(2-хлороетил)-4-(дихлорометилен)-5-іміноімідазолідин-2-он, але на цьому реакція не зупиняється: тривале кип'ятіння приводить до утворення неочікуваного продукту – 3-(дихлорометилен)-5,6-дигідроімідазо[2,1-*b*]-оксазол-2(3*H*)-іміну. Для доведення будови вищезгаданих продуктів було використано двовимірні гетероядерні кореляції у спектрах ЯМР.

N-(2,2-Дихлоро-1-ціаноетеніл)сечовини із одним чи двома метильними замісниками у положенні *N'* оптимально синтезувати починаючи із конденсації хлоралю з відповідною сечовиною з наступним введенням нітрильної групи дією силілціаніду. Нами було встановлено, що напрям циклізації таких сечовин залежить від характеру аміну, що виступає циклізуючим агентом. При обробці 1-(2,2-дихлоро-1-ціаноетеніл)-3-(ди)метилсечовини аміном у розчині метанолу в присутності Et₃N в слідових кількостях утворюються 2,5-діамінооксазоли. Внаслідок застосування до цього перетворення умов термодинамічного контролю, у випадку дії на 1-(2,2-дихлоро-1-ціаноетеніл)-3-(ди)метилсечовини морфоліну та похідних піперазину нам вдалося підвищити вміст 2,5-діаміно-4-ціанооксазолів до прийнятного рівня. Але при дії на 1-(2,2-дихлоро-1-ціаноетеніл)-3-метилсечовину бензиламінів відбувалась гетероциклізація по іншому типу, за участю двох еквівалентів аміну та з утворенням 4,5-ди(бензил-аміно)-1-метил-1*H*-імідазол-2(5*H*)-онів. Будова останніх була однозначно доведена за допомогою РСА.

Хлоросульфонілізоціанат – один із небагатьох досліджених нами похідних карбонатної кислоти, здатних ефективно ацилювати аміногрупу ADAN.

Характер взаємодії між ними більш складний, ніж ацилювання ADAN, наприклад, фенілізоціанатом: при дії на ADAN хлоросульфонілізоціанату зупинитися на стадії сечовини не вдається і гетероциклізація відбувається відразу в реакційній суміші без додаткового внесення основи. Власне гетероциклізація теж відбувається за більш складною схемою, і хлоросульфонільна група виявляється приєднаною не до ендоциклічного атому азоту гетероциклу, а до екзоциклічного атому азоту іміногрупи. Утворений таким чином (5-(дихлорометилєн)-2-оксоімідазолідин-4-ілідєн)сульфамоїлхлорид, не дивлячись на значну кількість полярних реакційноздатних фрагментів, порівняно стійкий: у атмосфері аргону при 0 °С його можна зберігати досить тривалий час.

При дослідженні реакційної здатності (5-(дихлорометилєн)-2-оксоімідазолідин-4-ілідєн)сульфамоїлхлориду по відношенню до амінів виявилось, що відповідні сульфаміди можна отримати за участю різноманітних амінів: простих аліфатичних, циклобутиламіну, бензиламінів та триптаміну, насичених циклічних вторинних амінів; також ця реакція буде результативною для естерів природних та синтетичних амінокислот, аміаку, а також *N*-Вос-гуанідину. При доведенні будови отриманих сульфамідів, з огляду на велику кількість гетероатомних угруповань, що неоднозначно ідентифікуються за допомогою спектральних методик, був застосований РСА морфолінової похідної. (5-(Дихлорометилєн)-2-оксоімідазолідин-4-ілідєн)сульфаміди показали себе здатними до подальших хімічних модифікацій. Успішними були три типи перетворень: гідроліз естерної групи, зняття Вос-захисту та селективне монометилування атому азоту імідазолінового фрагменту.

Для введення в базову структуру (5-(дихлорометилєн)-2-оксоімідазолідин-4-ілідєн)сульфаміду фоточутливого трифлуорометилдіазиринового фрагменту нами було розроблено наступну синтетичну схему. Комерційно доступні *N*-Вос-похідні азетидину, піролідину та піперидину зі спиртовою групою (приєднаною до циклу за різними положеннями або безпосередньо, або через метиленову ланку) за допомогою стандартних реакцій було послідовно перетворено на: 1) альдегіди (за реакцією Сверна); 2) похідні

трифлуороетанолу (внаслідок конденсації з трифлуорометилтриметилсиланом); 3) трифлуорометилкетони (окиснення реагентом Десса – Мартіна); 4) оксими та *O*-тозил(мезил)оксими; 5) діазирини (за одноколбовим методом через стадію утворення діазіридину). Будову окремих представників – 3-(3-(трифлуорометил)-3*H*-діазирин-3-іл)азетидину та 2-(3-(трифлуорометил)-3*H*-діазирин-3-іл)піролідину – було однозначно підтверджено за допомогою РСА. Синтезовані аміни із трифлуорометилдіазириновим фрагментом реагують із (5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден)сульфамоїлхлоридом у ТГФ у присутності 2 екв Et₃N при низькій температурі та співвідношенні реагентів 1 : 1, утворюючи відповідні (5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден)-сульфаміди із трифлуорометилдіазириновим замісником у складі амінокомпоненти.

Для дослідження шляхів можливої взаємодії отриманих діазиринів із середовищем, ми провели фотохімічний експеримент за участю модельної сполуки: 1-тозил-4-(3-(трифлуорометил)-3*H*-діазирин-3-іл)піперидину. Виявилось, що для утвореного при опроміненні карбену реалізуються два можливих шляхи перетворення: при опроміненні у спиртовому розчині на довжині хвилі 350 нм відбувається ізомеризація в алкен – 1-тозил-4-(2,2,2-трифлуороетиліден)піперидин, – але за меншої довжини хвилі у 310 нм, окрім алкена, було знайдено помітну кількість продукту вклинення по ОН-зв'язку – 1-тозил-4-(2,2,2-трифлуоро-1-метоксиетил)піперидину. Отже, карбеноїди, отримані при опроміненні таких азиридинів, дійсно можуть вклинюватись у зв'язки молекул середовища, що робить обґрунтованим їх подальше вивчення у якості фотоміток.

При аналізі противірусної активності *N*-[5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]сульфамідів було виявлено, що найвищу активність проти штаму *Gardner Human polyomavirus 1* (ВК-вірусу) виявляють (*Z*)-*N*-[5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]-*N'*-циклобутилсульфамід та (*Z*)-1-([5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]сульфамоїл)піперидин-4-карбонова кислота; проти штаму *AD169 Human cytomegalovirus* – (*Z*)-*N*-[5-

(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]-*N'*-(4-метоксифеніл)сульфамід, *трет*-бутиловий естер (Z)-4-(*N*-(5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден)сульфамойл)піперазин-1-карбонової кислоти, метиловий естер (Z)-4-(*N*-(5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден)сульфамойл)піперидин-3-карбонової кислоти та метиловий естер (Z)-4-(*N*-(5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден)сульфамойл)азетидин-3-карбонової кислоти; дві останні сполуки також помітно пригнічували розвиток штаму GDGr K₁₇ *Human cytomegalovirus*.

Рівень протиракової активності *N*-[5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]сульфамідів також виявився суттєво залежним від характеру залишку аміну. Було встановлено, що похідні незаміщеного бензиламіну та 4-хлоробензиламіну – малоактивні, але поява у *пара*-положенні бензильного замісника електронодонорної групи – метильної чи, особливо, метоксильної – протиракову активність різко збільшує; помірно активними є похідні триптаміну та *N*-Вос-піперазину. Найбільш ефективні інгібітори росту ракових клітин можна розділити на дві групи: 1) сульфаміди на основі бензилметиламіну та алілметиламіну; 2) сульфаміди піперидину та етилзоніпекотату.

Встановлення *in vivo* гострої токсичності етилового естеру (Z)-1-[5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]сульфамойл}піперидин-4-карбонової кислоти (сполуки, протиракова активність якої була однією із найвищих), дозволило віднести дану речовину до малотоксичних. Токсичність цієї речовини була навіть нижчою ніж токсичність (Z)-*N*-[5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]морфолін-4-сульфонаміду, який було визнано неперспективним для вивчення протиракової активності. Цей факт збільшує шанси на використання у майбутньому досліджуваних гідантоїнових сульфамідів як лікарських засобів.

Порівняння протиракової ефективності *N*-[5-(дихлорометилен)-2-оксоімідазолідин-4-іліден]сульфамідів сульфамідів із відомими протираковими препаратами показало лише помірну кореляцію, таким чином, механізм дії таких сульфамідів в подальшому потребує окремого вивчення.

Ключові слова: *N*-карбамоїл-ADAN, іміногідантоїни, сульфонаміди, трифлуорометилдіазирини, протівірусна активність, протиракова активність.

SUMMARY

Kornii Y. Eu. Synthesis of new iminohydantoin derivatives with antiviral and anticancer activity. – Qualifying scientific work on the rights of a manuscript.

Thesis for a scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty by specialty 102 "Chemistry" (10 – Natural sciences). – V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine. – V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine, Kyiv, 2021.

This work is devoted to the development of new approaches to the synthesis of various iminohydantoin derivatives, mainly with pharmacophore sulfamide groups, including fragments of amino acids and trifluoromethyldiazirine; and the search for new anticancer and antiviral drugs among the synthesized substances is devoted too.

By the analysis of literature data on the *N*-acyl-2-amino-3,3-dichloroacrylonitrile for the synthesis of various heterocyclic structures using, it was found that cyclizations with the participation of *N*-carbamoyl-2-amino-3,3-dichloroacrylonitrile, which lead to the formation of imidazolidinone derivatives, was investigated by only a few examples. These transformations could be a convenient tool for obtaining various derivatives of iminohydantoin with (which is extremely important for further practical use) a high functionalization. The synthetic developments in this branch of heterocyclic chemistry were the main purpose of this work.

Before our study, only a few derivatives of *N*-carbamoyl-2-amino-3,3-dichloroacrylonitrile were known, and their preparation is not a trivial task. We have shown that their synthesis by the interaction of 2-amino-3,3-dichloroacrylonitrile (ADAN) with active derivatives of carbonic acid is preparative, at least in the case of phenylisocyanate. ADAN doesn't react with isothiocyanate at room temperature, and

the heating causes mixture degradation. The acylation of ADAN with dialkylaminocarbonylchlorides (inaccessible reagents) is too slow, and ADAN begins to decompose long before an acceptable conversion is reached. But ADAN reacts well with polyfunctional derivatives (2-chloroethyl- and 3-chloropropylisocyanates) to form the corresponding ureas in high yields. Unfortunately, the subsequent heterocyclization accompanied by difficulties. The addition of a base to such ureas caused a partial degradation of the reaction mixture; however, chromatographically, it was still possible to isolate the main product. In the case of the chloropropyl derivative, after short-term reflux in the presence of a base, 1-(3-chloropropyl)-4-(dichloromethylene)-5-imino-imidazolidin-2-one was obtained. The chloroethyl derivative also quickly cyclized to 1-(2-chloroethyl)-4-(dichloromethylene)-5-iminoimidazolidin-2-one, but the reaction didn't stop there: prolonged reflux led to the unexpected product (3-(dichloromethylene)-5,6-dihydroimidazo[2,1-*b*]oxazole-2(3*H*)imine) formation. To prove the structure of the aforementioned products, two-dimensional heteronuclear correlations in the NMR spectra were used.

N-(2,2-Dichloro-1-cyanoethenyl)ureas with one or two methyl substituents in the *N'* position are optimally synthesized starting from the condensation of chloral and the corresponding urea followed by the connection of a nitrile group by the action of silyl cyanide. We have found that the direction of cyclization of such ureas depends on the nature of the amine, which was added for cyclization. Treatment of 1-(2,2-dichloro-1-cyanoethenyl)-3-(di)methylureas with amine in methanol solution in the presence of Et₃N led to 2,5-diaminooxazoles forming in trace amounts. As a result of applying the thermodynamic control conditions to this transformation in the case of morpholine and piperazine derivatives action on 1-(2,2-dichloro-1-cyanoethenyl)-3-(di)methylureas, we achieved to increase 2,5-diamino-4-cyano-oxazoles yields to satisfactory level. However, when 1-(2,2-dichloro-1-cyanoethenyl)-3-methylurea was treated with the excess of benzylamines, heterocyclization occurred in a different way, with two equivalents of amine participation and the 4,5-di(benzylamino)-1-methyl-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ones formation. The structure of the last ones was unambiguously proved by X-ray structural analysis using.

Chlorosulfonyl isocyanate is one of the few carbonic acid derivatives that was caused the effectively acylation of the amino group of ADAN. The scheme of their interaction is more complex than the acylation of ADAN, for example, with phenyl isocyanate: when ADAN is treated with chlorosulfonyl isocyanate it isn't possible to stop at the urea stage, and heterocyclization occurs immediately in the reaction mixture without addition of a base. The actual heterocyclization also occurs according to a complex order, and the chlorosulfonyl group turns out to be attached not to the endocyclic Nitrogen atom of the heterocycle, but to the exocyclic Nitrogen atom of the imino group. The (5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene)sulfamoyl chloride, which was formed in such manner, is relatively stable (despite the significant amount of polar reaction fragments): in an argon atmosphere at 0 °C it can be stored for a rather long time.

As a result of studying the (5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene)sulfamoyl chloride interaction with amines, it was shown that the corresponding sulfamides can be obtained with the participation of various amines: simple aliphatic amines, cyclobutylamine, benzylamines and tryptamines, saturated cyclic secondary amines; this reaction will be effective also for esters of natural and synthetic amino acids, ammonia, as well as *N*-Boc-guanidine. The proving of the obtained sulfonamides structure was complicated by the large number of heteroatomic groups, which are ambiguously identified by spectral techniques, so X-ray analysis of the morpholine derivative was used. (5-(Dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene) sulfamides demonstrate the ability to further chemical modifications. Three types of transformations were successful: hydrolysis of the ester group, removal of the Boc-protection, and selective monomethylation of the Nitrogen atom of the imidazolone fragment.

To connect a photosensitive trifluoromethyldiazirine fragment into the basic structure of (5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene)sulfamides, we developed the following synthetic scheme. Commercially available *N*-Boc derivatives of azetidine, pyrrolidine, and piperidine with an alcohol group (linked to the ring at different positions either directly or through the methylene unit) were successively converted using standard reactions into: 1) aldehydes (by Swern reaction)

2) trifluoroethanol derivatives (due to condensation with trifluoromethyltrimethylsilane) 3) trifluoromethyl ketones (oxidation with the Dess – Martin periodinane) 4) oximes and *O*-tosyl(mesyl)oximes; 5) diaziridine (according to the one-pot method through the stage of diaziridine formation). The structure of was unambiguously confirmed by X-ray analysis of 3-(3-(trifluoro)methyl)-3*H*-diazirin-3-yl)azetidide and 2-(3-(trifluoromethyl)-3*H*-diazirin-3-yl)pyrrolidine. The synthesized amines with a trifluoromethyldiazirine fragment reacted with (5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene)sulfamoyl chloride in THF in the presence of 2 equiv of Et₃N at a low temperature and a reagent ratio of 1 : 1, forming the corresponding (5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene)sulfamides with trifluoromethyldiazirine substituent in the amino component.

To study the diazirins potential interaction with the medium, we conducted a photochemical experiment with the participation of a model compound – 1-tosyl-4-(3-(trifluoromethyl)-3*H*-diazirin-3-yl)piperidine. It was found that two possible ways of transformation were realized for the created carbene: the isomerization into alkene – 1-tosyl-4-(2,2,2-trifluoroethylidene)piperidine (when the alcohol solution was treated by 350 nm irradiation), or the intercalation into OH-bond (on 310 nm irradiation not only the alkene, but the small amount of 1-tosyl-4-(2,2,2-trifluoro-1-methoxyethyl)piperidine was formed). Thus, the carbenoids obtained by irradiation of such aziridines can indeed wedge in the bonds of the molecules of the medium, which makes their further investigation as photomarkers worthwhile.

By investigation of the antiviral activity of *N*-[5(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene]sulfamides, it was found that (*Z*)-*N*-[5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene]-*N'*-cyclobutylsulfamide and (*Z*)-1-([5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene]sulfamoyl)piperidine-4-carboxylic acid are the more active compound against *Human polyomavirus 1* (Gardner strain). (*Z*)-*N*-[5-(Dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene]-*N'*-(4-methoxyphenyl)sulfamide, *tert*-butyl ester of (*Z*)-4-(*N*-(5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene)sulfamoyl)piperazine-1-carboxylic acid, methyl ester of (*Z*)-4-(*N*-(5-dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene)sulfamoyl)piperidine-3-carboxylic acid and methyl ester of (*Z*)-4-(*N*-(5-dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-

ylidene)sulfamoyl)azetidine-3-carboxylic acid were active against the strain AD169 of *Human cytomegalovirus 1*. The two last compounds also significantly suppressed the growth of the *Human cytomegalovirus* GDGr K17 strain.

The indexes of the *N*-[5-(dichloromethylene)-2-oxo-imidazolidin-4-ylidene]-sulfamides anticancer activity also demonstrated significantly dependent on the nature of the amine residue. For example, it was found that the derivatives of unsubstituted benzylamines and 4-chlorobenzylamine are inactive, but the appearance of the electron-donor group (methyl or, expressly, methoxy) in the *para*-position of the benzyl substituent increases anticancer activity significantly. The tryptamine and *N*-Boc-piperazine derivatives are moderately active. The most effective inhibitors of the cancer cells growth can be divided into two groups: 1) sulfamides based on benzylmethylamine and alylmethylamine; 2) piperidine and methylisonipeotate sulfamides.

Establishment of *in vivo* general toxicity shown that the ethyl ester of (*Z*)-1-{{5-(dichloromethylene)-2-oxoimidazolidin-4-ylidene}sulfamoyl}piperidine-4-carboxylic acid (a compound with one of the highest anticancer activity) can be classified as low-toxic. The toxicity of this substance was even lesser than the toxicity of (*Z*)-*N*-[5-(dichloromethylene)-2-oxo-imidazolidin-4-ylidene]morpholine-4-sulfonamide, which was found to be unpromising for the study of anticancer activity. This fact increases the chances of future using of the investigated hydantoin sulfamides as drugs.

Comparison of the *N*-[5-(dichloromethylene)-2-oxo-imidazolidin-4-ylidene]-sulfamides anticancer efficiency with known anticancer drugs showed only a moderate correlation, thus, the mechanism of action of such sulfonamides requires a separate study in the future.

Keywords: *N*-carbamoyl-ADAN, iminohydantoins, sulfonamides, trifluoromethyldiazirins, antiviral activity, anticancer activity.