МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Алексеев Александр Александрович

Синтез и биотестирование новых антигипотензивных, нейропротекторных и противоопухолевых агентов на основе циклических изотиомочевин

02.00.16 — Медицинская химия
02.00.03 — Органическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научные руководители:
доктор химических наук, доцент
Зефирова Ольга Николаевна
кандидат химических наук
Нуриева Евгения Владимировна

Москва – 2022

Оглавление

Оглавление 2

Список используемых сокращений 3

Введение 4

1. Обзор литературы 8

Циклические изотиомочевины в дизайне лекарственных препаратов 8

1.1. Введение фрагмента циклической изотиомочевины в структуру соединения-лидера в процессе его оптимизации 8

1.1.1. Дизайн ингибиторов различных изоформ синтазы оксида азота 10

1.1.2. Дизайн ингибиторов фермента β-секретазы BACE1 14

1.1.3. Другие примеры использования базовых стратегий оптимизации соединений-лидеров 20

1.1.4. Прочие примеры получения структур потенциальных лекарственных веществ с фрагментами циклических изотиомочевин 25

2. Обсуждение результатов 28

2.1. *Создание антишоковых агентов пролонгированного действия на основе циклических изотиомочевин* 28

2.1.1. Синтез бициклических аналогов 2-амино-2-тиазолина 29

2.1.2. Разработка препаративного метода синтеза 2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина и его производных 37

2.1.3. Изучение возможности синтеза трициклических (каркасных) изотиомочевин 40

2.1.4. Результаты биотестирования серий аннелированных и мостиковых изотиомочевин 48

2.2. *Разработка противоопухолевых агентов с фрагментами бициклических изотиомочевин* .51

2.2.1. Аналоги верубулина на основе замещенных бициклических изотиомочевин 52

2.2.2. Бициклические изотиомочевины для синтеза конъюгатов с подофиллотоксином и колхицином 56

2.3. *Конформационно ограниченные аналоги N,N-дизамещенных 2-аминотиазолинов как потенциальные нейропротекторные агенты* 60

3. Экспериментальная часть 66

Заключение и выводы 112

4. Список литературы 114

Список используемых сокращений

AChE – ацетилхолинэстераза
AIBN – азобисизобутиронитрил
BACE1 – фермент, расщепляющий белок-предшественник бета-амилоида, бета-секретаза-1
BChE – бутирилхолинэстераза
CaE – карбоксилэстераза
CB2 – каннабиноидный рецептор подтипа 2
CBz – бензиловый эфир хлормуравьиной кислоты
CDI – N, N'-карбонилдиимидазол
CP – параметры складчатости Кремера – Попла
DBU – 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен
EDCI – 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимида гидрохлорид
EEDQ – N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин
HATU – (1-[бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний-3-оксид гексафторфосфат
HOBT – 1-гидроксибензотриазол
M2 – matrix-2 протонный канал вируса гриппа А
MALDI – матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация
MCF-10A – эпителиальные клетки молочной железы MCF-10A неопухолевой этиологии
MLL – белок острого лимфобластного лейкоза
mTORC2 – второй белковый комплекс мишени рапамицина млекопитающих
NBS – N-бромсукцинимид
NK1 – рецептор нейрокинина 1
NMO – N-оксид N-метилморфолина
NOESY – спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера
NOS – синтаза оксида азота
NPY Y5 – нейропептидный рецептор Y подтип Y5
TFA – трифторуксусная кислота
TPAP – перрутенат тетрапропиламмония
ZP – параметры складчатости Зефирова – Палюлина
ГАМК – γ- аминомасляная кислота
ДАД – диастолическое артериальное давление
ДМАП - 4-Диметиламинопиридин
ДМСО - диметисульфоксид
ДМФА – N, N-диметилформамид
ДФФА – дифенилфосфорилазид
ИК – инфракрасная спектроскопия
ЛПС – липополисахарид
МСВР – масс-спектрометрия высокого разрешения
МТ – микротрубочки
САД – систолическое артериальное давление
ТГФ – тетрагидрофуран
ТСХ – тонкослойная хроматография
ЧСС – частота сердечных сокращений
ЭКГ – электрокардиогра́фия
ЭИ – ионизация электронным ударом
ЭСИ – электроспрей-ионизация
ЯМР – ядерный магнитный резонанс

Введение

Актуальность темы исследования. Заболевания, связанные с возникновением злокачественных опухолей, относятся к числу социально значимых во многих странах мира. Неуклонный рост числа таких заболеваний в сочетании с высокой общей токсичностью клинически используемых препаратов вызывает постоянную необходимость в разработке новых эффективных и селективных противоопухолевых агентов и требует нестандартных идей в ходе дизайна их структур. Неизменно актуальной остается, и задача создания нейропротекторных агентов для лечения миллионов больных болезнью Альцгеймера, а также антигипотензивных препаратов для коррекции вызванных токсичными веществами или действием радиации шоковых состояний, которые сопровождаются нарушением жизненно важных функций дыхания и системы кровообращения. Число клинически используемых низкомолекулярных препаратов с подобными типами активности невелико, что делает важной задачу дизайна новых молекул с нейропротекторным и антишоковым действием и разработки подходов к их синтетической реализации. Попытка создания соединений с указанными типами активности на основе относительно малоизученного в медхимических работах структурного типа циклических изотиомочевин и вошла в круг решаемых в настоящей работе задач.

Степень разработанности темы диссертации. В диссертационной работе представлен обзор литературных данных о применении в ходе разработки лекарственных веществ фрагмента циклических изотиомочевин с эндоциклическим атомом серы за период с 1970-х годов до 2021 года включительно, с учетом только тех работ, в которых присутствовало указание на конкретную молекулярную мишень действия разрабатываемых соединений. Также проанализированы синтетические подходы, используемые для получения веществ, содержащих указанные группировки. Анализ литературных данных показывает, что циклические изотиомочевины с эндоциклическим атомом серы относительно редко применяют для направленного создания структур с заданной биологической активностью, хотя такой фрагмент содержится в структурах ряда клинически используемых лекарств и кандидатов в лекарство, находящихся на различных этапах доклинических испытаний. Это делает интересной и важной задачу расширения числа примеров использования циклических изотиомочевин в дизайне лекарственных веществ.

Целью настоящей работы являлся молекулярный дизайн и синтез новых серий веществ на основе производных циклических изотиомочевин, действующих на такие молекулярные мишени, как фермент синтаза оксида азота, белок тубулин и фермент бутирилхолинэстераза.

В соответствии с указанной целью в работе были поставлены следующие **задачи:**

- с помощью разнообразных приемов молекулярного дизайна предложить пути оптимизации заданных структурных прототипов (соединений-лидеров) – лигандов синтазы оксида азота, тубулина и бутирилхолинэстеразы;
- разработать синтетические подходы и препаративно удобные методики для получения целевых структур, изучить особенности протекания реакций и установить строение всех ранее не описанных соединений;
- проанализировать соотношения *структура – активность* для всех полученных и протестированных соединений с целью выявления их возможных сравнительных преимуществ.

Объекты и предметы исследования:

- моно, би- и трициклические изотиомочевины;
- реакции внутримолекулярной циклизации с образованием циклических изотиомочевин;
- ингибиторы синтазы оксида азота (преимущественно индуцибельной изоформы, в меньшей степени – эндотелиальной изоформы);
- лиганды колхицинового сайта связывания тубулина;
- ингибиторы бутирилхолинэстеразы.

Методология и методы исследования. В работе использованы классические методы молекулярного дизайна лекарственных веществ, а также их разновидности, предложенные ранее в лаборатории медицинской химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова. Схемы синтеза исходных и целевых веществ разрабатывались на основе анализа литературных данных. Структура и состав синтезированных соединений доказаны с помощью комплекса физико-химических методов: ЯМР спектроскопии на ядрах ^{1}H и ^{13}C и масс-спектрометрии, а в некоторых случаях – и с помощью данных ИК спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и элементного анализа. Компьютерное молекулярное моделирование проведено в соответствии со стандартными протоколами, используемыми в лаборатории медицинской химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Научная новизна. Впервые обнаружено необычное взаимодействие N-(*эндо*-бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-ил)-N’-(*трет*-бутил)тиомочевины с бромом с протеканием внутримолекулярной циклизации не по атому серы, а по атому азота предварительно окисленной до мочевины тиомочевинной группировки. Продукт реакции принадлежит к новому структурному типу каркасных производных мочевины. Впервые изучена реакция N-[(*эндо*-3-бицикло[3.3.1]нон-6-енил)метил]-N’-(*трет*-бутил)-тиомочевины с йодом в присутствии ^{t}BuOOH или K_2CO_3 и выделены продукты внутримолекулярной циклизации с 4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекановым ядром. Впервые проведен синтез серии аналогов верубулина, полученных путем замены его метилхиназолиновой группировки фрагментом

циклической изотиомочевины, аннелированной с различными алициклами. Реализован синтез новой серии бициклических аналогов N,N-дизамещенных 2-аминотиазолинов с ингибирующей активностью по отношению к бутирилхолинэстеразе.

Теоретическая и практическая значимость работы. В настоящем исследовании предложена эффективная схема синтеза бициклических изотиомочевин, применение которой позволяет нарабатывать целевые вещества в препаративных количествах. С помощью указанной схемы получена серия аналогов известных ингибиторов синтазы оксида азота, два из которых продемонстрировали выраженное антигипотензивное действие на модели эндотоксического шока *in vivo* с большей продолжительностью по сравнению с прототипами. Для синтезированного в работе аналога верубулина – (±)-(3aR,8aS)-N-(4-Метоксифенил)-N-метил-3a,5,6,7,8,8a-гексагидро-4H-циклогепта[d]тиазол-2-амина гидробромида – в концентрации 10мкМ продемонстрирована выраженная антимитотическая активность по отношению к клеткам карциномы A549, не связанная с воздействием на тубулин. Метод ограничения конформационной подвижности и гомологизации, примененный в работе для модификации известных соединений структурного класса N,N-дизамещенных 2-аминотиазолинов позволил получить их аналоги с улучшенными характеристиками – большей ингибиторной активностью по отношению к бутирилхолинэстеразе и меньшей цитотоксичностью.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Препаративно удобным способом синтеза бициклических (аннелированных и мостиковых) изотиомочевин является внутримолекулярная циклизация производных N-циклоалкенил-тиомочевин с участием электрофильного реагента, а полученные этим способом (±)-(3aR,7aS)-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина и (±)-(1R,5R,8R)-3-амино-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-8-ол обладают антигипотензивным действием на модели эндотоксического шока *in vivo*.
- В реакции N-(*эндо*-бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-ил)-N'-(*трет*-бутил)тиомочевины с бромом образуется (±)-(1R,3R,4S,6R,8S)-4-бромо-N-*трет*-бутил-2-азатрицикло[4.3.1.$0^{3,8}$]декан-2-карбоксамид, а в реакции N-[(*эндо*-3-бицикло[3.3.1]нон-6-енил)метил]-N'-(*трет*-бутил)-тиомочевины с йодом в присутствии ^{t}BuOOH или K_2CO_3 образуются продукты внутримолекулярной циклизации с 4-азатрицикло[4.3.1.$1^{3,8}$]ундекановым ядром.
- (±)-(3aR,8aS)-N-(4-Метоксифенил)-N-метил-3a,5,6,7,8,8a-гексагидро-4H-циклогепта[d]тиазол-2-амина гидробромид в концентрации 10мкМ обладает антимитотическим действием на опухолевые клетки A549 без воздействия на сеть их микротрубочек.
- В субмикромолярном интервале концентраций N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-2-амино-2-тиазолины с *цис*-аннелированным пяти-, шести- или семичленным алициклом

ингибируют бутирилхолинэстеразу и не ингибируют ацетилхолинэстеразу.

Достоверность. Достоверность полученных результатов подтверждается систематической воспроизводимостью полученных экспериментальных данных, их верификацией, согласованностью полученных выводов с литературными источниками, использованием современных физико-химических методов анализа.

Личный вклад автора. Автором проведен поиск и анализ литературных данных с последующей систематизацией в литературном обзоре. Лично выполнен синтез всех описанных веществ, проведены обработка и интерпретация полученных физико-химических, а также анализ данных биотестирования. Автор принимал участие в разработке всех синтетических схем, а также в формировании и подготовке материалов к публикации в научных журналах и представлении докладов по тематике диссертационной работы на конференциях.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, в том числе 6 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI) и рекомендованных в диссертационном совете МГУ по специальности 02.00.16 – “Медицинская химия” и 02.00.03 – “Органическая химия”, и 11 тезисов докладов на российских и международных конференциях. Во всех работах вклад автора является определяющим.

Апробация работы. Основные результаты были представлены в виде стендовых и устных докладов на следующих конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2020", "Ломоносов-2021", "Ломоносов-2022", VIII Молодежная конференция ИОХ РАН (Москва 2019); Пятая международная научная конференция, “Advances in synthesis and complexing” (Москва, 2019); XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019); 4-я Всероссийская конференция по медицинской химии с международным участием “MedChem Russia”, (Екатеринбург, 2019); II Научная конференция молодых ученых с международным участием “Актуальные исследования в фармакологии” (Москва, 2021); 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием “МедХим-Россия 2021” (Волгоград, 2022).

Объем и структура диссертации: Диссертационная работа состоит из следующих разделов: введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 127 страницах машинописного текста, содержит 44 рисунка, 35 схем химических реакций и 3 таблицы. Список литературы включает 124 наименования.

1. Обзор литературы

Циклические изотиомочевины в дизайне лекарственных препаратов[1]

В ходе дизайна структур лекарственных веществ используются самые разнообразные ароматические и неароматические гетероциклические группировки. Циклические изотиомочевины с эндоциклическим атомом серы принадлежат к числу тех гетероциклов, которые относительно редко применяют для этой цели, хотя такой фрагмент содержится в структурах некоторых клинически используемых лекарств и кандидатов в лекарство, находящихся на различных этапах доклинических испытаний (рис. 1).

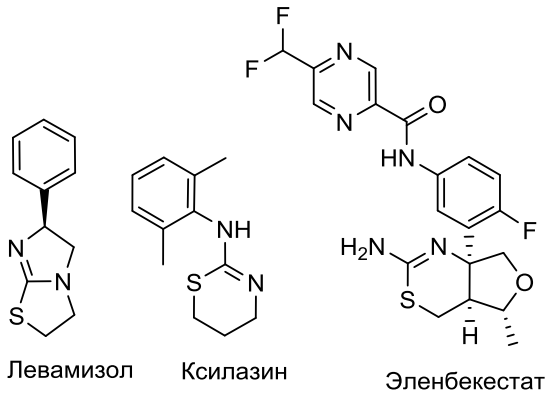


Рисунок 1. Клинически используемые производные циклических изотиомочевин.

В настоящем обзоре представлены обобщенные литературные данные о применении фрагмента циклических изотиомочевин с эндоциклическим атомом серы в ходе разработки лекарств за период с 1970-х годов до настоящего времени с учетом только тех работ, в которых присутствовало указание на конкретную молекулярную мишень действия разрабатываемых соединений. Также обсуждены синтетические подходы, используемые для получения целевых соединений с фрагментами циклических и бициклических изотиомочевин.

1.1. Введение фрагмента циклической изотиомочевины в структуру соединения-лидера в процессе его оптимизации

Анализ литературы выявляет три общие стратегии, которые приводят к появлению фрагмента циклической изотиомочевины в структуре разрабатываемого лекарства. Первый — это конформационное ограничение исходной молекулы, содержащей изотиомочевинный (или изостерический ему) фрагмент (путь 1, рис. 2). Такая модификация приводит к

[1] При работе над данным разделом использованы материалы следующей публикации автора: Nurieva, E.V; Alexeev, A. A; Zefirova, O.N. Cyclic Isothiourea in Drug Design. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, **2021**, *57* (9), 889-899.

соответствующим пяти-, шести- и семичленным циклическим группировкам. Вторая и третья стратегии представляют собой классическую биоизостерическую замену гетероатомов в неароматических гетероциклах (путь 2, рис. 2) и неклассическую биоизостерическую замену ароматического (часто тиазольного) цикла его неплоским аналогом (путь 3, рис. 2).

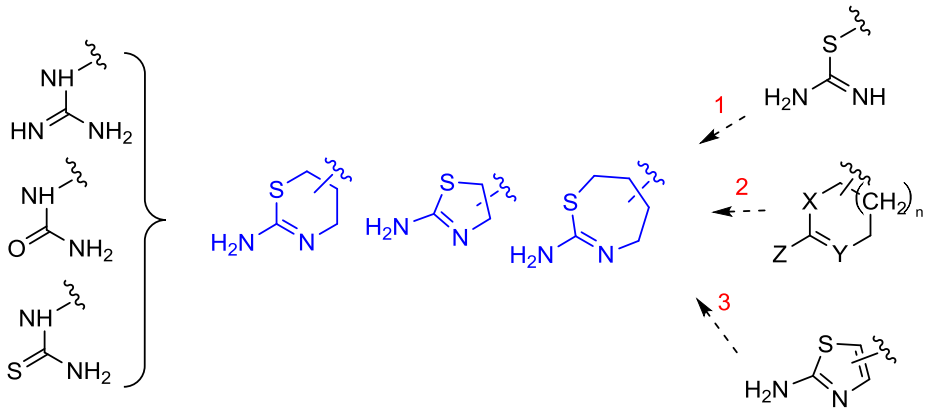


Рисунок 2. Схематическое изображение основных вариантов дизайна, ведущих к появлению фрагмента циклической изотиомочевины в структуре лекарства.

Хотя полученные с использованием этих подходов циклические изотиомочевины сильно различаются по структуре, их синтез в большинстве случаев реализуется с помощью трех основных схем (схема 1). Первый путь включает в себя взаимодействие аминоалкилгалогенида с неорганическими тиоцианатами и последующую внутримолекулярную циклизацию полученного аминоалкилтиоцианата (путь 1, схема 1). Аминосодержащий субстрат для реакции замещения может содержать различные уходящие группы (галогены, тозилат и т.д.).

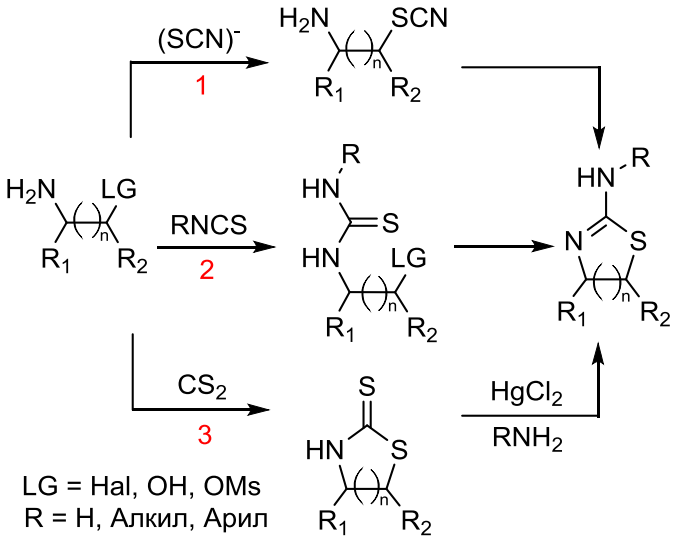


Схема 1. Общие подходы, используемые для синтеза циклических изотиомочевин.

Второй синтетический подход включает в себя реакцию амина с ацилирующим

агентом, таким как алкил, арил или ацилизотиоцианат, с последующей циклизацией, полученной тиомочевины при нагревании со специальными реагентами или без них (путь 2, схема 1). Синтез целевых циклических структур по пути 3 (схема 1) предполагает проведение реакции аминоспирта, галогенида или других подходящих реагентов с сероуглеродом с образованием гетероциклического фрагмента с тиокарбонильной группой. Замещение последней аммиаком или амином в присутствии металлов, образующих комплексы с серой (солей меди или ртути), дает желаемый 2-аминозамещенный гетероцикл.

Следует отметить, что помимо исследований, представляющих основные стратегии конструирования и синтеза циклических изотиомочевин (изображенные на рисунке 2 и схеме 1), в литературе встречаются работы с описанием других подходов к введению фрагмента изотиомочевины в структуры соединений-лидеров в ходе их оптимизации, а также другие способы и методы их синтеза (примеры см. далее в тексте).

1.1.1. Дизайн ингибиторов различных изоформ синтазы оксида азота

Многочисленные серии циклических изотиомочевин были получены с использованием каждой из трех основных стратегий дизайна (рис. 2) для создания ингибиторов фермента синтазы оксида азота (NOS). Этот фермент присутствует в клетках практически всех типов тканей, и по типу экспрессии разделяется на три изоформы. Эндотелиальная (*e*NOS) и нейрональная (*n*NOS) изоформы экспрессируются в организме постоянно, в то время как индуцибельная изоформа синтазы оксида азота (*i*NOS) синтезируется в ответ на определенное внешнее воздействие на клетку [1–3]. *i*NOS представляет значительный интерес как молекулярная мишень для ингибирования при создании антигипотензивных, антишоковых и радиопротекторных агентов [1–3].

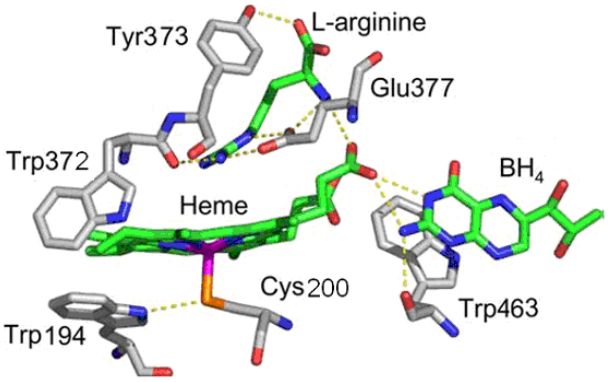


Рисунок 3. Строение оксидазного домена iNOS с субстратом – L-аргинином по данным рентгеноструктурного анализа [5].

Структурно все изоформы синтаз оксида азота представляют собой димерные белки, каждая субъединица которых имеет редуктазный и оксидазный домены [4]. Пространственное расположение основных аминокислот в оксидазном домене в активном центре *i*NOS (определенное с помощью данных рентгеноструктурного анализа [5]) представлено на рисунке 3. Субстратом NOS является аминокислота L-аргинин (**1**). Как видно из рисунка, основную роль в связывании субстрата (L-аргинина)

играют аминокислотные остатки Glu377 и Trp372. При этом образуются важные водородные связи между карбонильной группой триптофана и протоном одной из аминогрупп гуанидинового заместителя L-аргинина, а также между карбонильными группами глутаминовой кислоты и двумя протонами субстрата. Атом железа гема также образует водородную связь с L-аргинином [5]. Основную сложность в создании структур ингибиторов синтаз оксида азота представляет проблема, связанная с селективностью по отношению к конкретной изоформе фермента, поскольку строение активных центров всех трех изоформ NOS практически идентично. Тем не менее, к настоящему моменту описаны многие примеры активных и селективных ингибиторов NOS.

Изостерическая замена гуанидинового фрагмента в молекуле L-аргинина привела к многочисленным сериям его аналогов, включая замещенные изотиомочевины общей формулы **2** (рис. 4) [6,7].

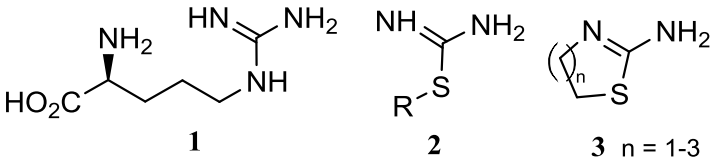


Рисунок 4. Строение L-аргинина (**1**) и его изостеров (**2**) и их конформационно ограниченных аналогов (**3**).

Конформационное ограничение молекулы **2** путем частичного включения ее в цикл привело к образованию соответствующих S, N-гетероциклов **3** (n=1–3, рис. 4). 2-Амино-2-тиазолин (**3**, n=1), 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазин (**3**, n=2) были синтезированы с помощью циклизации соответствующих аминоалкилгалогенидов под действием изотиоцианат-аниона (схема 2) [7,8].

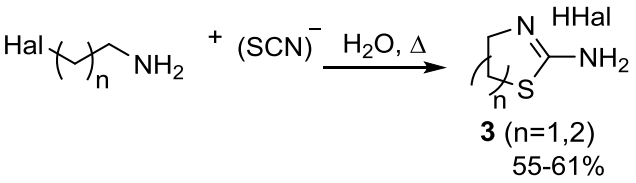


Схема 2. Синтез соединений **3** (n=1,2) по данным [8,9].

Полученные соединения **3** (n=1,2) сохранили активность исходной молекулы, и при этом приобрели некоторую селективность к индуцибельной изоформе фермента. Они продемонстрировали кратковременную, но выраженную антигипотензивную активность *in vivo* (на модели септического шока) и радиозащитные свойства [10–14]. Интересно, что семичленный аналог рассматриваемых веществ (**3**, n=3) обладал низкой ингибирующей активностью по отношению ко всем изоформам NOS [15].

Для улучшения селективности 2-амино-2-тиазолина (**3**, n=1) и 2-амино-5,6-дигидро-

4*H*-1,3-тиазина (**3**, n=2) и увеличения их биодоступности и продолжительности действия *in vivo* структуры этих соединений модифицировали, повышая их липофильность [16–19]. Введение коротких алкильных заместителей в определенные положения тиазинового или тиазолинового циклов привело к увеличению их селективности к *i*NOS [15,17,18]. При этом для наиболее активного соединения – (4*R*,5*R*)-5-этил-2-имино-4-метил-1,3-тиазолидина **4** (ES-1537) (рис. 5) была продемонстрирована хорошая биодоступность в экспериментах *in vivo* и примерно двукратное увеличение продолжительности действия по сравнению с незамещенной молекулой [17]. Интересно, что классические и неклассические изостеры соединения **4** – 4-2-имино-1,3-оксазолидины (**5**) и 2-аминотиазолы (**6**) – проявили гораздо меньшую ингибирующую активность по отношению к *i*NOS [16,17,20].

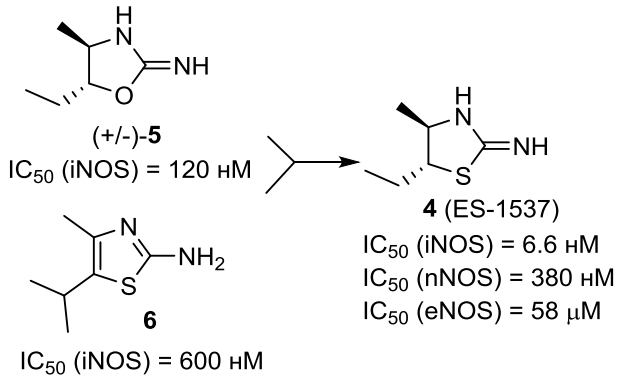


Рисунок 5. NOS-ингибирующая активность соединения **4** и его аналогов.

Синтез соединения **4** из коммерчески доступного (*R*)-2-аминопропанола представлен на схеме 3. Реакция Гриньяра для этилмагнийбромида с промежуточным N,N-дибензилированным аминопропаналем и последующее удаление бензильных защитных групп привело к (2*R*,3*S*)-2-амино-3-пентанолу.

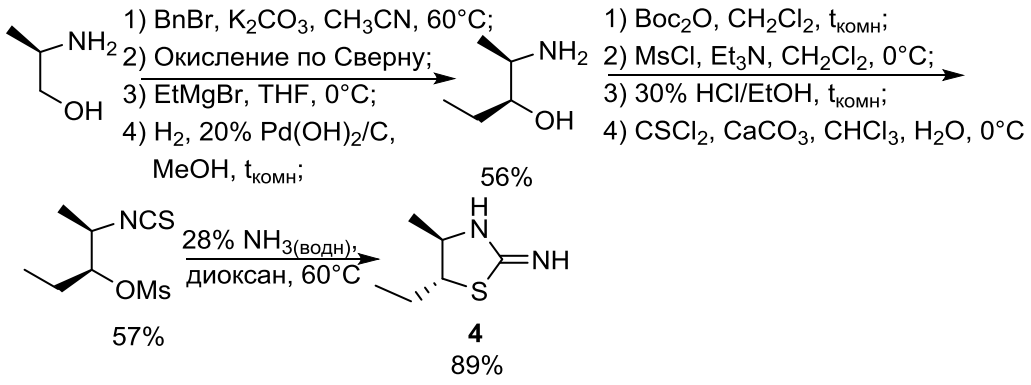


Схема 3. Синтез соединения **4** (ES-1537) по данным [17].

Далее в этом соединении последовательно защищали аминогруппу и гидроксильную группу и проводили реакцию с тиофосгеном, в результате которой получали О-мезилированный изотиоцианат. Последний обрабатывали водным раствором аммиака в диоксане,

что привело к целевому соединению **4** (общий выход из (*R*)-2-аминопропанола – 28%).

Другой способ повысить липофильность 2-амино-2-тиазолина (**3**, n=1) и 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазина (**3**, n=2) с целью еще большего пролонгирования их действия заключался во введении дополнительного цикла в моноциклическую систему и получении спиро-, аннелированной или мостиковой системы (рис. 6).

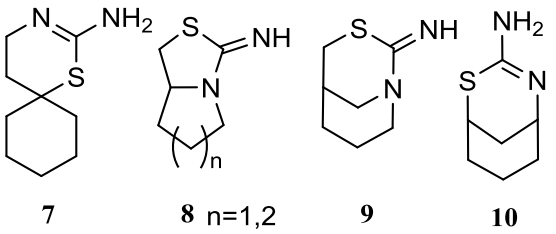


Рисунок 6. Примеры бициклических изотиомочевин, полученных в рамках работ по созданию ингибиторов синтазы оксида азота.

Спиросоединение **7**, синтезированное в две стадии из 2-(1-циклогексенил)этиламина (схема 4а), не проявило NOS-ингибирующей активности. По всей вероятности, это связано с вызываемыми дополнительным кольцом стерическими затруднениями в активном центре фермента [21].

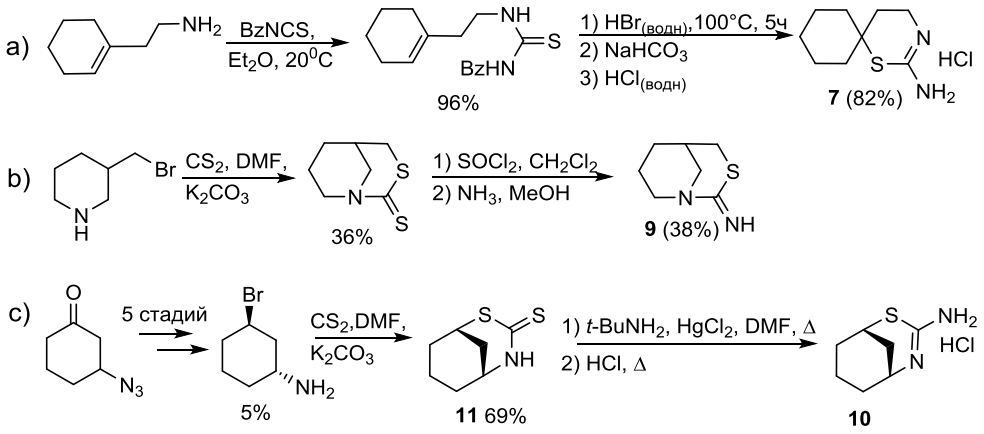


Схема 4. Синтез бициклических изотиомочевин **7**, **9** и **10** (изображенная конфигурация является относительной, так как соединения представляют собой рацемические смеси).

Аннелированные или мостиковые соединения с присоединением дополнительного цикла, затрагивающем эндоциклический атом азота исходных моноциклических изотиомочевин (например, **8** и **9**), также оказались неактивными [22,23]. В то же время их аналог **10** с другим присоединением дополнительного цикла сохранил *in vitro* ингибиторную активность исходных молекул **3** (n=1, 2). Соединение **10** существует в двух таутомерных формах, но анализ соотношений *структура – активность* указывает на то, что наиболее вероятный биоактивный таутомер имеет эндоциклическую двойную связь.

Получение соединений **7, 9** и **10** было реализовано с использованием базовых синтетических стратегий 2 и 3 (схема 1). Так, ключевыми стадиями синтеза соединения **9** стала циклизация бромметилпиперидина с CS_2 с последующим замещением экзоциклического атома серы атомом азота (схема 4b) [23]. Аналогичный путь синтеза мостикового соединения **10**, исходя из *транс*-3-бромциклогексиламина, через промежуточный тион **11**, привел к целевому продукту с очень низким общим выходом – около 2% – из-за препаративных трудностей при получении исходного амина (схема 4c) [24].

В целом, применение различных стратегий дизайна привело к нескольким производным циклических изотиомочевин с высокой ингибирующей активностью по отношению к индуцибельной изоформе синтазы оксида азота, в том числе вызывающим выраженное и пролонгированное сосудосуживающее действие в экспериментах *in vivo*.

1.1.2. Дизайн ингибиторов фермента β-секретазы BACE1

Циклические изотиомочевины принадлежат к числу основных структурных шаблонов, которые использовались в ходе разработки ингибиторов фермента β-секретазы BACE1, расщепляющего белок – предшественник бета-амилоида. Подобные соединения разрабатываются в качестве потенциальных лекарственных средств против болезни Альцгеймера [25]. Пространственное строение активного центра BACE1 было установлено с помощью рентгеноструктурного анализа, что позволило сделать определенные заключения относительно структуры ингибитора этого фермента. Так, была показана важность наличия в структуре ингибитора амидиноподобного фрагмента, обеспечивающего взаимодействие с двумя остатками аспарагина (Asp32 и Asp228) в активном центре, которые играют ключевую роль в каталитической активном фермента [26].

Анализ литературы, посвященной разработке структур ингибиторов BACE1 на основе изотиомочевин, показывает, что линейные изотиомочевины демонстрируют низкое сродство к этому ферменту [27] по сравнению с многочисленными, существенно более активными конформационно ограниченными циклическими производными аминодигидро тиазинов [28], аминотиазолинов [29] и аминотетрагидротиазепинов [30] (рис. 7).

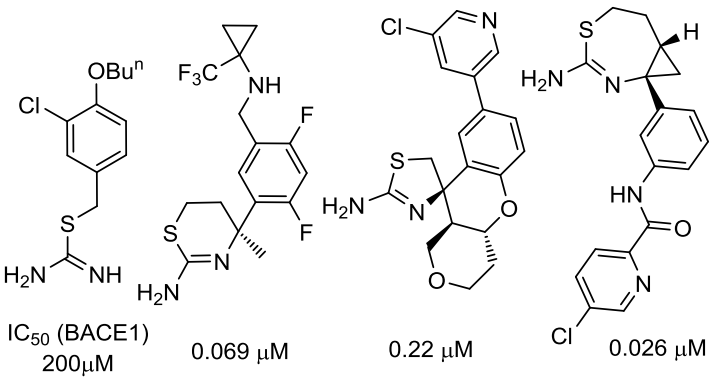


Рисунок 7. Примеры нециклических и циклических изотиомочевин – ингибиторов BACE1.

Дополнительные модификации этих соединений включали в себя как изостерические замены циклических изотиомочевин, так и введение заместителей в циклы. Например, в серии изостеров **12**–**14** с общим пирано[3,4-b]хроменовым фрагментом активность соединения **14** с остатком аминотиазолина была промежуточной в сравнении с таковыми для производных ацилгуанидина (**12**) и аминооксазолина (**13**) (рис. 8) [29].

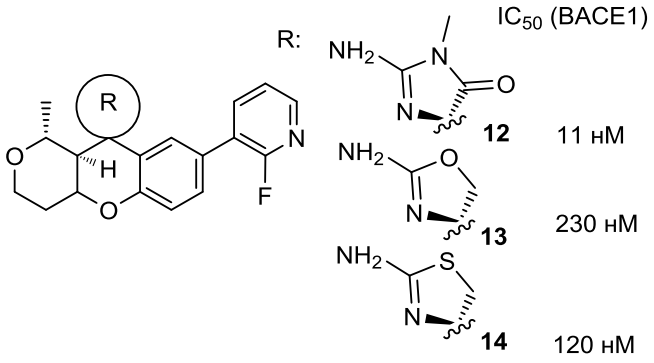


Рисунок 8. Спироциклические ингибиторы BACE1.

Многочисленные ингибиторы BACE1 с фрагментом циклической изотиомочевины представлены производными аминодигидротиазина с различными заместителями в положениях C^6 и C^4 основного ядра. Введение некоторых заместителей существенно повышает сродство к белку-мишени. Например, соединение **15** продемонстрировало чрезвычайно высокую ингибирующую активность в отношении BACE1 (IC_{50} <1 нМ) (рис. 9) [31].

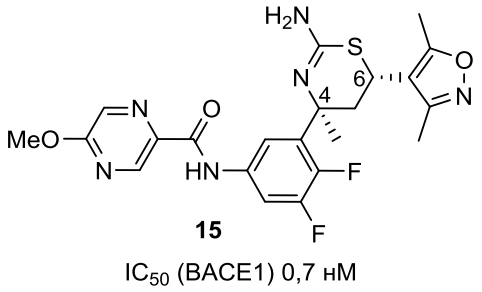


Рисунок 9. Структура одного из наиболее активных ингибиторов BACE1.

Следует отметить, что два электроноакцепторных атома фтора были введены в соседнее с дигидротиазиновым ядром ароматическое кольцо как в соединении **15**, так и в структурах

других ингибиторов BACE1 с целью снизить основность тиомочевинной группировки и улучшить проникновение через ГЭБ (что важно для лекарств против болезни Альцгеймера). Соединение **15** вызывало устойчивое снижение уровня бета-амилоидного пептида мозга в тестах *in vivo* [32,33]. Синтез соединения **15** был осуществлен с использованием общего пути 2 (схема 1) и включал внутримолекулярную циклизацию тиомочевины **17**, которую осуществляли нагреванием с соляной кислотой в диоксане (схема 5).

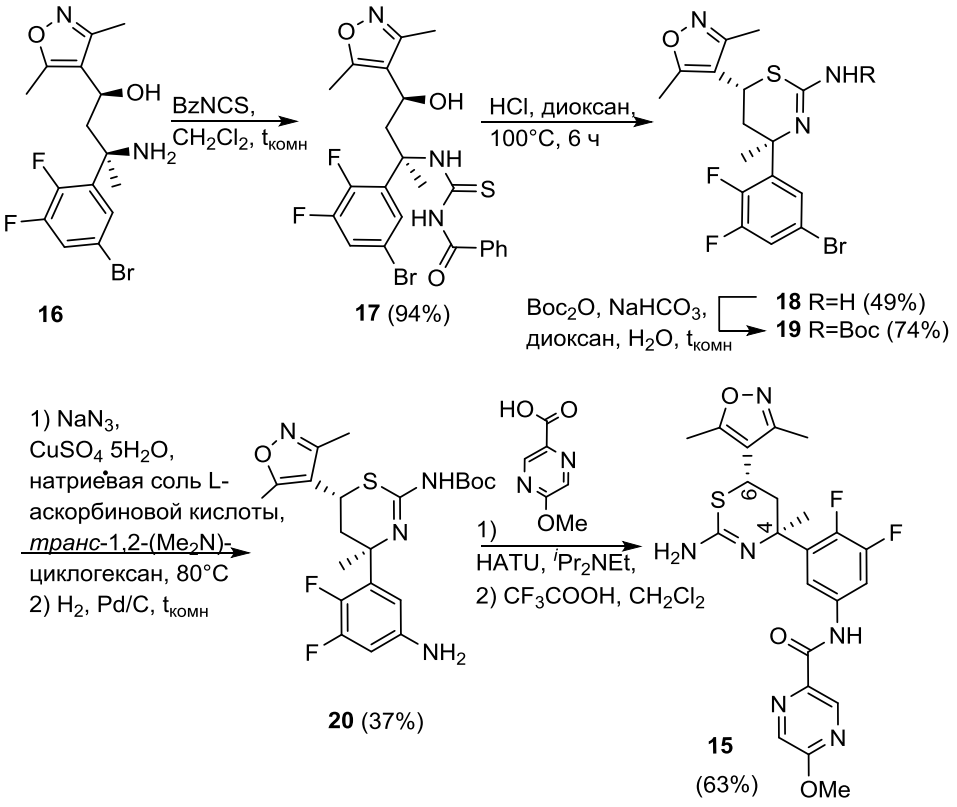


Схема 5. Синтез соединения **15** по данным [31].

При этом протекал гидролиз бензоильной группы с образованием 4,6-*транс*-аминотиазина **18**, который далее превращали в его NHBoc-производное **19**. Последующая реализация четырех стадий: катализируемого палладием азидирования, восстановления азида до амина **20**, амидирование последнего и удаление защитной группы, – привели к продукту **15** в виде единственного энантиомера (схема 5).

Целый ряд модификаций структур ингибиторов BACE1 с амино-дигидротиазиновым фрагментом был проведен с целью повышения их селективности по отношению к этому ферменту и уменьшения ингибирующего действия к гомологичной β-секретазе BACE2, катепсину D и катепсину E [34,35]. Удачным примером такой модификации может служить присоединение дополнительного цикла к 2-амино-дигидротиазиновой группировке лидера **21** с образованием спиросоединения **22** (рис. 10). Благодаря корректно подобранной с помощью молекулярного моделирования позиции дополнительного кольца

в связывающем кармане S2’ активного центра BACE1 соединение **22** проявило высокую селективность по отношению к BACE1 по сравнению с BACE2 [36]. Другой вариант использования дополнительного связывания в S2’-кармане BACE1 был реализован в работе [34], авторы которой предложили структуры би- и трициклических изотиомочевин с двумя аннелированными кольцами (**23**–**25**, рис. 11). Полученные соединения обладали высокой селективностью (на два порядка и более) к BACE1 по сравнению с катепсином D [34].

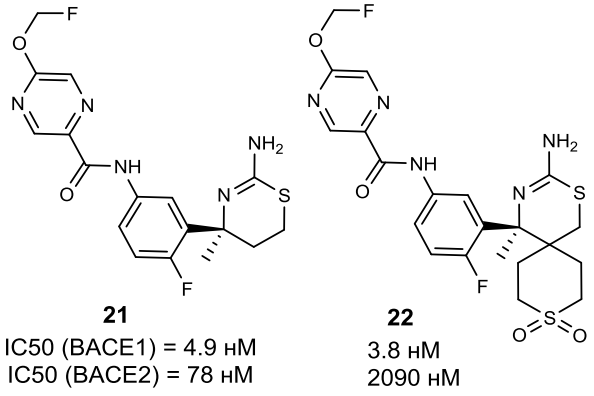


Рисунок 10. Ингибитор BACE1 **21** и его оптимизированный аналог **22**, более селективный к BACE1 по сравнению с BACE2

Отметим, что увеличение общего объема тиазин-содержащей группировки в структуре **24** за счет образования мостиковой структуры **25**, не привело к дальнейшему увеличению эффективности (ср. данные для соединений **24** и **25**) [35].

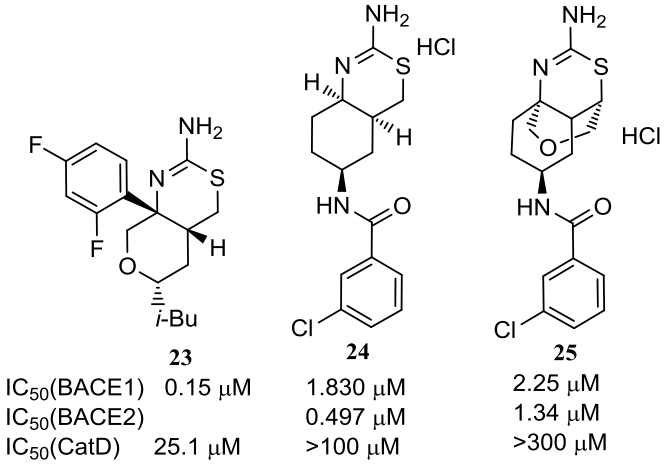


Рисунок 11. Структуры некоторых конформационно ограниченных би- и трициклических аминотиазиновых ингибиторов BACE.

Для синтеза вещества **25** (схема 6) исходный аллилкарбонат **26** обрабатывали *n*-бутиллитием, а затем проводили аллильное замещение в присутствии катализатора $Pd(PPh_3)_4$ и получали трициклический лактон **27**.

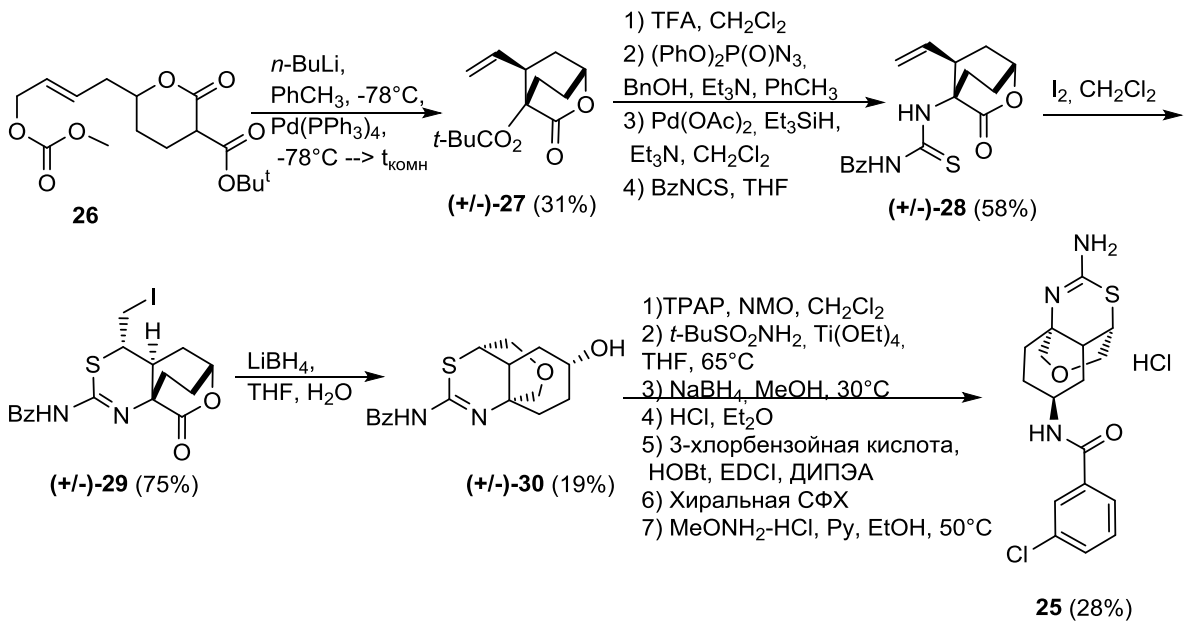
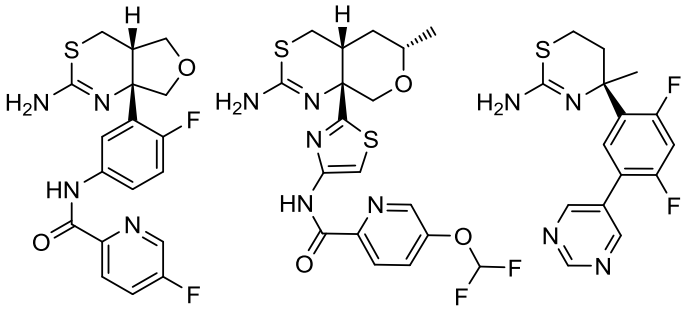


Схема 6. Синтез соединения **25** по данным [35].

Гидролиз *трет*-бутилового эфира в соединении **27** и последующая перегруппировка Курциуса давали соответствующий бензилкарбамат, а удаление группы CBz в последнем и обработка бензоилизотиоциатом приводили к тиомочевине **28**. Внутримолекулярную циклизацию в этом соединении в промежуточную изотиомочевину **29** осуществили в присутствии иода. Дальнейшее однореакторное восстановительное раскрытие лактонового цикла, и циклизация алкоксида, который, как полагают, образуется в системе *in situ*, давало требуемый трициклический каркас **30** (в виде рацемата). Последний поэтапно функционализировали до конечного продукта **25**, выделенного в виде индивидуального энантиомера с помощью хиральной сверхкритической жидкостной хроматографии.

В целом, анализ литературных данных показывает, что производные циклических изотиомочевин широко и успешно используются в ходе разработки ингибиторов фермента BACE1. Как минимум четыре таких соединения (рис. 1 и 12) были изучены в ходе клинических испытаний с участием пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера на разных стадиях [31,37–39].

Для синтеза указанных веществ были специально разработаны и оптимизированы многостадийные схемы [31,40,41].



31 (LY-2886721) **32** (PF-06751979) **33** (LY-2811376)

Рисунок 12. Препараты на основе производных циклических изотиомочевин, введенные в различные фазы клинических испытаний.

Например, получение соединения **31** включало в себя стереоселективное генерирование нитрон-циклоаддукта **34** и его последующее превращение в аминоспирт **35** с требуемой конфигурацией стереоцентров (схема 7). Аналогичное промежуточное соединение (**36**) было использовано в ходе синтеза соединения **32** (схема 8).

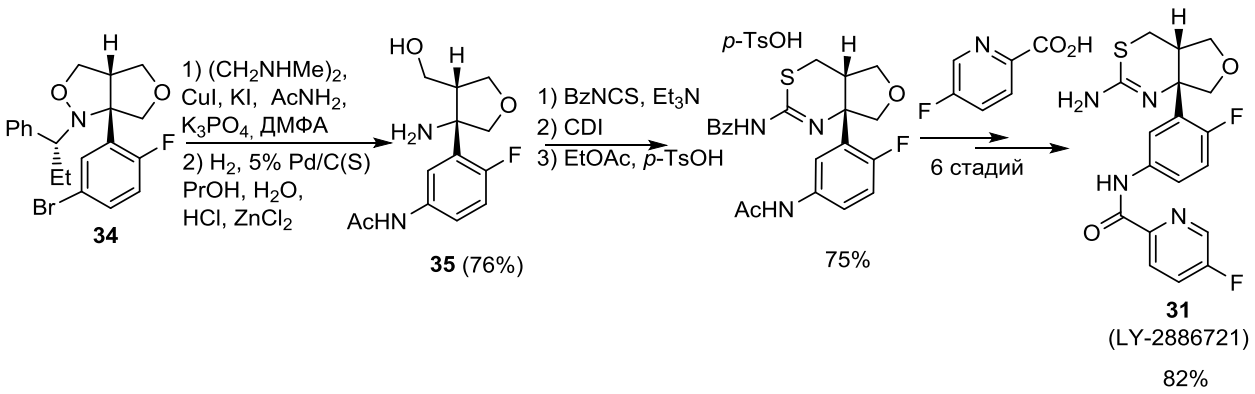


Схема 7. Фрагмент синтеза ингибитора BACE1 **31**: образование бициклической изотиомочевины с аннелированными циклами.

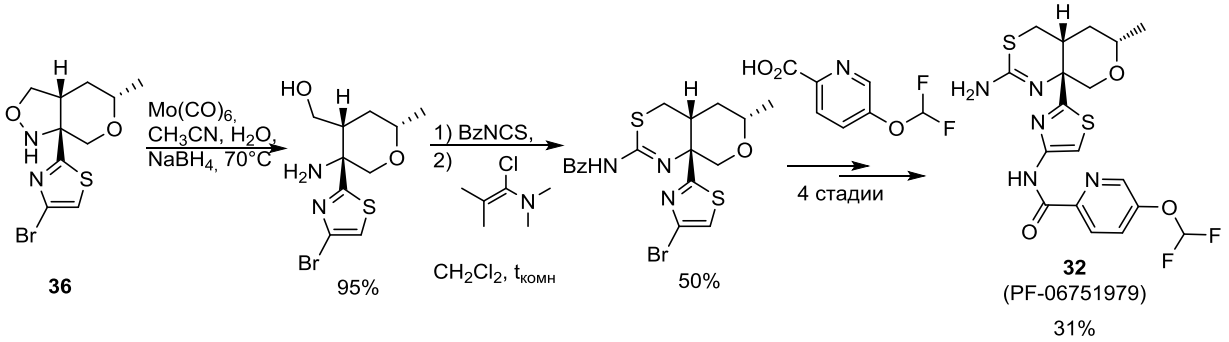


Схема 8. Фрагмент синтеза ингибитора BACE1 **32**: образование бициклической изотиомочевины с аннелированными циклами.

Суммарные выходы тестируемых в клинике ингибиторов BACE1 **31** и **32** по разработанным схемам составили 25% и 4% соответственно [40,41].

1.1.3. Другие примеры использования базовых стратегий оптимизации соединений-лидеров

Литературный поиск выявил несколько примеров, описывающих использование фрагмента циклической изотиомочевины в оптимизации соединений-лидеров, действующих на различные молекулярные мишени.

Конформационное ограничение при разработке ингибиторов -глюкоцереброзидазы или α-L-рамнозидазы. Дисфункция (дефицит) человеческой -глюкоцереброзидазы играет ключевую роль в болезни Гоше, что делает интересным дизайн ингибиторов фермента для моделирования указанного заболевания. В этих работах получали конформационно ограниченные аналоги иминосахаридов с тиомочевинной группировкой **37–39** путем введения в их структуру дополнительного цикла (соединения **40–42**). Полученные аннелированные бициклические изотиомочевины оказались существенно более активными ингибиторами фермента, чем исходные молекулы (рис. 13) [42]. Более того, соединения **40–42** демонстрировали большую селективность по отношению к β-глюкоцереброзидазе по сравнению с такими ферментами, как α-глюкозидаза, α- и β-галактозидазы и β-гексозаминидаза [42].

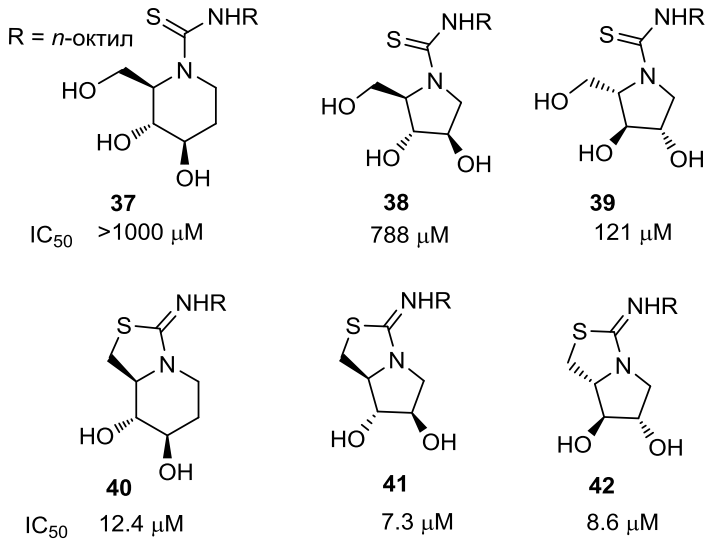
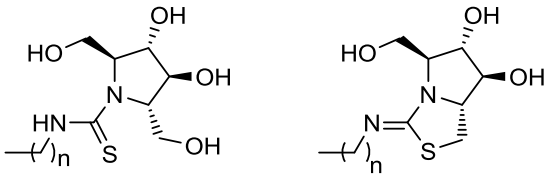


Рисунок 13. Ингибирующая активность моно- и бициклических изотиомочевин по отношению к -глюкоцереброзидазе.

Все бициклические производные 2-иминотиазолидина **40–42** были синтезированы реакцией соответствующих иминосахаров с изотиоцианатами с последующей внутримолекулярной циклизацией промежуточных тиомочевин в кислой среде (согласно общему подходу 2 на схеме 1). Отметим, что проведение циклизации для пятичленных иминосахаров требовало нагревания реакционной смеси до 70°C, в то время как

аналогичный процесс для их шестичленных аналогов протекал при комнатной температуре с образованием бициклических продуктов с выходами, близкими количественным [42].

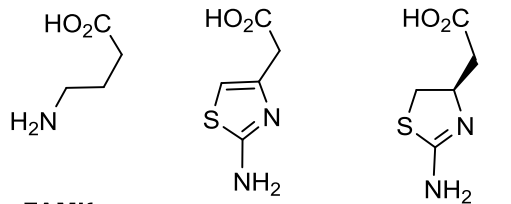
Аналогичный вариант конформационного ограничения был реализован в ходе дизайна ингибиторов α-*L*-рамнозидазы как потенциальных противотуберкулезных агентов. Введение дополнительного цикла в структуры неактивных (2*R*,5*R*)-*бис*-(дигидроксиметил)-(3*R*,4*R*)-дигидроксипирролидинтиомочевин **43** привело к бициклическим изотиомочевинам **44** с заметной ингибиторной активностью по отношению к α-L-рамнозидазе (рис. 14) [43].



IC_{50}	**43**	**44**
n = 9	не активно	0.77 μM
n =11	не активно	0.46 μM

Рисунок 14. N-алкилтиомочевины **43** и их конформационно ограниченные аналоги **44** (указаны значения ингибирующей активности по отношению к α-L-рамнозидазе).

Замена ароматического фрагмента неароматическим в дизайне лигандов различных молекулярных мишеней. В некоторых медхимических работах представлена неклассическая биоизостерическая замена тиазольного кольца фрагментом циклической изотиомочевины (вариант 3, рис. 1). В качестве успешного примера можно привести разработку лигандов рецепторов -аминомасляной кислоты (ГАМК), играющих важную роль в нейромедиаторных и метаболических процессах в центральной нервной системе. 2-Аминотиазол **45** является умеренно активным ортостерическим агонистом подтипа рецепторов $ГАМК_A$, в то время как его аналог **46** (рис. 15), полученный путем замены ароматического ядра тиазолиновым циклом, продемонстрировал на три порядка большую аффинность к $ГАМК_A$, со значением K_i, близким к таковому для ГАМК [44].



ГАМК	**45**	**46**
K_i = 0.049 μM	32 μM	0.059 μM

Рисунок 15. Структуры ГАМК и ее тиазольного (**45**) и тиазолинового (**46**) аналогов (приведены данные аффинности к рецепторам $ГАМК_A$ подтипа).

Соединение **46** синтезировали, как показано на схеме 9, используя общую стратегию 2 (схема 1). Рацемический аддукт метил-γ-галоген-2-бутеноата и тиомочевины разделяли с

помощью хиральной хроматографии. Отметим, что активность соединения **46** в шесть раз превышала активность его (*S*)-энантиомера [44].

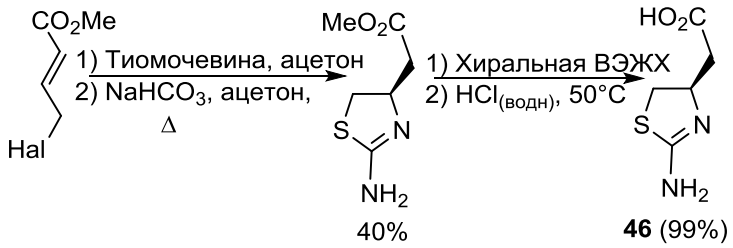


Схема 9. Синтез гидрохлорида агониста ГАМК$_A$R соединения **46** по данным [44].

Другой успешный пример замены тиазольного кольца фрагментом циклической изотиомочевины был продемонстрирован в ходе разработки ингибиторов белок-белкового взаимодействия менина с белком острого лимфобластного лейкоза (MLL) в качестве противопухолевых агентов. Аффинность изотиомочевины **48** (рис. 16) по отношению к менину была примерно в 40 раз выше, чем таковая для ее тиазольного аналога **47** [45]. Отметим, что дальнейшая модификация соединения **48** привела к его очень активным производным **49** и **50**, а с помощью рентгеноструктурного анализа комплекса менина с соединением **49** было показано, что диметилтиазолиновое кольцо последнего имитирует остаток Pro13 MLL [46].

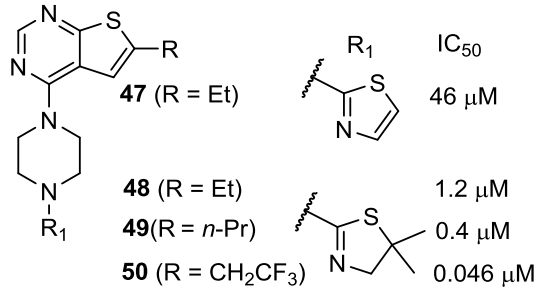


Рисунок 16. Ингибиторы белок-белкового взаимодействия менин – MLL.

В ходе модификаций инсектицидов имидаклоприда (**51**) и деснитро-имидаклоприда (**52**), описанных в работах [9], изначально авторы провели замену имидазолидиновой группировки планарным тиазольным циклом (рис. 17).

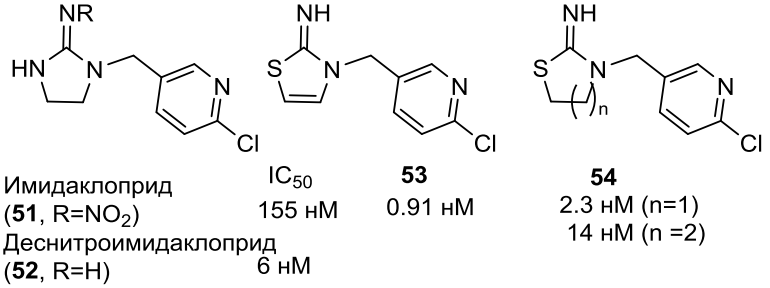
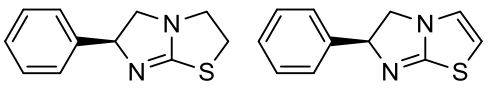


Рисунок 17. Биоизостеры деснитро-имидаклоприда (указано значение IC$_{50}$ к рекомбинантному нейронному никотиновому ацетилхолиновому рецептору крысы $\alpha 4\beta 2$).

Поскольку аффинность тиазольного аналога молекулы лидера **52** – соединения **53** – по отношению к рекомбинантному нейронному никотиновому ацетилхолиновому рецептору крысы $\alpha 4\beta 2$ оказалась более высокой, было получено его насыщенное производное **54** (n=1), продемонстрировавшее близкое значение аффинности к рассматриваемому белку (рис. 17). Однако дальнейшее расширение цикла циклической изотиомочевины до шестичленного (соединение **54**, n=2) приводило к небольшому снижению активности [9]. Та же тенденция наблюдалась и для производных соединений **53** и **54**, ацилированных по экзоциклическому атому азота [47,48].

Замена ароматического фрагмента неароматическим была проведена и для бициклического производного изотиомочевины левамизола (структура **55**, рис. 18) – клинически одобренного антигельминтного препарата, который также широко используется в качестве обратимого и неконкурентного ингибитора различных изоформ щелочной фосфатазы (для снижения фоновой активности этих ферментов) в различных биологических тестах. Показано, что ингибирующая активность тиазольного аналога левамизола (структура **56**) сравнима с таковой для исходной молекулы **55** [49], то есть соответствующая замена является биоизостерической.

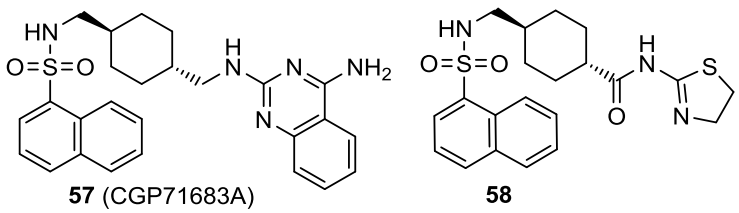


Левамизол (**55**) **56**

IC_{50} 38μM 45μM

Рисунок 18. Ингибирующая активность левамизола **55** и его ароматического аналога **56** по отношению к щелочной фосфатазе.

Авторами работы [50] выполнена нестандартная модификация структуры селективного антагониста рецептора нейропептида Y подтипа Y5 (NPY Y5) (рис. 19). Аминохиназолиновый остаток соединения-лидера **57** (CGP71683A) был заменен амидным производным циклической изотиомочевины с пятичленным циклом (структура **58**). Однако это привело к полной потере сродства к белку-мишени NPY Y5.



57 (CGP71683A) **58**

IC_{50} 2.9 нМ IC_{50} $>10^4$ нМ

Рисунок 19. Структуры антагониста рецептора нейропептида Y подтипа Y5 **57** и его изотиомочевинного аналога **58**.

Классическая биоизостерическая замена неароматических гетероциклов в ходе дизайна ингибиторов трегалазы, mTORC2 и лигандов рецептора NPY Y1. Неароматические гетероциклы с различными гетероатомами в одних и тех же позициях относятся к числу классических биоизостеров. Соответствующая замена, как отмечалось выше, проводилась для соединений-лидеров с фрагментами циклических изотиомочевин и в рамках создания ингибиторов синтазы оксида азота (рис. 5), и в работах по дизайну ингибиторов фермента β-секретазы BACE1 (рис. 8). Другой пример относится к разработке аналогов инсектицида трегазолина **59** (рис. 20) – сильного ингибитора фермента трегалазы. Замена иминооксазолидиновой группировки в структуре трегазолина иминотиазолидиновым фрагментом привела к 1-тиатрегазолину **60**, также эффективному ингибитору трегалазы, хотя и несколько менее активному, чем исходная молекула (рис. 20) [51].

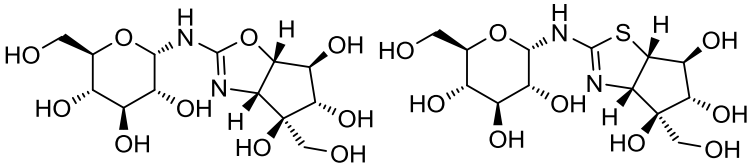


Рисунок 20. Ингибирующая активность трегазолина **59** и его изотиомочевинного аналога **60** по отношению к трегалазе.

Описаны и примеры «обратной» замены циклической изотиомочевины другими неароматическими гетероциклами [52,53]. Так, в ходе разработки противораковых агентов, мишенью которых является белковый (киназный) комплекс mTORC2, методом систематического скрининга было найдено соединение **61** (CID613034, рис. 21) – ингибитор mTORC2 в субмикромолярных концентрациях, – и получена серия его биоизостеров.

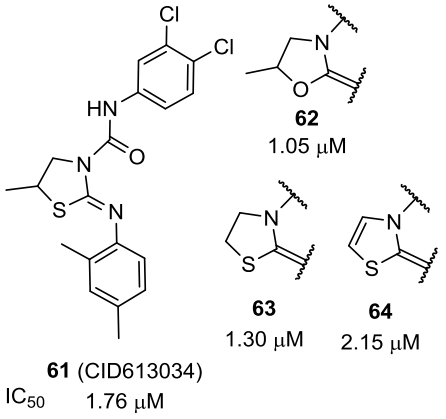


Рисунок 21. Ингибиторы белкового (киназного) комплекса mTORC2.

Активность соединения **62** с оксазолидиновым фрагментом оказалась равной таковой для исходной молекулы. Интересно, что неклассическая замена неароматической группировки

ароматической также была изучена, а способность тиазольного производного **64** ингибировать киназный комплекс mTORC2 оказалась близка к таковой для его неароматического аналога **63** (рис.21) [52,53].

Подобные варианты модификаций были выполнены в ходе оптимизации структур селективных антагонистов рецептора нейропептида Y подтипа 1 (NPY Y1) – одной из перспективных молекулярных мишеней для лечения ожирения. Соединение-лидер **65**, содержащее незамещенное тиазолидиновое кольцо, обнаружили с помощью высокопроизводительного скрининга (рис. 22) [53].

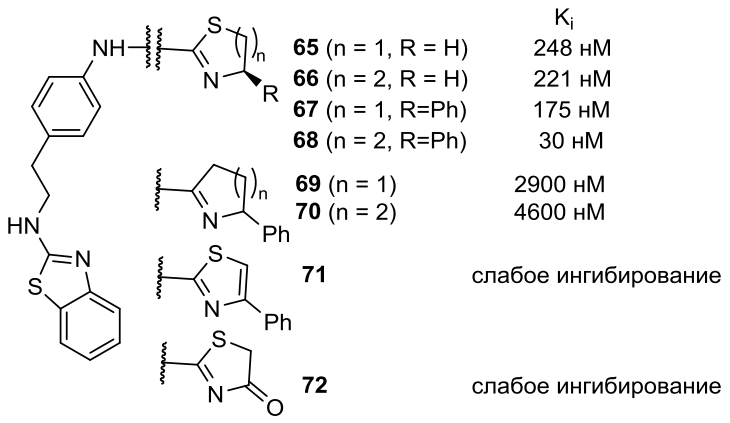


Рисунок 22. Циклические изотиомочевины и их аналоги, изученные в ходе разработки антагонистов рецептора нейропептида Y подтипа 1 (NPY Y1).

С использованием твердофазного синтеза были получены производные изотиомочевины **65**, в том числе, замещенные и/или содержащие расширенный цикл (соединения **66–68**), а также их изостерические аналоги **69–72** с различными пятичленными циклами, в том числе, тиазольным (рис. 22). Последний оказался малоактивным, в то время как расширение цикла с одновременным замещением при C^4 привело к очень сильному антагонисту NPY Y1 – (4*S*)-фенил-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазину **68** с K_i= 30 нМ (рис. 22) [53].

1.1.4. Прочие примеры получения структур потенциальных лекарственных веществ с фрагментами циклических изотиомочевин

В литературе представлено несколько работ, в которых активные по отношению к различным молекулярным мишеням производные циклических изотиомочевин были обнаружены путем скрининга серий соединений, и при этом в ходе оптимизации изотиомочевиный фрагмент не модифицировали. Например, высокопроизводительный скрининг агонистов каннабиноидных рецепторов второго подтипа (CB_2) привел к обнаружению 2-арилимино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазина **73** (рис. 23) [54], которое проявило умеренную анальгетическую активность и некоторую селективность по отношению к CB_2

рецептору. Различные модификации заместителей в молекуле-лидере привели к высокоактивным соединениям **74** [54] и **75** [55], причем для первого из них была продемонстрирована очень высокая селективность к требуемому подтипу рецепторов.

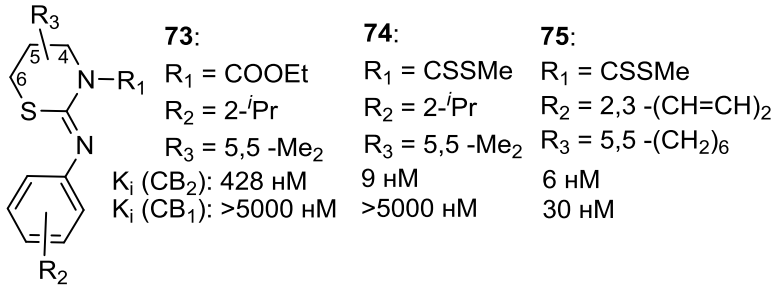


Рисунок 23. Агонисты каннабиноидных рецепторов на основе циклических изотиомочевин

Проведенный в последние годы скрининг библиотек соединений с целью поиска новых ингибиторов белка Matrix-2 (протонного канала) вируса гриппа А (M2) выявил циклическую изотиомочевину **76** (схема 10) с высокой M2-ингибирующей активностью, сравнимой с таковой для амантадина [56].

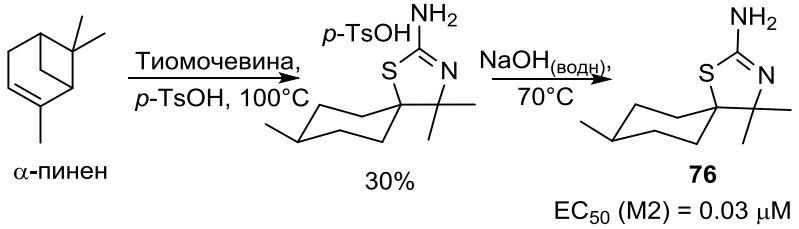
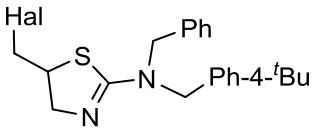


Схема 10. Синтез соединения **76** – ингибитора вирусного протонного канала M2 [56].

Интересно отметить, что синтез соединения **76** с помощью реакции циклоприсоединения -пинена к тиомочевине был описан еще в 1956-м году [57]. Однако в этой работе структура полученного вещества была определена неверно, и только через много лет ее идентифицировали как спиробициклическую изотиомочевину **76** [56].

Еще один пример исследований скринингового характера последних лет связан с поиском новых веществ с нейропротекторной активностью [58].



	77 (Hal = I)	**78** (Hal = Br)
IC_{50} (BChE)	0.77 μM	2.34 μM
IC_{50} (CaE)	0.22 μM	0.32 μM
IC_{50} (AChE)	не активно	

Рисунок 24. Ингибирующая активность соединений **77** и **78** по отношению к ацетилхолинэстеразе (AChE), бутирилхолинэстеразе (BChE) и карбоксилэстеразе (CaE).

Для большой серии N,N-дизамещенных 2-амино-5-галогенметил-2-тиазолинов была проведена оценка ингибирующей активности по отношению к различным эстеразам [58]. Все полученные соединения оказались неактивными в отношении ацетилхолинэстеразы (AChE), но для соединений **77** и **78** была выявлена умеренная ингибирующая активность по отношению к бутирилхолинэстеразе (BChE) и карбоксилэстеразе (CaE) (рис. 24).

В завершение следует отметить, что в единичных работах производные циклических изотиомочевин были получены в ходе решения специфических задач оптимизации соединений-лидеров.

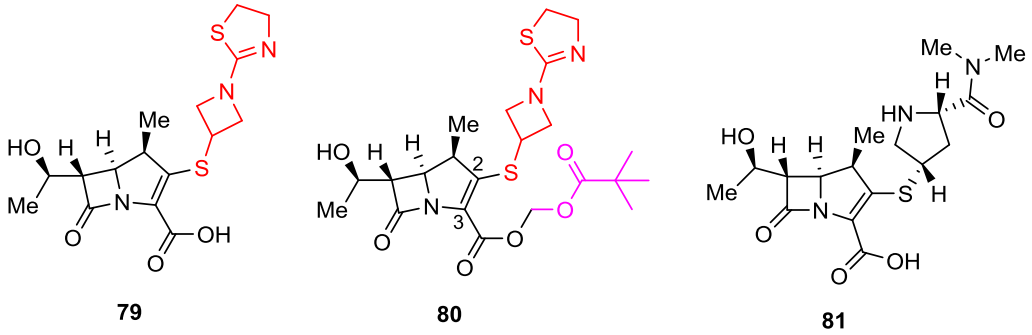


Рисунок 25. Структуры тебипенема (**79**), пивалоилоксиметильного пролекарства тебипененма (**80**) и меропенема (**81**).

Типичным примером является создание β-лактамного антибиотика ряда карбапенемов – тебипенема (**79**) и его пивалоилоксиметильного пролекарства **80**, один из атомов азота изотиомочевинной группировки которых входит в состав азетидинового цикла [59] (рис. 25). Последний был предложен в качестве ахирального фрагмента вместо хирального замещенного пирролидинового цикла, типичного для структур, клинически используемых карбапенемов (см. структуру меропенема **81** на рис. 25) [60]. Соединение **80** в настоящее время разрешено к клиническому применению в Японии [61].

* * * * * * * * * * * * * *

В целом, проведенный анализ литературы позволяет выявить разнообразные, хотя и немногочисленные примеры применения фрагмента циклической изотиомочевины в разработке лекарственных препаратов. Несколько очень активных соединений были синтезированы, оптимизированы и одобрены для клинических испытаний.

Задачей настоящего исследования мы поставили расширение числа примеров использования циклических изотиомочевин в дизайне лекарственных веществ. При этом мы, во-первых, расширили круг их молекулярных мишеней, предложив для синтеза структуры потенциальных лигандов тубулина, а, во-вторых, провели оптимизацию двух типов известных лигандов ферментов бутирилхолинэстеразы и синтазы оксида азота.

2. Обсуждение результатов

2.1. *Создание антишоковых агентов пролонгированного действия на основе циклических изотиомочевин*[1]

Моноциклические изотиомочевины 2-амино-2-тиазолин (**A**, рис. 2.1) и 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазин (**B**) проявляют выраженное, но краткосрочное антигипотензивное, антишоковое и радиопротекторное действие за счет способности ингибировать синтазу оксида азота (главным образом, индуцибельную, и, в меньшей степени, эндотелиальную изоформы фермента). Попытка увеличить продолжительность их действия путем увеличения липофильности за счет введения алкильных заместителей в исходные молекулы привела, как указывалось в литературном обзоре, к ограниченному успеху, – максимум двукратной пролонгации для соединения **4** (ES-1537) по сравнению с молекулой **A** (см. главу 1.1.1). Целью настоящего исследования стало получение аналогов соединений-лидеров с еще более продолжительным действием, что достигалось увеличением липофильности за счет включения моноцикла в аннелированную, мостиковую или каркасную структуру (см. структурные типы **C**, **D** и **E** на рис. 2.1).

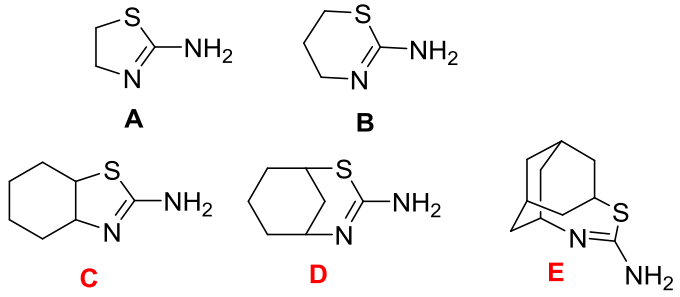


Рисунок 2.1. Соединения-лидеры – моноциклические изотиомочевины 2-амино-2-тиазолин (**A**) и 2-амино-5,6-дигидро-4H-1,3-тиазин (**B**) и их более липофильные аналоги **C**, **D** и **E**.

Следует отметить, что 2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амин (рис. 2.1, структура **D**, X=H) был ранее получен на химическом факультете МГУ [24] и оказался эффективным

[1] При работе над данным разделом использованы материалы следующих публикаций автора, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:
1) Nurieva, E. V.; Alexeev, A. A.; Grishin, Y. K.; Tafeenko, V. A.; Zefirova, O. N. New compounds with 4-azatricyclo[4.3.1.1(3,8)]undecane framework. *Mendeleev Communications*, **2020**, *30* (2), 145-146.
2) Nurieva E. V.; Trofimova T. P.; Alexeev A. A.; Proshin A. N.; Chesnakova E. A.; Grishin Yu. K.; Lyssenko K. A.; Filimonova M. V.; Bachurin S. O.; Zefirova O. N. Synthesis and antihypotensive properties of 2-amino-2-thiazoline analogues with enhanced lipophilicity. *Mendeleev Communications*, **2018**, *28* (4), 390-392.
3) Alexeev, A. A.; Nurieva, E. V.; Trofimova, T. P.; Chesnakova, E. A.; Grishin, Y. K.; Lyssenko, K. A.; Filimonova, M. V.; Zefirova, O. N. Bicyclic bridged isothioureas: synthesis and evaluation of activity in a model of lipopolysaccharide-induced septic shock. *Mendeleev Communications*, **2019**, *29* (1), 14-16.
4) Alexeev, A. A.; Nurieva, E. V.; Lyssenko, K. A.; Grishin, Y. K.; Zefirova, O. N. Novel structural type of bridged urea derivatives bearing azatricyclo[4.3.1.0(3,8)]decane moiety. *Structural Chemistry*, **2019**, *30* (2), 473-479.

ингибитором индуцибельной изоформы синтазы оксида азота *in vitro*. Однако синтез этого соединения включал в себя реализацию трудоемкой шестистадийной схемы, включающей в себя в качестве ключевых стадий циклизацию *транс*-3-бромоциклогексиламина с сероуглеродом с последующей модификацией тиокарбонильного фрагмента (схема 4с лит. обзора), некоторые стадии которой проходят с очень низкими выходами [24]. На основании анализа литературных данных (см. главу 1.1.1 лит. обзора) мы предложили для синтеза полициклических изотиомочевин **C**, **D** и **E** другую, более удобную в препаративном отношении схему, предполагающую использование в качестве ключевой стадии реакцию циклизации тиомочевинного фрагмента по двойной связи с участием электрофильного реагента (схема 2.1). Изучение возможности реализации этих схем, их эффективности в препаративном плане и масштабирование продуктов для тестирования *in vivo* проводилось в данной работе.

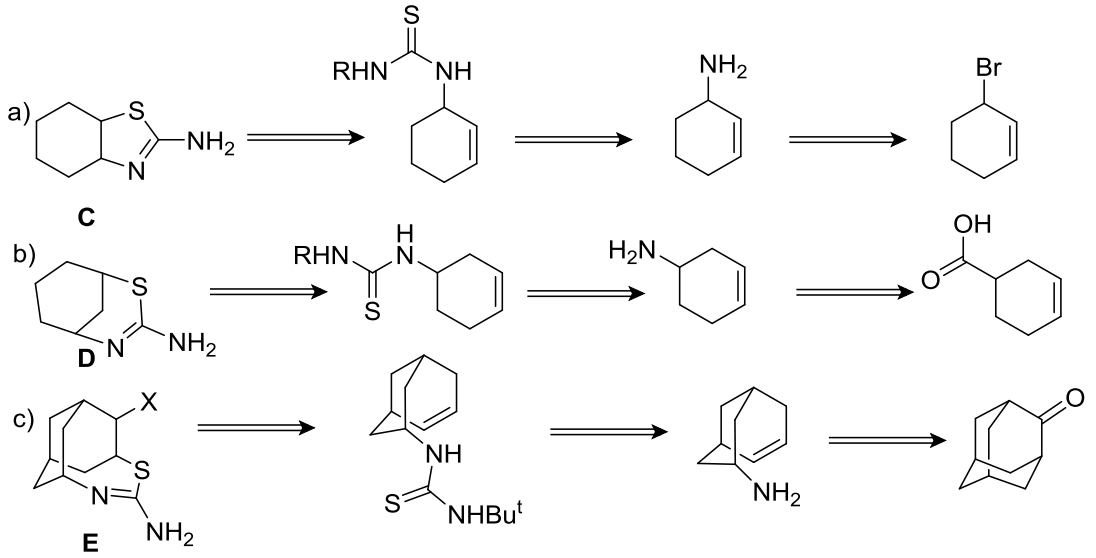


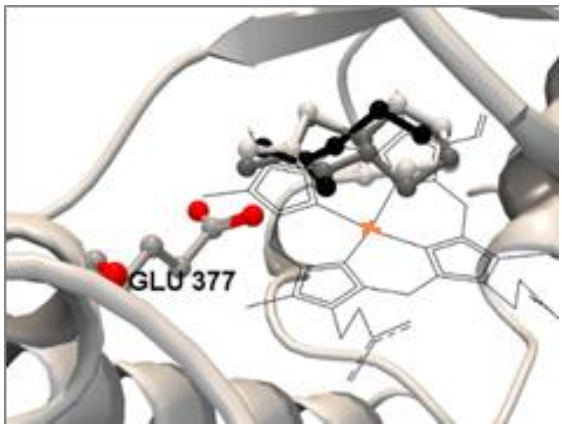
Схема 2.1. Ретросинтетические схемы получения полициклических изотиомочевин **C**, **D**, **E**

2.1.1. Синтез бициклических аналогов 2-амино-2-тиазолина

На первом этапе мы синтезировали серию 2-амино-2-тиазолинов, аннелированных с циклогексановым кольцом (рис. 2.1, общая формула **C**). Оценочный докинг[1] простейшего структурного шаблона **C** в трехмерную модель активного центра iNOS (PDB ID: 2NSI) в программе AutoDock 4.2 показал, что расположение изомеров с *цис*-(3aR,7aS) и *транс*-(3aS,7aS) сочленением колец близко друг другу и позиции сокристаллизованному с iNOS ингибитору этилизотиомочевине (рис. 2.2). Все три молекулы образуют ключевую водородную связь с Glu377.

[1] Все исследования с помощью компьютерного молекулярного моделирования выполнены совместно с ассистентом кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова **к.х.н. Н.А. Зефировым**

При использовании для процедуры докинга программы AutoDock Vina 1.1.2 в позиции с наилучшей оценочной функцией *цис*-(3aR,7aS)-изомер незначительно отклонен от Glu377, но оба его атома азота образуют водородные связи с остатками Asp 382, Tyr373 и Tyr347 в активном центре фермента. Для *цис*-(3aS,7aR-изомера позиция с оценочной функцией, близкой к наилучшей, практически совпадает с таковой для первого изомера (рис. 2.3), его атомы азота также образуют водородные связи с Tyr373 и Tyr347.



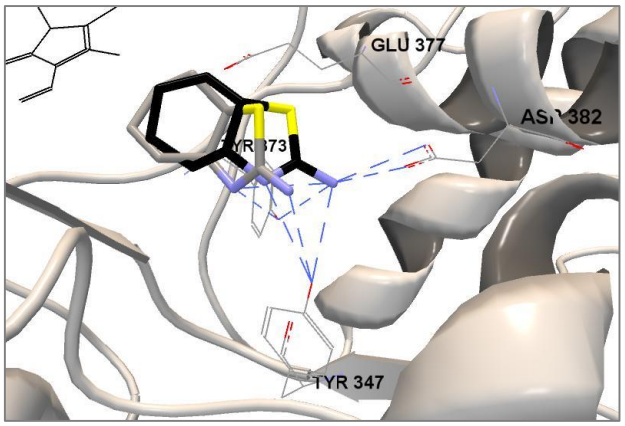


Рисунок 2.2 (слева). Расположение (3aR,7aS)- (светло-серый) и (3aS,7aS)- (серый) изомеров 3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина (**C**, X=H) в активном центре iNOS по данным молекулярного докинга (AutoDock 4.2) Расположение этилизотиомочевины (сокристаллизованной с белком, PDBID: 2NSI) показано черным для сравнения, молекула гема показана тонкими серыми линиями. Атом железа гема (оранжевый) находится вблизи атомов серы всех трех молекул.

Рисунок 2.3 (справа). Расположение (3aR,7aS) - (серый) и (3aS,7aR) – (черный) изомеров 3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина (**C**, X=H) в активном центре iNOS по данным молекулярного докинга (PDBID: 2NSI, AutoDock Vina 1.1.2). Фрагмент молекулы гема показан слева вверху тонкими черными линиями.

Этот результат согласуется с данными литературы об *i*NOS ингибиторной активности структурно близких изомерных 4,5-диалкил-2-аминотиазолидинов [16]. Мы сконцентрировались на получении *цис*-лигандов и сначала получили незамещенное целевое соединение **7** (схема 2.3). В качестве исходного соединения использовали циклогекс-2-ен-1-амин **4**, который предварительно получали из 3-бромоциклогексена **1** через соответствующее фталимидное производное **2** или 3-азидоциклогексен **3** (схема 2.2). Отметим, что второй путь синтеза циклогекс-2-ен-1-амина **4** (в виде гидрохлорида) оказался более эффективным в препаративном плане из-за большего суммарного выхода продукта.

Циклогекс-2-ен-1-амин **4** превращали в соответствующие *трет*-бутил- или бензоил- замещенные тиомочевины **5a,b**, которые затем вводили в реакцию циклизации. Попытка циклизации тиомочевин с одновременным удалением защитных

групп кипячением в концентрированной водной HBr привела к образованию сложной смеси продуктов, выделить из которой целевые соединения не удалось.

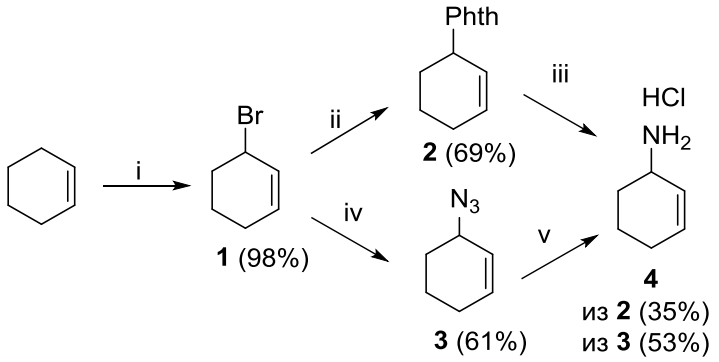


Схема 2.2. Реагенты и условия: i) NBS, AIBN, CCl_4, Δ, 1.5 ч; ii) фталимид калия, ДМФА, CH_2Cl_2, 100°C, 12 ч; iii) $N_2H_4 \cdot H_2O$, MeOH, Δ, 3 ч; iv) NaN_3, H_2O/CCl_4, 20°C, 48 ч; v) 1) $LiAlH_4$, Et_2O, Δ, 56 ч, 2) H_2O, NaOH, 3) HClводн.

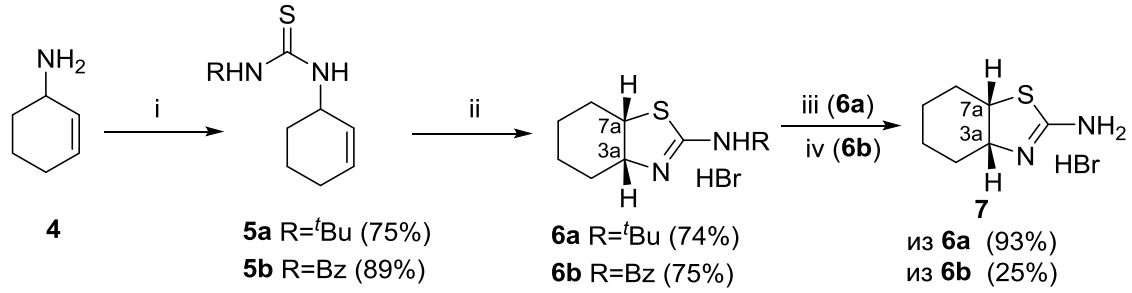


Схема 2.3. Реагенты и условия: i) RNCS, $^{i}Pr_2NEt$, CH_2Cl_2, 20°C, 12 ч; ii) AcBr + MeOH, CH_2Cl_2, 20°C, 12 ч; iii) $HBr_{водн}$, Δ, 3 ч; iv) DBU, MeOH, 20°C, 12 ч, затем $HBr_{водн}$. Обозначенная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси.

Проведение циклизации в более мягких условиях путем обработки смесью ацетилбромида и метанола в хлористом метилене позволило получить гидробромиды замещенных гексагидро-1,3-бензотиазол-2-аминов **6a,b** с хорошими выходами (схема 2.3). В спектрах ^{1}H и ^{13}C ЯМР соединений **6a,b** наблюдали один набор сигналов, подтверждающий образование индивидуальных диастереомеров. Характеристичными сигналами узловых атомов водорода H^{3a} и H^{7a}являются дублеты триплетов при 3.93 м.д. и 3.80 м.д. (для *трет*-бутильного производного **6a**) и 4.28 м.д. и 3.88 м.д. (для бензоильного производного **6b**). Значения констант спин-спинового взаимодействия для этих протонов в диапазоне от 8 до 5 Гц свидетельствуют в пользу *цис*-ориентации колец. Строение полученных структур однозначно подтверждено данными рентгеноструктурного анализа монокристалла бензоильного аналога **6b** (рис. 2.4)[1]. Отщепление защитных групп в соединениях **6a** и **6b** кипячением в водном HBr (для **6a**) или обработкой DBU в метаноле с

[1] Представленные в настоящей работе данные рентгеноструктурного анализа предоставлены в.н.с. В.А. Тафеенко (кафедра общей химии химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова) и проф. К.А. Лысенко (кафедра физической химии химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова).

последующим действием водного HBr (для **6b**) привело к целевому амину **7** (в виде гидробромида) (схема 2.3). Реакция для соединения **6a** проходит с существенно большим выходом, чем для его аналога **6b** из-за меньшего образования трудноотделимых побочных продуктов, что делает использование *трет*-бутильной защитной группы более удобным в препаративном плане по сравнению с бензоильной группой.

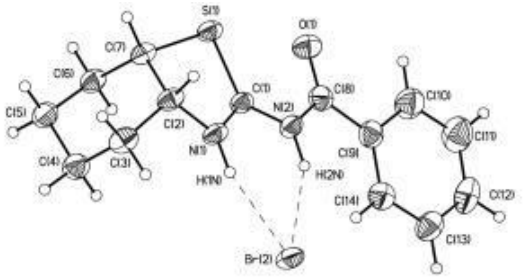
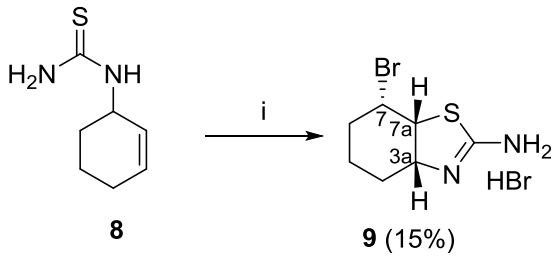


Рисунок 2.4. Общий вид одной из независимых молекул **6b** в кристалле в представлении атомов тепловыми эллипсоидами (p=50%).

Следует отметить, что соединение **7** в виде гидроиодида было ранее получено в работе [62] другим методом из 2-иодоциклогексилизотиоцианата с выходом 68%, однако никаких характеристик этого соединения, кроме спектра ^{1}H ЯМР и масс-спектров низкого разрешения в работе не представлено. В нашем случае спектральные данные указывают на присутствие только одного таутомера соединения **7**, но не позволяют определить конкретную таутомерную форму (на схеме 2.3 и далее везде показана одна из возможных таутомерных форм). В спектре ^{1}H ЯМР соединения **7** сигналы мостиковых протонов проявляются в виде дублетов триплетов со значениями констант спин-спинового взаимодействия (9-5 Гц), близкими к таковым для исходных соединений **6a,b** и соответствующим *цис*-конфигурации колец относительно друг друга.

Следует подчеркнуть, что применение защитных групп (*трет*-бутильной или бензоильной) является необходимым этапом в ходе синтеза рассматриваемых бициклических изотиомочевин. Так, нами показано, что модельная реакция незамещенной циклогекс-2- ен-1-илтиомочевины **8** (полученной из соответствующего изотиоцианата) с эквивалентным количеством брома при 0°C приводит к сложной смеси продуктов, которую нам не удалось разделить с помощью перекристаллизации из этанола как описано в работе [63].



8 **9** (15%)

Схема 2.4. Реагенты и условия: i) Br_2, $CHCl_3$, 0°C, 0.5 ч (указана относительная конфигурация соединения **9**, так как соединение получено в виде рацемической смеси).

Дробное осаждение из диэтилового эфира позволило выделить только одно соединение с низким выходом, а именно гидробромид (3aRS,7SR,7aRS)-7-бромо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина (**9**) (схема 2.4), строение которого было доказано методом рентгеноструктурного анализа (рис. 2.5). Интересно отметить, что анион брома в кристалле соединения **9** участвует не только во взаимодействии N- H... Br [N ...Br 3.255(6)–3.554(6) Å], но образует галогеновую связь с атомом серы изотиомочевинной группировки Br(2)...S(1)-C(7A) [S(1). .Br(2) 3.672(2) Å, C(7a)S(1)Br(2) 173.0°] (рис. 2.5).

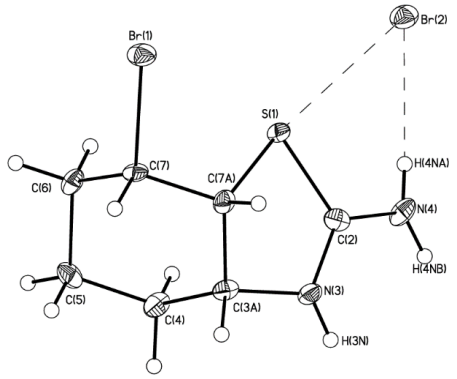


Рисунок 2.5. Общий вид молекулы **9** в кристалле в представлении атомов тепловыми эллипсоидами (p=50%).

В целом, разработанная схема синтеза оказалась эффективной и удобной для масштабирования целевой циклической изотиомочевины **7**, и нами было проведено исследование возможности получения ее производных. Как следует из данных молекулярного моделирования (рис. 2.3) атом C^7 расположен вблизи ключевого амикислотного остатка Glu377. Это вызвало интерес к получению производного соединения **7** с гидроксильной группой в указанном положении (соединение C^*, рис. 2.6).

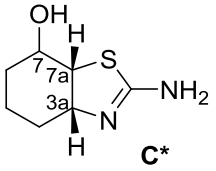


Рисунок 2.6. Структура C^7 замещенного производного соединения **7**. Обозначенная конфигурация является относительной.

Мы осуществили циклизацию тиомочевин **5a,b** в присутствии брома или иода с последующим удалением защитных – бензоильной или *трет*-бутильной – групп от экзоциклического атома азота (схема 2.5). Продукты циклизации **10a,b** и **11a,b** и их производные со свободной экзоциклической NH_2-группой были выделены в виде индивидуальных диастереомеров (в спектрах ^1H и ^{13}C ЯМР наблюдается только один набор сигналов). Характеристические сигналы протонов H^{7a} проявляются в виде дублета дублетов с $J^{7a\text{-}7} \sim 10$ Гц и $J^{7a\text{-}3a} \sim 5$ Гц, что подтверждает *транс*-ориентацию атома галогена по

отношению к заместителю в тиазолиновом цикле и *цис*-сочленение колец. Удаление *трет*-бутильного заместителя в **10a** при кипячении с HBr дало бромозамещенный гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амин **12** в виде гидробромида. Дебензоилирование **10b** действием DBU в метаноле протекало с гораздо меньшим выходом и сопровождалось сложностями выделения целевого продукта **12** в индивидуальном виде. Иодозамещенный гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амин **13** в виде гидробромида был получен из *трет*-бутильного производного **11a** аналогично соединению **12,** но с заметно меньшим выходом (схема 2.5).

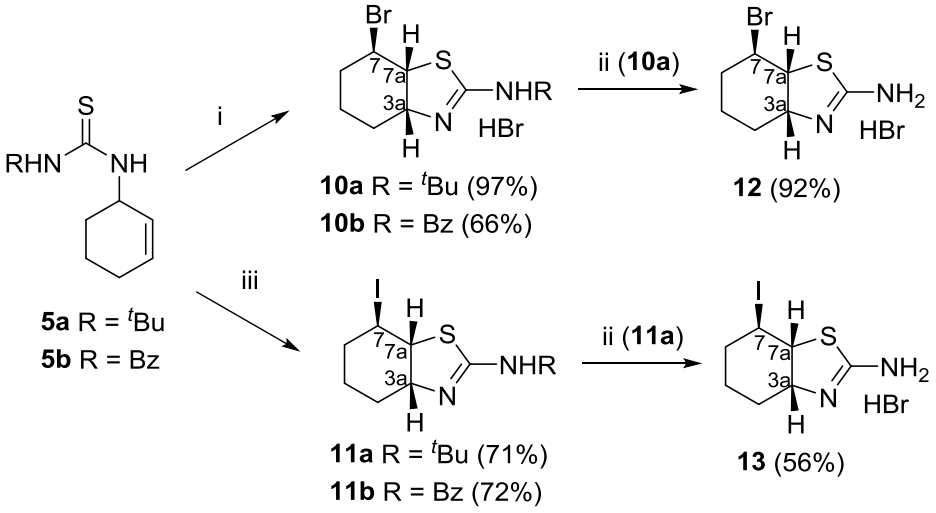


Схема 2.5. Реагенты и условия: i) Br_2, CH_2Cl_2, 20°C, 24 ч; ii) $HBr_{водн}$, Δ, 3 ч; iii) I_2, K_2CO_3, Et_2O, 20°C, 24 ч;

Отметим, что реакция восстановительного дегалоидирования для бромида **10a** и иодида **11a** нагреванием их с гидридом три-*н*-бутилолова привела к соединению **6c**, представляющее собой свободное основание соли **6a** (схема 2.6). Спектральные данные полученного встречным синтезом соединения **6c** служат дополнительным подтверждением *цис*-ориентации циклических фрагментов в продуктах **10a,b** и **11a,b**.

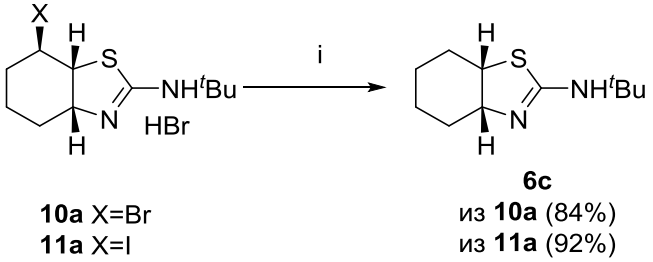
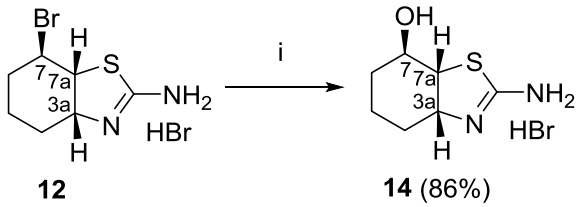


Схема 2.6. Реагенты и условия: i) 1) $^nBu_3SnH$, AIBN, $PhCH_3$, 100°C, 10 ч; 2) $NaHCO_{3(водн)}$.

Для синтеза целевого спирта бром-замещенный амин **12** был обработан суспензией PbO в воде по методике, описанной в работе [64] (схема 2.7). Выбор данного реагента обусловлен указанием на очень низкий выход (непригодный для целей последующего

масштабирования целевого продукта) аналогичной реакции гидролиза структурно близких субстратов с использованием раствора $NaHCO_3$. В результате с высоким выходом был получен спирт **14** в виде индивидуального диастереомера с *транс*-ориентацией гидроксила по отношению к конденсированному тиазолидиновому ядру, такой же, как в исходных бромпроизводных **10a** и **12**.



12 **14** (86%)

Схема 2.7. Реагенты и условия: i) PbO, H_2O, 50°C, 10 ч.

По данным спектроскопии ЯМР ^1H значения вицинальных констант спин-спинового взаимодействия (J^{7a-7}=9.6 Гц и J^{7a-3a}~ 5.3 Гц) дублета дублетов, соответствующего протону H^{7a} в соединении **14** (при 3.42 м.д.) были практически идентичны таковым для соединений **10a** и **12**. Конфигурация спиртовой группы в структуре **14** была подтверждена на основании данных эффекта Оверхаузера: подавление сигнала протона H^{3a} при 4.27 м.д. не привело к отклику сигнала протона H^7, но вызвало увеличение интенсивности пика протона H^{7a}.

Отметим, что, хотя реакции нуклеофильного замещения, протекающие с сохранением конфигурации, известны (например, замена хлора гидроксилом в -хлоркарбоновых кислотах в системе H_2O/Ag_2O [65]), литературный поиск не выявил примеров подобных реакций для производных изотиомочевин. Сохранение конфигурации при превращении бромида **12** в спирт **14** является следствием двойного обращения конфигурации в ходе нуклеофильного замещения, которое протекает, вероятно, при содействии гетероатомов и/или аминогруппы в соединении **12**. Эти группы могут координировать оксид свинца, участвующий в замещении атома брома, при этом происходит первое обращение конфигурации. Последующая нуклеофильная атака молекулой воды вызывает второе обращение конфигурации углеродного центра.

Для соединения **14** данные компьютерного молекулярного докинга в трехмерную модель активного центра iNOS (PDB ID: 2NSI) с помощью программы AutoDock Vina 1.1.2. показывают, что, хотя его дополнительная гидроксильная группа никаких новых связей с белком не образует, оно располагается практически так же, как и незамещенный лиганд **7**, а комплекс с ним имеет лучшее значение оценочной функции (рис. 2.7). Поэтому нами было принято решение о масштабировании соединения **14** для изучения *in vivo*.

Реализация синтеза галоген-содержащих бициклических изотиомочевин **12** и **13**

вызвала вопрос о целесообразности их масштабировании и тестирования *in vivo*. Токсикологический профиль таких соединений обычно ухудшается (из-за наличия группировки, способной выступать в качестве уходящей группы в реакции с нуклеофилами). Однако возможность введения в такие структуры определенной радиоактивной метки делает их (в случае проявления высокой активности) полезными в качестве «молекулярных инструментов» для изучения распределения и метаболизма вещества в организме.

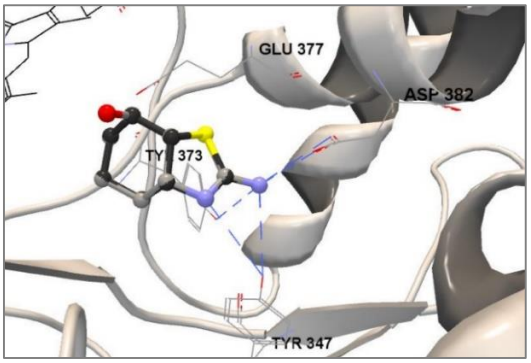


Рисунок 2.7. Расположение соединения **14** (темно-серый) в активном центре iNOS (PDB ID: 2NSI) по данным молекулярного докинга (AutoDock 1.1.2). Расположение соединения **7** показано светло-серым для сравнения.

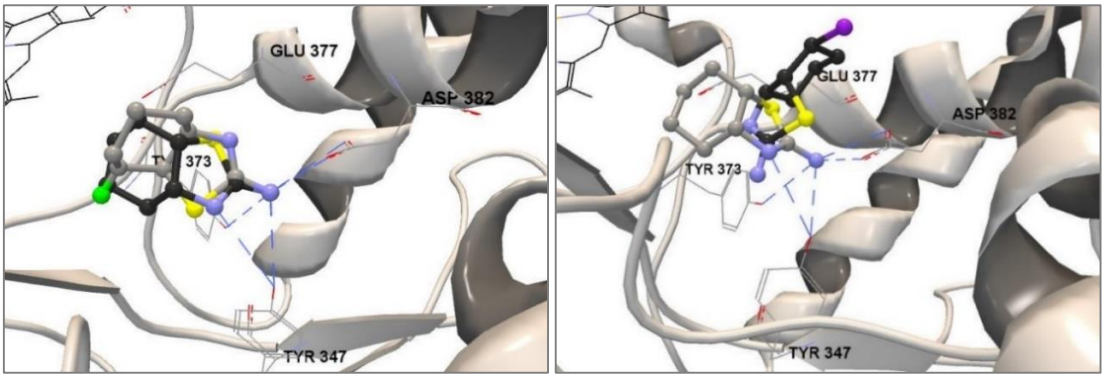


Рисунок 2.8. Расположение соединений **12** (слева) и **13** (справа) в активном центре iNOS (PDB ID: 2NSI) по данным молекулярного докинга (AutoDock 1.1.2). Расположение соединения **7** показано светло-серым для сравнения.

По данным молекулярного докинга соединение **12** «перевернуто» в активном центре по сравнению с незамещенной изотиомочевиной **7**, но при этом образует многие из ключевых водородных связей и имеет близкое (несколько меньшее) значение оценочной функции по сравнению с **7**, в то время как в комплексе соединения **13** с ферментом иод-содержащий фрагмент «выходит» из сайта связывания, вызывая (судя по увеличенному значению оценочной функции) стерические затруднения (рис. 2.8). Учитывая эти данные, а также умеренный выход иод-замещенной изотиомочевины на стадии отщепления защитной группы, мы не масштабировали вещесство **13**, в то время как соединения **7, 12** и **14** были наработаны в препаративных количествах для проведения биотестирования *in vivo*.

2.1.2. Разработка препаративного метода синтеза 2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина и его производных

Общая стратегия синтеза циклических изотиомочевин общей формулы **C** (рис. 2.1) была использована на втором этапе настоящей работы для получения производных общего структурного типа **D** (рис. 2.1), представляющего собой, как указывалось выше, производные ранее полученного мостикового тиазина (X=H), для которого ранее была доказана способность ингибировать iNOS в экспериментах *in vitro* [24].

Исходное соединение для реализации новой схемы синтеза – трифторацетат циклогекс-3-ен-1-амина **15** – получали из 3-циклогексенкарбоновой кислоты, используя перегруппировку Курциуса (схема 2.8) по описанной "*one-pot*" процедуре [66]. Амин **15** превращали в *трет*-бутил-(**16a**) или бензоилзамещенные (**16b**) тиомочевины, действием соответствующих изотиоцианатов. Попытки циклизации соединений тиомочевин в мягких условиях (аналогично таковому соединений структурного типа **C**) действием смеси AcBr/MeOH оказались неудачными: в реакционной смеси после нейтрализации были обнаружены только исходные тиомочевины. Поэтому реакцию проводили в более жестких условиях кипячением с водной бромистоводородной кислотой, что привело к одновременному гидролизу *трет*-бутильной и бензоильной групп. Из образовавшейся сложной смеси продуктов в результате хроматографической очистки удалось выделить целевой продукт **17** с очень низкими выходами (схема 2.8).

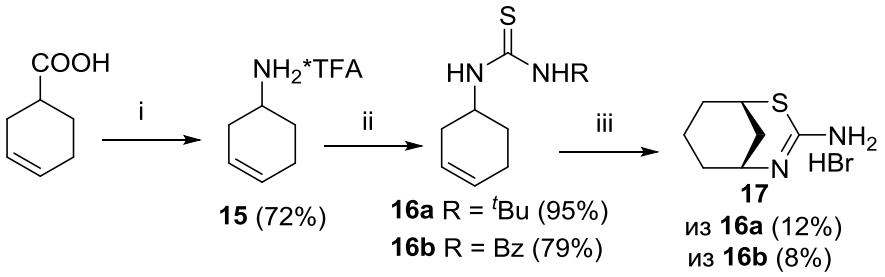
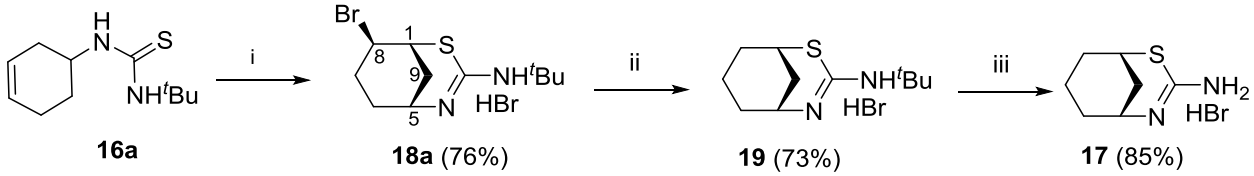


Схема 2.8. Реагенты и условия: i) 1) Boc_2O, NaN_3, $^nBu_4NBr$, $Zn(OTf)_2$, 40°C, ТГФ, 2) CF_3CO_2H, 20°C, 12 ч; ii) R-NCS, $^iPr_2NEt$, CH_2Cl_2, 20°C, 12 ч; iii) $HBr_{водн}$, Δ, 5 ч.

Для *трет*-бутил-замещенной тиомочевины **16a** суммарный выход соединения **17** по трем стадиям (из циклогекс-3-ен-1- карбоновой кислоты) равен 8%, что в четыре раза выше, чем описанный в работе [23]. Однако, такой выход также не достаточен для масштабирования целевого продукта.

Далее нами изучалась реакция 1-*трет*-бутил-3-циклогекс-3-ен-1-илтиомочевины **16a** с бромом по схеме 2.9. В результате бромирования и одновременной циклизации исходной тиомочевины получили индивидуальный диастереомер **18a**.



16a **18a** (76%) **19** (73%) **17** (85%)

Схема 2.9. Реагенты и условия: i) Br_2, CH_2Cl_2, 20°C, 24 ч; ii) $^nBu_3SnH$, AIBN, $PhCH_3$, 100°C, 6 ч; iii) $HBr_{водн}$, Δ, 3 ч. (Указанная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси).

На основании двумерной ^1H-^1H и ^1H-^{13}C ЯМР спектроскопии (рис. 2.9, А) проведено полное соотнесение сигналов в спектрах ЯМР соединения **18a**, а *экзо*-конфигурация атома брома доказана на основании данных ядерного эффекта Оверхаузера (рис. 2.9, В).

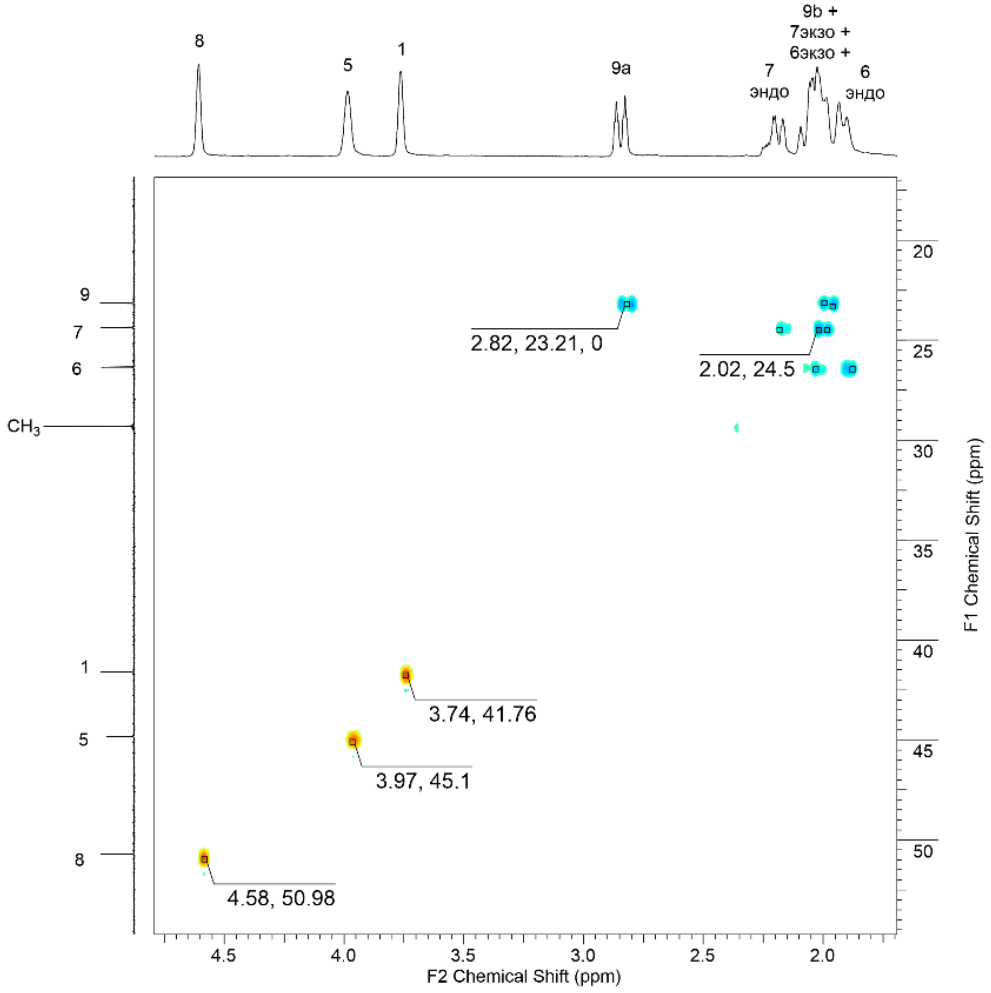


Рисунок 2.9. А: ^1H-^{13}C HSQC спектр соединения **18a**.

Так, подавление характеристического сигнала протона при атоме углерода HC^8Br в области 4.58 м.д. не вызывает отклика сигнала протона C^9H^{9b}, но изменяет интенсивность пика протона $C^6H^{6эндо}$ и C^1H.

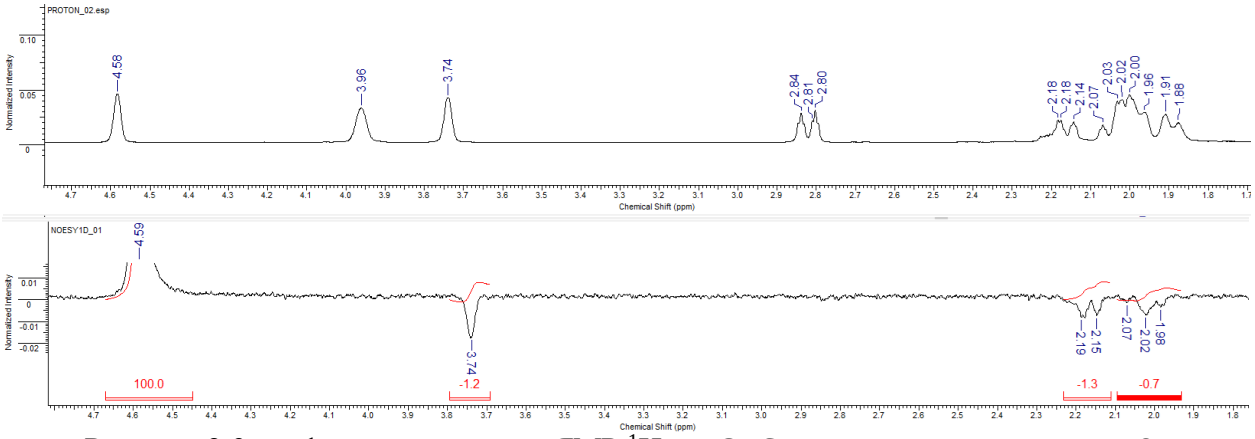
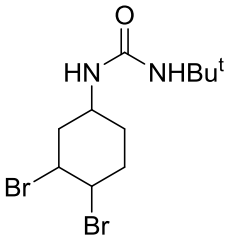


Рисунок 2.9. В: фрагмент спектра ЯМР ^{1}H и NOESY 1D спектр соединения **18a** (подавление характеристического сигнала протона HC^{8}Br при 4.58 м.д.).

Следует отметить, что в реакционной смеси тиомочевины **16a** с бромом, помимо основного вещества **18a**, присутствует также несколько побочных продуктов с идентичными молекулярными массами (по данным хроматомасс-спектрометрии), которые составляют около 5% от общего выхода продуктов реакции.

Дополнительное колоночное хроматографирование позволило выделить одно из этих веществ. Данные его спектров ЯМР ^{1}H и ^{13}C в комбинации с данными масс-спектрометрии (соотношение изотопов, свидетельствующее о наличии двух атомов брома) полностью соответствуют структуре **18b**, которая получается в результате присоединения брома к двойной связи соединения **16a** и одновременного превращения тиомочевинного фрагмента в мочевинный в присутствии атмосферной влаги. Возможность протекания последнего процесса для аналогичных систем описана в литературе [67] и доказана нами в параллельных исследованиях по циклизации мостиковых мочевин (см. ниже).



18b

Восстановительное дебромирование соединения **18a** в присутствии три-*н*-бутилоловогидрида (^{n}Bu$_3$SnH) привело к соединению **19** и затем, после кипячения в водном растворе HBr) – к целевой мостиковой тиомочевине **17** (схема 2.9). Все мостиковые соединения получены в виде индивидуальных таутомеров (на схемах представлена одна из возможных таутомерных форм). Суммарный выход вещества **17** в разработанной синтетической схеме из циклогекс-3-ен-1-карбоновой кислоты, составил 32%, что в 16 раз превысило выход 2% этого соединения в ранее описанной нами схеме 4c [24].

Для получения замещенных производных мостиковой изотиомочевины **17** соединение **18a** нагревали в водном растворе HBr, что привело к гидробромиду (1RS,5RS,8RS)-8-бромо-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина **20**, а далее провели

замещение атома брома обработкой PbO в воде (схема 2.10) [64]. Спирт **21** (в виде гидробромида) был выделен в виде индивидуального диастереомера, в спектрах ЯМР ^{1}H которого характер расщепления и ширина сигналов (~ 8–9 Гц) в интервале 3–5 м.д. полностью совпадали с таковым для исходной бром-замещенной изотиомочевины **20**. То есть нуклеофильное замещение в соединении **20** в системе PbO/H_2O протекает с сохранением конфигурации, аналогично таковому для аннелированной бициклической изотиомочевины **12**.

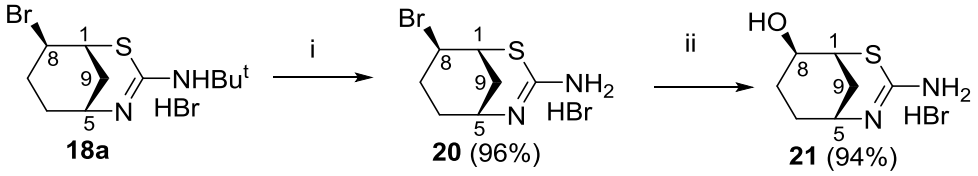


Схема 2.10. i) $HBr_{водн}$, Δ, 3 ч; ii) PbO, H_2O, 50°C, 10 ч. (Обозначенная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси).

Разработанная эффективная схема синтеза целевых циклических изотиомочевин позволила наработать соединения **17, 20** и **21** в препаративных количествах, достаточных для проведения биотестирования *in vivo*.

2.1.3. Изучение возможности синтеза трициклических (каркасных) изотиомочевин

На следующем этапе работы мы изучили возможность реализации ретросинтетической схемы, показанной на рисунке 2.1, для получения целевых трициклических (каркасных) изотиомочевин общего структурного типа **E**. Исходный *эндо*-бицикло[3.3.1]нонан-6-ен-3-амина гидрохлорид **23** получали из адамантанона, который действием азида натрия в метансульфоновой кислоте превращали в бицикло-[3.3.1]ноненкарбоновую кислоту **22**. Из кислоты **22** реакцией с дифенилфосфорилазидом (ДФФА) получали азид, который *in situ* перегруппировывался в соответствующий изоцианат. Гидролиз последнего действием разбавленной соляной кислотой позволил получить гидрохлорид искомого амина **23** с удовлетворительным выходом (схема 2.11). Реакцией непредельного амина **23** с *трет*-бутилизотиоцианатом была получена 1-[(1RS,3SR,5SR)-бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-ил]-3-*трет*-бутилтиомочевина **24**. В спектре ЯМР ^{1}H соединения **24** сигнал протона C^{3}H сдвинут в слабое поле (4.94 м.д.) по сравнению с таковым для исходного амина (3.70 м.д.); пик тиокарбонильного атома углерода в спектре ЯМР ^{13}C наблюдается при 178.9 м.д.

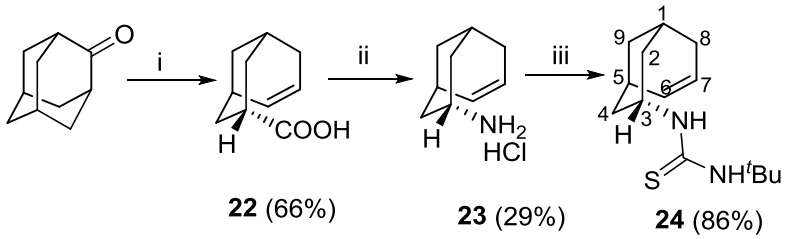


Схема 2.11. Реагенты и условия: i) 1) NaN_3, MsOH, 20°C, 2 ч, 2) NaOH, 3) $HCl_{водн}$; ii) 1) NEt_3, ксилол, $(PhO)_2P(O)N_3$, 10 ч, 2) 8% $HCl_{водн}$, CCl_4, Δ, 3 д.; iii) $^iPr_2NEt$, ^{t}BuNCS, CH_2Cl_2, 20°C, 12 ч; (Указанная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси).

Для мостиковой тиомочевины **24** далее изучали различные варианты циклизации с целью получения 4-тиа-6-азатрицикло[5.3.1.$1^{3,9}$]додекан-5-имина (рис. 2.1, **E**, X=H). Попытки циклизации действием смеси AcBr/MeOH или кипячением с водной HBr оказались неудачными: в реакционной смеси после нейтрализации в первом случае обнаружено только исходное соединение **24**, а во втором – неразделимая смесь продуктов, главным образом, ненасыщенных (в спектрах ЯМР ^{1}H и ^{13}C смеси наблюдались интенсивные сигналы протонов и атомов углерода двойной связи в области при 5.8, 6.1 м.д. и 129 и 134 м.д. соответственно).

Использование брома в качестве электрофильного реагента привело к смеси продуктов, в спектре ^{1}H ЯМР, которой сигналов исходного соединения не обнаружилось. По данным хроматомасс-спектрометрии преобладающий продукт смеси (более 70%) имел молекулярную массу 315/317, кроме того, около 10% смеси составляло соединение с молекулярной массой 237.

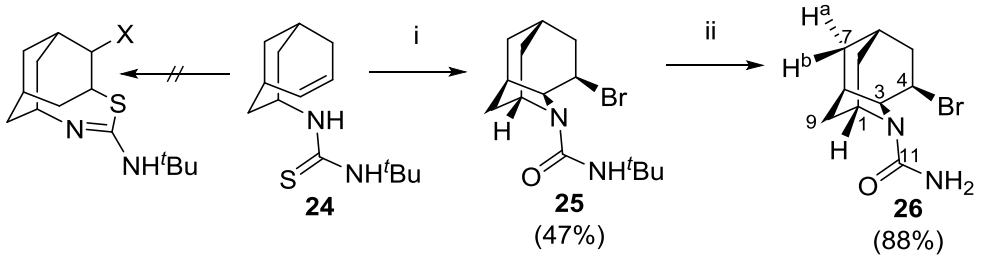


Схема 2.12. Реагенты и условия: i) 1. Br_2, CH_2Cl_2, 20°C, 24 ч; 2. $NaHCO_3$, H_2O; ii) $HCl_{водн}$, Δ, 16 ч (Указанная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси).

Попытки выделить преобладающий продукт с помощью перекристаллизации и методом колоночной хроматографии оказались неудачными, поэтому реакционную смесь нейтрализовали гидрокарбонатом натрия, и хроматографической очистке подвергли неионизованные продукты. В результате в индивидуальном виде с выходом 47% было получено соединение **25** (схема 2.12), которое по данным масс-спектрометрии высокого разрешения имеет состав $C_{14}H_{23}BrN_2O$ (моноизотопная молекулярная масса = 315.1074) и

не содержит в своем составе атома серы. Так было установлено, что основной продукт проведенной реакции циклизации не соответствует структуре ожидаемого соединения. Однозначное строение соединения **25** удалось определить на основании данных рентгеноструктурного анализа продукта его гидролиза – соединения **26** (рис. 2.10).

Результаты РСА оказались неожиданными – структура **26** имеет другой (отличный от структурного типа **E**) тип каркаса и содержит не тиомочевинный, а мочевинный фрагмент (рис. 2.10, схема 2.12). По данным РСА трициклическая мостиковая мочевина **26** кристаллизуется в виде рацемической смеси из четырех независимых молекул (Z'=4) в центросимметричной пространственной группе $P_{21/c}$. Геометрические параметры этих четырех независимых молекул были практически идентичны, однако в одной из них наблюдалась разупорядоченность, вызванная наложением двух энантиомеров с заселенностями 0.72 и 0.27. Циклы в кристалле молекулы **26** принимают следующие конформации: *конверт* для цикла C(1), N(2), C(3), C(8), C(9) [отклонение атома C(9) от плоскости составляет 0.71 Å]; *искаженное кресло* для цикла C(1), C(6), C(7), C(8), C(9), C(10) [отклонение атомов C(8) и C(10) от плоскости составляет 0.63 и 0.89 Å соответственно]; и *твист-ванна* для цикла C(3), C(4), C(5), C(6), C(7) [с отклонением атомов C(4) и C(7) 0.67 Å псевдоторсионным углом C(3A)C(8A)C(6A)C(5A) равным 25.7°]. Во всех независимых молекулах группы NH_2 принимают участие в образовании внутримолекулярной водородной связи N-H· · · Br (N· · · Br 3.44–3.49 Å, NHBr 147–158°). Наиболее подвижный атом водорода в структуре **26** участвует в образовании водородной связи N-H· · · O=C (N· · · O 2.88 Å), что приводит к формированию димера. Из-за наличия четырех независимых молекул связанные водородными связями димеры могут быть разделены на два типа: одна пара содержит центр симметрии, в то время как другая содержит две различных независимых молекулы и может рассматриваться как псевдоцентросимметричная.

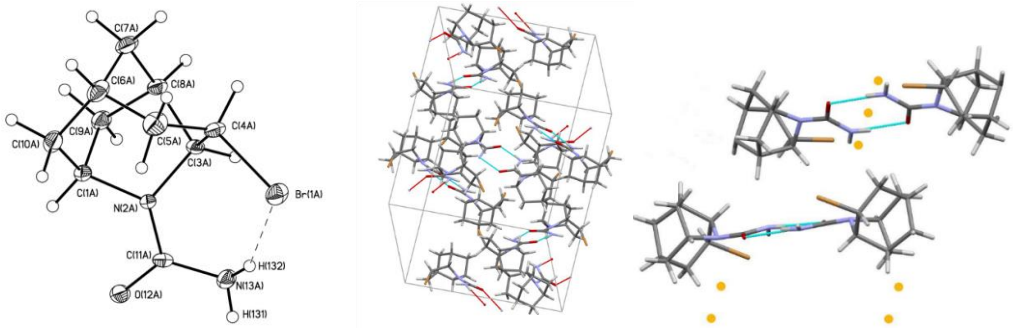


Рисунок 2.10. A) Общий вид (1RS,3RS,4SR,6RS,8SR)-4-бромо-2-азатрицикло[4.3.1.$0^{3,8}$]декан-2-карбоксамида (**26**) в кристалле в представлении атомов тепловыми эллипсоидами (p=50%) B) Упаковка молекулярных слоев в кристалле соединения **26**. C) Симметричный и псевдосимметричный димеры в кристалле соединения **26** (желтыми точками показаны центры симметрии)

С помощью данных спектроскопии ЯМР $^{1}H–^{1}H$, $^{1}H–^{13}C$ и ядерного эффекта Оверхаузера, мы провели соотнесение сигналов всех протонов и атомов углерода в спектрах ЯМР ^{1}H и ^{13}C соединений **25** и **26** (см. экспериментальную часть). Отметим, что пик, соответствующий протону $C^{7}H^{a}$, наблюдается в более сильном поле (~1.4 м.д.) по сравнению с сигналом геминального протона $C^{7}H^{b}$ (~1.6 м.д.), который находится ближе к гетероциклической группировке. То же наблюдается и для двух протонов при C^{9} (1.45 м.д. для $C^{9}H^{экзо}$ и ~1.6 м.д. для $C^{9}H^{эндо}$).

В целом, нами показано, что внутримолекулярная циклизация мостиковой тиомочевины **24** проходит не по атому серы, как это наблюдалось для соединений **10** и **18** (см. выше). Поскольку в реакционной смеси продуктов циклизации присутствует соединение с молекулярной массой 237, соответствующей продукту окисления исходной тиомочевины **24** до соответствующей мочевины, можно сделать вывод о том, что последняя образуется при взаимодействии брома с тиомочевиной **24** в присутствии следовых количеств влаги в реакционной смеси, а не в ходе дальнейшей её обработки. Механизм рассматриваемой реакции, вероятнее всего, включает в себя участие молекулы брома как в электрофильном присоединении к двойной связи (с образованием *транс*-дибромидного производного), так и в окислении тимочевинного фрагмента до мочевины с последующей внутримолекулярной циклизацией по атому азота с образованием производного мостиковой трициклической мочевины **25.** Поскольку подобные каркасные структуры не были описаны в литературе ранее, мы провели восстановительное дебромирование соединения **25** и (через промежуточный продукт **27**, схема 2.13) получили незамещенную мочевину с азатрицикло[4.3.1.$0^{3,8}$]декановым фрагментом (**28**). Это соединение принадлежит к новому структурному типу мостиковых трициклических мочевин.

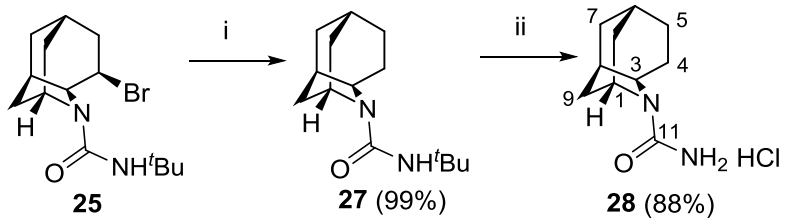


Схема 2.13. Реагенты и условия: i) $^{n}Bu_3SnH$, AIBN, толуол, 100°C, 6 ч; ii) $HCl_{водн}$, Δ, 16ч; (указанная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси).

Состав и строение незамещенной трициклической мостиковой мочевины **28** доказано с помощью данных масс-спектрометрии (m/z 181 $[M+H]^{+}$), элементного анализа и ЯМР спектроскопии (характеристические сигналы HC^{1} и HC^{3} наблюдаются в спектре ЯМР ^{1}H в области 3.96 – 4.06 м.д., а в спектре ЯМР ^{13}C – в области 55.1 м.д.; пик атома углерода C^{11}

мочевинного фрагмента проявляется при 156.7 м.д.).

Далее мы изучили возможность циклизации гомолога мостиковой тиомочевины **24** (структура **30**, схема 2.14) в трициклическое производное изотиомочевины. Исходное соединение **30** было получено в две стадии из адамантанона, который с помощью перегруппировки Шмидта превращали в *эндо*-бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-карбонитрил [68] и затем восстанавливали алюмогидридом лития до *эндо*-бицикло[3.3.1]ноненилметиламина **29** [69].

Реакция амина **29** с *трет*-бутилизотиоцианатом привела к тиомочевине **30** (схема 2.14). В спектре ЯМР ^{1}H соединения **30** сигналы соседних с тиомочевинной группировкой метиленовых протонов сдвинуты в слабое поле (3.47, 3.63 м.д.) по сравнению с исходным амином **29** (2.54–2.64 м.д.). Сигналы атомов углерода фрагмента ^{t}BuNHC(=S)NH вещества **30** наблюдаются в спектре ЯМР ^{13}C при 29.6 (C(<u>C</u>H$_3$)$_3$), 52.6 (<u>C</u>(CH$_3$)$_3$) и 180.8 (C=S) м.д.

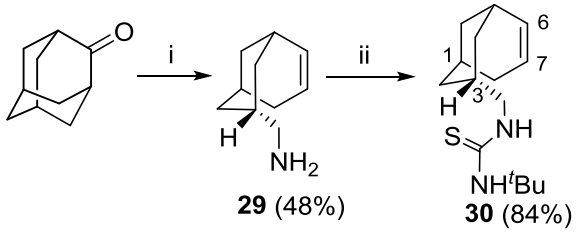


Схема 2.14. Реагенты и условия: i) 1) NaN_3, MsOH, AcOH, 20°C, 2) $LiAlH_4$, $AlCl_3$, Et_2O, 3) NaOH, H_2O; ii) ^{i}Pr$_2$NEt, ^{t}BuNCS, CH_2Cl_2, 20°C, 12 ч. Указанная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси.

Обработка тиомочевины **30** бромом привела к продукту присоединения галогена к двойной связи и окисления тиомочевинного фрагмента до мочевинного – соединению **31** (m/z: 412 $[M+4]^+$, 410 $[M+2]^+$, 408 $[M]^+$), при этом образования трициклической структуры не наблюдалось (схема 2.15).

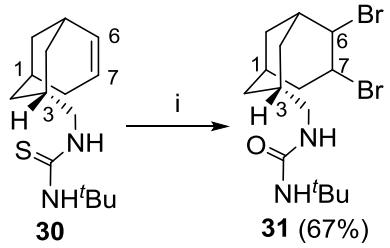
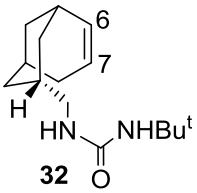


Схема 2.15. Реагенты и условия: i) Br_2, CH_2Cl_2, 20°C, 24 ч.

Попытка проведения внутримолекулярной циклизации через аналогичное соединению **31** иод-производное также не увенчалась успехом – по данным спектроскопии ЯМР ^{1}H реакционной смеси (тиомочевины **30** с I_2) двойная связь бициклического субстрата оставалась неизменной: в спектре наблюдались интенсивные сигналы протонов при двойной связи в области 5.5–5.9 м.д. По данным хроматомасс-спектрометрии

преобладающим продуктом смеси (>70%) являлось соединение с m/z 251, что соответствует протонированному молекулярному иону $[M+H]^+$ соединения **32** – мочевинного аналога исходной тиомочевины **30**.



Наконец, реакция тиомочевины **30** с йодом в присутствии *трет*-бутилгидропероксида (схема 2.16) привела к сложной смеси продуктов, из которой с помощью колоночной хроматографии в индивидуальном виде удалось выделить только соединение **33**, строение которого установлено методом рентгеноструктурного анализа (рис. 2.11, А).

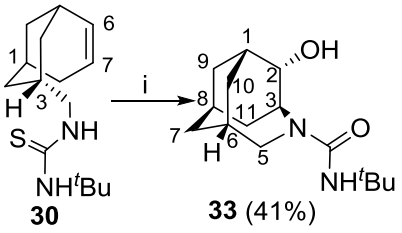


Схема 2.16. Реагенты и условия: i) I_2, ^{t}BuOOH, CH_2Cl_2, 20°C, 24 ч. (Указана относительная конфигурация соединения **33**, полученного в виде рацемической смеси).

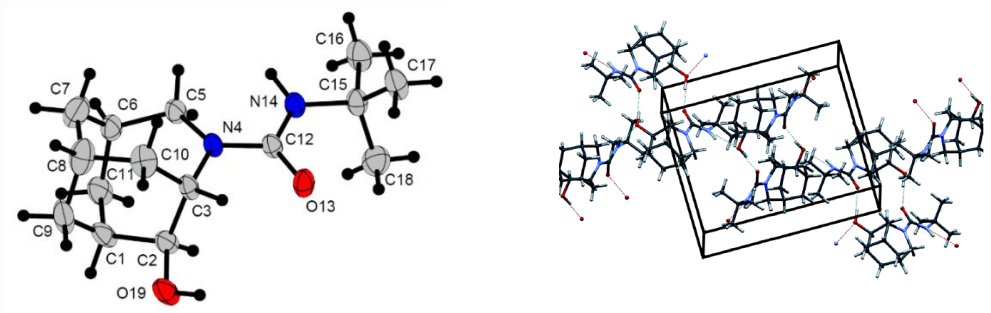
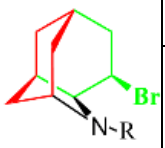


Рисунок 2.11 А: Общий вид (1RS,2RS,3RS,6SR,8RS)-N-*трет*-бутил-2-гидрокси-4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекан-4-карбоксамида (**33**) в кристалле в представлении атомов тепловыми эллипсоидами (p=50%); В: Молекулярные слои молекулы **33** в плоскости ac.

По данным РСА, это вещество содержит трициклическое азагомоадамантановое ядро с фрагментом мочевины. В кристаллах соединения **33** атом кислорода O^{19} гидроксильной группы участвует в образовании водородных связей O^{19}–$H^{19}\cdots O^{13**}$, N^{14}–$H^{14}\cdots O^{19*}$(* = x, – y+3/2, z+1/2; ** = – x+1, – y+1, – z+1), что приводит к формированию слоев в плоскости ac (рис. 2.11, В).

Интересно отметить, что кольца исходной бицикло[3.3.1]нонановой системы в трициклическом каркасе соединения **33** принимают конформацию, близкую к наиболее стабильной для таких систем конформации *кресло – кресло*, в то время как в соединении **26** (рис. 2.10, А) она близка к варианту *кресло – ванна* из-за конформационной жесткости дополнительного гетероцикла (сравнение количественных параметров складчатости, рассчитанных по программе Рикон [70] приведено в Таблице 1).

Таблица 1. Параметры складчатости Зефирова–Палюлина (ZP) и Кремера–Попла (CP), рассчитанные для соединений **26** и **33**.

Структура	Кольца и конформации	ZP параметры				CP параметры		
		S	θ	ψ_2	σ	Q	θ	ϕ_2
33	C1-C2-C3-C9-C8-C11 промежуточная между *кресло* и *конверт*	1.121	7.6	3.1	0.5	0.569	14.7	4.2
	C1-C10-C6-C7-C8-C11 *искаженное кресло*	1.128	4.8	9.6	0.5	0.563	9.8	10.2
	C3-N4-C5-C6-C7-C8-C9	1.457	-	315.7	1.1	0.805	-	310.7
 **26**	C7-C6-C5-C4-C3-C8 промежуточное между *ванна* и *твист-ванна*	0.993	87.6	23.0	0.4	0.829	88.3	24.8
	C9-C8-C7-C6-C10-C1 промежуточное между *кресло* и *полукресло*	1.234	9.5	25.6	1.7	0.658	18.6	24.3
	C9-C1-N2-C3-C8	0.670	-	14.4	0.5	0.479	-	12.7

Наконец, мы провели реакцию тиомочевины **30** с иодом в присутствии K_2CO_3 в качестве основания (схема 2.17). Однако и в этом случае трициклическая изотиомочевина не была обнаружена в реакционной смеси, хотя два индивидуальных продукта удалось выделить после двукратного колоночного хроматографирования.

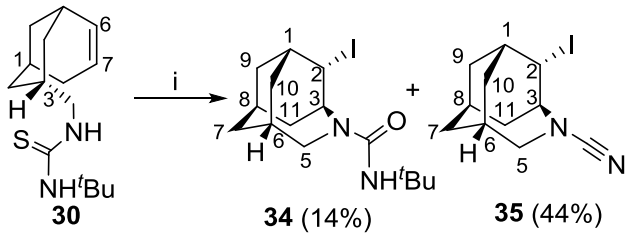


Схема 2.17. Реагенты и условия: i) I_2, K_2CO_3, CH_2Cl_2, 20°C, 24 ч. (Обозначенная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси).

Их структуры были установлены на основании данных масс-спектрометрии ($[M+H]^+$ 377 и 303 соответственно), ИК спектроскопии (интенсивная полоса поглощения карбонитрильной группы при 2203 $см^{-1}$в спектре **35**) и ЯМР спектроскопии. Сигналы атомов углерода карбонильной (для **34**) и карбонитрильной (для **35**) группировок наблюдаются в спектре ^{13}C ЯМР при 156 и 118 м.д. соответственно. Данные ^1H-^{13}C и ^1H-^1H 2D

ЯМР для соединения **35** полностью соответствуют азагомоадамантановой структуре. *Транс*-конфигурация атома иода в соединении **35** подтверждена данными ЯМР спектроскопии ^{1}H -^{1}H: подавление сигнала протона у иод-замещенного атома углерода (ICH) при 4.54 м.д. вызывает дальний отклик сигналов *цис*-протонов при C^{9} (1.62 м.д.) и C^{11} (1.48 м.д.) в соответствии с “правилом W”, но не вызывает отклика сигнала протона HC^{10} (рис. 2.12).

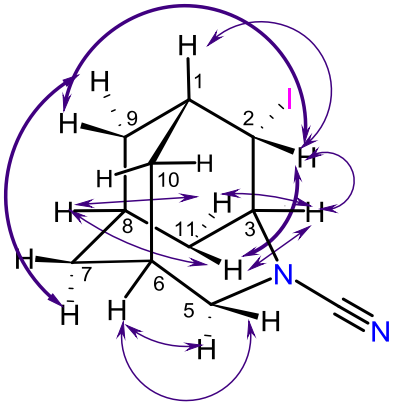


Рисунок 2.12. Наиболее выраженные взаимодействия между атомами водорода по данным спектра ^{1}H-^{1}H COSY; жирными стрелками показаны взаимодействия протонов, находящихся в “W”-конфигурации относительно друг друга.

Соединения **33** и **34**, по всей вероятности, получаются в результате одновременной *экзо*-электрофильной атаки по двойной связи мостиковой тиомочевины **30** (эпоксидирования в случае соединения **33** или образования иодониевого иона в случае соединения **34**), окисления тиомочевинного фрагмента до мочевинного и последующего внутримолекулярного нуклеофильного замещения с образованием связи с атомом углерода C^{7} (см. нумерацию атомов для соединения **30**) и формированием азагомадамантанового каркаса. Этот процесс отличается от описанной выше циклизации гомологичной тиомочевины **24** (схема 2.12), затрагивающей C^{6} атом углерода бициклической системы с образованием изоадамантановой структуры. Отметим, что образование N-карбонитрила **35**, по всей вероятности, является результатом отщепления защитной группы и дегидратации мочевинной группировки соединения **34**, протекающей в присутствии основания [71].

Таким образом, из трех базовых синтетических схем, представленных на рисунке 2.1, первые две были реализованы и доведены до удобства масштабирования продуктов, а соединения **7, 12, 14** и **17, 20, 21** наработаны в количествах, достаточных для проведения биотестирования *in vivo*. Трициклические производные изотиомочевин на основании разработанной синтетической стратегии получить не удалось. Однако, в ходе ее реализации было обнаружено интересное протекание реакции внутримолекулярной циклизации мостиковых изотиомочевин с образованием не описанного ранее структурного типа каркасных производных мочевины и N-карбонитрилов.

2.1.4. Результаты биотестирования серий аннелированных и мостиковых изотиомочевин[1]

Антигипотензивные свойства гексагидро-1,3-бензотиазол-2-аминов **7, 12 и 14** (в виде рацемических смесей) тестировали на крысах Wistar с острым эндотоксическим вазодилатационным шоком, стимулированным липополисахаридом.

Инъекция соединения **7** вызывала длительное и положительное действие: систолическое артериальное давление (САД) со второй минуты до конца эксперимента (90 мин) увеличилось до 120–130% от начального артериального давления или 82% от исходного фонового значения. Диастолическое артериальное давление (ДАД) в первые пять минут увеличилось до 140% и затем колебалось в пределах 105–130% от начального уровня артериального давления. Частота сердечных сокращений (ЧСС) повышалась до исходных значений здоровых животных через 5–10 минут, а затем с 20-й минуты и до конца эксперимента находилась на уровне 95% от физиологических стандартов. Инъекция соединения **12** вызывала кратковременное повышение САД со второй до 20-й минуты, а затем была зарегистрирована непрерывная тенденция к снижению. ЧСС снизилась до 90% с пятой минуты, а ДАД снизилось до 90% от начальных значений за 20 минут и до 70% за 30 минут. Частота дыхания была стабильной. Соединение **14** вызвало дополнительную гипотензию на 10-й минуте после инъекции. Через 30 минут значения САД и ДАД были соответственно 75% и 65% от исходных значений. ЧСС сначала умеренно увеличивалась 105–107%, но через 40 минут снизилась до 95%. Частота дыхания увеличивалась в течение 40–50 минут, а затем дыхание становилось резким, и возникала отдышка.

Эти данные показывают, что тип заместителя в C^7 синтезированных гексагидро-1,3-бензотиазол-2-аминах играют решающую роль в их сосудосуживающих свойствах. Антигипотензивное действие C^7-бромзамещенного соединения **12** оказалось кратковременным и слабым, тогда как его гидроксильный аналог **14** вызывал дополнительную гипотензию. Наилучший результат наблюдался для незамещенной бициклической изотиомочевины **7**, которая не только вызывала сильный антигипотензивное действие [аналогичное таковому для 2-амино-2-тиазолина (**3**, n=1) и 2-амино- 5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазина (**3**, n=2), см. главу 1.1.1 лит. обзора], длившийся не менее 90 минут, то есть более продолжительный по сравнению с соединениями лидерами [14].

Результаты аналогичного исследования антигипотензивных свойств веществ **17, 20, 21** (в виде рацемических смесей) оказались неожиданными. Инъекция соединения **17**

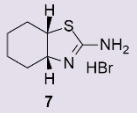
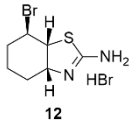
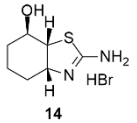
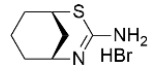
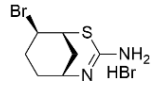
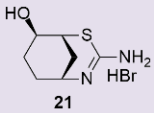
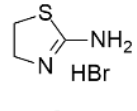
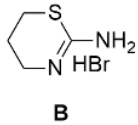
[1] Данные испытаний биологической активности предоставлены сотрудниками медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба РАМН Е. А. Чеснаковой и д.х.н. М. В. Филимоновой.

изначально не вызывала никакого эффекта, но через 15–20 минут наблюдалась дополнительная гипотензия: САД и диастолическое артериальное давление ДАД уменьшились, соответственно, до 85% и 70% от исходных значений. Отрицательная динамика сопровождалась уменьшением частоты сердцебиения и дыхания, что продолжалось до конца эксперимента (90 мин). Соединение **20** вызывало еще более тяжелое действие: с пятой минуты после инъекции наблюдалось дополнительное падение САД и ДАД, и частоты сердцебиения. Между 15-й и 20-й минутами на фоне отрывистого дыхания и мышечных спазмов кровяное давление упало до 40–50% от изначального уровня шока, что привело к гибели одного животного. В то же время инъекция соединения **21** вызывала длительное и положительное действие: со второй минуты до конца эксперимента (90 мин) артериальное давление увеличилось и к концу пятой минуты достигало до 120% от исходного фонового значения. До конца эксперимента САД оставалось на уровне 120%, а ДАД и скорость сердцебиения – на уровне 105%.

Таким образом, лучший результат – значительное и продолжительное антигипотензивное действие без токсических побочных эффектов наблюдалось для гидрокси-замещенной мостиковой тиомочевины **21**, в то время как незамещенное базовое соединение **17**, для которого доказана высокая iNOS ингибиторная активность *in vitro*, вызывало дополнительную гипотензию на модели острого эндотоксического шока *in vivo*. Эти данные были подтверждены и в дополнительном тесте на модели продолжительной эндотоксемии (*refractory vasoplegia*) (значения САД и ДАД для животных, получавших изотиомочевину **17** в виде однократной внутрибрюшинной инъекции 20 мг/кг были ниже исходного уровня на 10–15% в течение 60 мин мониторинга. Кроме того, у этих животных наблюдались симптомы сердечной недостаточности, и их дыхание было более резким и неровным по сравнению с контрольной группой). Неожиданное поведение *in vivo* для активного ингибитора iNOS *in vitro* может быть связано с взаимодействием с другими, отличными от *i*NOS молекулярными мишенями.

В целом, анализ полученных соотношений *структура – антигипотензивная (антишоковая) активность* (см. сводную таблицу 2) показывает, что закономерности для мостиковых изотиомочевин **17, 20, 21** отличаются от таковых для их аннелированных аналогов **7, 12, 14** и не коррелируют с расчетными значениями липофильности. Однако, природа заместителя в обеих сериях играет ключевую роль в способности веществ вызывать прекращение состояния эндотоксического шока у экспериментальных животных.

Таблица 2. Сводные данные биотестирования и расчетные значения LogP и $LogD_{7,4}$, полученных бициклических изотиомочевин.

Структура и номер соединения	**LogP**	**Основные результаты тестирования *in vivo* *(модель острого эндотоксического вазодилатационного шока*)**
 **7**	1.41	Длительное (минимум 90 мин) антигипотензивное действие без тенденции к снижению, частота дыхания и сердцебиение в норме
 **12**	1.63	Кратковременное и слабое антигипотензивное действие с последующим непрерывным понижением давления, частота дыхания в норме
 **14**	0.26	Дополнительная гипотензия, увеличение частоты дыхания, отдышка
 **17**	1.17	Дополнительная гипотензия, уменьшение частоты сердцебиения и дыхания
 **20**	1.39	Сильная дополнительная гипотензия, уменьшение частоты сердцебиения и дыхания, мышечные спазмы
 **21**	0.02	Длительное (минимум 90 мин) антигипотензивное действие, сердцебиение в норме
 **A**	-2.72	Кратковременное (~30 мин) антигипотензивное действие
 **B**	-2.45	Кратковременное (~30 мин) антигипотензивное действие

В первой серии наибольшую активность проявляет гидроксилированный мостиковый тиазин **21**, а во второй – соединение **7** (для обоих соединений получено предварительное подтверждение *i*NOS-ингибирующего действия *in vitro*). Оба вещества не проявили негативного побочного действия, но аннелированный аналог оказался более эффективным. Как и предполагалось, увеличение липофильности соединения **7** по сравнению с соединениями лидерами 2-амино-2-тиазолином (**3**, n=1) и 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазином (**3**, n=2) привело к существенно большей продолжительности его действия *in vivo*.

2.2. *Разработка противоопухолевых агентов с фрагментами бициклических изотиомочевин*[1]

Проведенная на предыдущем этапе разработка удобной препаративной схемы получения бициклических изотиомочевин стимулировала дальнейшие попытки использования таких структурных шаблонов для дизайна соединений с другими видами биоактивности, в частности, противоопухолевых агентов. В настоящей работе в качестве молекулярной мишени действия таких соединений был выбран клеточный белок тубулин, среди описанных лигандов которого рассматриваемые структуры не упоминаются (см. лит. обзор). Тубулин представляет собой глобулярный гетеродимерный белок, состоящий из α- и -субъединиц. Полимеризуясь, этот белок образует сеть микротрубочек (рис. 2.13), которые играют важную роль в митотическом делении клеток, формировании их цитоскелета и других процессах, протекающих в живых организмах [72,73].

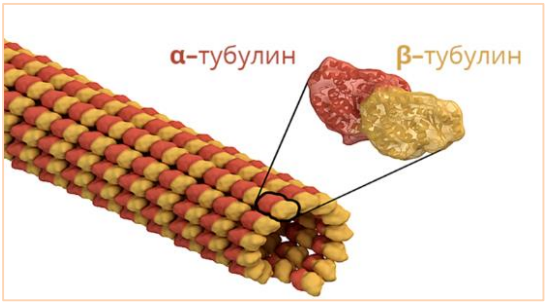


Рисунок 2.13 Схематичное изображение микротрубочки

Известные тубулин-направленные противоопухолевые агенты взаимодействуют с различными областями белка. Наибольшее число медхимических исследований посвящено созданию новых лигандов колхицинового сайта связывания, главным образом, вследствие их относительной структурной простоты и синтетической доступности (см. обзоры последних лет [73–75]. Колхициновый сайт расположен в β-субъединице тубулина на границе с α-субъединицей одного гетеродимера [76,77], а связывание в нем приводит к остановке полимеризации тубулина и разборке микротрубочек [78,79],[80].

---

[1] При работе над данным разделом использованы материалы следующих публикаций автора, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:
1) Evdokimova, A.V.; Alexeev, A. A; Nurieva, E. V; Milaeva, E. R; Kuznetsov, S. A; Zefirova, O. N. N-(4-Methoxyphenyl)-substituted bicyclic isothioureas: effect on morphology of cancer cells. *Mend. Commun.*, **2021**, *31* (3), 288-290.
2) Елисеев И. А.; Боровик А. Н.; Алексеев А. А.; Нуриева Е. В.; Зефирова О. Н. Новые производные подофиллотоксина и эпи-подофиллотоксина с N,S-содержащими гетероциклическими фрагментами. *Материалы XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», секция «Химия»*. [Электронный ресурс] отв. ред. Н. А. Коваленко, А. В. Дзюбан – М.: Издательство «Перо», Москва, **2022**, с. 424.
3) Алексеев А. А.; Елисеев И. А.; Боровик А. Н.; Нуриева Е. В.; Зефирова О. Н. Конъюгат колхицина с фрагментом бициклической изотиомочевины. *Материалы XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», секция «Химия»*. [Электронный ресурс] отв. ред. Н. А. Коваленко, А. В. Дзюбан – М.: Издательство «Перо», Москва, **2022**, с. 485.

2.2.1. Аналоги верубулина на основе замещенных бициклических изотиомочевин

К настоящему моменту изучено множество лигандов колхицинового сайта тубулина как синтетических, так и полученных из природных источников. Тем не менее, использование таких соединений в противораковой терапии ограничивается единичными примерами из-за их слишком высокой общей токсичности при эффективных концентрациях или малой активности *in vitro* и/или *in vivo*. Попытки преодоления указанных недостатков стимулируют применение самых разнообразных, в том числе нестандартных подходов к созданию лигандов колхицинового сайта тубулина. Одним из таких подходов является замена ароматического фрагмента неароматическим. Такая замена применяется редко из-за резких различий их геометрических и электронных характеристик, и, как следствие, вероятной потери активности. Однако, в некоторых случаях такая замена может приводить к более активным аналогам (например, из-за более полного «заполнения» неароматической группировкой определенной области сайта связывания) или улучшать их фармакокинетические параметры. В литературном обзоре (см. выше) представлены успешные примеры использования замены ароматического – тиазольного или пиримидинового и др. – цикла фрагментом циклической изотиомочевины в ходе дизайна ингибиторов белок-белкового взаимодействия менин – MLL, лигандов рецепторов γ-аминомасляной кислоты и ингибиторов синтазы оксида азота (см. главу 1.1.3). В данной работе мы провели аналогичную замену в структуре *Верубулина* (рис. 2.14) – активного, но не одобренного клинически лиганда колхицинового сайта тубулина, предложив для синтеза структуры **F** и **G** (рис. 2.14) с целью изучения потенциала циклических изотиомочевин в качестве тубулин направленных антимитотических агентов.

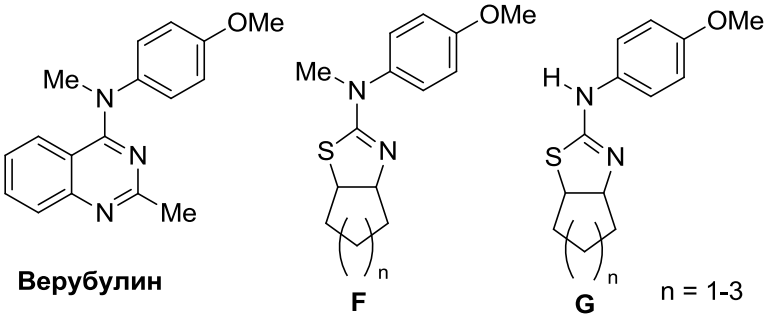


Рисунок 2.14. Структуры *Верубулина* и его аналогов общей формулы **F** и **G**, изученных в данной работе.

Для синтеза целевых веществ предполагалось использовать разработанную нами (см. главу 2.1) препаративную схему, ключевой стадией которой является внутримолекулярная циклизация соответствующих ненасыщенных замещенных тиомочевин.

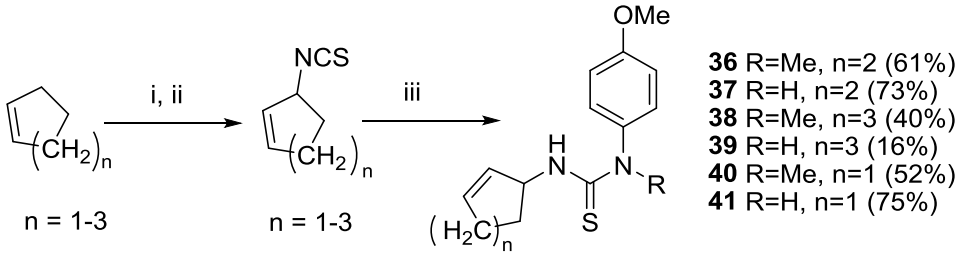


Схема 2.18. Реагенты и условия: i) NBS, AIBN, CCl_4, Δ, 1,5 ч; ii) KSCN, MeOH, 0–22°C, 2 ч; iii) 4-метоксианилин или 4-метокси-N-метиланилин, $^{i}Pr_2NEt$, CH_2Cl_2, 22°C, 12ч. Соединения получены в виде рацемических смесей.

Для синтеза исходных реагентов **36 – 41** нами была реализована серия последовательных реакций аллильного бромирования, нуклеофильного замещения и присоединения к соответствующему анизидину, проведенная для препаративного удобства без выделения промежуточных легколетучих бромидов и изотиоцианатов (схема 2.18). Это позволило получить целевые замещенные тиомочевины **36 – 41** (в виде рацемических смесей), в основном (кроме соединения **39**), с удовлетворительными выходами.

В спектрах ЯМР ^{1}H соединений **36 – 41** сигнал протона C<u>H</u>N-циклоалкенильного фрагмента наблюдается при 4.9 – 5.5 м.д., а сигналы протонов двойной связи циклоалкенила C^2H и C^3H проявляются при 5.3 – 5.7 и 6.7 – 5.9 м.д.

В результате обработки тиомочевин **36 – 38** смесью AcBr/MeOH одновременно протекала реакция электрофильного присоединения и внутримолекулярной циклизации с образованием конденсированных бициклических изотомочевин **42 – 44** (схема 2.19). Процесс проходил диастереоселективно с образованием продуктов с *цис*-конфигурацией (как и для аналогичного процесса, описанного выше, см. главу 2.1).

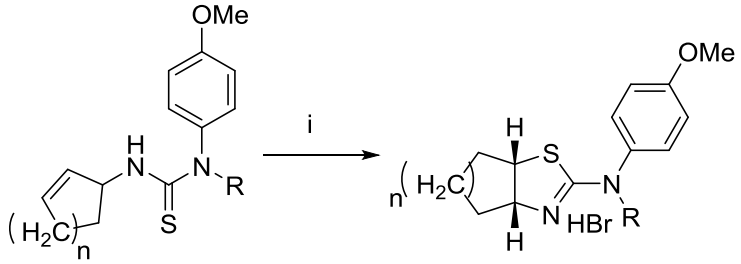


Схема 2.19. Реагенты и условия: i) AcBr, MeOH, 22°C, 24 ч. Указанная конфигурация является относительной, вещества получены в виде рацемических смесей.

В спектрах ЯМР ^{1}H соединений **42 – 44** наблюдаются два сигнала в области 3.8 – 3.9 и 4.1 – 4.5 м.д., соответствующие химическим сдвигам протонов при узловых атомах углерода конденсированной системы. Последние проявляются в спектрах ЯМР ^{13}C при

60 – 67 и 48 – 52 м.д. Сигнал атома C^2 тиазольного фрагмента наблюдается в интервале 169 – 174 м.д. Спектральные данные соединений **42** – **44** указывают на наличие одного таутомера, но не позволяют отнести его к конкретной таутомерной форме. Следует отметить, что аналог соединения **44** с семичленным циклом, не содержащий метильного заместителя при экзоциклическом атоме азота, нам не удалось выделить в индивидуальном виде, поскольку в ходе соответствующей реакции для тиомочевины **39** образовывалась сложная смесь продуктов.

Для синтеза изотиомочевин, конденсированных с пятичленными циклами, циклизацию тиомочевин **40** и **41** проводили более жестких условиях, а именно, в присутствии брома (схема 2.20).

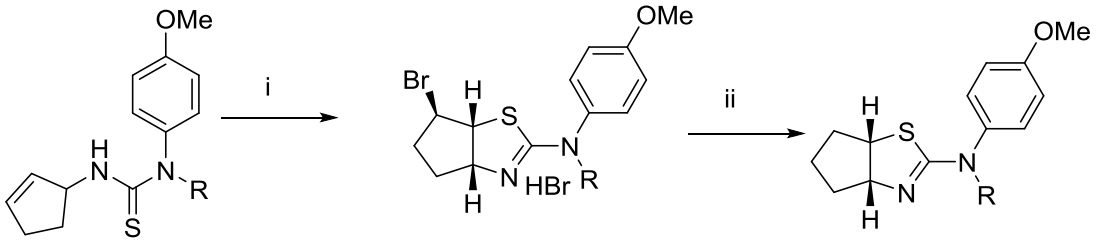


Схема 2.20. Реагенты и условия: i) Br_2, CH_2Cl_2, 22°C, 24 ч; ii) $^nBu_3SnH$, AIBN, $PhCH_3$, 100°C, 10 ч. Указанная конфигурация является относительной, вещества получены в виде рацемических смесей.

После хроматографирования реакционной смеси были выделены индивидуальные диастереоизомеры соединений **45** и **46** (в их спектрах ЯМР ^1H наблюдалось по одному набору сигналов). В спектре ЯМР ^1H соединений **45** и **46** сигнал протона C^6H-Br наблюдается при ~ 4.3 м.д., а в спектре ЯМР ^{13}C пик соответствующего атома углерода проявляется в интервале 60 – 63 м.д. Сигналы узловых атомов углерода конденсированной системы C^{3a} и C^{6a} наблюдались в спектре ЯМР ^{13}C при ~ 70–78 и 57–58 м.д., а соответствующие протоны – в области 4.8 – 5.1 и 4.4 м.д. в спектре ЯМР ^1H. *Транс*-конфигурация атома брома по отношению к тиазольному кольцу определена на основании спектров ^1H NOESY.

Бромзамещенные производные **45** и **46** подвергли восстановительному дебромированию путем обработки гидридом три-*н*-бутилолова, что привело к целевым изотиомочевинам **47** и **48** (данные масс-спектрометрии: $[M + H]^+ = 263$ для **47** и $[M + H]^+ = 249$ для **48**). Исчезновение сигналов при ~ 4.1 – 4.3 м.д. в спектрах ЯМР ^1H и при ~ 60 м.д. в спектрах ЯМР ^{13}C подтверждает удаление атома брома при C^6 в исходных соединениях

45 и **46**. Аналогично изотиомочевинам **42** – **44**, соединения **45, 46** и **47, 48** получены в одной таутомерной форме.

Способность полученных изотиомочевин **42** – **44** и **47, 48** влиять на морфологию опухолевых клеток и сеть их микротрубочек (МТ) была изучена на линии клеток карциномы легких человека А549.[1] Соединения с циклогексильным и циклопентильным кольцами **42, 43** и **47, 48**, независимо от наличия или отсутствия в их структуре N-метильного заместителя, не оказывали никакого действия на клетки даже при высокой концентрации 100 мкМ. Для изотиомочевины **44**, конденсированной с семичленным циклом, была, однако, выявлена способность вызывать заметные изменения в морфологии клеток (сокращение клеточной поверхности или округление клеток) как при 10 мкМ, так и при 100 мкМ, что свидетельствует о ее цитотоксическом действии (рис. 2.15).

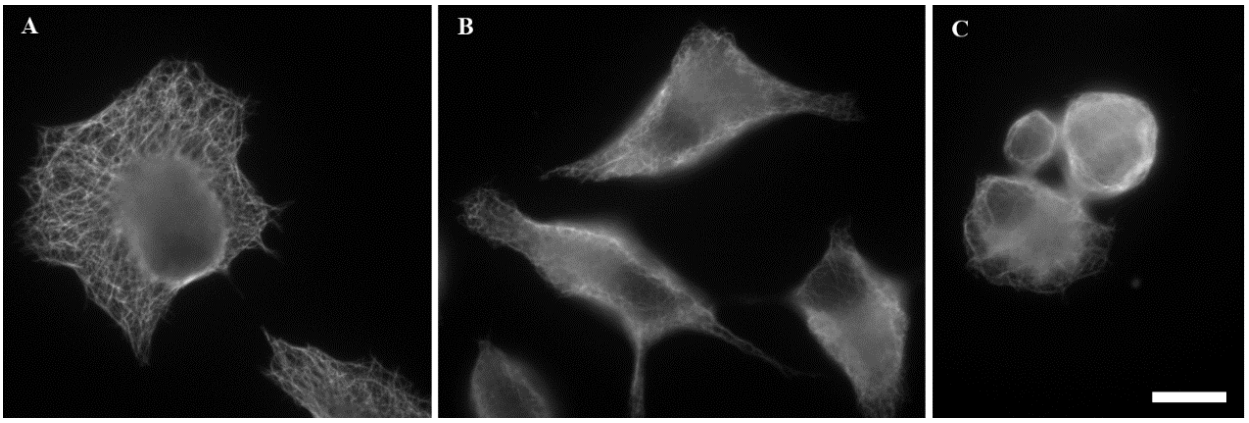
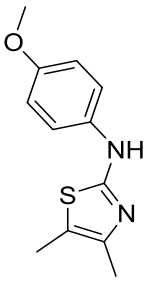


Рисунок 2.15. Иммунофлуоресцентная микроскопия клеток А549, обработанных в течение 24 ч А): 0.5% ДМСО (МТ в норме); В) - 10 мкМ **44** (МТ в норме, сокращение клеточной поверхности); С) – 100 мкМ **44** (МТ в норме, округление клеток). Шкала 10 мкм.

Хотя в присутствии соединения **44** рост клеток прекращался, никаких изменений сети микротрубочек не наблюдалось. Это означает, что антимитотическое действие изотиомочевины **44** связано с воздействием не на тубулин, а на другую молекулярную мишень. Проведенный нами литературный и патентный поиск структурно близких соединений выявил патент сотрудников фармацевтической компании Pfizer [81], в котором описан синтез соединения **H**, обладающего антипсихотическим действием, по всей вероятности, за счет воздействия на рецептор нейрокинина 1 (NK1). То обстоятельство, что антагонисты указанного рецептора в последние годы интенсивно изучаются в качестве



H

[1] Тестирование проведено в Интитуте биологических наук университета г. Росток (Германия) в научной группе **д.х.н. С. А. Кузнецова**.

противоопухолевых агентов [82,83], дает основание считать этот рецептор возможной молекулярной мишенью соединения **44**.

Следует также отметить, что достоинством *Верубулина*, выбранного в проведенном нами исследовании в качестве соединения-лидера, является его антиангиогенное действие (блокирование роста кровеносных сосудов опухоли), а также активность по отношению к некоторым резистентным линиям опухолевых клеток. Теоретически его структурный аналог **44** может сохранять эти свойства, что делает интересными дальнейшие исследования полученной циклической изотиомочевины **44** как по определению ее аффинности к рецептору NK1, так и в экспериментах на различных, в том числе резистентных линиях опухолевых клеток *in vitro*.

2.2.2. Бициклические изотиомочевины для синтеза конъюгатов с подофиллотоксином и колхицином

В рамках работ по созданию тубулин-направленных антимитотических агентов с фрагментами бициклических изотиомочевин нами изучены подходы к синтезу соединений **49** и **50** с целью их последующего конъюгирования с известными лигандами тубулина – подофиллотоксином (**51**) [84] и колхицином (**53**) [85] (рис. 2.16).

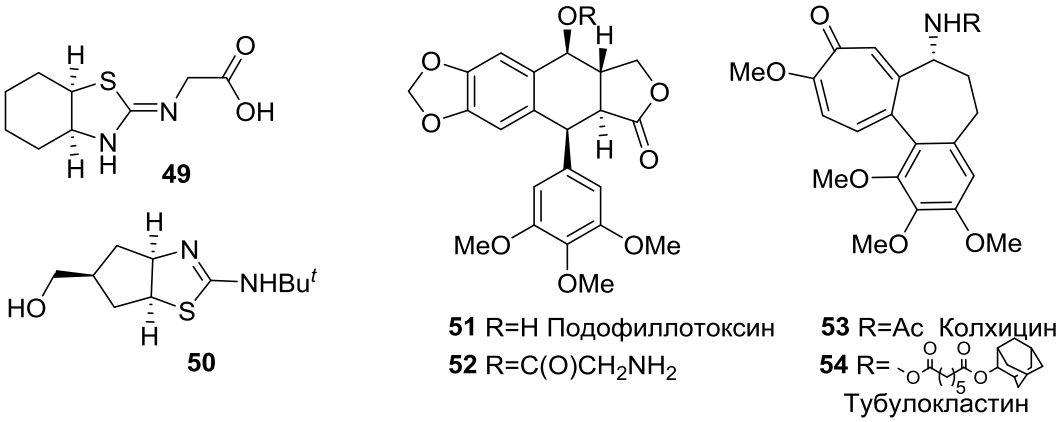


Рисунок 2.16. Структуры целевых бициклических изотиомочевин **49** и **50**, предложенных для конъюгирования с лигандами тубулина подофиллотоксином (**51**) и колхицином (**53**).

Интерес к синтезу подобных соединений был обусловлен ранее полученными данными о селективности некоторых C^4-производных подофиллотоксина и C^7-производных колхицина с объемными липофильными заместителями по отношению к опухолевым клеткам [86–89], а также о необычном действии ряда таких конъюгатов на сеть микротрубочек опухолевых клеток (см., например, [90–97]). Кроме того, для серии аналогов тубулокластина (**54**), представляющих собой C^7-производные колхицина с объемными неплоскими липофильными заместители, показана корреляция необычного

(кластеризующего) действия на микротрубочки с активностью и улучшением токсикологического профиля *in vivo* (см. [94] и ссылки в ней) по сравнению с высоко токсичной природной молекулой.

Следует отметить, что введение объемного липофильного заместителя в молекулу подофиллотоксина или колхицина приводит к существенному уменьшению ее водорастворимости. Чтобы скомпенсировать это уменьшение, мы предложили в качестве заместителей фрагменты бициклических изотиомочевин, способных протонироваться (по крайней мере частично) при физиологическом pH и характеризующихся хорошим балансом липофильность – гидрофильность и другими лекарствоподобными свойствами (см. лит. обзор). Так как молекула подофиллотоксина содержит при C^4 спиртовую группу, была получена кислота **49** для последующего синтеза соответствующего сложного эфира. Для C-7 производного колхицина, представляющего собой аналог тубулокластина **54**, мы предложили в качестве заместителя структуру **50** с разветвленной липофильной группировкой и спиртовой группой, позволяющей присоединить к природной молекуле линкерную цепь определенной длины.

Основные подходы к синтезу целевого соединения **49** показаны на схеме 2.21. Попытки получить его путем циклизации циклогекс-3-ен-1-илтиомочевин **55** или **56** действием брома или HBr по разработанной нами методике (см. главу 2.1.1) не увенчались успехом: хотя продукты циклизации **57** и **58** были выделены и охарактеризованы (схема 2.21, A), дальнейшее отщепление защитной группы провести не удалось.

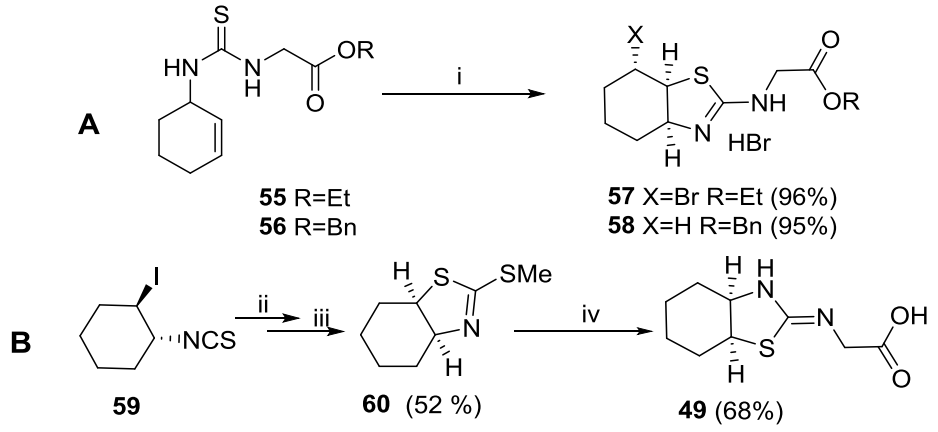


Схема 2.21. Реагенты и условия: i) для **55**: Br_2, CH_2Cl_2, 22°C, 8 ч или для **56**: AcBr, MeOH, CH_2Cl_2, 22°C, 12 ч; ii) $Na_2S\times9H_2O$, ацетон, H_2O, 22°C, 45 мин; iii) 1) MeI, ацетон, Δ, 3 ч; 2) K_2CO_3; iv) глицин, MeOH, H_2O, Δ, 5 ч. Указанная конфигурация является относительной, вещества получены в виде рацемических смесей.

Поэтому мы использовали другой (также ранее разработанный, [98–101]) подход к получению кислоты **49**. Он включал в себя циклизацию синтезированного из циклогексена иод-замещенного изотиоцианата **59** [98] под действием сульфида натрия [99] (схема 2.21,

B) и привел к образованию требуемого бициклического темплата с тиокарбонильной группой. Дальнейшее метилирование с образованием соединения **60** и замещение тиометильной группы глицином привело к целевой гетероциклической кислоте **49**.

Соединение **49** было полностью охарактеризовано спектральными данными, а его структура однозначно доказана методом рентгеноструктурного анализа (рис 2.17).

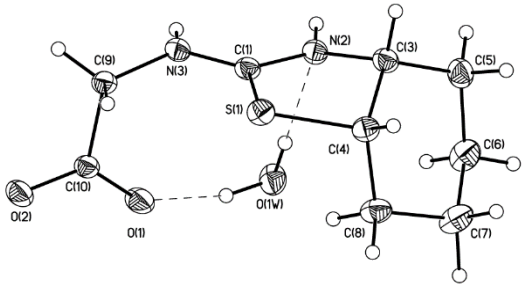


Рисунок 2.17. Общий вид молекулы 2-[(3aRS,7aSR, Z**)-** гексагидробензо[d]тиазол-2-илиден)амино] уксусной кислоты (**49**) в представлении атомов тепловыми эллипсоидами (p=50%). Молекула образует кристаллогидрат состава $C_9H_{14}N_2O_2S$ 1/3 H_2O. Основные длины связей (Å): S(1)-C(1) 1.7499(8), C(1)-N(2) 1.323(1), C(1)-N(3) 1.318(1), C(10)-O(1) 1.254(1), C(10)-O(2) 1.251(1) и величины углов (º): N(2)C(1)N(3) 122.70(7), N(3)C(1)S(1) 123.90(6), N(2)C(1)S(1) 113.30(6).

Кислоту **49** ввели в реакцию этерификации с подофиллотоксином, однако, независимо от условий ее проведения, нам не удалось получить целевой сложный эфир. Отметим, что попытка реализации «обратной» синтетической стратегии также оказалась неудачной: реакция глицинового сложного эфира подофиллотоксина **52** (полученного из природной молекулы в две стадии по методике [86]) с соединением **60** не привела к образованию целевого конъюгата.

Более успешным оказался синтез конъюгата колхицина с изотиомочевиной **50**. Целевая изотиомочевина была получена в три стадии как показано на схеме 2.22.

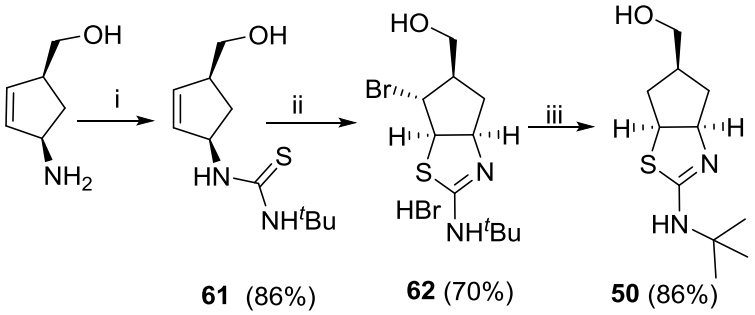
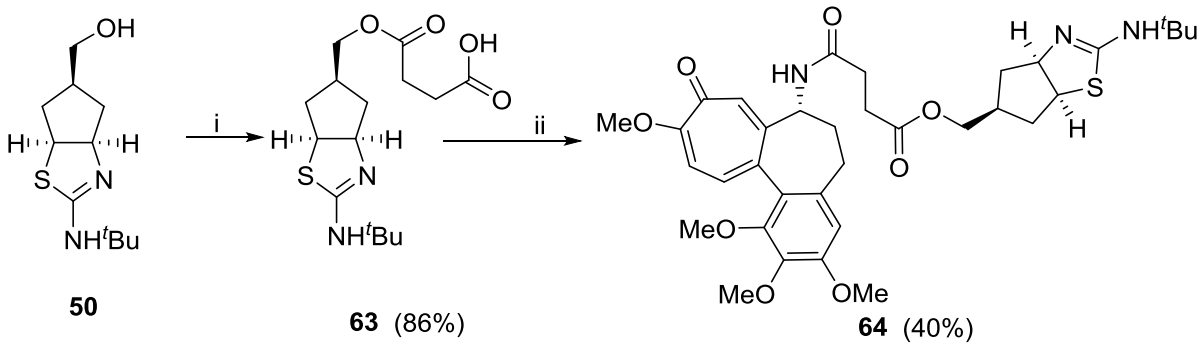


Схема 2.22. Реагенты и условия: i)^{t}BuNCS, ^{i}Pr$_2$NEt, CH_2Cl_2, 22°C, 12 ч; ii) Br_2, CH_2Cl_2, 22°C, 12 ч; iii) ^{n}Bu$_3$SnH, $PhCH_3$, AIBN, 100°C, 5 ч.

Сначала обработкой ((1*S*,4*R*)-4-аминоциклопент-2-ен-1-ил)-метанола *трет*-бутил изотиоцианатом синтезировали соответствующую мочевину **61**. Циклизация последней под

действием HBr не проходила, но в более жестких условиях – в присутствии брома – протекала гладко с образованием замещенной бициклической изотиомочевины **62** с *цис*-сочленением колец. Относительная конфигурация атомов водорода при узловых атомах углерода и атома C^6H-Br была определена в соответствии с данными исследований, описанных нами в предыдущей главе (см. разделы 2.1.1 и 2.2.1). Восстановительное дебромирование изотиомочевины **62** привело к целевому соединению **50**. В ^1H ЯМР спектре вещества **50** сигналы протонов при узловых атомах углерода проявляются при 4.09 м.д. и 4.61 м.д., в то время как сигналы этих атомов углерода наблюдаются в спектре ^{13}C ЯМР при 64.5 и 67.9 м.д. Пик C^2 атома тиазолинового цикла проявляется при 166.6 м.д. Спектральные данные всех полученных циклических изотиомочевин указывают на образование одного таутомера, но не позволяют соотнести их с конкретной формой.

Далее нами был реализован синтез конъюгата колхицина с полученным спиртом **50**. Чтобы общая длина заместителя при C^7 в таком конъюгате была примерно равна таковой в тубулокластине (**54**), мы формировали сукцинамидную линкерную цепь (схема 2.23). Поэтому спирт **50** ввели в реакцию с янтарным ангидридом, получив моноэфир **63**. Отметим, что реакция протекала региоселективно: соответствующий *бис*-эфир не образовывался. Амидирование свободной кислотной группы в соединении **11** N-дезацетилколхицином (полученным в три стадии по методике [102]) в присутствии EEDQ привело к целевому конъюгату **64** с общим выходом 21% (из исходного ((1*S*,4*R*)-4-аминоциклопент-2-ен-1-ил)метанола). Данные масс-спектрометрии ($[M]^+$=668, $[M+H]^+$=669) и ЯМР спектроскопии подтверждают структур полученного соединения.



50 **63** (86%) **64** (40%)

Схема 2.23. Реагенты и условия: i), ангидрид янтарной кислоты, ДМАП, CH_2Cl_2, 22°C, 8 ч; ii) N-деацетилколхицин, EEDQ, CH_2Cl_2, 22°C, 24 ч.

Первичный скрининг конъюгата **64** на селективность антимитотического действия по отношению к опухолевым клеткам по сравнению с клетками неопухолевой этиологии по методикам [103,104] показал, что в концентрации 10 мкМ он продемонстрировал высокую цитотоксичность и двухкратную селективность к клеткам карциномы легких человека A549

по сравнению с линией легочных фибробластов VA13.[1] Эти данные в сочетании с улучшенной растворимостью конъюгата **64** в воде (по расчетам растворимости в программе ChemAxon) по сравнению с тубулокластином (**54**) делает интересным дальнейшее биотестирование соединения **64**, включая изучение действия на микротрубочки опухолевых клеток.

2.3. *Конформационно ограниченные аналоги N,N-дизамещенных 2-аминотиазолинов как потенциальные нейропротекторные агенты*[2]

Заключительный раздел представленной работы посвящен получению новой серии бициклических изотиомочевин с нейропротекторной активностью, действующих как ингибиторы фермента бутирилхолинэстеразы. Как указывалось в литературном обзоре (глава 1.1.2), рассматриваемый структурный тип оказался очень удачным в ходе разработки ингибиторов бета-секретазы-1 (BACE 1): некоторые соединения были введены в клинические испытания в качестве средств для лечения болезни Альцгеймера. В последние годы, однако, в научных исследованиях наблюдается тенденция к созданию для терапии болезни Альцгеймера мультитаргетных агентов, что определяется сложностью этиологии указанного заболевания. Это обстоятельство вызвало интерес к литературному поиску производных циклических изотиомочевин среди лигандов других молекулярных мишеней, интересных для терапии нейродегенеративных состояний. Такой поиск выявил одну работу [58], в которой авторами путем скрининга серии N,N-дизамещенных 2-амино-5-галометил-2-тиазолинов выявлены вещества, обладающие умеренной ингибиторной активностью по отношению к бутирилхолинэстеразе (см. главу 1.1.4 лит. обзора). Наиболее активные соединения **65a,b** (рис. 2.18) [58] ингибировали этот фермент в субмикромолярном интервале концентраций (IC_{50} = 2.34 мкМ и 0.77 мкМ соответственно), и при этом проявляли к нему высокую селективность по сравнению с ацетихолин–эстеразой.

Бутирилхолинэтераза (BuChE) относится к классу сериновых гидролаз и участвует, наряду с ацетилхолинэстеразой (AChE), в процессе холинергической нейропередачи,

[1] Здесь и далее данные скрининга на селективность антимитотического действия предоставлены с.н.с. кафедры химии природных соединений МГУ имени М.В.Ломоносова **к.х.н. Д. А. Скворцовым**.

[2] При работе над данным разделом использованы материалы следующей публикации автора:

1) Евдокимова А. В.; Алексеев А. А.; Елисеев И. А.; Зефиров Н. А.; Нуриева Е. В.; Зефирова О. Н. Молекулярное моделирование и синтез новых селективных ингибиторов бутирилхолинэстеразы на основе циклических изотиомочевин. *Материалы XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», секция «Химия»*. [Электронный ресурс] отв. ред. Н. А. Коваленко, А. В. Дзюбан – М.: Издательство «Перо», Москва, **2022**, с. 484.

2) Алексеев А. А.; Нуриева Е. В.; Прошин А. Н.; Зефирова О. Н. Новые конформационно ограниченные аналоги 2-амино-1,3-тиазолина как ингибиторы холинэстераз. *XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии*. Санкт-Петербург, 9–13 сентября, 2019. Тезисы докладов в 6-ти томах, Т. 5, с. 130.

катализируя гидролиз нейромедиатора ацетилхолина. Разработка селективных ингибиторов BuChE в качестве средств для лечения болезни Альцгеймера привлекает большое внимание исследователей [105–107], так как характерные для этого заболевания когнитивные нарушения являются следствием (наряду с другими причинами) холинергического недостатка в мозге [106]. В здоровом организме AChE играет доминирующую роль в регуляции уровня ацетилхолина в мозге, однако, при прогрессирующей болезни Альцгеймера уровень этого фермента остается неизменным или понижается, в то время как уровень BuChE – повышается [105,106]. Это дает основания полагать, что гидролиз ацетилхолина при подобной патологии происходит в большей степени за счет катализа с участием именно бутирилхолинэстеразы, и делает указанный фермент хорошей молекулярной мишенью для компенсации дефицита ацетилхолина при болезни Альцгеймера. Действительно, в последнее десятилетие в литературе представлены убедительные свидетельства того, что селективные ингибиторы BuChE могут выступать в качестве нейропротекторных средств (см., например, [107–111]). Тем не менее, ни один BuChE ингибитор с высокой селективностью по отношению к AChE пока не одобрен для клинического применения, что требует поиска новых структурных прототипов, а также оптимизации известных соединений, в том числе такой, чтобы на их основе можно было разрабатывать мультитаргетные агенты. В этом плане соединения **65a,b** являются перспективными и были выбраны в настоящей работе в качестве соединений-лидеров для дальнейшей оптимизации, которая и стала предметом проведенного исследования.

Оптимизация соединений-лидеров **65a,b** была направлена, в первую очередь, на увеличение их BuChE ингибиторной активности с сохранением высокой селективности. Для этого использовали классические методы дизайна лекарств, а именно конформационное ограничение и гомологизацию, часто позволяющие увеличить ингибиторную активность молекулы-лидера [112]. Мы предложили для синтеза бициклические аналоги молекул **65a,b**, в которых вращение вокруг связи C^5–CHal затруднено (рис. 2.18, A), причем степень жесткости введенной в алицикл связи варьировалась в зависимости от размера этого цикла.

Дальнейший шаг в модификации структур **65a,b** предполагал получение аналогов соединений общей формулы **A**, не содержащих атом галогена (общая формула **B**, рис. 2.18), с целью компенсации увеличения липофильности при введении дополнительного цикла и улучшения токсикологического профиля исходных молекул.

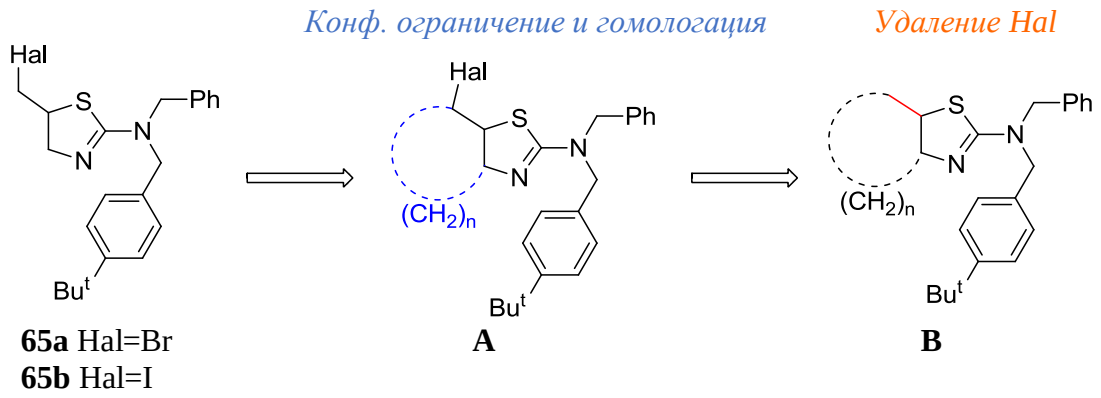
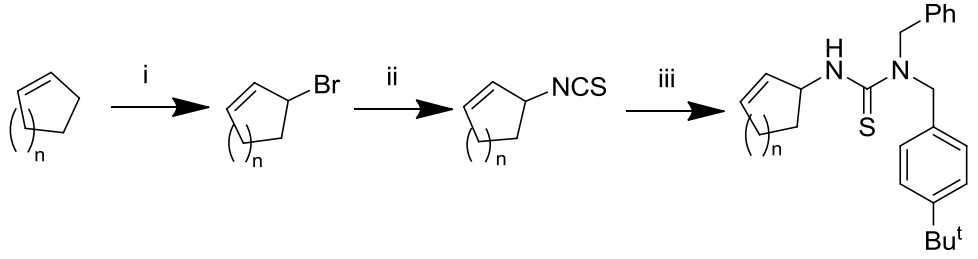


Рисунок 2.18. Молекулы-лидеры и пути их оптимизации, изученные в настоящей работе.

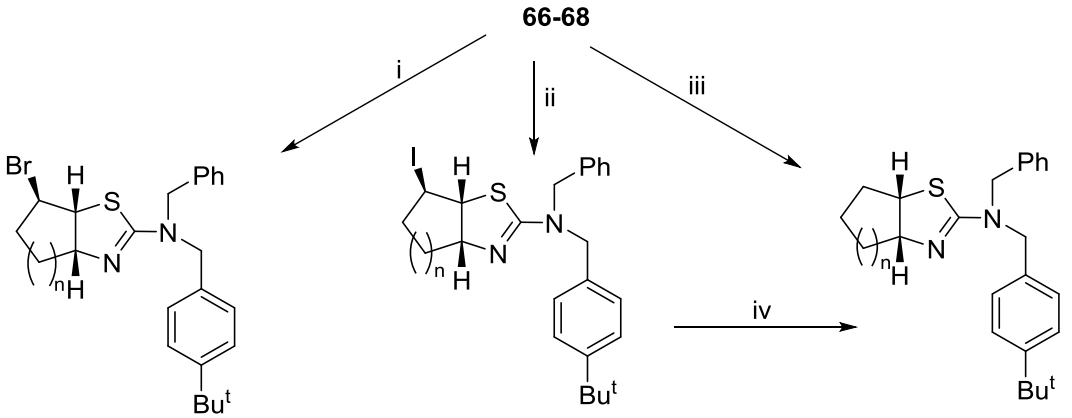
Ключевые исходные тиомочевины **66–68** были получены из *N*-бензил-1-(4-*трет*-бутилфенил)метанамина (Bn(*p*-^{t}BuBn)NH) и соответствующих циклоалкенилизотиоцианатов (Схема 2.24), синтезированных по описанным выше методикам (см. главу 2.2.1)



n=1, **66** (50%); n=2, **67** (64%); n=3, **68** (54%).

Схема 2.24. Реагенты и условия: i), NBS, AIBN, CCl_4, Δ, 1.5ч; ii) KSCN, MeOH, 22°C, 2h; iii) ^{i}Pr$_2$NEt, Bn(*p*-^{t}BuBn)NH, CH_2Cl_2, 22°C, 12ч.

Реакция циклоалкенилтиомочевин **66–68** с Br_2 или I_2 при комнатной температуре привела к бром- и иод-содержащим изотиомочевинам **69–71** и **72–74** с хорошими выходами (Схема 2.25).



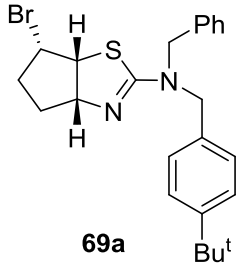
n = 1, **69** (58%) + **69a** (41%)
n = 2, **70** (77%)
n = 3, **71** (87%)

n = 1, **72** (99%)
n = 2, **73** (99%)
n = 3, **74** (99%)

n = 1, **75** (64%)
n = 2, **76*HBr** (99%)
n = 3, **77*HBr** (83%)

Схема 2.25. Реагенты и условия: i)1) Br_2, CH_2Cl_2, 22°C, 12ч; 2) $NaHCO_3$; ii) 1) I_2, CH_2Cl_2, 22°C, 12ч, 2) $NaHCO_3$; iii) AcBr, MeOH, CH_2Cl_2, 22°C, 12ч; iv) ^{n}Bu$_3$SnH, толуол, Δ. Указанная конфигурация является относительной, вещества получены в виде рацемических смесей.

Все процессы, кроме реакции бромирования мочевины **66** (n = 1) с циклопентильным циклом, протекали диастереоселективно с преимущественным образованием изомеров с



69a

транс-ориентацией атома галогена по отношению к гетероциклическому фрагменту. Но в ходе синтеза вещества **69** (n = 1) был также выделен и охарактеризован его *цис*-изомер **69a** с выходом 41%. Целевые соединения **76** и **77** (n = 2 и 3), не содержащие галогеновых заместителей в алициклах, получали обработкой мочевин **67** и **68**, дозированно образующимся *in situ* из метанола и ацетилбромида бромоводородом, который в результате присоединения по двойной связи циклоалкенилного фрагмента вызывал процесс внутримолекулярной циклизации по атому серы. Мочевина **66** (n = 1) с циклопентенильным циклом не вступала в реакцию циклизации ни в указанных условиях, ни в ходе кипячения с водной бромоводородной кислотой, поэтому целевое соединение **75** (n = 1) удалось получить только с помощью восстановительного деиодирования соответствующей иодбициклической изотиомочевины **72** (n = 1) обработкой ^{n}Bu$_3$SnH.

Ингибирующую активность[1] всех полученных бициклических изотиомочевин **69–77** провели по отношению к человеческой изоформе AChE и BuChE лошади по методике, описанной в работе [58]. Клинически используемый неселективный AChE и BuChE ингибитор Такрин и AChE ингибитор Донепезил использовали в качестве положительного контроля. Результаты представлены в Таблице 3.

Как видно из таблицы 3, все бициклические изотиомочевины **69–77** и **69a** ингибируют BuChE со значениями IC_{50} в среднем наномолярном – низком микромолярном интервале концентраций, и при этом все обладают высокой селективностью по отношению к AChE.

Анализ соотношений *структура – активность* показывает, что введение шестичленного цикла (**70**, **73**) в исходные молекулы **65a,b** уменьшает активность, в то время как введение семичленного цикла (**71**, **74**) увеличивает ее. Ингибиторные свойства соединений с дополнительным пятичленным циклом зависит от типа атома галогена: иод-содержащие производные (**72**) менее активны, чем **65b**, в то время как активность их бром-содержащих аналогов (**69** и **69a**) увеличивается в три раза по сравнению исходной молекулой **65a**. При этом конфигурация атома брома не играет существенной роли, так как значения IC_{50} для обоих диастереомеров **69** и **69a** очень близки.

[1] Результаты тестирования предоставлены **к.х.н. Г. Ф. Махаевой** (лаборатория молекулярной токсикологии Института физиологически активных веществ РАН, г. Черноголовка).

Таблица 3. Ингибиторная активность новых бициклических изотиомочевин по отношению к *Hu*AChE и *eq*BuChE*

Вещество	% Ингибирования *hu*AChE при 50 μM ± SEM	Ингибирование *eq*BuChE: IC_{50} (μM)
69	3.4±0.1%	0.74±0.3
69a	1.8±0.2%	0.7±0.2
70	12.6±0.9%	1.33±0.02
71	не активно	0.7±0.3
72	не активно	2.6±0.2
73	не активно	5.83±0.03
74	1.5±0.5%	0.24±0.06
75	11.3±0.2%	1.15±0.02
76	13.6±0.3%	0.60±0.04
77	5.7±0.7%	0.13±0.02
65a	<10%	2.3±0.2
65b	<10%	0.77±0.07
Такрин	IC_{50}: 0.079±0.002 μM	0.034±0.001
Донепезил	IC_{50}: 0.022±0.005 μM	7±1

* все данные представляют собой средние значения трех независимых экспериментов

Бициклические изотиомочевины, не содержащие атома галогена (**75-77**) показали наилучшую ингибирующую активность по отношению к BuChE в каждой гомологической серии, причем увеличение размера цикла **75** – **76** – **77** увеличивало эффективность ингибирования. Соединение **77** представляет собой наиболее активный ингибитор BuChE со значением IC_{50}, равным 130 нМ, что примерно в шесть раз больше, чем для молекулы-лидера **65b**. При этом соединение **77** сохраняет высокую селективность по отношению к AChE.

Предполагаемый вариант связывания двух возможных протонированных форм изотиомочевины **77** в активном центре BuChE и прилегающей области (PDB: 6R6W), полученный с помощью молекулярного докинга, показан на рис. 2.19. Как видно из рисунка 2.19, независимо от позиции протонированного атома азота, последний располагается вблизи аминокислотного остатка Trp82 в «холиновом связывающем кармане» BuChE и способен к важному катион – π взаимодействию в активном центре. В свою очередь, незамещенный бензильный заместитель соединения **77** участвует в π–π стэкинге с Trp82 и расположен вблизи каталитической триады Ser198–His438–Glu197.

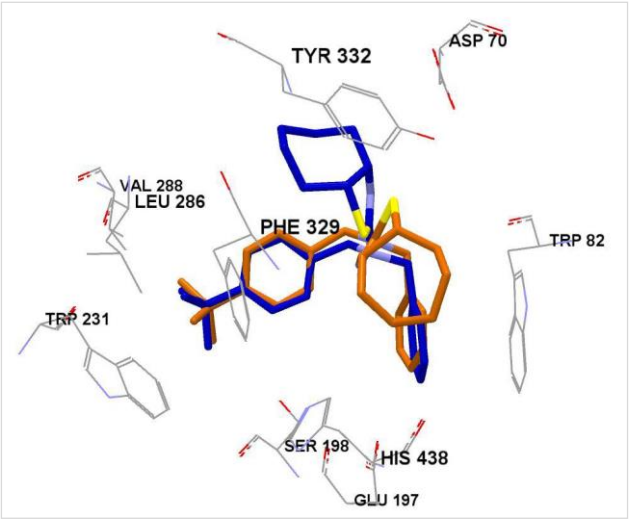


Рисунок 2.19. Позиция протонированных форм соединения **77** ($N^+_{эндоциклический}$ – оранжевый, $N^+_{экзоциклический}$ – синий) в комплексе с huBuChE (PDB: 6R6W), предсказанный с помощью молекулярного докинга в программе AutoDock Vina 1.1.2.

Другой бензильный фрагмент также вовлечен в π–π взаимодействие (Т-стэкинг) с ароматическим циклом Phe329, а объемный *трет*-бутильный заместитель экспонирован в «ацильный карман» белка вблизи аминокислотных остатков Leu286 и Trp231. Это объясняет селективность лиганда **77**, поскольку основным структурным различием активных центров BuChE и AChE является объем указанной области [109]. Аннелированные бициклические фрагменты двух протонированных форм тиомочевины **77** занимают зеркальные позиции и экспонированы в область, соседнюю с активным центром (рис. 2.19). Таким образом, результаты молекулярного моделирования соответствуют полученным данным о селективности соединения **77** по отношению к BuChE по сравнению с AChE.

С целью изучения общей токсичности бициклической изотиомочевины **77** и ее иод-содержащего аналога **74** в работе было проведено сравнение концентраций, вызывающих гибель 50% клеток линии MCF-10A (клетки неопухолевой этиологии), которое показало, что они составляют >>103 и 62.20±0.35 мкМ соотвественно. Соединение **77** не проявило токсичности и к фибробластам легких VA13 (EC_{50}>>103 мкМ).

Таким образом, в данном исследовании нами предложена и успешно реализована стратегия первичной оптимизации малоизученного в дизайне нейропротекторных веществ структурного типа N,N-дизамещенных 2-аминотиазолинов, описанных в работе [58]. Полученный в работе циклогепта[d]тиазол-2-амин (**77**) представляет собой эффективный и нетоксичный ингибитор бутирилхолинэстеразы, очень селективный к этому ферменту по сравнению с ацетилхолинэстеразой. Это соединение представляет интерес для дальнейшей разработки на его основе мультитаргетных агентов для терапии болезни Альцгеймера.

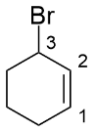
3. Экспериментальная часть[1]

Все исходные вещества, реагенты и растворители были приобретены в качестве высококачественных коммерческих продуктов, которые использовали без дальнейшей очистки. Реакции, чувствительные к влаге и/или кислороду, проводили в инертной атмосфере безводного аргона. Жидкостную колоночную хроматографию проводили с использованием силикагеля Acros (диаметр зерен 40-60 мкм, диаметр пор ~ 6 нм). Для тонкослойной хроматографии (ТСХ) использовали пластины силикагеля «Silufol-UV254», а пятна визуализировали УФ-светом (λ= 254 нм) или окрашивали парами иода или водным раствором перманганата калия. Спектры ^{1}H и ^{13}C ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance 400 при 28°C в $CDCl_3$ при 400 и 100 МГц соответственно. Химические сдвиги (δ) приведены в миллионных долях (м.д.), относительно остаточного сигнала растворителя ($CDCl_3$, δ= 7.27 для ^{1}H ЯМР) или относительно центрального сигнала растворителя ($CDCl_3$, δ= 77.0 для ^{13}C ЯМР). Масс-спектры электронной ионизации (ЭИ) регистрировали на спектрометре Finnigan MAT INCOSSO (с энергией ионизирующих электронов 70 эВ). Хроматомасс-спектры с электроспрэй-ионизацией (ЭСИ) регистрировали на приборе Agilent LC/MSD 1100 SL [режим регистрации положительно-заряженных ионов]. Хроматомасс-спектры высокого разрешения HPLC-ESIMS регистрировали на приборе Water Acquity UPLC System [режим регистрации положительно-заряженных ионов]. Элементный анализ CHN проводили с использованием анализатора Carlo-Erba ER-20. Инфракрасные спектры (ИК) регистрировали на аппарате Thermo Nicolet ИК200 с использованием дисков KBr. Температуры плавления определяли с использованием аппарата для капиллярного плавления, значения температур приведены без исправления.

[1] При работе над данным разделом использованы материалы следующих публикаций автора, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

1. Nurieva, E. V.; Alexeev, A. A.; Grishin, Y. K.; Tafeenko, V. A.; Zefirova, O. N. New compounds with 4-azatricyclo[4.3.1.1(3,8)]undecane framework. *Mendeleev Communications*, **2020**, *30* (2), 145-146.
2. Nurieva E. V.; Trofimova T. P.; Alexeev A. A.; Proshin A. N.; Chesnakova E. A.; Grishin Yu. K.; Lyssenko K. A.; Filimonova M. V.; Bachurin S. O.; Zefirova O. N. Synthesis and antihypotensive properties of 2-amino-2-thiazoline analogues with enhanced lipophilicity. *Mendeleev Communications*, **2018**, *28* (4), 390-392.
3. Alexeev, A. A.; Nurieva, E. V.; Trofimova, T. P.; Chesnakova, E. A.; Grishin, Y. K.; Lyssenko, K. A.; Filimonova, M. V.; Zefirova, O. N. Bicyclic bridged isothioureas: synthesis and evaluation of activity in a model of lipopolysaccharide-induced septic shock. *Mendeleev Communications*, **2019**, *29* (1), 14-16.
4. Alexeev, A. A.; Nurieva, E. V.; Lyssenko, K. A.; Grishin, Y. K.; Zefirova, O. N. Novel structural type of bridged urea derivatives bearing azatricyclo[4.3.1.0(3,8)]decane moiety. *Structural Chemistry*, **2019**, *30* (2), 473-479.
5. Evdokimova, A.V.; Alexeev, A. A; Nurieva, E. V; Milaeva, E. R; Kuznetsov, S. A; Zefirova, O. N. N-(4-Methoxyphenyl)-substituted bicyclic isothioureas: effect on morphology of cancer cells. *Mend. Commun.*, **2021**, *31* (3), 288-290.

3-бромциклогексен (1)



Циклогексен (23.0 мл, 0.227 ммоль, 1 экв.) растворили в CCl_4 (250 мл) при перемешивании добавили NBS (44.0 г, 0.248 ммоль, 1.1 экв.) и каталитическое количество AIBN (10 мг). Реакционную массу кипятили в течение 1.5 часов, затем охладили до 0°C, отфильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении при температуре не выше 20°C и очищали методом вакуумной перегонки. Получили соединение **1** в виде желто-оранжевого масла (35.83 г, выход 98%). $T_{кип.}$ = 64–65°C при 32 мм. рт. ст.

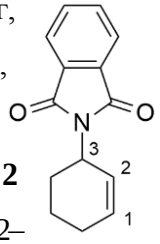
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ)*: 1.66-1.73 (м, 1H), 1.90–2.12 (м, 2H), 2.15–2.26 (м, 3H), 4.83-4.87 (м, 1H, H^3), 5.80-5.85 (м, 1H, H^2), 5.90 - 5.95 (м, 1H, H^1).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 18.4 (C^5), 24.6 (C^6), 32.6 (C^4), 49.0 (C^3), 128.8 (C^2), 131.0 (C^1).

ИК (тонк. плёнка, $см^{-1}$): 997, 1182, 1432 (CH_2), 1639 (C=C), 2381, 2867, 2931 (CBr-H), 3032 (C-H).

Спектральные данные соответствуют данным [113]

2-(3-циклогексенил) -1H-изоиндол-1,3-(2H) -дион (2)

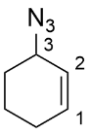


Смесь фталимида калия (2 г, 10,81 ммоль, 1 экв.) и 3-бромциклогексена **(1)** (1,74 г, 10,81 ммоль, 1 экв.) в ДМФА (15 мл) перемешивали при 100 °C в течение 12 часов, затем охладили, реакционную массу вылили в смесь лёд - вода, осадок отделили и очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2). Получили соединение **2** в виде бледно-розовых кристаллов (1,7 г, выход 69%). $T_{пл.}$ = 114-115°C (лит. 112–114℃).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 1.58-1.64 (м, 1H), 1.78-1.86 (м, 2H), 2.00-2.14 (м, 3H), 4.78-4.80 (м, 1H, H^3), 5.44-5.47 (м, 1H, H^1), 5.82-5.85 (м, 1H, H^2), 7.58-7.62 (м, 2H), 7.69-7.73 (м, 2H).

Спектральные данные соответствуют данным [114]

3-азидоциклогексен (3)

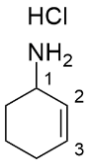


3-Бромциклогексен **(1)** (4.29 г, 26.7 ммоль, 1 экв.) растворили в CCl_4 (20 мл) добавили раствор NaN_3 (1.82 г, 28 ммоль, 1.05 экв.) в H_2O (20 мл). Реакционную массу перемешивали в 48 часов при комнатной температуре, отделили образовавшийся органический слой, водный слой экстрагировали CCl_4 (4*20 мл). Объединенные органические экстракты промыли водой, отделили, органический слой высушили над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении и очищали методом вакуумной перегонки. Получили соединение **3** в виде светло-коричневой жидкости (2.01 г, выход 61%). $T_{кип}$ = 40°C при 100 мм. рт. ст.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ*):1.54–1.69 (м, 1H), 1.70-1.82 (м, 2H), 1.84-1.95 (м, 1H), 1.96- 2.15 (м, 2H), 3.89 (м, 1H, H^3), 5.68-5.75 (м, 1H, H^2), 6.00-6.04 (м, 1H, H^1).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 19.1 (C^5), 24.7 (C^6), 28.6 (C^4), 55.9 (C^3), 124.6 (C^2), 132.8 (C^1). ИК(тонк. плёнка, $см^{-1}$):1228, 1651 (C=C), 2087 (C-N), 2837, 2866, 2931 (CN_3-H), 3030 (C-H).Спектральные данные соответствуют данным [115]

Циклогекс-2-ен-1 амина гидрохлорид (4)



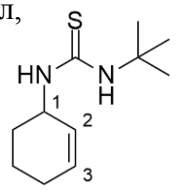
Метод 1: К суспензии $LiAlH_4$ (1.0 г, 26.3 ммоль, 3.2 экв) в абсолютном Et_2O (20 мл), при перемешивании по каплям добавили 3-азидоциклогексен **(3)** (1.0 г, 8.1 ммоль, 1 экв.). Реакционную смесь кипятили в течение 56 часов, затем охладили и смесь нейтрализовали водным раствором щелочи. Органический слой декантировали, осадок промыли Et_2O (3*30 мл), объединенные органические фракции отделили, высушили над Na_2SO_4, отфильтровали и через получившийся раствор продували газообразный HCl (генерировали в отдельной колбе из NaCl и концентрированной H_2SO_4) в течение часа, сконцентрировали, а остаток в виде твердого вещества перекристаллизовали из MeOH. Получили соединение **4** в виде светло-желтого кристаллического вещества (0.57 г, выход 53%). $T_{пл.}$ = 151-153°C (лит. 150–155°C).

Метод 2: Смесь 2-(3-циклогексенил)-1H-изоиндол-1,3-(2H)-диона **(2)** (1.6 г, 7 ммоль, 1 экв.) и 85% $N_2H_4 \cdot H_2O$ (890 мкл, 18.3 мкмоль, 2.6 экв.) в MeOH (50 мл) кипятили в течение 3 часов, охладили, при перемешивании обработали 2 мл концентрированной соляной кислоты, 1 мл. спирта и 2 мл. горячей воды. После нагревания до 60°C, реакционную смесь фильтровали и твердый осадок промывали горячей водой. Чистый фильтрат охлаждали в ледяной бане и подщелачивали раствором NaOH (10 М). Полученный раствор экстрагировали Et_2O. Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, продували газообразный HCl и концентрировали при пониженном давлении. Получили соединение **4** в виде светло-желтого кристаллического вещества (330 мг, выход 35%). $T_{пл.}$ = 151-153°C (лит. 150–155°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.59-1.70 (м, 1H), 1.84-1.96 (м, 2H), 1.97-2.19 (м, 3H), 3.86 (м, 1H, H^3), 5.80-5.87 (м, 1H, H^2), 6.02-6.09 (м, 1H, H^1), 8.38 (уш. с. 3H, NH_3^+).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 18.8 (C^5), 24.2 (C^6), 27.0 (C^4), 47.0 (C^3), 122.8 (C^2), 134.4 (C^1). ИК (KBr, $см^{-1}$): 1400 (C–N), 1446, 1508 (NH_3^+), 1599 (NH_3^+), 2053, 2526, 2613, 2725-3103 (N^+– H и C–H), 3390. Спектральные данные соответствуют данным [116]

1-*трет*-бутил-3-(циклогекс-2-ен-1-ил)-тиомочевина (5a)



Циклогекс-2-ен-1 амина гидрохлорид **(4)** (180 мг, 1.35 ммоль, 1экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл) обработали $^iPr_2NEt$ (240 мкл, 1.38 ммоль, 1.02 экв) и ^{t}BuNCS (180 мкл, 1.42 ммоль, 1.05 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили

соединение **5a** в виде белого твердого вещества (214 мг, выход 75%). $T_{пл.}$ = 61–63°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.40 (с, 9H, *t*-Bu), 1.55–1.74 (м, 3H), 1.95–2.06 (м, 3H), 4.87 (м, 1H, H^1), 5.69 (м, 1H, H^2), 5.80 (уш. с, 2H, 2NH), 5.90 (м, 1H, H^3).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ):19.7 (C^5), 24.8 (C^4), 29.0 (C^6), 29.5 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 50.6 (C^1), 52.6 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 126.9 (C^3), 131.7 (C^2), 179.9 (C=S).

ИК (KBr, см$^{-1}$): 1202, 1318 (C=S), 1346, 1360, 1394 (C-N), 1529 (C=C), 2834–2975, 3025–3101, 3258(NH).

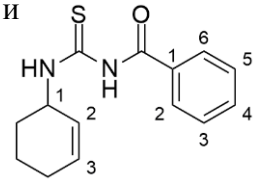
Масс-спектр (ЭИ), m/z: 212 $[M]^+$; 156 $[M\text{-}^tBu]^+$, 133 $[^tBuNHC(=S)NH_3]^+$, 96 $[C_6H_{11}N]^+$, 77 $[NH_2C(=S)NH_3]^+$, 57 $[^tBu]^+$.

Элементный анализ: $C_{11}H_{20}N_2S$ Вычислено, %: C, 62.22, H, 9.49, N, 13.19, S, 15.10.

Найдено, %: C, 62.21, H, 9.54, N, 13.08, S, 14.91.

N-(Циклогекс-2-ен-1-иламинокарбамотиоил) бензамид (5b)

Циклогекс-2-ен-1-амина гидрохлорид **(4)** (220 мг, 1.65 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл) добавили $^iPr_2NEt$ (580 мкл, 3.34 ммоль, 2 экв.) и бензоилизотиоцианат (224 мкл, 1.67 ммоль, 1.01 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **5b** в виде белого твердого вещества (380 мг, выход 89%). $T_{пл.}$ = 76–78°C.



^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.75–1.86 (м, 1H), 1.93-2.02 (м, 1H) 2.06–2.25 (м, 3H), 2.43-2.57 (м, 1H), 4.59 (м, 1H, H^1), 5.64 (м, 1H, H^2), 5.73 (м, 1H, H^3), 7.44-7.48 (м, 2H, $H^{3,5-Ph}$), 7.57 (м, 1H, H^{4-Ph}), 7.78-7.82 (м, 2H, $H^{2,6-Ph}$). 9.12 (уш. с, 1H, NH), 10.82(уш. с, 1H, 1NH)

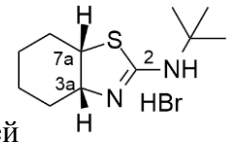
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 22.8, 22.2, 30.2, 50.4 (C^1), 123,8 (C^2), 127.0 ($C^{2,6\text{-}Ph}$), 127.3 ($C^{3,5-Ph}$), 128.8 (C^{1-Ph}), 131.6 (C^{4-Ph}), 133.3 (C^3), 166.8 (C=O), 178.5 (C=S).

ИК (KBr, см$^{-1}$): 1172, 1256, 1341, 1521 (C-N), 1672 (C=O), 2860–2946, 3033, 3170–3223(NH).

Элементный анализ: $C_{14}H_{16}N_2OS$ Вычислено, %: C, 64.58, H, 6.19, N, 10.76, S, 12.32. Найдено, %: C, 64.65, H, 6.21, N, 10.56, S, 12.22.

(±)-(3aR,7aS)-N-*трет*-бутил-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина гидробромид (6a)

Раствор AcBr (40 мкл, 0.54 ммоль, 1.1 экв.) в CH_2Cl_2 (2 мл) обработали MeOH (22 мкл, 0.54 ммоль, 1.1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте. Через 10 минут добавили раствор соединения **5a** (106 мг, 0.50 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) и перемешивали в течение 12 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией



(элюент: 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **6a** в виде бесцветного масла (109 мг, выход 74%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.16–1.75 (м, 6H), 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 1.90 (м, 2H), 3.80 (дт, 1H, J=7.8, 5.3 Гц, H^{7a}), 3.93 (м, 1H, H^{3a}), 9.79 (уш с., 2H, 2NH).

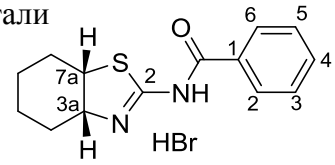
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 19.6, 21.9, 26.6, 28.4 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 28.5, 48.6 (C^{7a}), 55.1 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 58.2 (C^{3a}), 171.3 (C^2).

ИК (тонк. пленка, $см^{-1}$): 1203, 1239, 1267, 1375, 1405, 1447, 1471, 1527, 1533, 1615 (C=N), 2757, 2859, 2934, 2972, 3127, 3170, 3408 (NH).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 212 $[M]^+$; 211 $[M-H]^+$, 197 $[M-Me]^+$, 183 $[M-Et]^+$, 156 $[C_7H_{12}N_2S]^+$, 131 $[C_5H_{11}N_2S]^+$, 113 $[C_6H_9S]^+$, 57 $[^tBu]^+$, 41 $[C_3H_5]^+$, 29 $[Et]^+$, 15 $[Me]^+$.

Элементный анализ: $C_{11}H_{21}BrN_2S$ Вычислено, %: C, 45.05, H, 7.22, N, 9.55, S, 10.93. Найдено, %: C, 45.08, H, 7.35, N, 9.67, S, 10.81.

(±)-N-[(3aR,7aS)-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-ил]бензамида гидробромид (6b)



Раствор AcBr (40 мкл, 0.54 ммоль, 1.1 экв.) в CH_2Cl_2 (2 мл) обработали MeOH (22 мкл, 0.54 ммоль,1.1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте. Через 10 минут добавили раствор соединения **5b** (130 мг, 0.50 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) и перемешивали в течение 12 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **6b** в виде белого твердого вещества (128 мг, выход 75%). $T_{пл.}$ = 165–167°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.44–1.58 (м, 2H), 1.63–1.76 (м, 2H), 1.80–1.89 (м, 1H), 1.91–1.99 (м, 1H), 2.03–2.15 (м, 2H), 3.88 (дт, 1H, J=7.6, 6.1 Гц, H^{7a}), 4.28 (дт, 1H, J=6.4, 5.6 Гц, H^{3a}), 7.55-7.60 (м, 2H, $H^{3,5-Ph}$), 7.68 (м, 1H, H^{4-Ph}), 8.35-8.38 (м, 2H, $H^{2,6-Ph}$).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 20.2, 21.7, 26.6, 28.1, 46.9 (C^{7a}), 59.2 (C^{3a}), 129.0 ($C^{3,5-Ph}$), 129.3 ($C^{2,6-Ph}$), 130.0 (C^{1-Ph}), 134.4 (C^{4-Ph}), 166.8 (C=O), 174.6 (C^2).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 260 $[M]^+$, 259 $[M-H]^+$; 243 $[M-OH]^+$, 231 $[M-H-CO]^+$, 183 $[M-Ph]^+$, 179 $[C_8H_7N_2OS]^+$, 147 $[C_8H_7N_2O]^+$, 105 $[PhCO]^+$, 77 $[Ph]^+$, 51 $[C_4H_3]^+$.

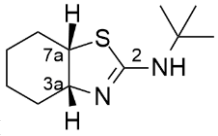
Элементный анализ: $C_{14}H_{17}BrN_2OS$ Вычислено, %: C, 49.27, H, 5.02, N, 8.21, S, 9.40. Найдено, %: C, 49.23, H, 4.98, N, 8.44, S, 9.12.

Рентгеноструктурный анализ: Кристалл соединения **(6b)** [$C_{14}H_{17}BrN_2OS$, кристаллизуется из CCl_4 – CH_3OH (9:1)] Параметры ячейки: моноклинная, пространственная группа $P_{21/n}$, при 120(2) K, a=17.7348(4) Å, b=8.5127(2) Å, c=26.4539(6) Å, β=106.0947(10)°, V=3837.24(15) $Å^3$, Z(Z')=8(2), d_{calc}= 1.448 $г \cdot см^{-3}$, μ(CuKα)=65.08 $см^{-1}$. Значения интенсивности 41817 дифракционных отражений были определены на приборе Bruker

APEX- II CCD [λ(CuKα)= 1.54178 Å, 2θ<144.5° и 7420 независимых отражений (R_{int}= 0.0411) были использованы для дальнейшего уточнения. Структура решена прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов относительно F^2 в анизотропно-изотропном приближении. Окончательные факторы расходимости составили wR_2=0.1139 и GOF=1.057 для всех независимых отражений (R1=0.0410 рассчитано относительно F для 6373 наблюдаемых отражений с I>2σ(I)). Все расчеты выполнялись с использованием SHELXTL-2014/6. Дополнительные кристаллографические данные можно получить на сайте http://www.ccdc.cam.ac.uk, номер депонирования 1821378.

(±)-(3aR,7aS)-N-*трет*-бутил-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амин (6c)

Раствор соединения **11a** (47 мг, 0.14 ммоль, 1 экв.) или **10a** (52 мг, 0.14 ммоль, 1 экв.) в $PhCH_3$ (10 мл) обработали $^nBu_3SnH$ (94 мкл, 0.35 ммоль, 2.5 экв.) и каталитическим количеством AIBN (2 мг, 12.2 мкмоль). Смесь нагревали при 100°C в атмосфере аргона в течение 6 часов, затем промывали насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (10 мл), сушили над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией. (элюент: CH_2Cl_2, затем 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **6c** в виде бесцветного масла (27 мг, выход 92% из **11a**; 25 мг, выход 84% из **10a**).

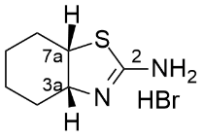


^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.29–1.42 (м, 2H), 1.37 (с, 9H, *t*-Bu), 1.48–1.62 (м, 2H), 1.65–1.76 (м, 2H), 1.91–1.98 (м, 2H), 3.79 (дт, 1H, *J*=8.3, 5.1 Гц, H^{7a}), 3.93 (м, 1H, H^{3a}), 9.00–10.00 (уш с., 2H, 2NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 19.9, 22.1, 26.9, 28.6 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 28.7, 48.8 (C^{7a}), 54.8 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 58.5 (C^{3a}), 171.0 (C^2).

(±)- (3aR,7aS)-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина гидробромид (7)

Метод 1: Раствор соединения **6a** (45 мг, 0.15 ммоль) в 20% водном HBr (5 мл) кипятили в течение 3 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 5% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **7** в виде белого твердого вещества (27 мг, выход 74%). $T_{пл.}$ = 185–187°C.



Метод 2: Раствор соединения **6b** (58 мг, 0.17 ммоль, 1 экв.) в MeOHe (5 мл) перемешивали DBU (52 мкл, 0.34 ммоль, 2 экв.) при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (градиентное элюирование от 1% до 5% раствором MeOH в $CHCl_3$). Целевую фракцию обрабатывали 20% водным раствором HBr (10 мл), затем сконцентрировали, промыли порциями Et_2O (2*10 мл), нерастворимый остаток отделили и высушили. Получили соединение **7** в виде белого твердого вещества (10 мг, выход 25%).

$T_{пл.}$ = 185–187°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$ + MeOH–d_4, δ): 1.23–1.38 (м, 2H), 1.41–1.55 (м, 2H), 1.62–1.73 (м, 2H), 1.89 (м, 2H), 3.79 (дт, 1H, J=5.3, 7.8 Гц, H^{7a}), 4.03 (дт, 1H, J=4.9, 5.3 Гц, H^{3a}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$+ MeOH– d_4, δ): 19.9, 21.9, 26.7, 28.5, 48.4 (C^{7a}), 60.4 (C^{3a}), 173.2 (C^2).

^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.32 (м, 1H), 1.41–1.46 (м, 2H), 1.58 (м, 1H), 1.65–1.78 (м, 2H), 1.91– 2.01 (м, 2H), 3.95 (дт, 1H, J=9.0, 5.5 Гц, H^{7a}), 4.18 (дт, 1H, J=5.6, 5.1 Гц, H^{3a}).

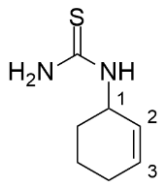
^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 19.6, 22.0, 26.3, 28.6, 48.7 (C^{7a}), 60.8 (C^{3a}), 173.2 (C^2).

ИК (KBr, $см^{-1}$):1646 (C=N), 2942 (C-H), 3078, 3297 (N-H).

Элементный анализ: $C_7H_{13}BrN_2S$ Вычислено, %: C, 35.45, H, 5.53, N, 11.81, S, 13.52. Найдено, %: C, 35.40, H, 5.55, N, 11.71, S, 13.43.

1-Циклогекс-2-ен-1-илтиомочевина (8)

К 3-Изотиоцианатоциклогексену (500 мг, 3.59 ммоль) добавили раствор $NH_{3(водн)}$ в EtOH и перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем концентрировали при пониженном давлении, остаток промыли петролейным эфиром и высушили. Получили соединение **8** в виде белого твердого вещества (430 мг, выход 77 %).



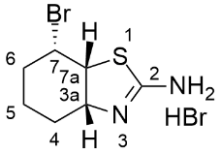
$T_{пл.}$ = 134-136°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO–d_6, δ): 1.45 - 1.59 (м, 3H), 1.76 - 1.79 (м, 1H), 1.95 (м, 2H), 4.62 (м, 1H, H^1), 5.58 (м, 1H, H^2), 5.80 (м, 1H, H^3), 6.87 (уш. с., 2H, NH_2), 7.59 (д, 1H, J= 6.5 Гц, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO–d_6, δ): 19.5, 24.4, 28.8, 48.8 (C^1), 128.2 (C^3), 129.8 (C^2), 182.1 (C=S).

(±)-(3aR,7S,7aR)-7-Бромо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина гидробромид (9)

Раствор Br_2 (34 мкл, 0.66 ммоль, 1.03 экв.) в $CHCl_3$ (5 мл) по каплям добавили к раствору соединения **8** (100 мг, 0.64 ммоль, 1 экв.) в $CHCl_3$ (30 мл) при охлаждении льдом. Образовавшийся осадок отфильтровали, промыли $CHCl_3$ (5 мл) и высушили. Получили желтое твердое вещество (65 мг). В ^{1}H ЯМР спектре неочищенного продукта были обнаружены сигналы протонов от нескольких продуктов. Осаждением из этанольного раствора диэтиловым эфиром получили белые кристаллы, которые отфильтровали, промыли диэтиловым эфиром и высушили. Получили соединение **9** в виде белого твердого вещества (32 мг, выход 15%). $T_{пл.}$ = 198-200°C.



^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO–d_6, δ): 1.31 (м, 1H, $H^{5акс}$), 1.45 (м, 1H, $H^{4акс}$), 1.67 (м, 1H, $H^{5экв}$), 1.87 (м, 1H, $H^{4экв}$), 1.91 (м, 1H, $H^{6акс}$), 2.12 (м, 1H, $H^{6экв}$), 4.13 (ддд, 1H, J= 10.6, 5.7, 5.3 Гц, H^7), 4.75 (ддд, 1H, J= 12.4, 7.2, 4.4 Гц, H^{3a}), 4.98 (дд, 1H, J= 7.2, 5.3 Гц, H^{7a}), 9.30 (уш. с., 1H,

NH), 9.67 (уш.с., 1H, NH), 10.03 (уш. с., 1H, NH).

^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.33 (м, 1H, $H^{5акс}$), 1.66 (м, 1H, $H^{4акс}$), 1.78 (м, 1H, $H^{5экв}$), 1.95 (м, 1H, $H^{4экв}$), 2.05 (м, 1H, $H^{6акс}$), 2.20 (м, 1H, $H^{6экв}$), 4.17 (ддд, 1H, J= 11.0, 5.3, 5.1 Гц, H^7), 4.58 (ддд, 1H, J= 12.1, 7.1, 4.1 Гц, H^{3a}), 5.01 (дд, 1H, J= 7.1, 5.3 Гц, H^{7a}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO–d_6, δ): 21.6 (C^5), 26.3 (C^4), 31.4 (C^6), 47.0 (C^7), 57.3 (C^{7a}), 58.3 (C^{3a}), 170.3 (C^2).

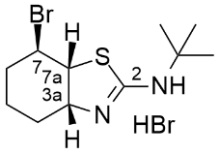
^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 21.5 (C^5), 25.8 (C^4), 31.1 (C^6), 45.7 (C^7), 57.9 (C^{7a}), 58.7 (C^{3a}), 171.9 (C^2).

ИК (KBr, см$^{-1}$):1170, 1321, 1396, 1442, 1625 (C=N), 2267, 2775-3402 (NH).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 236 $[M+2]^+$, 234 $[M]^+$, 203 $[M+2-SH]^+$, 201 $[M-SH]^+$.

Рентгеноструктурный анализ: кристалл соединения **9**, $C_7H_{12}Br2N_2S$, кристаллизуется из CCl_4 – CH_3OH (9:1). Параметры ячейки: моноклинная, пространственная группа $P_{21/n}$, при 120(2) K, a = 6.5020(5) Å, b = 9.0751(7) Å и c = 17.4075(14) Å, b = 94.0156(19) °, V = 1024.63(14) Å^3, Z = 4, dвыч = 2.049 г·см$^{-3}$, m(MoKα) = 80.65 см$^{-1}$. Значения интенсивности 41817 дифракционных отражений были определены на приборе Bruker APEX- II CCD [λ(CuKα) = 0.71073 Å, 2θ <58° и 2776 независимых отражений (R_{int}= 0.0329) были использованы для дальнейшего уточнения. Структура решена прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов относительно F^2 в анизотропно-изотропном приближении. Окончательные факторы расходимости составили wR_2=0.1386 и GOF=1.022 для всех независимых отражений (R1=0.0455 рассчитано относительно F для 2398 наблюдаемых отражений с I>2σ(I)). Все расчеты выполнялись с использованием SHELXTL-2014/6. Дополнительные кристаллографические данные можно получить на сайте http://www.ccdc.cam.ac.uk, номер депонирования 1857783.

(±)-(3aR,7R,7aR)-7-Бромо-N-*трет*-бутил-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина гидробромид (10a)



Раствор соединения **5a** (30 мг, 0.14 ммоль, 3.1 экв.) в CH_2Cl_2 (4 мл) обработали Br_2 (22 мкл, 0.43 ммоль, 1 экв.) при охлаждении льдом, затем отогревали реакционную смесь до комнатной температуры, и перемешивали в темноте в течение 24 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 2% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **10a** в виде желтоватых кристаллов (51 мг, выход 97%). $T_{пл.}$ = 199–201°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.48 (с, 9H, *t*-Bu), 1.58-1.85 (м, 4H), 2.31-2.37 (м, 2H), 3.82 (дд, 1H, J=10.0, 5.3 Гц, H^{7a}), 3.92 (ддд, 1H, J=11.7, 10.0, 3.9 Гц, H^7), 4.16 (м, 1H, H^{3a}), 8.7 (уш с., 2H, NH).

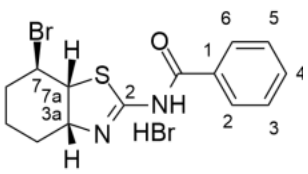
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 20.5 (C^5), 25.7 (C^4), 28.6 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 34.8 (C^6), 52.4 (C^{7a}), 55.7 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 57.3(C^7), 60.0 (C^{3a}), 171.0 (C^2).

ИК (KBr, $см^{-1}$): 1449, 1622 (C=N), 2866, 2932, 3113 (NH).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 292 $[M+2]^+$, 290 $[M]^+$, 277 $[M+2\text{-}Me]^+$, 275 $[M\text{-}Me]^+$, 235 $[M+2\text{-}{}^t\text{Bu}]^+$, 233$[M\text{-}{}^t\text{Bu}]^+$, 211 $[M\text{-}Br]^+$, 155 $[M\text{-}Br\text{-}{}^t\text{Bu}]^+$, 113 $[C_6H_9S]^+$, 57 $[{}^t\text{Bu}]^+$, 41 $[C_3H_5]^+$.

Элементный анализ: $C_{11}H_{20}Br_2N_2S$ Вычислено, %: C, 35.50, H, 5.42, N, 7.53, S, 8.62. Найдено, %: C, 35.49, H, 5.43, N, 7.38, S, 8.57.

(±)-N-[(3aR,7R,7aR)-7-Бромо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-ил]бензамида гидробромид (10b)



Раствор соединения **5b** (30 мг, 0.12 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (4 мл) обработали Br_2 (13 мкл, 0.24 ммоль, 2 экв.) при охлаждении льдом, затем отогревали реакционную смесь до комнатной температуры, и перемешивали в темноте в течение 24 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 2% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **10b** в виде белых кристаллов (32 мг, выход 66%). $T_{пл.}$ = 194-196°C.

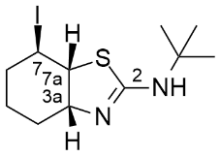
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.45–1.54 (м, 1H), 1.61–1.70 (м, 2H), 1.75–1.84 (м, 1H), 1.92 (м, 1H), 2.27 (м, 1H, Гц), 3.70 (дд, 1H, J=8.8, 5.8 Гц, H^{7a}), 4.07–4.13 (м, 2H, H^{3a}+H^7), 7.42-7.46 (м, 2H, $H^{3,5-Ph}$), 7.52 (м, 1H, H^{4-Ph}), 8.13-8.16 (д, 2H, $H^{2,6-Ph}$).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 20.5, 26.6, 34.3, 53.4 (C^{7a}), 54.5 (C^7), 59.1 (C^{3a}), 128.3 ($C^{3,5-Ph}$), 129.2 ($C^{2,6-Ph}$), 132.5 (C^{4-Ph}), 135.2 (C^{1-Ph}), 174.2 (C=O), 174.5 (C^2).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 340 $[M+2]^+$, 338 $[M]^+$, 311 $[M+2\text{-}H\text{-}CO]^+$, 309 $[M\text{-}H\text{-}CO]^+$, 263 $[M+2\text{-}Ph]^+$, 261 $[M\text{-}Ph]^+$, 259 $[M\text{-}Br]^+$, 231 $[M\text{-}Br\text{-}CO]^+$, 179 $[C_8H_7N_2OS]^+$, 147 $[C_8H_7N_2O]^+$, 113 $[C_6H_9S]^+$, 105 $[PhCO]^+$, 77 $[Ph]^+$, 51 $[C_4H_3]^+$.

Элементный анализ: $C_{14}H_{16}Br_2N_2OS$ Вычислено, %: C, 40.02, H, 3.84, N, 6.67, S, 7.63. Найдено, %: C, 40.03, H, 3.80, N, 6.54, S, 7.53.

(±)-(3aR,7R,7aR)-7-иодо-N-*трет*-бутил-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амин (11a)



Раствор соединения **5a** (52 мг, 0.25 ммоль) в Et_2O (10 мл) обработали K_2CO_3 (68 мг, 0.49 ммоль) и I_2 (124 мг, 0.49 ммоль) при охлаждении льдом, затем отогревали реакционную смесь до комнатной температуры, и в темноте перемешивали в течение 24 часов, затем концентрировали при пониженном давлении, остаток растворили в $CHCl_3$ (20 мл) и промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3x20мл). Органический слой высушили над Na_2SO_4, концентрировали и очищали колоночной хроматографией (элюент: 1% MeOH в $CHCl_3$).

Получили соединение **(11a)** в виде желтоватых кристаллов (60 мг, выход 72%). $T_{пл.}$ = 110°C (разл.).

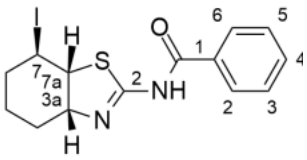
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.38 (с, 9H, *t*-Bu), 1.47-1.61 (м, 2H), 1.66–1.74 (м, 1H), 1.90–2.00 (м, 2H), 2.30–2.39 (м, 1H), 3.94 (дд, 1H, *J*=9.8, 5.1 Гц, H^{7a}), 3.97 (м, 1H, H^{3a}), 4.11 (ддд, *J*=11.9, 9.8, 4.1 Гц, H^7), 4.81 (уш с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 22.5 (C^5), 28.8 (C^4), 28.9 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 37.0 (C^6), 37.9 (C^7), 52.7 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 63.2 (C^{7a}), 71.3 (C^{3a}), 156.9(C^2).

ИК (KBr, $см^{-1}$): 1449, 1622 (C=N), 2866, 2932, 3113 (NH).

Элементный анализ: $C_{11}H_{19}IN_2S$ Вычислено, %: C, 39.06, H, 5.66, N, 8.28, S, 9.48. Найдено, %: C, 39.11, H, 5.63, N, 8.19, S, 9.46.

(±)-N-[(3aR,7R,7aR)-7-иодо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-ил] бензамид (11b)



Раствор соединения **5b** (30 мг, 0.12 ммоль, 1 экв.) в Et_2O (10 мл) обработали K_2CO_3 (40 мг, 0.29 ммоль, 2.4 экв.) и I_2 (74 мг, 0.29 ммоль, 2.4 экв.) при охлаждении льдом, далее отогревали реакционную смесь до комнатной температуры, и перемешивали в темноте в течение 24 часов, затем концентрировали при пониженном давлении, остаток растворили в $CHCl_3$ (20 мл) и промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*20мл). Органический слой высушили над Na_2SO_4, концентрировали и очищали колоночной хроматографией (элюент: 1% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **11b** в виде желтоватых кристаллов (32 мг, выход 72%). $T_{пл.}$ = 110°C (разл.).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.59 (м, 2H), 1.83 (м, 1H), 1.98 (м, 1H), 2.16 (м, 1H), 2.33 (м, 1H), 3.93 (дд, 1H, *J*=9.5, 5.6 Гц, H^{7a}), 4.07 (м, 1H, H^{3a}), 4.23 (ддд, 1H, *J*=11.5, 9.5, 3.8 Гц, H^7), 7.44-7.49 (м, 2H, $H^{3,5-Ph}$), 7.55 (м, 1H, H^{4-Ph}), 8.17-8.21 (д, 2H, *J*=7.9 Гц, $H^{2,6-Ph}$).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 21.8, 26.7, 31.5, 36.3 (C^7), 56.4 (C^{7a}), 59.0 (C^{3a}), 128.4 ($C^{3,5-Ph}$), 129.2 ($C^{2,6-Ph}$), 132.7 (C^{4-Ph}), 134.6 (C^{1-Ph}), 149.0 (C=O), 173.7 (C^2).

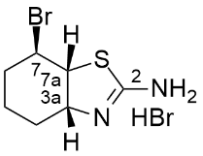
Масс-спектр (ЭИ), m/z: 386 $[M]^+$, 309 $[M\text{-}Ph]^+$, 259 $[M\text{-}I]^+$, 231 $[M\text{-}CO]^+$, 179 $[C_8H_7N_2OS]^+$, 147 $[C_8H_7N_2O]^+$, 128 $[HI]^+$, 127 $[I]^+$, 113 $[C_6H_9S]^+$, 105 $[PhCO]^+$, 77 $[Ph]^+$, 51 $[C_4H_3]^+$.

Элементный анализ: $C_{14}H_{15}IN_2OS$ Вычислено, %: C, 45.53, H, 3.91, N, 7.25, S, 8.30. Найдено, %: C, 45.58, H, 3.90, N, 7.04, S, 8.19.

(±)-[(3aR,7R,7aR)7-бромо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина гидробромид (12)

Раствор соединения **10a** (100 мг, 0.27 ммоль) в 10% водном HBr (5 мл) кипятили в течение 3 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 5% MeOH в $CHCl_3$)

Получили соединение **12** в виде белого твердого вещества (78 мг, выход 92%). $T_{пл.}$ = 206–208°C.



^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.42–1.56 (м, 1H), 1.66–1.85 (м, 3H), 2.10–2.17 (м, 1H), 2.23–2.29 (м, 1H), 4.10 (дд, 1H, J=10.1, 5.3 Гц, H^{7a}), 4.20 (ддд, 1H, J=11.6, 10.1, 4.3 Гц, H^7), 4.35 (м, 1H, H^{3a}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 20.3, 25.2, 34.6, 54.0 (C^{7a}), 57.2 (C^7), 62.5 (C^{3a}), 173.0 (C^2).

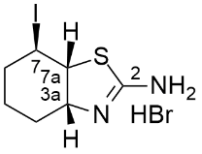
ИК (KBr, см$^{-1}$): 1000, 1197, 1324, 1348, 1376, 1405, 1448, 1471, 1550, 1621 (S-C=N), 1731, 2753-3469 (C-H).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 236 $[M+2]^+$, 234 $[M]^+$, 155 $[M-Br]^+$, 128 $[M- C_2H_3Br]^+$, 81 $[Br]^+$, 79 $[Br]^+$.

Элементный анализ: $C_7H_{12}Br_2N_2S$ Вычислено %: C, 26.60, H, 3.83, N, 8.86, S, 10.15. Найдено, %: C, 26.59, H, 3.80, N, 8.75, S, 10.18

(±)-[(3aR,7R,7aR)7-иодо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина гидробромид (13)

Раствор соединения **11a** (45 мг, 0.133 ммоль) в 10% водном HBr (5 мл) кипятили в течение 3 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 5% метанол в $CHCl_3$). Получили соединение **13** в виде светло-желтого кристаллического вещества (27 мг, выход 56%). $T_{пл.}$ = 145°C(разл.).



^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.43 - 1.56 (м, 2H), 1.79 - 1.88 (м, 1H), 1.92- 2.02 (м, 1H), 2.20 (м, 1H,), 2.33 (м, 1H), 4.23 (м, 1H, H^{7a}), 4.28-4.30 (м, 2H, H^{3a}+H^7).

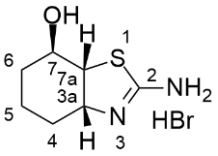
^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 21.3, 25.2, 31.7, 36.5 (C^7), 59.0 (C^{7a}), 61.8 (C^{3a}), 173.5 (C^2).

ИК (KBr, см$^{-1}$): 1521 (C=N), 1635 (C=O), 2848 (C-H), 3058 (C-H).

Элементный анализ: $C_7H_{12}BrIN_2S$ Вычислено, %: C, 23.16, H, 3.33, N, 7.72, S, 8.83. Найдено, %: C, 23.08, H, 3.27, N, 7.72, S, 8.52.

(±)-[(3aR,7R,7aR)7-гидрокси-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина гидробромид (14)

Суспензию соединения **12** (111 мг, 0.351 ммоль, 1 экв.) и PbO (280 мг, 1.25 ммоль, 3.56 экв.) в воде (10 мл) перемешивали при 50°C в течение 10 часов. Реакционную массу отфильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении, промыли Et_2O (10 мл), раствор декантировали и остаток высушили. Получили соединение **14** в виде белого твердого вещества (76 мг, выход 86%). $T_{пл.}$ = 205–207°C.



^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.18–1.28 (м, 1H, H^6), 1.34–1.44 (м, 1H, H^5), 1.56-166 (м, 2H, H^4+H^5), 1.87 (м, 1H, H^6), 2.04 (м, 1H, H^4), 3.42 (дд, 1H, J=9.6, 5.3 Гц, H^{7a}), 3.54 (ддд, 1H,

J=11.5, 9.6, 4.3 Гц, H7), 4.27 (м, 1H, H^{3a}).

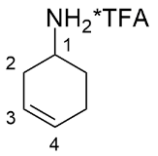
NOESY 1D (D_2O): H^{3a}–H^{7a} (1.7%), H^{3a}–$H^{5акс}$ (1.4%).

^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 18.8, 26.2, 32.3, 56.6 (C^{7a}), 65.2 (C^{3a}), 72.7 (C^{7}), 171.1 (C^{2}).

ИК (KBr, $см^{-1}$): 1313, 1446, 1583, 1648 (S-C=N), 1729, 2850–3417 (C-H, N-H, O-H).

Элементный анализ: $C_7H_{13}BrN_2OS$ Вычислено, %: C, 33.21, H, 5.18, N, 11.07, S, 12.67. Найдено, %: C, 33.20, H, 5.12, N, 11.11, S, 12.51.

Циклогекс-3-ен-1-амина трифторацетат (15)



К раствору NaN_3 (2.02 г, 31.3 ммоль, 3.5 экв.), тетрабутиламмоний бромида (429 мг, 1.33 ммоль, 0.15 экв.), $Zn(OTf)_2$ (105 мг, 0.292 ммоль, 0.03 экв.) и циклогекс-3-ен-1-карбоновой кислоты (1.12 г, 8.88 ммоль, 1 экв.) в ТГФ (10 мл) при 40°C добавили Boc_2O (4.1 мл, 17.76 ммоль, 2 экв.). Смесь перемешивали при 40°C в течение 16 часов. По окончании реакции добавили 15 мл 10% р-ра $NaNO_2$.В реакционную смесь добавили 15 мл этилацетата и перемешивали при 25 °C в течение 20 минут. Водный слой экстрагировали этилацетатом (3*15мл). Объединенный органический слой промыли насыщенным раствором $NaHCO_3$ и высушили над Na_2SO_4. Затем сконцентрировали при пониженном давлении, а остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 1% MeOH в CH_2Cl_2). Получили (***трет*-Бутил-циклогекс-3-ен-1-ил карбамат)** в виде белого кристаллического вещества (1.254 г, выход 71.6 %). Тпл. = 53-54°C (лит. 52-55°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.44 (с, 9H, *t*-Bu), 1.51-1.57 (м, 1H), 1.80-1.89 (м, 2H), 2.11-2.15 (м, 2H), 2.33-2.40 (м, 1H), 3.77 (м, 1H, H^1), 4.57 (уш. с. 1H, NH), 5.56-5.61 (м, 1H, H^3), 5.64-5.69 (м, 1H, H^4). Спектральные данные соответствуют данным [117].

К раствору ***трет*-Бутил-циклогекс-3-ен-1-ил карбамата** (1.254 г, 3,68 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (50 мл) и при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (5,28 мл, 71,07 ммоль, 19.3 экв.) и смесь перемешивали в течение 2,5 ч. Растворитель удалили при пониженном давлении, получили соединение **15** в виде белого твердого вещества. 122-124°C (лит. 121-123°C)

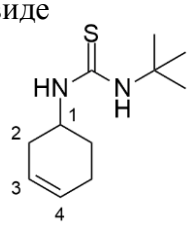
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.71-1.81 (м, 1H), 2.01-2.05 (м, 1H), 2.15-2.20 (м, 3H), 2.43-2.47 (м, 1H), 3.51 (м, 1H, H^1), 5.57-5.60 (м, 1H, H^3), 5.73-5.75 (м, 1H, H^4), 7.38 (уш. с. 3H, NH_3^+).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 22.8 (C^5), 26.1 (C^6), 29.1 (C^2), 48.1 (C^1), 122.0 (C^3), 126.9 (C^4). Спектральные данные соответствуют данным [118].

1-*трет*-Бутил-3-циклогекс-3-ен-1-илтиомочевина (16a)

Циклогекс-3-ен-1-амина трифторацетат **(15)** (407 мг, 1.92 ммоль, 1 экв.), растворили в CH_2Cl_2 (15 мл), добавили $^iPr_2NEt$ (480 мкл, 2.76 ммоль, 1.4 экв.) и ^tBuNCS (250 мкл, 1.97 ммоль, 1.03 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной

хроматографией (элюент: 2% метанол в $CHCl_3$). Получили соединение **16a** в виде белого твердого вещества (387 мг, выход 95%). $T_{пл.}$ = 156–158°C.



^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.35 (с, 9H, *t*-Bu), 1.81-1.88 (м, 2H), 1.97-2.06 (м, 2H), 2.14-2.20(м, 1H,), 2.44-2.49 (м, 1H), 4.54(м, 1H, H^1), 5.61-5.63 (м, 1H, H^4), 5.73- 5.76 (м, 1H, H^3),5.78 (уш с.,1H, NH) 5.99 (уш с.,1H, NH).

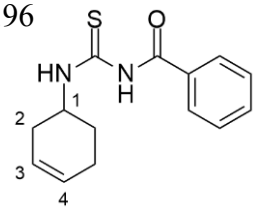
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 22.6 (C^5), 26.7 (C^6), 29.4 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 31.2 (C^2), 49.7 (C^1), 52.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 124.2 (C^3), 127.3 (C^4), 179.9 (C=S).

ИК (KBr, см$^{-1}$): 1135, 1201, 1243, 1319, 1346, 1392, 1540 (C=C), 2836-2979 (C-H), 3029- 3116 (=C-H), 3257 (N-H).

Элементный анализ: $C_{11}H_{20}N_2S$ Вычислено, %: C, 62.22, H, 9.49, N, 13.19. Найдено, %: C, 62.21, H, 9.54, N, 13.08.

N-(циклогекс-3-ен-1-илкарбамотиоил) бензамид (16b)

К раствору циклогекс-3-ен-1-амина трифторацетата **(15)** (414 мг, 1.96 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (20 мл) добавили ^{i}Pr$_2$NEt (580 мкл, 3.34 ммоль, 1.7 экв.) и бензоилизотиоцианат (270 мкл, 2.01 ммоль 1.02 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: 2% метанол в $CHCl_3$). Получили соединение **16b** в виде белого твердого вещества (403 мг, выход 79%). $T_{пл.}$ = 78-79 °C.



^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.76–1.85 (м, 1H), 1.94 – 2.00 (м, 1H), 2.07 – 2.21 (м, 3H), 2.48 – 2.53 (м, 1H), 4.59 (м, 1H, H1), 5.62 – 5.64 (м, 1H, H^4), 5.72 – 5.75 (м, 1H, H^3), 7.44-7.49 (м, 2H, $H^{3,5-Ph}$), 7.57 (м, 1H, H^{4-Ph}), 7.78-7.82 (м, 2H, $H^{2,6-Ph}$), 9.12 (уш.с., 1H, NH), 10.83 (д, 1H, *J*= 6.6 Гц, NH).

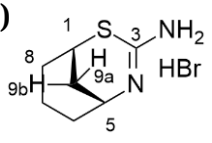
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 22.8, 26.2, 30.2, 50.4 (C^1), 123.8 (C^3), 127.0 (C^4), 127.3 ($C^{2,6-Ph}$), 128.8 ($C^{3,5-Ph}$), 131.6 (C^{1-Ph}), 133.3 (C^{4-Ph}), 166.8 (C=O), 178.5 (C=S).

ИК (KBr, см$^{-1}$): 1159, 1241, 1267, 1523 (C=C), 1540 (C=C), 1673 (C=O), 2844–2962 (C- H), 3033–3099 (=C-H), 3166–3239 (N-H).

Элементный анализ: $C_{14}H_{16}N_2OS$ Вычислено, %: C, 64.58, H, 6.19, N, 10.76, S, 12.32. Найдено, %: C, 64.61, H, 6.16, N, 10.59, S, 12.27.

(±)-(1S,5R)- 2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина гидробромид (17)

Метод 1: Раствор 1-*трет*-бутил-3-циклогекс-3-ен-1-илтиомочевины **(16a)** (50 мг, 0.24 ммоль) или N-(циклогекс-3-ен-1-илкарбамотиоил) бензамида **(16b)** (50 мг, 0.19 ммоль) в 30% водном растворе HBr (5 мл) кипятили в течение 5 часов, затем концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (градиентное элюирование от 1% до 5% раствором MeOH в



$CHCl_3$). Получили соединение **17** в виде в виде белого кристаллического вещества (из 1-*трет*-бутил-3-циклогекс-3-ен-1-илтиомочевины **(16a)**: 6 мг, выход 12%; из N-(циклогекс-3-ен-1-илкарбамотиоил) бензамида **(16b)**: 5 мг, выход 8%). $T_{пл.}$ = 220-222 °C.

Метод 2: Раствор N-*трет*-бутил-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина гидробромида **(19)** (100 мг, 0.341 ммоль) в 10% водном HBr (5 мл) кипятили в течение 3 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2, затем градиентное элюирование от 1% до 5% раствором MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **17** в виде белого кристаллического вещества (69 мг, выход 85%). $T_{пл.}$ = 220-222 °C

^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ):1.56 - 1.69 (м, 3H), 1.78 - 1.96 (м, 3H), 2.06 (м, 1H, H^{9b}), 2.23 (ддд, 1H, J= 14.2, 3.5, 3.0 Гц, H^{9a}), 3.74 (м, 1H, H^1), 3.91 (м, 1H, H^5).

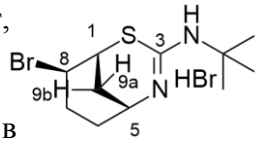
^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 15.1, 27.9, 30.5, 31.8, 37.8 (C^1), 46.0 (C^5), 168.6 (C^3).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 157 $[M+H]^+$.

Элементный анализ: $C_7H_{13}BrN_2S$ Вычислено, %: C, 35.45, H, 5.53, N, 11.81, S, 13.52. Найдено, %: C, 35.48, H, 5.43, N, 11,66; S, 13.29.

Спектральные данные соответствуют данным, описанным в [24]

(±)-(1R,5R,8R)-8-Бромо-N-*трет*-бутил-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина гидробромид (18a)



Раствор 1-*трет*-бутил-3-циклогекс-3-ен-1-илтиомочевины **(16a)** (270 мг, 1.27 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (10 мл) обработали Br_2 (140 мкл, 2.71 ммоль, 2.1 экв.) и перемешивали в темноте при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2, затем градиентное элюирование от 1% до 2% раствором MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **18a** в виде белого твердого вещества (360 мг, выход 76%). $T_{пл.}$ = 210-212 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.41 (с, 9H, *t*-Bu), 1.82 - 1.85 (м, 1H, H^6), 1.93 – 2.03 (м, 3H, H^6+$H^{7экзо}$+H^{9b}), 2.09 – 2.18 (м, 1H, $H^{7эндо}$), 2.78 (м, 1H, H^{9a}), 3.76 (м, 1H, H^1), 3.92 (м, 1H, H^5), 4.58 (м, 1H, H8), 9.44 (уш. с., 1H, NH), 10.43 (уш. с., 1H, NH).

NOESY 1D: a) H^5–H^{9a} (1.8%), H^5–H^6+$H^{7экзо}$+H^{9b} (2.8%), H^5–H^6 (1.0%), H^5–HNH (2.2%), взаимодействие с $H^{7эндо}$ при 2,17 м.д. не наблюдается.

b) H^8–H^1(1.6%), H^8–$H^{7эндо}$ (1.3%), H^8–H^6эндо+$H^{7экзо}$ (0.8%), взаимодействие с H^{9b} при 1.96 – 2.00 м.д. не наблюдается.

c) H^1–H^8(1.3%), H^1–H^{9a} (1.0%), H^1–H^{9b} (1.4%).

d) H^{9a}–H^5(2.7%), H^{9a}–H^1 (2.2%), H^{9a}–H^{9b} (17.3%).

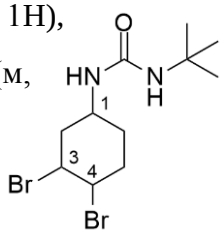
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 23.0 (C^9), 24.2 (C^7), 26.2 (C^6), 29.1 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 41.4 (C^1), 44.7

(C^5), 50.7 (C^8), 55.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 164.9 (C^3).

Элементный анализ: $C_{11}H_{20}Br_2N_2S$: Вычислено, %: C, 35.50, H, 5.42, N, 7.53, S, 8.62. Найдено, %: C, 35.48, H, 5.60, N, 7.61; S, 8.70.

Одну из первых фракций в CH_2Cl_2 (22 мг, 5%) подвергли дополнительной колоночной. хроматографии (элюент: этилацетат: петролейный эфир (40–70 °C) 1:7). Получили 1-*трет*-бутил-3-(3,4-дибромциклогексил) мочевину **(18b)** (12 мг, 3%).

1-*трет*-бутил-3- (3,4-дибромциклогексил) мочевина (18b)

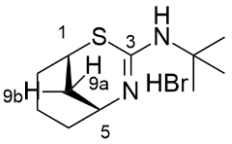


^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.31 (с, 9H, *t*-Bu), 1.64–1.74 (м, 1H), 1.85–1.88(м, 1H), 1.98–2.01 (м, 1H), 2.17–2.31 (м, 2H), 2.48–2.56 (м, 1H), 4.04 (м, 1H, H^1), 4.54 (м, 1H, CHBr), 4.60 (м, 1H, CHBr), 4.70–5.10 (уш. с, 2H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 28.2, 28.7, 29.6 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 36.0 (C^2), 44.2 (CHBr), 50.2 (C^1), 52.2 (CHBr), 52.8 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 157.1 (C=O).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 359 $[M+4+H]^+$, 357 $[M+2+H]^+$, 355 $[M+H]^+$,303 $[M- C_4H_8+4+H]^+$, 301 $[M- C_4H_8+2+H]^+$, 299 $[M- C_4H_8+H]^+$. (три пика молекулярных ионов с относительной интенсивностью 1: 2: 1 каждый, разделенные двумя единицами массы, соответствуют изотопной картине молекулы, содержащей два атома брома).

(±)-(1S,5R)-N-*трет*-Бутил-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина гидробромид (19)



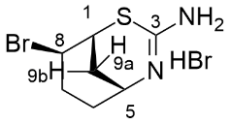
Раствор соединения **18a** (130 мг, 0.35 ммоль, 1 экв.) в толуоле (20 мл) обработали $^{н}Bu_3SnH$ (190 мкл, 0.71 ммоль, 2 экв.) и AIBN (2 мг, 12 мкмоль). Смесь нагревали при 100 °C в атмосфере аргона в течение 6 часов, затем концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2, затем 2% метанол в $CHCl_3$). Получили соединение **19** в виде белого кристаллического вещества (75 мг, выход 73%). $T_{пл.}$ = 84-86 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.49 (с, 9H, *t*-Bu), 1.52 – 1.60 (м, 1H), 1.68 – 1.75 (м, 2H), 1.84 – 1.92 (м, 1H), 1.95 – 2.03 (м, 2H), 2.07 – 2.17 (м, 2H), 3.70 (м, 1H, H^1), 3.95 (м, 1H, H^5), 9.40 (уш.с., 1H, NH), 10.39 (уш.с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 15.8, 28.6, 29.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 31.4, 32.3, 38.3 (C^1), 45.3 (C^5), 55.1 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 166.7 (C^3).

Элементный анализ: $C_{11}H_{21}BrN_2S$: Вычислено, %: C, 45.05, H, 7.22, N, 9.55, S, 10.93. Найдено, %: C, 45.18, H, 7.32, N, 9,66; S, 10.29.

(±)-(1R,5R,8R)-8-Бромо-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина гидробромид (20)



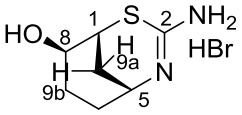
Раствор соединения **18a** (80 мг, 0.215 ммоль) кипятили в 10% водном HBr (5 мл) в течение 3 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 5% метанол в $CHCl_3$). Получили соединение **20** в виде белого кристаллического вещества (65 мг, выход 96%). $T_{пл.}$ =190-193 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.72 – 1.76 (м, 1H), 1.93 – 2.08 (м, 3H), 2.17 – 2.26 (м, 1H, H^{9b}), 2.80 – 2.85 (ддд, 1H, J= 14.7, 3.8, 2.9 Гц, H^{9a}), 3.87 (м, 1H, H^1), 3.93 (м, 1H, H^5), 4.71 (м, 1H, H^8).

^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 22.9, 23.7, 25.7, 40.9 (C^1), 45.4 (C^5), 51.9 (C^8), 167.2 (C^3).

Элементный анализ: $C_7H_{12}Br_2N_2S$ Вычислено, %: C, 26.60, H, 3.83, N, 8.86, S, 10.15. Найдено, %: C, 26.32, H, 3.91, N, 8.54; S, 10.10.

(±)-(1R,5R,8R)-3-Амино-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-8-ола гидробромид (21)



Суспензию соединения **20** (164 мг, 0.519 ммоль, 1 экв.) и PbO (202 мг, 0.906 ммоль, 1.7 экв.) в воде (10 мл) перемешивали при 50 °C в течение 10 часов. Реакционную массу отфильтровали, фильтрат концентрировали при пониженном давлении, промыли Et_2O (10 мл), раствор декантировали и остаток высушили. Получили соединение **21** в виде белого кристаллического вещества (124 мг, выход 94%). $T_{пл.}$ =188-190 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO–d_6, δ): 1.48 – 1.52 (м, 1H), 1.60 – 1.72 (м, 3H), 1.80 – 1.88 (м,1H), 2.41 – 2.44 (м, 1H), 3.43 (м, 1H, H^8), 3.79 (м, 1H, H^1), 3.89 (м, 1H, $H^{5)}$, 5.38 (м, 1H).

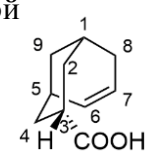
^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.62–1.68 (м, 2H), 1.81–1.92 (м, 3H), 2.49–2.54 (м, 1H), 3.49 (м, 1H, H^8), 3.89 (м, 1H, H1), 4.11 (м, 1H, H^5).

^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 21.3, 21.8, 25.2, 39.1 (C^1), 45.5 (C^5), 68.7 (C^8), 168.1 (C^3).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 173 $[M+H]^+$.

Элементный анализ: $C_7H_{13}BrN_2OS$ Вычислено, %: C, 33.21; H, 5.18; N, 11.07; S, 12.67. Найдено, %: C, 33.11; H, 5.28; N, 11.08; S, 12.10.

(±)-(1R,3R,5S)-Бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-карбоновая кислота (22)



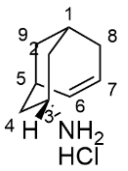
К раствору адамантан-2-она (4 г, 26,6 ммоль, 1 экв.) в метансульфоновой кислоте (70 мл), при 0 °C в течение 30 мин добавили азид натрия (2.59 г, 39,9 ммоль, 1.5 экв.), через 2 часа при 20 °C реакционную массу вылили в лёд, полученный раствор сильно подщелачивали 50% водным раствором NaOH, еще через 2 часа смесь экстрагировали Et_2O (3*50мл), водный раствор подкисляли 50% HCl. Выпавшую кислоту экстрагировали Et_2O (3*50 мл), экстракт промывали водой и сушили. Получили соединение **22** в виде белого кристаллического вещества (2.9г, выход 66%). $T_{пл.}$ = 195-196

°C (лит. 195–198°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 1.53-1.57 (м, 1H), 1.67-1.77 (м, 3H), 2.06-2.10 (м, 1H), 2.22-2.25 (м, 2H), 2.31-2.36 (м, 2H), 2.39-2.42 (м, 1H, H^1), 2.57-2.60 (м, 1H, H^3), 5.57-5.61 (м, 1H, H^7), 5.65-5.69 (м, 1H, H^6), 10.26 (уш.с., 1H, COOH).

^{13}C ЯМР (100МГц, $CDCl_3$, *δ*):26.3, 28.5, 29.8, 31.1, 31.5, 31.9, 35.9(C^3), 129.5(C^7), 130.6 (C^6), 179.6(COOH).Спектральные данные соответствуют данным, описанным в [119].

(±)-(1R,3R,5S) -Бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-амина гидрохлорид (23)

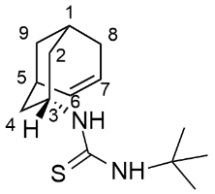


К кипящей смеси соединения **22** (3.2 г, 19.25 ммоль, 1 экв.) и NEt_3 (2.75 мл, 19.75 ммоль, 1 .03 экв.) в сухом ксилоле (80 мл) по каплям добавляли раствор $(PhO)_2P(O)N_3$ (4.24 мл, 19.75 ммоль) в сухом ксилоле (10 мл) в течение 1 ч в атмосфере аргона, и затем кипятили в течение 9 часов. После удаления растворителя при пониженном давлении, остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 1:9 этилацетат: петролейный эфир), полученное бесцветное масло кипятили в смеси CCl_4 (40 мл) и 8% HCl (40 мл) в течение 3 дней. Водный слой отделили, подщелочили 50% водным раствором KOH и экстрагировали CH_2Cl_2 (7 х 5 мл). Объединенные органические экстракты высушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, растворили в эфире и через получившийся раствор продували газообразный HCl. Получили соединение **23** в виде белого кристаллического вещества (0,97 г, 29%). $T_{пл.}$ = > 300 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 1.54 – 1.56(м, 1H), 1.70 – 1.74 (м, 1H), 1.84 – 1.87 (м, 1H), 2.09 –2.26 (м, 5H), 2.42 – 2.54 (м, 2H), 3.70 (м, 1H, H^3), 5.96 (ддд, 1H, *J*= 9.9, 3.5, 3.1 Гц, H^7), 6.13 – 6.22(м, 1H, H^6), 8.07 (уш. с, 3H, NH_3^+).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 24.6, 26.7, 29.9, 31.0, 32.3, 34.4, 46.1 (C^3), 129.9(C^7), 134.7 (C^6).

(±)-1-((1R,3R,5S) -Бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-ил)-3-(*трет*-бутил) тиомочевина (24)



К раствору соединения **23** (842 мг, 4.85 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (10 мл), добавили ^{i}Pr$_2$NEt (4.22 мл, 24.26 ммоль, 5 экв.), а через 5 минут ^{t}BuNCS (1.23 мл, 9.71 ммоль, 2 экв.) и перемешивали в течение 12 часов, затем концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией. (элюент: градиентное элюирование от 1% до 5% раствором MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **24** в виде белого кристаллического вещества (1.05г, выход 86%) $T_{пл.}$ = 155–157 °C.

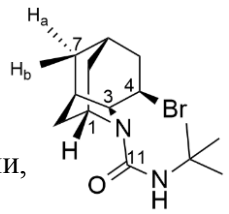
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 1.58 (м, 1H), 1.71 – 1.74 (м, 1H), 1.80 –1.84 (м, 1H), 1.93 – 2.10 (м, 4H), 2.23 (м, 1H), 2.41 (м, 1H), 2.48 (м, 1H), 4.94 (м, 1H, H^3), 5.87 (ддд, 1H, *J*= 9.8, 3.5, 3.1 Гц, H^7), 6.0 (уш. с, 1H, NH), 6.11 (м, 1H, H^6), 6.71 (уш. с, 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 25.2, 27.5, 29.3 (C($\underline{C}H_3)_3$), 30.9, 32.5, 33.9, 36.9, 49.6 (C^3), 52.1 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 129.3 (C^7), 134.6 (C^6),178.9 (C=S).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 253 $[M+H]^+$, 197 $[M+H\text{-}t\text{-}Bu]^+$, 180$[C_{10}H_{14}NS]^+$

Элементный анализ: $C_{14}H_{24}N_2S$ Вычислено, %: C, 66.62, H, 9.58, N, 11.10, S, 12.70. Найдено, %: C, 66.58, H, 9.39, N, 11.40; S, 12.53.

(±)-(1R,3R,4S,6R,8S)-4-Бромо-N-*трет*-бутил-2-азатрицикло[4.3.1.0^{3,8}]декан-2-карбоксамид (25)



Раствор соединения **24** (1.07 г, 4.24 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (10 мл) обработали Br_2 (218 мкл, 4.24 ммоль, 1 экв.) и перемешивали в темноте при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную массу обработали насыщенным водным раствором $NaHCO_3$, органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2, затем градиентное элюирование от 0.5 % до 3% раствором MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **25** в виде белого кристаллического вещества (625 мг, выход 47 %). $T_{пл.}$ = 86–88 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.34 (с, 9H, *t*-Bu), 1.42 (м, 1H, H^{7a}), 1.45 (м, 1H, $H^{9экзо}$), 1.58 – 1.66 (м, 2H, H^{7b}+ $H^{9эндо}$), 1.69 – 1.75 (м, 2H, H^{10}), 2.12 – 2.18 (м, 2H, H^6+$H^{5эндо}$), 2.43 (ддд, 1H, *J*= 13.4, 8.4,5.2 Гц, $H^{5экзо}$), 2.71 (кв, 1H, *J*= 6.1 Гц, H^8), 4.16 – 4.17 (м, 1H, H^3), 4.44 (ддд, 1H, *J*= 10.0, 8.0, 1.4 Гц, H^4), 4.78 (м, 1H, H^1), 5.58 (уш. с, 1H, NH).

NOESY 1D: a) H^3–H^8 (1.4%), H^3–H^4 (1.1%), H^3–NH (1.4%).

b) H^4–H^3(1.0%), H^4–H^8(0.1%), H^4– $H^{5экзо}$ (0.7%), H^4– H^6(0.1%), H^4– H^{7b} (1.7%).

c) $H^{5экзо}$–H^4(1.4%), $H^{5экзо}$–$H^{5эндо+6}$(9.8%), $H^{5экзо}$– H^{7b} (0.1%).

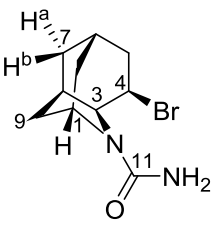
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 29.2(C^7), 29.3 (C($\underline{C}H_3)_3$), 30.1 (C^6), 38.5 (C^{10}), 39.1 (C^5), 39.2 (C^9), 39.7 (C^8), 50.8 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 52.9 (C^4), 53.6(C^1), 64.3 (C^3), 158.8 (C^{11}).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 316 $[M+2]^+$, 314 $[M]^+$, 299 $[M + 2\text{-}2Me]^+$, 301 $[M\text{-}2Me]^+$, 242, 244, 215, 217, 179, 136 ,119; 80, 57 $[^tBu]^+$, 58, 41$[C_3H_5]^+$.

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 317 $[M+2+H]^+$, 315 $[M+H]^+$.

МСВР-ЭСИ: Вычислено для, $C_{14}H_{24}BrN_2O$, 315.1072 $[M + H]^+$. Найдено: 315.1074.

(±)-(1R,3R,4S,6R,8S)-4-Бромо-2-азатрицикло[4.3.1.0^{3,8}]декан-2-карбоксамид (26)



Раствор соединения **25** (157 мг, 0.50 ммоль) в концентрированном HCl (5 мл) кипятили в течение 16 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: градиентное элюирование от 0% до 3% раствором MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **26** в виде белого кристаллического вещества (114 мг, выход 88%). $T_{пл.}$ = 175–177 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.42 (м, 1H, H^{7a}), 1.48 – 1.51 (м, 1H, $H^{9экзо}$), 1.59 – 1.76 (м, 4H, H^{7b}+ $H^{9эндо}$+ H^{10}), 2.09 – 2.15 (м, 2H, H^6+ $H^{5эндо}$), 2.45 (ддд, 1H, J= 13.6, 8.3, 5.5 Гц, $H^{5экзо}$), 2.72 (дд, 1H, J= 6.0, 5.8 Гц, H^8), 4.26 –4.28 (м, 1H, H^3), 4.42 (м, 1H, H^4), 4.76 (м, 1H, H^1), 5.18 (уш. с, NH).

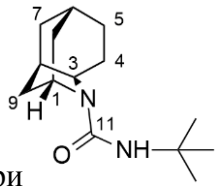
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 29.1 (C^7), 30.0 (C^{76}), 38.3 (C^{10}), 39.2 (C^{5+9}), 39.4 (C^8), 51.9 (C^4), 54.4 (C^1), 64.0 (C^3), 160.0 (C^{11}).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 261 $[M+2+H]^+$, 259 $[M+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{10}H_{15}BrN_2O$ Вычислено, %: C, 46.35; H ,5.83; N, 10.81. Найдено, %: C, 46.39; H, 5.80; N, 10.43.

Дополнительные кристаллографические данные для соединения **26** можно получить на сайте http://www.ccdc.cam.ac.uk, номер депонирования 1862332.

(±)-(1R,3S,6R,8S)-N-*трет*-бутил-2-азатрицикло[4.3.1.0^{3,8}]-декан-2-карбоксамид (27)



Раствор соединения **25** (145 мг, 0,46 ммоль, 1 экв.) в толуоле (20 мл) обрабатывали ^{n}Bu_3SnH (295 мкл, 1,1 ммоль, 2.4 экв.) и AIBN (2 мг, 0,12 ммоль). Смесь нагревали при 100 °C в герметичной ампуле высокого давления в атмосфере аргона в течение 6 ч, затем концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2, затем 1% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **27** в виде белого твердого вещества (108 мг, 99%). $T_{пл.}$ = 106-108 °C.

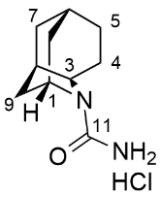
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.35 (с, 9H, *t*-Bu), 1.41 – 1.52 (м, 4H), 1.61 – 1.67 (м, 3H), 1.70 – 1.76 (м, 1H), 1.78 – 1.86 (м, 1H), 2.03 (м, 1H), 2.08 – 2.13 (м, 1H), 2.47 (м, 1H, H^8), 3.93 – 4.07 (м, 2H, H^1+H^3),4.18 (уш. с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 21.4 (C6), 26.6, 27.3, 29.5 (C($\underline{C}H_3)_3$), 30.0, 35.5 (C^8), 38.3, 38.4, 50.1 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 53.1 (C1), 54.7 (C^3), 154.8 (C^{11}).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 237 $[M+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{14}H_{24}N_2O$ Вычислено, %: C, 71.14, H, 10.23, N, 11.85. Найдено, %: C 71.18, H, 10.20, N, 11.82.

(±)-(1R,3S,6R,8S)-2-азатрицикло[4.3.1.0^{3,8}]-декан-2-карбоксамида гидрохлорид (28)



Раствор соединенния **27** (130 мг, 0.55 ммоль) в концентрированном HCl (5 мл) кипятили в течение 16 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: градиентное элюирование от 0% до 5% раствором MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **28** в виде белого кристаллического вещества (105 мг, выход 88 %). $T_{пл.}$ = 109–111 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.17 – 1.26 (м, 1H), 1.34 – 1.55 (м, 5H), 1.61 –1.67 (м, 2H), 1.69 –

1.79 (м, 1H), 1.84 – 1.91 (м, 1H), 1.98 –2.03 (м, 1H), 2.39 – 2.43 (м, 1H, H^8), 3.96 – 4.06 (м, 2H, H^{1+3}).

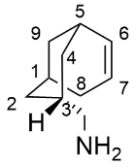
^{13}C ЯМР (100 МГц, D_2O, δ): 19.6 (C^6), 25.9, 26.7, 28.8, 34.4 (C^8), 37.0, 37.6, 55.1 (C^1), 56.4 (C^3), 156.7 (C^{11}).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 180 $[M]^+$.

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 181 $[M+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{10}H_{17}ClN_2O$ Вычислено, %: C 55.42, H 7.91, N 12.93. Найдено, %: C 55.51,H , 7.83, N, 12.92.

(эндо-3-Бицикло[3.3.1]нон-6-ен-ил)метиламин (29)

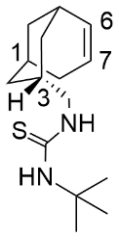


К раствору адамантан-2-она (2 г, 13,3 ммоль, 1 экв.) и ледяной уксусной кислоты (8 мл) в метансульфоновой кислоте (6 мл), при перемешивании в течение 45 минут порциями добавили азид натрия (1 г, 15.4 ммоль, 1.15 экв.), через 20 мин реакционную массу вылили в лёд, осадок отделили и высушили. Получили эндо-бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-карбонитрил в виде бесцветного кристаллического вещества (1.08 г, выход 55 %). Раствор эндо-бицикло [3.3.1] нон-6-ен-3-карбонитрила (1 г, 6,8 ммоль, 1 экв.) в Et_2O (25 мл) по каплям добавляли к охлажденной льдом смеси $LiAlH_4$ (0,51 г, 13,6 ммоль, 2 экв.) и $AlCl_3$ (1,8 г, 13,6 ммоль, 2 экв.) в Et_2O (55 мл). Через 2 ч реакционную смесь осторожно гасили 50% -ным водным раствором NaOH (25 мл) и фильтровали. Осадок промывали горячим $CHCl_3$ (3 * 30 мл), объединенные органические фильтраты сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и сконцентрировали при пониженном давлении. Получили соединение **29** (0,9 г, выход 88%) в виде светло-желтого масла и использовали без дополнительной очистки.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ):1.15–1.26 (м, 4H), 1.43 (м, 1H), 1.58 – 1.65 (м, 2H), 1.76 – 1.83 (м, 2H), 1.92 (м, 1H), 2.13 (м, 1H), 2.23 – 2.28 (м, 2H), 2.54 – 2.64 (м, 2H, CH_2N), 5.50 (м, 1H, H^7), 5.83 (м, 1H, H^6).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 25.1, 27.5, 28.3, 31.2, 32.3, 34.0, 34.1, 48.4 (CH_2NH_2), 125.5 (C^7), 134.9 (C^6).Спектральные данные соответствуют данным [120].

1 - [(эндо-Бицикло [3.3.1] нон-6-ен-3-ил) метил] -3-*трет*-бутилтиомочевина (30)



Раствор соединения **29** (610 мг, 4,04 ммоль, 1 экв.), в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали $^iPr_2NEt$ (1,05 мл, 6,06 ммоль, 1.5 экв.) и ^{t}BuNCS (767 мкл, 6,06 ммоль, 1.5 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали и очищали колоночной хроматографией (элюент: 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **30** в виде белого твердого вещества (904 мг, выход 84%). $T_{пл.}$ =. 119–121 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.31–1.38 (м, 2H), 1.43 (с, 9H, *t*-Bu), 1.53 (м, 1H), 1.62 (м, 1H),

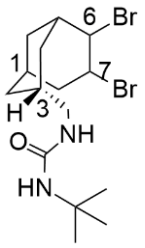
1.81 – 2.07 (м, 4H), 2.18 (м, 1H), 2.30 – 2.36 (м, 2H), 3.47 (м, 1H, CH_2NH), 3.63 (м, 1H, CH_2NH), 5.62 (м, 1H, H^7), 5.65 – 6.1 (уш. с., 2H, 2NH), 5.88 (м, 1H, H^6).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 25.0 (C^5), 27.3 (C^4), 28.5 (C^6), 29.6 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 30.2, 31.2, 32.5, 33.8, 51.3 (CH_2NH), 52.6 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 126.4 (C^7), 134.4 (C^6), 180.77 (C=S).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 267 $[M+H]^+$, 211 $[M-C_4H_8+H]^+$, 135 $[M-NHC(=S)NHBu^t]^+$.

Элементный анализ $C_{15}H_{26}N_2S$: Вычислено, %: C, 67.62, H, 9.84, N, 10.51. Найдено, %: C, 67.60, H, 9.78, N, 10.56.

1-[(3-эндо-6,7-дибромобицикло[3.3.1]нон-3-ил)метил]-3-*трет*-бутил-мочевина (31)



Раствор соединения **30** (0.098 г, 0.37 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали Br_2 (25 мкл, 0.48 ммоль, 1.3 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте 24 ч. Реакционную массу обработали насыщенным водным раствором $NaHCO_3$, (5мл) органический слой отделили, водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (2*10 мл), органические слои высушили над Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2, затем градиентное элюирование от 0.5% до 5% раствором MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **31** в виде белого твердого вещества (0.1 г, выход 67%). $T_{пл.}$ = 170–172 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ):1.31 (с, 9H, *t*-Bu), 1.65-1.68 (м, 1H), 1.78 – 2.10 (м, 7H), 2.28 (м, 1H, H^3), 2.48-2.58 (м, 2H), 3.02 (уш. с., 2H, $\underline{CH_2}NH$), 4.62 (уш. с, 1H, NH), 4.70 (м, 1H, H^6), 4.79 (м, 1H, H^7), 4.82 (уш.с., 1H, NH).

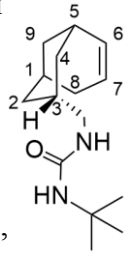
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 21.4, 24.4, 29.6 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 30.0, 30.7, 31.1, 34.9, 36.4, 45.8 (CH_2NH), 48.6, 50.1 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 60.5, 157.8 (C=O).

Масс-спектр (ЭИ), m/z: 412 (19) $[M+4]^{+\cdot}$, 410 $[M+2]^{+\cdot}$, 408 $[M]^+$, 396, 394, 392, 331 $[M-Br+2]^+$, 329 $[M-Br]^+$.

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 413 $[M+H+4]^+$, 411 $[M+H+2]^+$, 409 $[M+H]^+$, 331 $[M+2+H- HBr]^+$, 329 $[M+H-HBr]^+$.

Элементный анализ $C_{15}H_{26}Br_2N_2O$: Вычислено, %: C, 43.92, H, 6.39, N, 6.83. Найдено, %: C, 43.90, H, 6.41, N, 6.55.

1-[(эндо-бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-ил)метил]-3-(*трет*-бутил)мочевина (32)

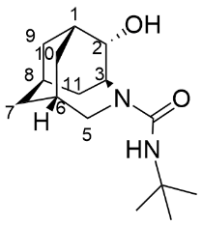


Раствор соединения **30** (0.120 г, 0.45 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали I_2 (0.170 г, 0.67 ммоль, 1.5 экв.) и перемешивали при комнатной температуре 24 ч. Реакционную массу обработали насыщенным раствором $Na_2S_2O_3$, (5 мл), затем насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (5 мл) и водой. Органический слой отделили отделили, высушили над Na_2SO_4, отфильтровали,

концентрировали и остаток **32** анализировали без дальнейшей очистки.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.23–1.27 (м, 1H), 1.48 (м, 1H), 1.56 (с, 9H, *t*-Bu), 1.79 – 2.03 (м, 4H), 2.12 (м, 1H), 2.20 – 2.42 (м, 3H), 3.52 – 3.62 (м, 2H, $\underline{CH_2}NH$), 5.62 (м, 1H, H^7), 5.91 (м, 1H, H^6).

(±)-(1R,2R,3R,6S,8R)-N-*трет*-бутил-2-гидрокси-4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекан- 4-карбоксамид (33)



Раствор соединения **30** (0.124 г 0.47 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали I_2 (0.118 г, 0.47 ммоль, 1 экв.) и ^{t}BuOOH (45 мкл, 0.47 ммоль, 1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре 24 ч. Реакционную массу обработали насыщенным водным раствором $Na_2S_2O_3$ (5 мл), затем насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (5 мл) и водой. Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, отфильтровали, концентрировали, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2, затем 0.5–5% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **33** в виде белого твердого вещества (0.051 г, выход 41%). $T_{пл.}$ = 151–153 °C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.28 – 1.33 (м, 1H), 1.36 (с, 9H, *t*-Bu), 1.42 (м, 1H), 1.56 – 1.59 (м, 2H), 1. 09 – 2.00 (м, 4H), 2.06 (м, 1H), 2.21 (м, 1H), 2.30 (м, 1H, H^9), 2.58 (уш. с, 1H, OH), 3.27 (дд, 1H, J=10.6, 2.0 Гц, H^5), 3.43 (дд, 1H, J=10.6, 4.2 Гц, H^5), 3.66 (м, 1H, H^{12}), 4.33 (уш. с., 1H, NH), 4.51 (м, 1H, H^3).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 25.8, 27.7, 29.5, 29.5 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 30.3, 30.9, 32.0, 38.4, 50.8 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 52.9 (C^5), 53.7 (C^3), 74.5 (C^2), 157.2 (C=O).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 267 $[M+H]^+$, 193 $[M-C_4H_{11}N]^+$, 150 $[M-C_5H_{10}NO_2]^+$.

Элементный анализ $C_{15}H_{26}N_2O_2$: Вычислено, %: C, 67.63, H, 9.84, N, 10.52. Найдено, %: C, 67.59, H, 9.68, N, 10.83.

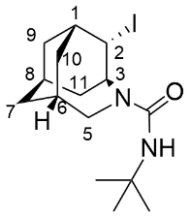
Дополнительные кристаллографические данные для соединения **33** можно получить на сайте http://www.ccdc.cam.ac.uk, номер депонирования 1910104.

(±)-(1R,2R,3R,6S,8R)-N-*трет*-бутил-2-иодо-4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекан-4-карбоксамид (34) и **(±)-(1R,2R,3R,6S,8R)-2-иоди-4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекан- 4-карбонитрил (35)**

Раствор соединения **30** (0.120 г, 0.45 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали I_2 (0.228 г, 0.90ммоль, 2 экв.) в присутствии безводного K_2CO_3 (0.124 г, 0.90 ммоль, 2 экв.) и перемешивали при комнатной температуре 24 ч. Реакционную массу обработали насыщенным водным раствором $Na_2S_2O_3$ (5 мл), затем насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (5 мл) и водой. Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, отфильтровали, концентрировали, и остаток очищали колоночной хроматографией.

(элюент: CH_2Cl_2, затем градиентное элюирование 0.5–5% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **34** (0.024 г, выход 14%) и **35** (0.060 г, выход 44%) в виде желтоватых твердых веществ.

(±)-(1R,2R,3R,6S,8R)-N-*трет*-бутил-2-иодо-4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекан-4-карбоксамид (34)



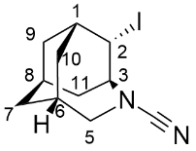
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.36 (с, 9H, *t*-Bu), 1.44 (м, 1H), 1.50 (м, 1H), 1.58 (м, 1H), 1.73 (м, 1H), 1.96 – 2.02 (м, 3H), 2.17 (м, 1H), 2.22 – 2.26 (м, 1H), 2.30 (м, 1H), 2.59 (м, 1H, H^9), 3.16 (дд, 1H, *J*=11.2, 2.0 Гц, H^5), 3.52 (дд, 1H, *J*=11.2, 5.1 Гц, H^5), 4.25 (уш.с., 1H, NH), 4.39 (м, 1H, H^3), 4.82 (м, 1H, H^{11}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 25.9, 29.0, 29.5 (C($\underline{C}H_3)_3$), 30.6, 30.8, 34.4, 35.3, 39.1, 40.2, 50.9 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 53.7 (C^3), 54.9 (C^2), 156.5 (C=O).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 377 $[M+H]^+$.

МСВР-ЭСИ: Вычислено для, $C_{15}H_{25}IN_2O$, 337.1090 $[M+H]^+$. Найдено: 337.1087.

(±)-(1R,2R,3R,6S,8R)-2-иоди-4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекан-4-карбонитрил (35)



^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.48 (м, 1H, H^{11цис}), 1.56 (м, 1H, H^7), 1.62 (м, 1H, H^{9цис}), 1.77 (м, 1H, H^{10цис}), 1.97 – 2.07 (м, 3H, H^7+H^8+H^{10транс}), 2.20 – 2.30 (м, 3H, H^1+H^6+H^{11транс}), 2.59 (м, 1H, H^{9транс}), 3.41 (дд, 1H, *J*=11.7, 2.0 Гц, H^5), 3.49 (дд, 1H, *J*=11.7, 4.7 Гц, H^5), 3.98 (м, 1H, H^3), 4.54 (м, 1H, H^{12}).

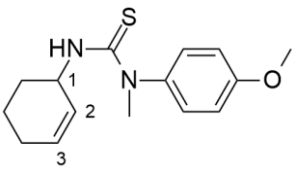
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 25.8 (C^8), 29.6 (C^9), 30.3 (C^{11}), 30.8(C^6), 34.3 (C^{10}), 35.0 (C^1), 36.2 (C^2), 38.3 (C^7), 58.5 (C^5), 63.8 (C^3), 118.4 (C≡N).

ИК (KBr, см$^{-1}$): 2203 (C≡N), 2852 – 2918 (C-H).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 303 $[M+H]^+$.

МСВР-ЭСИ: Вычислено для $C_{11}H_{15}IN_2$ 303.0358 $[M+H]^+$. Найдено: 303.0355.

3-(Циклогекс-2-ен-1-ил)-1-(4-метоксифенил)-1-метилтиомочевина (36)



Раствор циклогексена (0.247 мл, 2.44 ммоль, 2 экв.) в CCl_4 (10 мл) обработали при перемешивании NBS (0.215 г, 1.22 ммоль, 1 экв.) и AIBN (2 мг, 0.012 ммоль, катал. экв.). Реакционную смесь кипятили в течение 1.5 ч, затем охладили до 0°C и отфильтровали, промыли CCl_4 (5 мл). Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Характеристические сигналы 1- бромоциклогекс-2-ена в спектре ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$+CCl_4, δ) :1.66 - 1.73 (м, 1H), 1.90 - 2.12 (м, 2H), 2.15 - 2.26 (м, 3H), 4.83 - 4.87 (м, 1H, H^1), 5.80 - 5.85 (м, 1H, H^2), 5.90 - 5.95 (м, 1H, H^3).

Раствор 1-бромоциклогекс-2-ена в CCl_4 из предыдущего шага обрабатывали по каплям раствором KSCN (0.1 г, 1.8 ммоль, 1 экв.) в абсолютном MeOH (4 мл) при охлаждении льдом

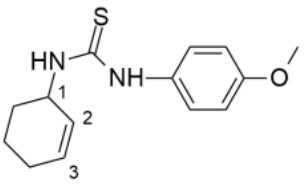
и затем перемешивали при комнатной температуре 2 ч. После реакционную смесь фильтровали через SiO_2, промывали гексаном (20 мл). Раствор 1-изотиоцианато-циклогекс-2-ена был использован для следующей стадии без дальнейшей очистки. Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Наличие резонансного сигнала при 4.23 м.д. (м, 1H, H^1) вместо 4.87 м.д. свидетельствует о превращении бромида в изотиоцианат. Раствор 1-изотиоцианато- циклогекс-2-ена обработали ^{i}Pr$_2$NEt (0.42 мл, 2.42 ммоль, 2 экв.) и N- метил-4-метоксианилином (0.167 г, 1.22 ммоль, 1 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 1:6 этилацетат: гексан). Получили соединение **36** в виде белого аморфного твердого вещества (0.205 г, выход 61%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.38 - 1.50 (м, 2H), 1.55 - 1.65 (м, 1H), 1.87 - 1.95 (м, 3H), 3.62 (с, 3H, NMe), 3.84 (с, 3H, OMe), 4.98 (уш.с. 1H, NH), 5.25 (м, 1H, H^1), 5.52 (дд, 1H, J= 10.5, 1.7 Гц, H^2), 5.74 (дтд, 1H, J= 10.5, 3.4, 1.5 Гц, H^3), 6.94-6.98 (м, 2H, H^{Ar}), 7.08-7.14 (м, 2H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 19.7, 24.8, 29.0, 43.4 (NMe), 50.7 (C^1), 55.5 (OMe), 115.6 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.4 (C^3), 128.1 ($C^{2,6\text{-}Ar}$), 130.9 (C^2), 135.2 ($C^{1\text{-}Ar}$), 159.2 ($C^{4\text{-}Ar}$), 181.1 (C=S).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 197 $[C_9H_{13}N_2OS]^+$, 277 $[M+H]^+$.

3-(Циклогекс-2-ен-1-ил)-1-(4-метоксифенил) тиомочевина (37)



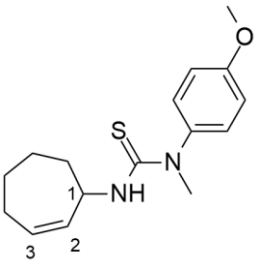
Раствор 1-изотиоцианато-циклогекс-2-ена получали аналогично методике, описанной для соединения **36**. Раствор 1- изотиоцианато-циклогекс-2-ена обработали ^{i}Pr$_2$NEt (0.42 мл, 2.42 ммоль, 2 экв.) и 4-метоксианилином (0.150 г, 1.22 ммоль, 1 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 1:6 этилацетат: гексан). Получили соединение **37** в виде белого аморфного твердого вещества (0.234 г, выход 73%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.48 - 1.72 (м, 4H), 1.97 - 2.05 (м, 2H), 3.83 (с, 3H, OMe), 4.97 (м, 1H, H^1), 5.61 (м, 1H, H^2), 5.7 - 5.9 (уш.с., 1H, NH), 5.84 (дтд, 1H J= 10.0, 3.7, 1.9 Гц, H^3), 6.94 (м, 2H, H^{Ar}), 7.14 (м, 2H, H^{Ar}), 7.61 (уш.с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 19.7, 24.7, 28.8, 50.4 (C^1), 55.4 (OMe), 115.2 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 126.8 (C^3), 127.3($C^{2,6\text{-}Ar}$), 128.5 (C^2), 131.4($C^{1\text{-}Ar}$), 158.6 ($C^{4\text{-}Ar}$), 179.9 (C=S).

Масс-спектр(ЭСИ) m/z: 263 $[M+H]^+$.

3-(Циклогепт-2-ен-1-ил)-1-(4-метоксифенил)-1-метилтиомочевина (38)



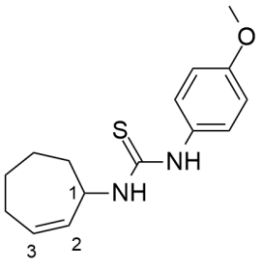
Раствор 1-изотиоционато-циклогепт-2-ена получали аналогичной методике, описанной для **36** из цилогептена (0.89 мл, 7.66 ммоль, 2 экв.), NBS (0.68 г, 3.83 ммоль, 1 экв.) и KSCN (0.372 г, 3.83 ммоль, 1 экв.). Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Наличие резонансного сигнала при 4.40 м.д. (м, 1H) вместо 4.93 м.д. свидетельствует о превращении промежуточного циклогепт-2-енилбромида в изотиоцианат. Раствор 1-изотиоционато- циклогепт-2-ена обработали ^{i}Pr$_2$NEt (1.33 мл, 7.66 ммоль, 2 экв.) и 4- метокси-N-метиланилином (0.52 г, 3.83 ммоль, 1 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: $CHCl_3$). Получили соединение **38** в виде желтого аморфного твердого вещества (0.44 г, выход 40%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.19 - 1.28 (м, 1H), 1.41 (м, 1H,), 1.58 - 1.63 (м, 1H), 1.64 - 1.68 (м, 1H), 1.70 - 1.76 (м, 1H), 1.82 (м, 1H), 2.01 - 2.08 (м, 2H), 3.60 (с, 3H, NMe), 3.82 (с 3H, OMe), 5.05 (тд, 1H, J= 7.7, 1.6 Гц, H^1), 5,36 - 5.42 (м, 1H, H^2), 5.38 (уш.с., 1H, NH), 5.70 (м, 1H, H^3), 6.94-6.98 (м, 2H, H^{Ar}), 7.08-7.12 (м, 2H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 26.7, 27.1, 28.4, 33.4, 43.2 (NMe), 55.4 (C^1), 56.2 (OMe), 115.6 (C$^{3,5\text{-}Ar}$), 128.1 (C$^{2,6\text{-}Ar}$), 132.0 (C^3), 134.4 (C^2), 135.0 (C$^{1\text{-}Ar}$), 159.1 (C$^{4\text{-}Ar}$), 180.8 (C=S).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 197 $[C_9H_{13}N_2OS]^+$, 291 $[M+H]^+$.

1-(Циклогепт-2-ен-1-ил)-3-(4-метоксифенил)-тиомочевина (39)



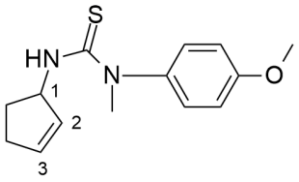
Раствор 1-изотиоционатоциклогепт-2-ена получали аналогично методике, описанной для соединения **38**. Раствор 1- изотиоционато-циклогепт-2-ена обработали ^{i}Pr$_2$NEt (1.33 мл, 7.66 ммоль, 2 экв.) и 4-метоксианилином (0.471 г, 3.83 ммоль, 1 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: $CHCl_3$). Получили соединение **39** в виде желтого аморфного твердого вещества (0.168 г, выход 16%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.21 - 1.32 (м, 1H), 1.45 - 1.54 (м, 1H), 1.60 - 1.70 (м, 2H), 1.76 - 1.83 (м, 1H), 1.87 - 1.92 (м, 1H), 2.05-2.10 (м, 2H), 3.77 (с, 3H, OMe), 5.04 (м, 1H, H^1), 5.48 (дд, 1H, J= 11.5, 2.7 Гц, H^2), 5.75 (м, 1H, H^3), 5.92 (уш.с., 1H, NH), 6.87-6.92 (м, 2H, H^{Ar}), 7.10-7.14 (м, 2H, H^{Ar}), 8.27 (уш.с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 26.6, 27.2, 28.4, 33.4, 55.4 (C^1), 56.0 (OMe), 115.1 (C$^{3,5\text{-}Ar}$), 127.4 (C$^{2,6\text{-}Ar}$), 128. 5 (C^3), 132.4 (C^2), 133.7 (C$^{1\text{-}Ar}$), 158.7 (C$^{4\text{-}Ar}$), 179.6 (C=S).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 183 $[C_8H_{11}N_2OS]^+$, 277 $[M+H]^+$.

3-(Циклопент-2-ен-1-ил)-1-(4-метоксифенил)-1-метилтиомочевина (40)



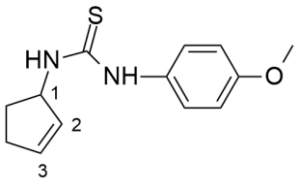
Раствор 1-изотиоционато-циклопент-2-ена получали аналогичной методике, описанной для соединения **38** из циклопентена (0.33 мл, 3.7 ммоль, 2 экв.), NBS (0.318 г, 1.8 ммоль, 1 экв.) и KSCN (0.175 г, 1.8 ммоль, 1 экв.). Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Наличие резонансного сигнала при 4.66 - 4.72 м.д. (м, 1H, H^3) вместо 5.17 м.д. свидетельствует о превращении промежуточного циклопент-2-енилбромида в изотиоцианат. Раствор 1-изотиоционато-циклопент-2-ена обрабатывали ^{i}Pr$_2$NEt (0.64 мл, 3.7 ммоль, 2 экв.) и 4-метокси-N-метиланилином (0.25 г, 1.8 ммоль, 1 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: $CHCl_3$). Получили соединение **40** в виде желтого аморфного твердого вещества (0.24 г, выход 52%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.32 (м, 1H), 2.09 - 2.25 (м, 2H), 2.32 (ддд, 1H, J= 13.2, 8.7, 4.5 Гц), 3.53 (с, 3H, NMe), 3.74 (с, 3H, OMe), 5.19 (д, 1H, J= 8.0 Гц, NH), 5.39 (м, 1H, H^1), 5.53 (м, 1H, H^2), 5.75 (м, 1H, H^3), 6.86-6.91 (м, 2H, H^{Ar}), 7.01-7.05 (м, 2H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 30.7, 31.1, 43.2 (NMe), 55.3 (OMe), 61.7 (C^1), 115.4 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.8 ($C^{2,6\text{-}Ar}$), 130.7 ($C^{1\text{-}Ar}$), 134.5, 134.8, 158.9 ($C^{4\text{-}Ar}$), 181.0 (C=S).

Масс-спектр(ЭСИ) m/z: 263 $[M+H]^+$.

1-(Циклопент-2-ен-1-ил)-3-(4-метоксифенил) тиомочевина (41)



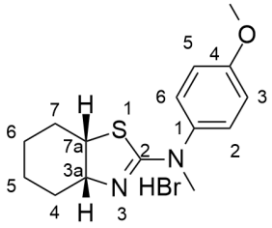
Раствор 1-изотиоционато-циклопент-2-ена получали аналогичной методике, описанной для соединения **40**. Раствор 1- изотиоционато-циклопент-2-ена обработали ^{i}Pr$_2$NEt (0.64 мл, 3.7 ммоль, 2 экв.) и 4-метоксианилином (0.221 г, 1.8 ммоль, 1 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 1:10 этилацетат: гексан). Получили соединение **41** в виде бежевого аморфного твердого вещества (0.34 г, выход 75%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.53 (ддт, 1H, J= 13.8, 8.5, 5.6 Гц), 2.24 - 2.36 (м, 2H), 2.44 (м, 1H,), 3.80 (с, 3H, OMe), 5.48 (м, 1H, H^1), 5.69 (м, 1H, H^2), 5.75 (уш.с., 1H, NH), 5.91 (м, 1H, H^3), 6.89-6.93 (м, 2H, H^{Ar}), 7.10-7.14 (м, 2H, H^{Ar}), 7.89 (уш.с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 31.0, 31.0, 55.4 (OMe), 61.7 (C^1), 115.2 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.4 ($C^{2,6\text{-}Ar}$), 128.4, 130.4 ($C^{1\text{-}Ar}$), 135.3, 158.7 ($C^{4\text{-}Ar}$), 180.1 (C=S).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 249 $[M+H]^+$.

(±)-(3aR,7aS)-N-(4-Метоксифенил)-N-метил-3a,4,5,6,7,7a-гексагидробензо[d]тиазол-2-амина гидробромид (42)



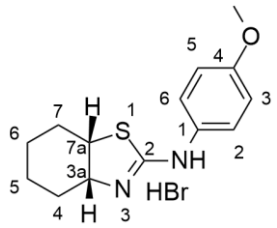
Раствор AcBr (25 мкл, 0.33 ммоль, 3 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали MeOH (13 мкл, 0.33 ммоль, 3 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте. Через 10 минут добавили раствор соединения **36** (30 мг, 0.11 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) и перемешивали ещё 12 ч. Реакционную смесь сконцентрировали при пониженном давлении. Получили соединение **42** в виде бесцветного масла (35 мг, выход 90%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.29 - 1.46 (м, 2H), 1.54 - 1.76 (м, 3H), 1.80 - 1.89 (м, 2H), 2.25 - 2.33 (м, 1H), 3.65 (с, 3H, NMe) 3.81 (с, 3H, OMe), 3.82 (м, 1H, H^{7a}), 4.27 (м, 1H, H^{3a}), 4.93 (уш.с., 1H, NH), 6.88-6.92 (м, 2H, H^{Ar}), 7.14-7.18 (м, 2H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 20.8, 22.2, 27.9, 28.7, 43.3 (NMe), 50.7 (C^{7a}), 55.5 (OMe), 65.4 (C^{3a}), 114.8 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.3 ($C^{2,6\text{-}Ar}$), 137.2 ($C^{1\text{-}Ar}$), 159.5 ($C^{4\text{-}Ar}$), 169.8 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 277 $[M+H\text{-}Br]^+$.

(±)-(3aR,7aS)-N-(4-Метоксифенил)-3a,4,5,6,7,7a-гексагидробензо[d]тиазол-2-амина гидробромид (43)



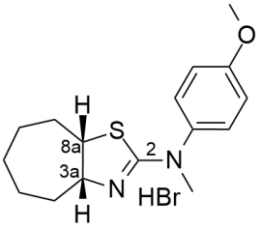
Соединение **43** было синтезировано из тиомочевины (**37**) (0.088 г, 0.33 ммоль, 1 экв.) аналогично методике, описанной для соединения **42**. Реакционную массу сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: $CHCl_3$, затем 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **43** в виде бежевого масла (0.110 г, выход 96%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.29 - 1.45 (м, 2H), 1.51 - 1.63 (м, 2H), 1.67 - 1.84 (м, 2H), 1.91 - 2.05 (м. 2H), 3.74 (с, 3H, OMe), 3.85 (ддд, 1H, J= 8.2, 5.7, 5.4 Гц, H^{7a}), 4.19 (м, H^{3a}), 6.81-6.85 (м, 2H, H^{Ar}), 7.12-7.16 (м, 2H, H^{Ar}), 10.11 (уш.с., 2H, 2NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 20.1, 22.1, 27.2, 28.8, 48.3 (C^{7a}), 55.5 (OMe), 60.7 (C^{3a}), 114.7 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 125.6 ($C^{2,6\text{-}Ar}$), 129.1 ($C^{1\text{-}Ar}$), 159.4 ($C^{4\text{-}Ar}$), 174.2 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 263 $[M+H\text{-}Br]^+$.

(±)-(3aR,8aS)-N-(4-Метоксифенил)-N-метил-3a,5,6,7,8,8a-гексагидро-4H-циклогепта[d]тиазол-2-амина гидробромид (44)



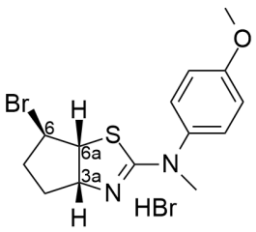
Соединение **44** было синтезировано из тиомочевины (**38**) (0.32 г, 1.1 ммоль, 1 экв.) аналогично методике, описанной для соединения **42**. Реакционную массу сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: CH_2Cl_2, затем градиентное элюирование 2-5% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **44** в виде желтого аморфного твердого вещества (0.23 г, выход 57%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.25 - 1.41 (м, 3H), 1.72 - 1.89 (м, 6H), 2.09 (м, 1H), 2.70 (уш.с., 1H, NH), 3.33 (с, 3H, NMe), 3.80 (с, 3H, OMe), 3.96 (ддд, 1H, *J*= 9.8, 8.5, 3.7 Гц, H^{8a}), 4.45 (ддд, 1H, *J*= 10.2, 8.5, 3.9 Гц, H^{3a}), 6.83-6.87 (м, 2H, H^{Ar}), 7.16-7.20 (м, 2H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 24.9, 27.4, 30.2, 30.5, 31.6, 44.8 (NMe), 51.8 (C^{8a}), 55.5 (OMe), 67.4 (C^{3a}), 115.0 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.0 ($C^{2,6\text{-}Ar}$), 136.1 ($C^{1\text{-}Ar}$), 160.2 ($C^{4\text{-}Ar}$), 170.9 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 291 $[M+H\text{-}Br]^+$.

(±)-(3aR,6aR,6R)-6-Бромо-N-(4-метоксифенил)-N-метил-3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-2-амина гидробромид (45)



Соединение **40** (0.1 г, 0.38 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали Br_2 (20 мкл, 0.38 ммоль, 1 экв.) и перемешивали в темноте при комнатной температуре в течение 12 ч. Реакционную массу промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*20мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, сконцентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: $CHCl_3$). Получили **45** в качестве основного C^6-диастереомера в виде желтого масла (0.080 г, 50%).

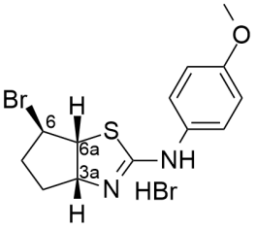
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.97-2.05 (м, 2H), 2.25-2.34 (м, 1H), 2.34-2.48 (м, 1H), 3.32 (с, 3H, NMe), 3.82 (с, 3H, OMe), 4.28 (м, 1H, H^6), 4.41 (дд, 1H, *J*= 8.0, 1.5 Гц, H^{6a}), 5.14 (тд, 1H, *J*= 8.0, 1.9 Гц, H^{3a}), 6.85-6.89 (м, 2H, H^{Ar}), 7.15-7.19 (м, 2H, H^{Ar}).

NOESY1D: H^{3a}- H^{6a}(2.3%); H^{3a}- H^6 корреляций не наблюдалось.

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 32.7, 33.8, 41.0 (NMe), 55.4 (OMe), 58.0 (C^{6a}), 63.5 (C^6), 78.5 (C^{3a}), 114.2, 128.1, 138.7, 158.6, 160.5 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 341 $[M+H\text{-}Br]^+$, 343$[M+2+H\text{-}Br]^+$.

(±)-(3aR,6aR,6R)-6-Бромо-N-(4-метоксифенил)-3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-2-амина гидробромид (46)



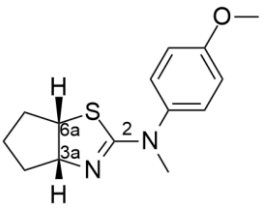
Соединение **46** было синтезировано аналогично соединению **45**, из раствора соединения **41** (0.1 г, 0.4 ммоль, 1 экв.) и Br_2 (21 мкл, 0.4 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (10 мл). Очистка методом колоночной хроматографии реакционной смеси (элюент: 3% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **46** в качестве основного C^6-диастереомера в виде желтого масла (0.115 г, выход 71%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.87-1.93 (м, 1H), 2.0 - 2.06 (м, 1H), 2.29-2.45 (м, 2H), 3.78 (с, 3H, OMe), 4.33 - 4.37 (м, 1H, H^6), 4.42 (дд, 1H, *J*= 7.8, 1.8 Гц, H^{6a}), 4.85 (м, 1H, H^{3a}), 6.80-6.84 (м, 2H, H^{Ar}), 7.03-7.07 (м, 2H, H^{Ar}), 7.60 (уш.с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 32.5, 33.7, 55.4 (OMe), 57.4 (C^{6a}), 60.1 (C^6), 70.0 (C^{3a}), 114.1, 123.0, 138.1, 156.1, 159.5 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 327 $[M+H\text{-}Br]^+$, 329 $[M+2+H\text{-}Br]^+$.

(±)-(3aR,6aS)-N-(4-Метоксифенил)-N-метил-3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-2-амин (47)



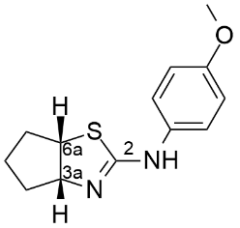
Соединение **45** (18 мг, 43 мкмоль, 1 экв.) растворили в $PhCH_3$ (10 мл), обработали гидридом $^{n}Bu_3SnH$ (29 мкл, 0.11 ммоль, 2.5 экв.) и AIBN (2 мг, 0.012 ммоль, катал. экв.). Смесь грели при 100 °C в атмосфере Ar в течение 5 ч, затем концентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: этилацетат: гексан 1:1 и 1% Et_3N). Получили соединение **47** в виде бесцветного масла (8 мг, выход 71%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.53 - 1.60 (м, 1H), 1.70 - 1.84 (м, 2H), 1.89 - 1.97 (м, 3H), 3.35 (с, 3H, NMe), 3.81 (с, 3H, OMe), 4.08 (тд, 1H, J= 8.2, 3.9 Гц, H^{6a}), 4.96 (дт, 1H, J= 8.2, 5.3 Гц, H^{3a}), 6.85-6.89 (м, 2H, H^{Ar}), 7.17-7.21 (м, 2H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 23.6, 35.1, 36.5, 41.0, 53.5 (C^{6a}), 55.4 (OMe), 79.5 (C^{3a}), 114.1, 128.1, 139.2, 158.3, 162.6 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 263 $[M+H]^+$.

(±)-(3aR,6aS)-N-(4-Метоксифенил)-3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-2-амин (48)



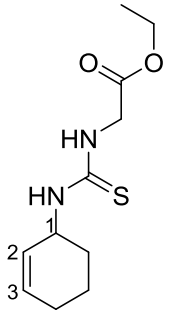
Соединение **48** было синтезировано из соединения **46** (57 мг, 0.14 ммоль, 1 экв.) аналогично методике, описанной для соединения **47**. Реакционную массу очищали методом колоночной хроматографии (элюент: этилацетат: гексан 1:2 и 1% Et_3N). Получили соединение (**48**) в виде желтого масла (24 мг, выход 69%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.74 - 1.81 (м, 1H), 1.83 - 1.97 (м, 3H), 2.01 - 2.10 (м, 2H), 3.80 (с, 3H, OMe), 4.21 (тд, 1H, J= 8.2, 2.8 Гц, H^{6a}), 4.78 (ддд, 1H, J= 8.2, 6.1, 2.6 Гц, H^{3a}), 6.84-6.88 (м, 2H, H^{Ar}), 7.13-7.17 (м, 2H, H^{Ar}), 7.25 (уш.с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 23.5, 34.6, 36.0, 49.8 (C^{6a}), 55.4 (OMe), 68.3 (C^{3a}), 114.1, 123.0, 139.5, 156.0, 162.0 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ) m/z: 249 $[M+H]^+$.

Этил-(циклогекс-2-ен-1-илкарбамотиоил)-глицинат (55)



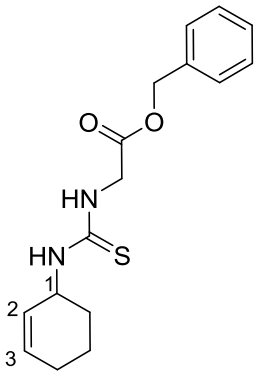
К раствору глицина (1.5 г, 20 ммоль, 1 экв.) в этаноле (50 мл), при 0 ° C, медленно по каплям добавляли $SOCl_2$ (1.74 мл,24 ммоль, 1.2 экв.). После удаления ледяной бани смесь кипятили с обратным холодильником в течение 4 часов. После охлаждения до комнатной температуры этанол и избыток тионилхлорида удаляли при пониженном давлении. Полученное белое твердое вещество дважды объединяли с этанолом и снова удаляли при пониженном давлении для полного удаления $SOCl_2$. Получили **этиламиноацетата гидрохлорид** в виде белого твердого вещества (2.59 г, выход 93 %). $T_{пл.}$ = 142-144° C (лит. 141–142°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, D_2O, δ): 1.22 (т, 3H, J = 7.2, $CH_2\underline{CH_3}$), 3.81 (уш.с., 2H, 2*NH), 3.85 (с,2H, $NH\underline{CH_2}$), 4.23 (кв, 2H, J = 7.2 Гц, $\underline{CH_2}CH_3$). Спектральные данные соответствуют данным [121]. Этиламиноацетата гидрохлорид (203 мг, 1.45 ммоль, 1 экв) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали $^i Pr_2NEt$ (506 мкл, 2.90 ммоль, 2 экв) и 1-изотиоцианатоциклогекс-2-еном (202мг, 1,45 ммоль, 1 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: 1:5 этилацетат: петролейный эфир). Получили соединение **55** в виде желтого масла (273 мг, выход 78%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.30 (т, 3H, J = 7.1 Гц, $CH_2\underline{CH_3}$), 1.62-1.74 (м, 3H), 1.92 - 2.05(м, 3H), 4.23 (кв, 2H, J = 7.1 Гц, $\underline{CH_2}CH_3$), 4.40 (дд, 2H, J = 4.8, 2.2 Гц, $NH\underline{CH_2}$), 4.59(м, 1H, H^1) 5.66 (ддт, 1H, J = 10.0, 3.6, 2.2 Гц, H^2), 5.90 (дтд, 1H, J = 10.0, 3.6, 1.6 Гц, H^3), 6.35 (уш.с., 1H, NH), 6.45 (уш.с., 1H, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 13.9 ($CH_2\underline{CH_3}$), 19.5, 24.6, 28.6, 46.2 ($NH\underline{CH_2}$), 49.4(C^1), 61.6($\underline{CH_2}CH_3$), 126.5($C^{C=C}$), 131.3($C^{C=C}$), 170.5(COO), 181.3 (C^2).

бензил-[(циклогекс-2-ен-1-илкарбамотиоил)-амино]-ацетат (56)



Глицин (2 г, 26.6 ммоль, 1,0 экв.) растворяли в 30 мл смеси диоксан: вода 2:1 (об. : об.), затем добавляли NaOH (1,07 г, 26,6 ммоль, 1,0 экв.). и охлаждали до 0 °C. К охлажденному раствору порциями добавляли Boc_2O (6.4 г, 29.2 ммоль, 1.1экв.), затем нагревали до комнатной температуры в течение 1 часа при перемешивании. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в 30 мл воды и промывали этилацетатом (2*30 мл). Водный раствор подкисляли концентрированной соляной кислотой до pH 1-2. Водную фракцию экстрагировали этилацетатом (3*25 мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4 и сконцентрировали при пониженном давлении. Получили **(*трет*-бутоксикарбонил)-глицин** в виде белого твердого вещества (3.96 г, выход 85%). $T_{пл.}$ =87-88°C (лит. 87–89°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.45 (с, 9H, *t*-Bu), 3.89-3.97 (м, 2H, $\underline{CH_2}COO$), 5.18(уш.с., 0.6 H, NH), 6.85(уш.с., 0.4 H, NH), 10.83 (уш.с., 1H, COOH). Спектральные данные соответствуют данным [122].

(*трет*-бутоксикарбонил)-глицин (1.0 г, 5.71 ммоль, 1.0 экв.) растворяли в сухом ДМФА (10 мл), затем добавляли Cs_2CO_3 (1.12 г, 3.43ммоль, 0.6 экв.), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут, затем смесь охлаждали до 0 ° C, и по каплям добавляли BnCl (0.7 мл, 6.0 ммоль, 1.05 экв.). Перемешивание продолжали 18 часов. Затем растворитель удаляли в вакууме, остаток разбавляли EtOAc (25 мл), и органический слой промывали водой и насыщенным раствором NaCl. Органический слой отделяли, высушивали над Na_2SO_4 и

концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш хроматографией (элюент:CH_2Cl_2). Получили **бензил-[(*трет*-бутоксикарбонил)-амино]-ацетат** в виде белого твердого вещества (1.3 г, выход 86%). $T_{пл.}$ = 72-74°C (лит. 72–74°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.46 (с, 9H, *t*-Bu), 3.95-3.98 (м, 2H, $\underline{CH_2}COO$), 5.04 (уш.с., 1H, NH), 5.19(с, 2H, $\underline{CH_2}Ph$), 7.33 7.40(м, 5H, Ph). Спектральные данные соответствуют данным [122].

К раствору бензил-[(*трет*-бутоксикарбонил)-амино]-ацетата (1.2 г, 4.52 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (25 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (1.73 мл, 22.62 ммоль, 5 экв.) при 0-5° С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Полученную реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Получили бензиламиноацетата трифторацетат в виде белого твердого вещества (1.08 г, выход 85%). $T_{пл.}$ = 110-112°C (лит. 110–112°C).

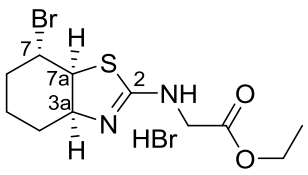
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 3.88 (с, 2H, $\underline{CH_2}COOBn$), 5.23 (с, 2H, $\underline{CH_2}Ph$), 7.36-7.40(м, 5H, Ph). Спектральные данные соответствуют данным [123].

Бензиламиноацетата трифторацетат (1.28 г, 4.60 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали ^{i}Pr$_2$NEt (1.95 мл, 9.19 ммоль, 2 экв.) и 1-изотиоцианатоциклогекс-2-еном (767мг, 5.51 ммоль, 1.20 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: CH_2Cl_2). Получили соединение **56** в виде бледно желтого твердого вещества (987 мг, выход 71%). $T_{пл.}$ = 84-86°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.59-1.69 (м, 3H), 1.87-2.04 (м, 3H), 4.42-4.46 (м, 2H, $\underline{CH_2}COOBn$), 5.18 (с, 2H, $\underline{CH_2}Ph$), 5.63 (м, 1H, H^2), 5.86 (м, 1H, H^3), 6.59 (уш.с., 2H, NH+$\underline{CH}$-NH), 7.31-7.39 (м, 5H, Ph).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 19.4, 24.4, 28.4, 46.0(NH$\underline{CH_2}$), 49.3(C^1), 66.9($\underline{CH_2}$Ph), 126.7(C$^{C=C}$), 127.9(C$^{3,5\text{-Ph}}$), 128.1(C$^{4\text{-Ph}}$), 128.3(C$^{2,6\text{-Ph}}$), 130.9(C$^{C=C}$), 134.7(C$^{1\text{-Ph}}$), 170.3($\underline{C}$OOBn), 181.4(C=S).

(±)-((3aR,7R,7aR)-7-бромо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидробензо[d]тиазол-2-ил)-этилглицината гидробромид (57)



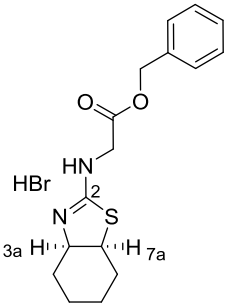
Соединение **55** (53 мг, 0.22 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали Br_2 (12 мкл, 0.22 ммоль, 1 экв.) при охлаждении льдом, затем отогревали реакционную смесь до комнатной температуры, и перемешивали в течение 2 часов. Осадок отфильтровывали и промывали CH_2Cl_2. Получили соединение **57** в виде белого твердого вещества (84 мг, выход 96%). $T_{пл.}$ = 249-251°C(разлаг.).

^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d$_6$, δ): 1.23 (т, 3H, J = 7.1 Гц, $CH_2\underline{CH_3}$), 1.43-1.53 (м, 1H), 1.60-1.68 (м, 1H), 1.72-1.85 (м, 2H), 2.12-2.24 (м, 2H), 4.17 (кв, 2H, J = 7.1 Гц, $\underline{CH_2}CH_3$), 4.21-4.26 (м, 2H, H^7+H^{7a}), 4.29-4.32 (м, 1H, Гц, H^{3a}), 4.36 (с, 2H, NH$\underline{CH_2}$COO), 10.31 (уш.с., 1H, NH), 10.49 (уш.с.,

1H, NH).

^{13}C ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6, δ): 14.1($CH_2\underline{CH_3}$), 20.4, 24.9, 34.6, 46.0 ($NH\underline{CH_2}$), 55.2($\underline{CH_2}CH_3$), 56.4(C^{7a}), 61.5(C^7), 62.9 (C^{3a}), 167.3 (COO), 170.1(C^2).

(±)-Бензил-(3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-иламино)-ацетата гидробромид (58)

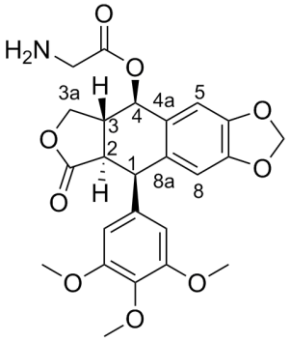


Раствор AcBr (123 мкл, 1.68 ммоль, 1.5 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали MeOH (68 мкл, 1.68 ммоль, 1.5 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте. Через 10 минут добавили раствор соединения **56** (340 мг, 1.12 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) и перемешивали ещё 12 ч. Реакционную массу сконцентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: градиентное элюирование 0-3% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **58** в виде бледно желтого твердого вещества (322 мг, выход 95%). $T_{пл.}$ = 194-196°C (разлаг.).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.34-1.42 (м, 1H), 1.44-1.51 (м, 1H), 1.57-1.68 (м, 2H), 1.71-1.86 (м, 2H), 1.93-2.01 (м, 1H), 2.05-2.13 (м, 1H), 3.90 (дт, 1H, J= 8.4, 5.4 Гц, H^{7a}), 4.13 (м, 2H, $\underline{CH_2}COOBn$), 4.20 (м, 1H, Гц, H^{3a}), 5.19-5.26 (м, 2H, $\underline{CH_2}Ph$), 7.36-7.41 (м, 5H, Ph).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 20.1, 22.1, 27.1, 28.6, 47.6(C^{7a}), 49.5($NH\underline{CH_2}$), 61.4(C^3), 68.0($\underline{CH_2}Ph$), 128.6($C^{3,5\text{-}Ph}$), 128.6 ($C^{4\text{-}Ph}$), 128.7 ($C^{2,6\text{-}Ph}$), 134.5 ($C^{1\text{-}Ph}$), 166.7($\underline{C}OOBn$), 168.0 (C^2).

(5R, 8aR, 9R)-8-оксо-9-(3,4,5-триметоксифенил)-5,5a,6,8,8a,9-гексагидрофуро[30,4':6,7] нафто [2,3-d]-[1,3]-диоксол-5-ил глицинат (52)

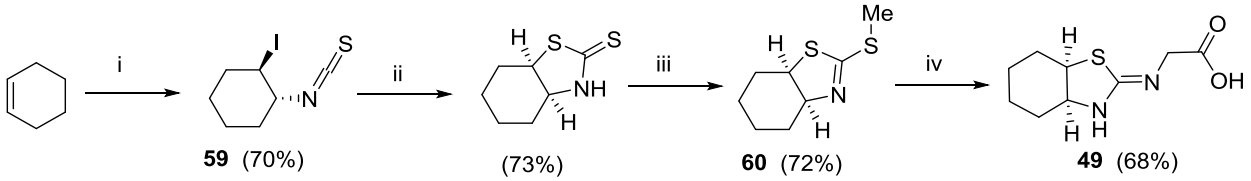


Подофилотоксин **(51)** (300 мг, 0.72 ммоль, 1 экв.) и (*трет*-бутоксикарбонил) глицин (190 мг, 1.1 ммоль, 1.5 экв.) растворили в сухом CH_2Cl_2 (20 мл), обработали ДМАП (9 мг, 0.072 ммоль, 0.1 экв.) и EDCI (278 мг, 1.45 ммоль, 2 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. После завершения реакции (по данным ТСХ) реакционную смесь разбавляли CH_2Cl_2 (50 мл), затем последовательно промывали водой (15 мл) и насыщенным раствором NaCl (15 мл), сушили над Na_2SO_4, растворитель удаляли при пониженном давлении. Получили (5R, 8aR, 9R)-8-оксо-9-(3,4,5-триметоксифенил)-5,5a,6,8,8a, 9-гексагидрофуро-[30,4':6,7]-нафто-[2,3-d]-[1,3]-диоксол-5-ил-(*трет*-бутоксикарбонил) глицинат в виде белого твердого вещества (384 мг, выход 93%). $T_{пл.}$ = 139-142°C (лит. 141.6°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.46 (с, 9H, *t*-Bu), 2.80 2.90 (м, 1H, H^3), 2.93 (дд, 1H, *J*=14.5, 4.3 Гц, H^2), 3.76 (с, 6H, 2*OCH_3(3,5-Ph)), 3.81 (с, 3H, OCH_3(4-Ph)), 3.95-4.05 (м, 2H, $NH\underline{CH_2}COO$), 4.20 (т, 1H, *J*=9.6 Гц, H^{3a}), 4.40 (т, 1H, *J*=7.8 Гц, H^{3a}), 4.61 (д, 1H, *J*=4.3 Гц, H^1), 5.06 (уш.с., 1H, NH), 5.96 (д, 1H, *J*=9.0Гц, H^4), 5.99 (с, 2H, OCH_2O), 6.38 (с, 2H, $H^{2,6\text{-}Ph}$), 6.55 (с, 1H, H^8), 6.78 (с, 1H, H^5). Спектральные данные соответствуют данным [86].

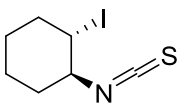
(5R, 8aR, 9R)-8-оксо-9-(3,4,5-триметоксифенил)-5,5a,6,8,8a, 9-гексагидрофуро-[30,4': 6,7]-нафто-[2, 3 d]-[1,3]-диоксол-5-ил-(*трет*-бутоксикарбонил) глицинат (104 мг, 0,182 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), затем медленно по каплям добавляли раствор трифторуксусной кислоты (500 мкл) в CH_2Cl_2 (2 мл) при охлаждении льдом и перемешивали в течение 4 часов. Контроль реакции по ТСХ осуществляли каждые полчаса. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении и промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ (10 мл). Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (3*25 мл), и объединенные органические слои сушили над безводным Na_2SO_4, и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (элюент: 1:3 этилацетат: петролейный эфир). Получили соединение **52** в виде белого твердого вещества (43 мг, выход 50%). $T_{пл.}$ = 122-124°C (лит. 122.3°C).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 2.56(уш.с., 2H, NH_2), 2.79 2.89 (м, 1H, H^3), 2.94 (дд, 1H, J=14.5, 4.3 Гц, H^2), 3.61 (м/кв, 2H, J= 17.6 Гц, $NH_2\underline{CH_2}COO$), 3.75 (с, 6H, 2*OCH_3(3,5-Ph)), 3.80 (с, 3H, OCH_3(4-Ph)), 4.21 (т, 1H, J= 9.7 Гц, H^{3a}), 4.39 (т, 1H, J= 8.0 Гц, H^{3a}),4.60 (д, 1H, J= 1.3 Гц, H^1), 5.92 (д, 1H, J = 9.1 Гц, H^4),5.98 (д, 1H, J= 1.3 Гц, OCH_2O),5.99 (д, 1H, J= 1.3 Гц, OCH_2O), 6.38 (с, 2H, $H^{2,6\text{-Ph}}$), 6.54 (с, 1H, H^8), 6.75 (с, 1H, H^5). Спектральные данные соответствуют данным [86].



Реагенты и условия: i) $Hg(SCN)_2$, I_2, C_6H_6, 22°C, 18 ч; ii) Na_2S*$9H_2O$, Me_2CO, H_2O, 22°C, 45 мин; iii) 1) MeI, Me_2CO, Δ, 3 ч; 2) K_2CO**3**; iv) глицин, MeOH, H_2O, Δ, 5 ч. Указанная конфигурация является относительной, так как вещества представляют собой рацемические смеси

***Транс*-1-йод-2-изотиоцианатоциклогексан (59)**

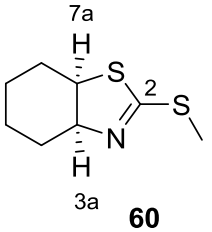


К суспензии $Hg(SCN)_2$ (7.82 г, 24.7 ммоль, 0.5 экв.) в бензоле (15 мл) медленно добавляли раствор I_2 (12.53 г, 49.4ммоль, 1 экв.) в бензоле (30 мл) при перемешивании при комнатной температуре. Через 30 минут к смеси добавляли по каплям циклогексен (5 мл, 49.4 ммоль, 1 экв.), поддерживая температуру в диапазоне 18 22 °C (при добавлении наблюдалось небольшое выделение тепла), и полученную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Все описанные выше операции про водились в темноте путем обертывания колбы алюминиевой фольгой. Выпавшее в осадок красное твердое вещество (в основном HgI_2) фильтровали, и фильтрат последовательно промывали водным KI, водным $Na_2S_2O_3$ и насыщенным раствором NaCl. Органический слой отделили, а затем сушили над Na_2SO_4, растворитель удаляли при пониженном давлении.

Получили 11.5 г неочищенной смеси. В остатке получили желтое масло, которое анализировали с помощью ^{1}H ЯМР. В смеси наблюдали ***транс*-1-иод-2-изотиоцианатоциклогексан (59)** (выход 70%) и ***транс*-1-иод-2-тиоцианатоциклогексан** (выход 30%). Смесь использовали в дальнейших реакциях без выделения. Характеристические сигналы ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): ***транс*-1-иод-2-изотиоцианатоциклогексан (59)**: 3.83 (тд, 1H, *J* = 9.3, 4.0 Гц, CHN), 4.14 (тд, 1H, *J*= 9.7, 4.0 Гц, CHI).

***транс*-1-иод-2-тиоцианатоциклогексан**: 3.50 (тд, *J* = 9.2, 3.8 Гц, CHS), 4.30 (тд, *J* = 9.3, 3.8 Гц, CHI). Спектральные данные соответствуют данным [98].

(±)-(3aS, 7aR)-2-(метилтио)-3a, 4,5,6,7,7a-гексагидробензо[d]тиазол (60)



60

К раствору соединения **72** (2.74 г, 10.3 ммоль, 1 экв.) в ацетоне (25 мл) добавляли раствор Na_2S*9 H_2O (2.71 г, 11.3ммоль, 1.1 экв.) в воде (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 минут, затем ацетон удаляли при пониженном давлении, после чего добавляли CH_2Cl_2 и раствор промывали водой. Органический слой отделяли, а затем сушили над Na_2SO_4, растворитель удаляли при пониженном давлении. К полученному прозрачному маслу добавляли петролейный эфир (15 мл) и нагревали до кипения при перемешивании. Образовавшийся осадок отфильтровали, промыли петролейным эфиром (3*10 мл) и высушили. Получили **(±)-(3aS,7aR)-гексагидробензо[d]тиазол-2-(3H)-тион** в виде белого твердого вещества (1.3 г, выход 73%). $T_{пл.}$ = 115-117°C (лит. 111–113°C).

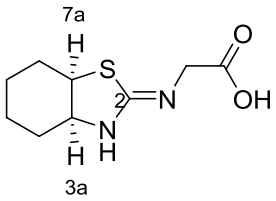
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 1.28-1.38 (м, 1H), 1.43-1.62 (м, 2H), 1.67-1.86 (м, 3H), 1.91-2.07 (м, 2H), 3.81 (дт, 1H, *J*= 8.9, 5.5 Гц, CHS), 4.20 (ддд, 1H, *J*= 5.2 Гц, CHN), 8.13(уш.с., 1H, NH). Спектральные данные соответствуют данным [124].

(±)-(3aS,7aR)-гексагидробензо[d]тиазол-2-(3H)-тион (1.22 г, 7 ммоль, 1 экв.) растворили в сухом ацетоне (20 мл), обработали MeI (437 мкл, 7 ммоль, 1 экв.)и кипятили в течение 3 ч, затем охлаждали, образовавшийся осадок фильтровали и промывали ацетоном. Полученный осадок обработали насыщенным раствором K_2CO_3 и экстрагировали CH_2Cl_2 (4*20 мл). Органический слой отделили, а затем сушили над Na_2SO_4, растворитель удаляли при пониженном давлении. Получили соединение **60** в виде прозрачного масла (947 мг, выход 72%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, *δ*): 1.22-1.32 (м, 1H), 1.38-1.52 (м, 2H), 1.53-1.64 (м, 2H), 1.65-1.82 (м, 2H), 2.06 2.13 (м, 1H), 2.50 (с, 3H, SMe), 3.79 (дт, 1H, *J*= 8.8, 5.6 Гц, CHS), 4.03 (кв, 1H, *J*= 5.4 Гц, CHN).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, *δ*):15.1(SMe), 21.4, 22.8, 28.4, 29.2, 53.0(C^{7a}), 73.9(C^{3a}), 166.1(C^2).

(±)-2-[(3aS, 7aR, Z) - гексагидробензо[d]тиазол-2-илиден)амино] уксусная кислота (49)



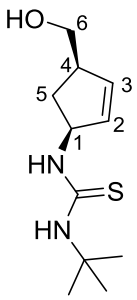
К раствору соединения **60** (400 мг, 2.14 ммоль, 1 экв.) в MeOH (4 мл) добавили раствор глицина (160 мг, 2.14 ммоль,1 экв.) в H_2O (5 мл) и кипятили в течение 6 часов. После охлаждения растворители удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш хроматографией (элюент: 20% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **49** в виде бледно-желтого твердого вещества (310 мг, выход 68%). $T_{пл.}$ = 209-211°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.25-1.35(м, 1H), 1.41-1.58(м, 2H), 1.61-1.78(м, 3H), 1.90-1.98(м, 1H), 2.05-2.15(м, 1H), 3.68(дт, 1H, *J*=9.2, 5.5 Гц, H^{7a}), 3.82-3.94 (м, 2H, $\underline{CH_2}COOH$), 4.07 (м, 1H, H^{3a}), 11.59(уш. с, 1H, NH/OH), 13.87(уш. с,1H, NH/OH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 19.6, 22.3, 26.7, 29.1, 47.8 ($\underline{CH_2}COOH$), 50.7 (C^{7a}), 60.4 (C^{3a}), 170.7 (C^2), 171.5 (COOH).

Рентгеноструктурный анализ: кристалл соединения **49**, $C_9H_{14}N_2O_2S$ 1/3 H_2O (M = 220.23), кристаллизуется из метанола. Параметры ячейки: орторомбическая, пространственная группа $Pca2_1$, при 106 K, a = 10.48090(1), b = 11.1095(1) и c = 9.3370(1)Å, V = 1087.177(18) Å^3, Z = 4, dвыч = 1.345 г·см$^{-3}$. Значения интенсивности 136041 дифракционных отражений были определены на диффрактометре Bruker D8 QUEST (MoKa, ω-сканирование, θ_{max}<52.5°, 12634 независимых отражений, R_{int}= 0.0728). Структура решена прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов относительно F^2 в анизотропно-изотропном приближении. Окончательные факторы расходимости составили R1 = 0.0381 (для 10426 наблюдаемых отражений) GOF=1.031. Все расчеты выполнялись с использованием SHELXTL PLUS. Дополнительные кристаллографические данные можно получить на сайте http://www.ccdc.cam.ac.uk, номер депонирования 2168373.

1-(*трет*-бутил)-3-((1S, 4R)-4-(гидроксиметил)-циклопент-2-ен-1-ил) тиомочевина (61)



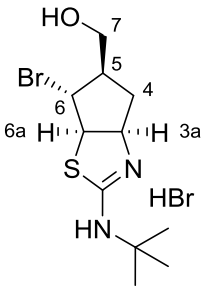
(1R, 4S) - 1-амино-4-гидроксиметил-2-циклопентена гидрохлорид (600 мг, 4 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл) обработали ^{i}Pr$_2$NEt (768 мкл, 4.4 ммоль, 1.1 экв) и ^{t}BuNCS (1мл, 8 ммоль, 2 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: 3% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **61** в виде белого твердого вещества (782 мг, выход 86%). $T_{пл.}$ = 175 - 177°C (разлаг.).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.31(с, 9H, *t*-Bu), 1.54 (дт, 1H, *J*= 14.1, 2.1 Гц, H^{5a}), 2.46 (дт, 1H, *J*= 14.1, 9.0 Гц, H^{5b}), 2.57 (дд,1H, *J*= 5.0, 3.9 Гц, H^4), 2.83 (м, 1H, H^1), 3.58 (ддд, 1H, *J*= 10.2, 5.2, 3.6 Гц, H^{6a}), 3.69 (ддд, 1H, *J*= 10.2, 3.6, 2.7 Гц, H^{6b}), 5.4 (т, 1H, *J*=8.9 Гц, OH), 5.76 (м, 1H, H^2), 5.87 (дт, 1H, *J*= 5.4, 2.2 Гц, H^3), 6.02 (уш.с., 1H, NH), 6.51 (д, 1H, *J*= 8.7 Гц, NH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 29.2($C(\underline{C}H_3)_3$), 33.9(C^5), 46.2(C^4), 53.4($\underline{C}(CH_3)_3$), 60.9(C^1), 63.7(C^6), 132.8(C^2), 134.6(C^3), 178.2(C=S).

Масс спектр (ЭСИ), m/z: 229 $[M+H]^+$.

((3aR, 5R, 6R, 6aR)-6-бромо-2-(*трет*-бутиламино)-3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-5-ил)-метанола гидробромид (62)

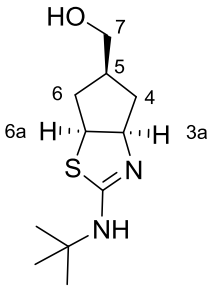


Соединение **61** (785 мг, 3.44 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (4 мл), обработали Br_2 (178 мкл, 3.44 ммоль, 1 экв.) при охлаждении льдом, затем отогревали реакционную смесь до комнатной температуры, и перемешивали в темноте в течение 24 часов. Реакционную массу концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (элюент: 3% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **62** в виде белого твердого вещества (932 мг, выход 70%). $T_{пл.}$ = 109 - 111°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.34 (с, 9H, *t*-Bu), 1.68 (ддд, 1H, *J*= 13.3, 10.7, 6.4 Гц, H^{4a}), 2.25 (м, 1H, H^5), 2.51 (дт, 1H, *J* = 13.3, 7.6 Гц, H^{4b}), 3.70 (дд, 1H, *J* = 11.1, 5.3 Гц, H^7), 3.79 (дд, 1H, *J* = 11.1, 4.3 Гц, H^7), 3.91 (дд, 1H, *J* = 9.8, 8.5 Гц, H^6), 4.16 (м, 1H, H^{6a}), 4.84 (тд, 1H, *J* = 8.6, 6.3 Гц, H^{3a}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 28.9($C(\underline{C}H_3)_3$), 35.2(C^4), 49.5(C^5), 53.0($\underline{C}(CH_3)_3$), 58.1(C^{6a}), 62.0(C^6), 62.7(C^7), 77.9(C^{3a}), 154.1 (C^2).

((3aR, 5S, 6aS)-2-(*трет*-бутиламино)-3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-5-ил)-метанол (50)

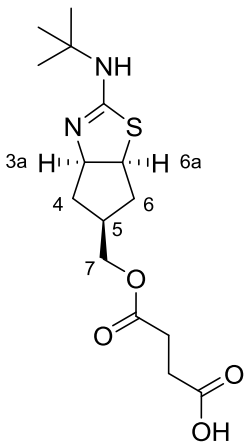


Соединение **62** (443 мг, 1.14 ммоль, 1 экв.) растворили в толуоле (10 мл), обработали ^{n}Bu_3SnH (614 мкл, 2.28 ммоль, 2 экв.) и AIBN (2 мг, 0.012 ммоль, катал. экв.). Смесь грели при 100°C в атмосфере Ar в течение 5 ч, затем концентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 2% Et_3N в гексане, затем градиентное элюирование 0-2% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **50** в виде бесцветного масла (225 мг, выход 86%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.39 (с, 9H, *t*-Bu), 1.60-1.77 (м, 2H), 2.22 (м, 1H *J*= 9.6, 6.5 Гц, H^5), 2.32 (дт, 1H, *J*= 13.8, 7.3 Гц,), 2.42 (дт, 1H, *J*= 13.7, 7.2 Гц,), 3.58 (д, 2H, *J*= 6.2 Гц, H^7), 4.09 (кв, 1H, *J*= 8.3 Гц, H^{3a}), 4.61 (ддд, 1H, *J*= 8.8, 7.1, 5.7 Гц, H^{6a}), 6.08(уш.с., 2H, NH+OH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 28.8($C(\underline{C}H_3)_3$), 35.7, 38.3, 41.5(C^{6a}), 50.3($\underline{C}(CH_3)_3$), 54.7(C^{6a}), 64.5(C^7), 67.9(C^{3a}), 166.6(C^2).

4-(((3aR, 5S, 6aS)-2-(*трет*-бутиламино)-3a,-5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-5-ил)метокси)-4-оксобутановая кислота (63)

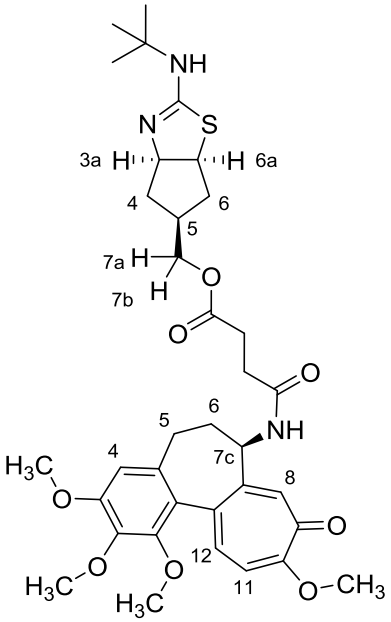


К раствору соединения **50** (100 мг, 0.44 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (10 мл) добавляли 2,5-диоксо-тетрагидрофуран (ангидрид янтарной кислоты) (132 мг, 1.31 ммоль, 3 экв.), ДМАП (5 мг, 0.044 ммоль, 0.1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в течение 8ч. Реакционную массу сконцентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 7% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **63** в виде бесцветного масла (123 мг, выход 86%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.45 (с, 9H, *t*-Bu), 1.75-1.89 (м, 2H), 2.22-2.41 (м, 3H), 2.52-2.76 (м, 4H), 4.04 (ддд, 1H, *J*= 10.0, 8.5, 7.0 Гц, H^{3a}), 4.17 (дд, 1H, *J*= 11.3, 3.9 Гц, H^{7}), 4.25 (дд, 1H, *J*= 11.3, 4.5 Гц, H^{7}), 4.57 (тд, 1H, *J*= 7.6, 5.3 Гц, H^{6a}), 9.79 (уш.с., 1H, COOH).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 28.9 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 29.1 ($\underline{C}H_2COO$), 29.4 ($\underline{C}H_2COO$), 34.7 (C^5), 37.8, 38.5, 49.7 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 55.3(C^{6a}), 64.3(C^7), 64.4(C^{3a}), 168.9(C^2), 172.0(COOR), 175.0(COOH).

((3aR, 5S, 6aS)-2-(*трет*-бутиламино)-3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[d]тиазол-5-ил)-метил-4-оксо-4(((R)1,2,3,10-тетраметокси-9-оксо-5,6,7,9-тетрагидробензо[a]гептален-7-ил)-амино)-бутаноат (64)



Соединение **63** (53 мг, 0,16 ммоль, 1,0 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали EEDQ (48 мг, 0,19 ммоль, 1,2 экв) и N-дезацетилколхицином (52 мг, 0,14 ммоль, 0,9 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение 24 часов при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией (элюент: 7% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **66** в виде желтоватого аморфного твердого вещества (43 мг, выход 40%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.44 (с, 9H, *t*-Bu), 1.66–1.75 (м, 1H), 1.99–2.08 (м, 2H), 1.20–1.29 (м, 1H), 2.35–2.62 (м, 7H), 2.70–2.80 (м, 2H, CH_2CO), 3.65 (с, 3H, OMe), 3.90 (с, 3H, OMe), 3.93 (с, 3H, OMe), 3.97 (с, 3H, OMe), 4.00–4.08 (м, 1H), 4.09 (дд, 1H, *J* = 11.3, 5.0 Гц, H^{7a}), 4.25 (дд, 1H, *J* = 11.3, 4.5 Гц, H^{7b}), 4.58 (ддд, 1H, *J* = 12.3, 6.4, 6.2 Гц, H^{6a}), 4.67 (ддд, 1H, *J* = 12.4, 6.8, 5.8 Гц, H^{7c}), 6.53 (с, 1H, H^{4Ar}), 6.79 (д, 1H, *J* = 10.9 Гц, H^{11Ar}), 7.25 (д, 1H, *J* = 10.9 Гц, H^{12Ar}), 7.45 (с, 1H, H^{8Ar}), 7.57 (уш. с., 1H, NH).

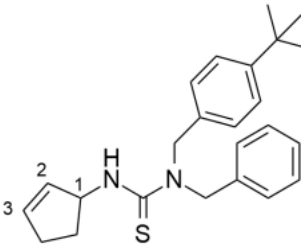
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 28.9 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 31.6, 36.6, 38.3, 49.6, 52.5 (C^{7Ar}), 53.4, 56.1 (OMe), 56.2 (OMe), 60.4, 61.3 (OMe), 61.5 (OMe), 64.6, 64,7, 107.2 (C^{4Ar}), 112.0 (C^{11Ar}), 125.7, 131.1 (C^{8Ar}),

134.8, 135.4, 136.3, 141.4, 151.1, 153.4, 153.6, 163.8, 168.4, 172.3, 172.9, 179.3 (C^{9Ar}).

Масс спектр (ЭСИ), m/z:669 $[M+H]^+$.

Масс спектр (MALDI-TOF), m/z: 668 $[M]^+$.

1-Бензил-1-(4-*трет*-бутилбензил)-3-(циклопент-2-ен-1-ил)-тиомочевина (66)

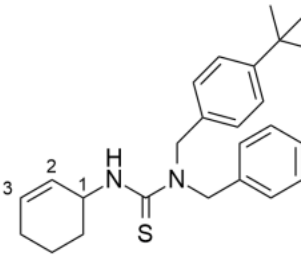


Раствор циклопентена (1.3 мл, 18.1 ммоль, 2 экв.) в CCl_4 (10 мл) обработали при перемешивании NBS (1.6 г, 9.0 ммоль, 1 экв.) и AIBN (2 мг, 0.012 ммоль, катал. экв.). Реакционную смесь кипятили в течение 1.5 ч, затем охладили до 0°C, после отфильтровали, осадок и промыли CCl_4 (5 мл). Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Характеристические сигналы 3-бромоциклопент-1-ена в ^{1}H ЯМР (δ, $CDCl_3$): 2.37 - 2.42 (м, 3H), 2.60-2.68 (м, 1H), 5.17 (м, 1H, H^3), 6.00 - 6.04 (м, 1H, H^2), 6.05 - 6.08 (м, 1H, H^1). К раствору 3-бромоциклопент-1-ена в CCl_4 из предыдущей стадии по каплям добавили раствор KSCN (0.88 г, 9.0 ммоль, 1 экв.) в абсолютном MeOH (5 мл) при охлаждении льдом и перемешивали 2 ч при комнатной температуре, после реакционную смесь фильтровали через SiO_2 и промывали гексаном (20 мл). Раствор 3- изотиоцианатоциклопент-1-ена был использован для следующей стадии без дальнейшей очистки. Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Наличие резонансного сигнала при 4.66 - 4.72 м.д. (м, 1H, H^3) вместо 5.17 м.д. свидетельствует о превращении бромида в изотиоцианат. Раствор 1-Изотиоцианато-циклопент-2-ена из предыдущей стадии обработали ^{i}Pr$_2$NEt (3.1 мл, 18.1 ммоль, 2экв.) и N-бензил-1-(4-*трет*-бутилфенил)-метанамином (2.3 г, 9.0 ммоль, 1экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: градиентное элюирование этилацетат: гексан от 1:10 до 1:7). Получили соединение **66** в виде бесцветного масла (1.7 г, выход 50%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.31 (с, 9H, *t*-Bu), 1.38 - 1.46 (м, 1H), 2.13 - 2.21 (м, 2H), 2.29 - 2.38 (м, 1H), 4.82 (д, 1H, *J*= 16.2 Гц, NCH_2Ph), 4.91 (д, 1H, *J*= 16.1 Гц, NCH_2Ar), 4.93 (д, 1H, *J*= 16.1 Гц, NCH_2Ar), 5.04 (д, 1H, *J*= 16.2 Гц, NCH_2Ph), 5.48 - 5.55 (м, 2H, NH+H^3), 5.62 (м, 1H, H^1), 5.83 (м, 1H, H^2), 7.17 (д, 2H, *J*= 8.2 Гц, H^{Ar}), 7.23 - 7.32 (м, 5H, H^{Ar}), 7.35 (д, *J*= 8.2 Гц, 1H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 30.5, 31.0($C(\underline{C}H_3)_3$), 34.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 53.2 (NCH_2Ar), 53.8 (NCH_2Ph), 62.1 (C^1), 125.5 ($C^{3,5-Ar}$), 126.4, 126.8, 127.4 (C^{4-Ph}), 128.5, 130.5 (C^3), 132.6 (C^2), 134.8 (C^{1-Ar}), 135.9 (C^{1-Ph}), 150.4 (C^{4-Ar}), 181.6 (C^2).

1-бензил-1-(4-*трет*-бутилбензил)-3-(циглогекс-2-ен-1-ил)-тиомочевина (67)

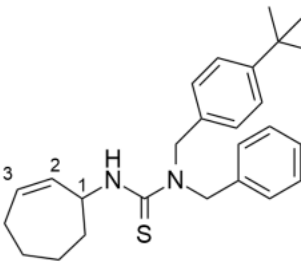


Раствор циклогексена (1.37 мл, 13.5 ммоль, 2 экв.) в CCl_4 (10 мл) обработали при перемешивании NBS (1.2 г, 6.7 ммоль, 1 экв.) и AIBN (2 мг, 0.012 ммоль, катал. экв.). Реакционную смесь кипятили в течение 1.5 ч, затем охладили до 0°С, после отфильтровали, осадок и промыли CCl_4 (5 мл). Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Характеристические сигналы 1- бромоциклогекс-2-ена в спектре ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$+CCl_4, *δ*): 1.66 - 1.73 (м, 1H), 1.90 - 2.12 (м, 2H), 2.15 - 2.26 (м, 3H), 4.83 - 4.87 (м, 1H, H^1), 5.80 - 5.85 (м, 1H, H^2), 5.90 - 5.95 (м, 1H, H^3). К раствору 3-бромоциклогекс-1-ена в CCl_4 из предыдущей стадии по каплям добавили раствор KSCN (0.66 г, 6.7 ммоль, 1 экв.) в абсолютном MeOH (5 мл) при охлаждении льдом и перемешивали 2 ч при комнатной температуре, после реакционную смесь фильтровали через SiO_2 и промывали гексаном (20 мл). Раствор 3- изотиоцианатоциклогекс-1-ена был использован для следующей стадии без дальнейшей очистки. Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Наличие резонансного сигнала при 4.23 м.д. (м, 1H, H^1) вместо 4.87 м.д. свидетельствует о превращении бромида в изотиоцианат. Раствор 1-Изотиоцианато-циклогекс-2-ена из предыдущей стадии обработали ^{i}Pr$_2$NEt (2.35 мл, 13.5 ммоль, 2 экв.) и N-бензил-1-(4-*трет*-бутилфенил)-метанамином (1.7 г, 6.7 ммоль, 1 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 1:10 этилацетат: гексан). Получили соединение **67** в виде бесцветного масла (1.7 г, выход 64%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.05 - 1.15 (м, 1H), 1.29 (с, 9H, *t*-Bu), 1.41 - 1.54 (м, 2H), 1.76 - 1.88 (м, 3H), 4.78 (д, 1H, *J*= 16.3 Гц, NCH_2Ph), 4.87 (д, 1H, *J*= 16.3 Гц, NCH_2Ph), 4.92 (д, 1H, *J*= 16,1 Гц, NCH_2Ar), 5.00 (м, 1H, H^1), 5.09 (д, 1H, *J*= 16.1 Гц, NCH_2Ar), 5.47 (д, 1H, *J*= 7.9 Гц, NH), 5.53 (ддт, 1H, *J*= 9.9, 3.9, 2.0 Гц, H^2), 5.72 (м, 1H, H^3), 7.16 (д, 2H, *J*= 8.3 Гц, H^{Ar}), 7,23 - 7.27 (м, 3H, H^{Ar}), 7.30 (д, 2H, *J*= 7.0 Гц, H^{Ar}), 7.34 (д, 2H, *J*= 8.3 Гц, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 18.7 (C^5), 24.4 (C^4), 28.4 (C^6), 31.0 (C($\underline{C}H_3$)$_3$), 34.1 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 50.5 (C^1), 53.2 (NCH_2), 54.0 (NCH_2), 125.5, 126.4, 126.8, 126.8, 127.4, 128.5, 130.8, 132.5, 135.9, 150.4, 181.1 (C=S).

1-бензил-1-(4-*трет*-бутилбензил)-3-(циклогепт-2-ен-1-ил)-тиомочевина (68)



Раствор циклогептена (2.43 мл, 20.8 ммоль, 2 экв.) в CCl_4 (10 мл) обработали при перемешивании NBS (1.85 г, 10.4 ммоль, 1 экв.) и AIBN (2 мг, 0.012 ммоль, катал. экв.). Реакционную смесь кипятили в течение 1.5 ч, затем охладили до 0°С, после отфильтровали, осадок промыли CCl_4 (5 мл). Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Характеристические сигналы 3-бромоциклогепт-1-ена в ^{1}H ЯМР (δ,

$CDCl_3$): 1.78 - 1.92 (м, 3H), 1.99-2.08 (м, 2H), 2.16-2.22 (м, 1H), 2.23 - 2.28 (м, 2H), 4.93 (тд, 1H, *J*= 6.5, 2.3 Гц, H^3), 5.83 (дт, 1H, *J*= 11.4, 5.7 Гц, H^1), 5.92 (м, 1H, H^2). К раствору 3-бромоциглогепт-1-ена в CCl_4 из предыдущего шага по каплям добавили раствор KSCN (1.0 г, 10.4 ммоль, 1 экв.) в абсолютном MeOH (5 мл) при охлаждении льдом, и перемешивали 2ч при комнатной температуре. После реакционную смесь фильтровали через SiO_2 и промывали гексаном (20 мл). Раствор 1-изотиоцианато-циглогепт-2-ена был использован для следующей стадии без дальнейшей очистки. Контроль протекания реакции осуществляли методом ^{1}H ЯМР. Наличие резонансного сигнала при 4.40 м.д. (м, 1H) вместо 4.93 м.д. свидетельствует о превращении бромида в изотиоцианат. Раствор 1-Изотиоцианато-циклогепт-2-ена полученный на предыдущей стадии обработали ^{i}Pr$_2$NEt (3.6 мл, 20.8 ммоль, 2 экв.) и N-бензил-1-(4-*трет*-бутилфенил)-метанамином (2.6 г, 10.4 ммоль, 1 экв.). Реакционную массу перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, сконцентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: $CHCl_3$, затем 2% MeOH в $CHCl_3$). Получили соединение **68** в виде бесцветного кристаллизующегося масла (2.3 г, выход 54%). Т.пл. 87-89 °C

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.32 (с, 9H, *t*-Bu), 1.45 - 1.54 (м, 1H), 1.54 - 1.69 (м, 4H), 1.75 - 1.83 (м, 1H), 1.91 - 2.00 (м, 1H), 2.02 - 2.12 (м, 1H), 4.85 (д, 1H, *J*= 16.3 Гц, NCH_2Ph), 4.92 (д, 1H, *J*= 12.5 Гц, NCH_2Ar), 4.96 (д, 1H, *J*= 12.5 Гц, NCH_2Ar), 5.08 (д, 1H, *J*= 16.3 Гц, NCH_2Ph), 5.18 (м, 1H, H^1), 5.46 (м, 1H, H^2), 5.63 (д, 1H, NH), 5.72 (м, 1H, H^3), 7.20 (д, 2H, J= 8.3 Гц, H^{Ar}), 7.28 - 7.31 (м, 3H, H^{Ar}), 7.33-7.38 (м, 4H, H^{Ar}).

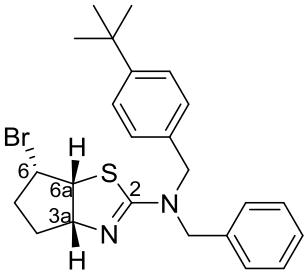
^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 26.7, 28.2, 31.2($C(\underline{C}H_3)_3$), 32.9, 34.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 53.4 (NCH_2Ar), 54.3 (NCH_2Ph), 56.5 (C^1), 125.8, 126.5, 127.0, 127.6, 128.8, 132.2, 132.7, 134.0, 136.1, 150.8, 181.4 (C=S).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 407 $[M+H]^+$.

(±)-(3aR,6R,6aR)-N-бензил-6-бромо-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,6a-тетрагидро-3aH-циклопента[d]тиазол-2-амин (69) и **(±)-(3aR,6S,6aR)-N- бензил-6-бромо-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,6a-тетрагидро-3aH-циклопента[d]тиазол-2-амин (69a)**

Соединение **66** (128 мг, 0.34 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (5 мл), обработали Br_2 (18 мкл, 0.34 ммоль, 1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре 12 ч. Затем промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*10мл) и $NaHCO_3$ (3*10мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, сконцентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: CH_2Cl_2). Получили соединение **69a** в виде светло-желтого масла (63 мг, выход 41%) и соединение **69** в виде светло-желтого масла (90 мг, выход 58%).

(±)-(3aR,6S,6aR)-N-бензил-6-бромо-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,6a-тетрагидро-3aH-циклопента[d]тиазол-2-амин (69a)



^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 2.02-2.06 (м, 1H), 2.07-2.11 (м, 1H), 2.26-2.35 (м, 1H), 2.39-2.48 (м, 1H), 4.37 (д, 1H, *J*= 15.6 Гц, NCH_2Ar), 4.41 (м, 1H, H^6), 4.42 (д, 1H, *J*= 15.9 Гц, NCH_2Ph), 4.46 (д, 1H, *J*= 15,9 Гц, NCH_2Ph), 4.50 (д, 1H, *J*= 15.6 Гц, NCH_2Ar), 4.57 (дд, 1H, *J*= 8.1, 1.8 Гц, H^{6a}), 5.16 (дт, 1H, *J*= 8.1, 1.5 Гц, H^{3a}), 7.15 (д, 2H, *J*= 8.4 Гц, H^{Ar}), 7.22 (м, 2H, *J*= 8.3 Гц, H^{Ar}), 7.29 (м, 1H, H^{Ar}), 7.32 - 7.38 (м, 4H, H^{Ar}).

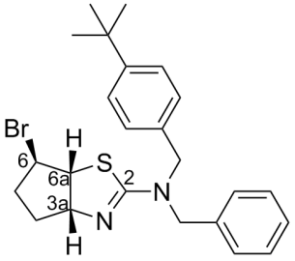
NOESY 1D: a) H^{3a}-H^{6a} (2.9%), H^{3a}-H^6 (0.4%)

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 31.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 32.7, 33.9, 34.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 52.9(NCH_2Ar+NCH_2Ph), 58.3(C^{6a}), 63.4(C^6), 66.4(C^{3a}), 125.5 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.4, 127.6, 128.6 ($C^{3,5\text{-}Ph}$), 132.6, 137.2, 138.4, 150.4, 158.9 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 457 $[M+H]^+$, 459 $[M+2+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{24}H_{29}BrN_2S$ Вычислено, %: C, 63.01; H, 6.39; N, 6.12. Найдено, %: C, 62.95; H, 6.54; N, 5.86.

(±)-(3aR,6R,6aR)-N-бензил-6-бромо-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,6a-тетрагидро-3aH-циклопента[d]тиазол-2-амин (69)



^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 1.94-2.02 (м, 1H), 2.04-2.11 (м, 1H), 2.12-2.21 (м, 1H), 2.24-2.32 (м, 1H), 4.37 (ддд, 1H, *J*= 9.7, 6.2, 5.5 Гц, H^6), 4.49 (д, 1H, *J*= 16.0 Гц, NCH_2Ph), 4.44 (д, 1H, *J*= 16.0 Гц, NCH_2Ph), 4.55 (д, 1H, *J*= 14,7 Гц, NCH_2Ar), 4.58 (д, 1H, *J*= 14.7 Гц, NCH_2Ar), 4.63 (дд, 1H, *J*= 7.8, 6.2 Гц, H^{6a}), 4.96 (дт, 1H, *J*= 7.8, 2.6 Гц, H^{3a}), 7.18 (д, 2H, *J*= 8.4 Гц, H^{Ar}), 7.25 (м, 2H, H^{Ar}), 7.29 (м, 1H, H^{Ar}), 7.31 - 7.37 (м, 4H, H^{Ar}).

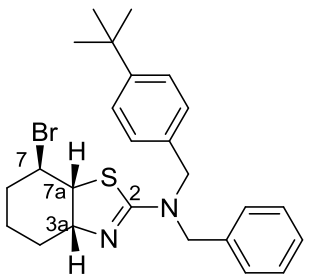
NOESY 1D: a) H^{3a}- H^{6a} (2.8%)

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 31.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 33.1, 33.8, 34.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 52.2 (C^{6a}), 53.5 (NCH_2Ar + NCH_2Ph), 60.4 (C^6), 74.2 (C^{3a}), 125.6 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.6, 127.7($C^{4\text{-}Ph}$), 127.8, 128.7, 132.8 ($C^{1\text{-}Ar}$), 136.0 ($C^{1\text{-}Ph}$), 150.8 ($C^{4\text{-}Ar}$), 163.0 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 457 $[M+H]^+$, 459 $[M+2+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{24}H_{29}BrN_2S$ Вычислено, %: C, 63.01; H, 6.39; N, 6.12. Найдено, %: C, 62.10; H, 6.61; N, 5.94.

(±)-(3aR,7R,7aR)-N-бензил-7-бромо-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-3a,4,5,6,7,7a-гексагидробензо[d]тиазол-2-амин (70)

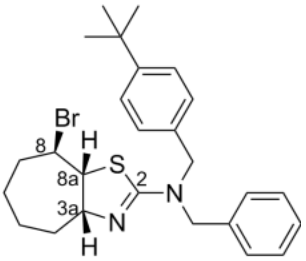


Соединение **67** (416 мг, 1.06 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали Br_2 (55 мкл, 1.06 ммоль, 1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте 12 ч. Реакционную смесь промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*20мл) и $NaHCO_3$ (3*10мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, сконцентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 2% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **70** в виде бесцветного масла (386 мг, выход 77%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.35 (с, 9H, *t*-Bu), 1.66 - 1.74 (м, 3H), 1.79-1.89 (м, 1H), 2.30 - 2.36 (м, 1H), 2.37 - 2.45 (м, 1H), 3.89 (дд, 1H, *J*= 9.8, 5.4 Гц, H^{7a}), 4.09 (ддд, 1H, *J*= 11.5, 9.8, 4.1 Гц, H^7), 4.24 (м, 1H, H^{3a}), 4.38 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 4.43 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 4.59 (д, 1H, *J*= 11,7 Гц, NCH_2Ar), 4.63 (д, 1H, *J*= 11.7 Гц, NCH_2Ar), 7.19 (д, 2H, *J*= 8.4 Гц, H^{Ar}), 7.26 (д, 2H, *J*= 7.8 Гц, H^{Ar}), 7.30 (д, 1H, *J*= 7.1 Гц, H^{Ar}), 7.34 - 7.39 (м, 4H, H^{Ar}). ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 21.6 (C^5), 28.8 (C^4), 31.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 34.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 35.9 (C^6), 52.7 (NCH_2), 52.8 (NCH_2), 56.8 (C^{7a}), 62.1 (C^7), 70.9 (C^{3a}), 125.4 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.4, 127.5, 127.7, 128.5 ($C^{3,5\text{-}Ph}$), 133.6, 136.8, 150.4, 164.3(C^2).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 471 $[M+H]^+$, 473 $[M+2+H]^+$.

(±)-(3aR,8R,8aR)-N-бензил-8-бромо-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,7,8,8a-гексагидро-3aH-циклогепта[d]тиазол-2-амин (71)



Раствор соединения **68** (77 мг, 0.19 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали Br_2 (10 мкл, 0.19 ммоль, 1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, затем промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*10 мл) и $NaHCO_3$ (3*10мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4 и сконцентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: градиентное элюирование 0-2% MeOH в CH_2Cl_2). Получили **71** в виде светло-желтого масла (80 мг, выход 87%).

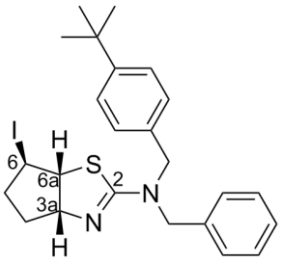
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 1.40 - 1.61 (м, 2H), 1.81-1.93 (м, 3H), 1.92 - 2.00 (м, 1H), 2.02-2.10 (м, 1H), 2.41 - 2.49 (м, 1H), 4.39 - 4.58 (м, 6H, H^{8a} +H^{8} +H^{NCH2Ph} +H^{NCH2Ar}), 4.84 (дд, 1H, *J*= 9.8, 8.6 Гц, H^{3a}), 7.17 (д, 2H, *J*= 8.3 Гц, H^{Ar}), 7.23 (д, 2H, *J*= 7.0 Гц, H^{Ar}), 7.30 (м, 1H, H^{Ar}), 7.33 - 7.38 (м, 4H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 26.3, 29.6, 30.4, 31.3($C(\underline{C}H_3)_3$), 34.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 38.9, 53.0 (NCH_2Ph+ NCH_2Ar), 55.4 (C^{8a}), 65.4 (C^8), 71.8 (C^{3a}), 125.5 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.5, 127.6, 127.7, 128.6 ($C^{3,5\text{-}Ph}$), 132.9, 136.1, 150.7, 161.2 (C^2)

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 485 $[M+H]^+$, 487 $[M+2+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{26}H_{33}BrN_2S$ Вычислено, %: C, 64.32; H, 6.85; N, 5.77; S, 6.60. Найдено, %: C, 63.85; H, 6.47; N, 5.62; S, 6.33.

(±)-(3aR,6R,6aR)-N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-6-иодо-4,5,6,6a-тетрагидро-3aH-циклопента[d]тиазол-2-амин (72)



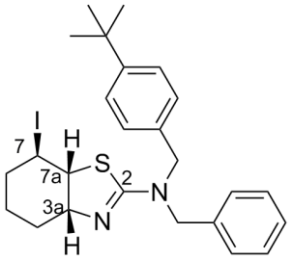
Соединение **66** (130 мг, 0.34 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали I_2 (87 мг, 0.34 ммоль, 1 экв.) и перемешивали при комнатной температуре 12 ч. Затем промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*10мл) и $NaHCO_3$ (3*10мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4 и сконцентрировали при пониженном давлении. Получили соединение **72** в виде бесцветного масла (171 мг, выход 99%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 2.04-2.12 (м, 1H), 2.15-2.25 (м, 2H), 2.41-2.52 (м, 1H), 4.39 (м, 1H, H^{6a}), 4.45 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 4.51 (д, 1H, *J*= 14.8 Гц, NCH_2Ar), 4.55 (д, 1H, *J*= 14,8 Гц, NCH_2Ar), 4.58 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 4.71 (дд, 1H, *J*= 8.1, 2.6 Гц, H^6), 5.12 (дт, 1H, *J*= 8.1, 1.6 Гц, H^{3a}), 7.14 (д, 2H, *J*= 8.3 Гц, H^{Ar}), 7.21 (д, 2H, *J*= 8.1 Гц, H^{Ar}), 7.28-7.37 (м, 5H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ):31.2 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 32.3, 33.4, 34.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 35.6, 53.9 (NCH_2Ar + NCH_2Ph), 63.4 (C^{6a}), 74.8 (C^{3a}), 125.6 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.5, 127.6, 127.8, 128.7 ($C^{3,5\text{-}Ph}$), 132.1($C^{1\text{-}Ar}$), 135.3 ($C^{1\text{-}Ph}$), 150.9 ($C^{4\text{-}Ar}$), 163.2 (C^2)

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 505 $[M+H]^+$.

(±)-(3aR,7R,7aR)-N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-7-иодо-3a,4,5,6,7,7a-гексагидробензо[d]тиазол-2-амин (73)



Соединение **67** (96 мг, 0.244 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (5 мл) и обработали I_2 (62 мг, 0.244 ммоль, 1 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*10мл) и $NaHCO_3$ (3*10мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4, сконцентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: CH_2Cl_2). Получили соединение **73** в виде бесцветного масла (125 мг, выход 99%).

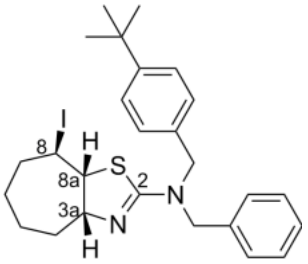
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 1.48 - 1.58 (м, 1H), 1.60 - 1.65 (м, 1H), 1.66-1.77 (м, 1H), 1.94 - 2.04 (м, 1H), 2.34 - 2.44 (м, 2H), 4.08 - 4.12 (м, 2H, H^{7a}+ H^{3a}), 4.22 (м, 1H, H^7), 4.36 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 4.41 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 4.55 (д, 1H, *J*= 11,3 Гц, NCH_2Ar), 4.59 (д, 1H, *J*= 11.3 Гц, NCH_2Ar), 7.17 (д, 2H, *J*= 8.3 Гц, H^{Ar}), 7.24 (м, 2H, H^{Ar}), 7.28 (м, 1H, H^{Ar}), 7.33 (м, 2H, H^{Ar}), 7.36 (м, 2H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 22.8 (C^5), 29.2 (C^4), 31.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 34.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 36.8 (C^7),

38.0, 52.4 (NCH_2), 52.5 (NCH_2), 64.3 (C^{7a}), 70.7 (C^{3a}), 125.4 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.3, 127.5, 127.8, 128.5, 134.0, 137.2, 150.3, 163.4.

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 519 $[M+H]^+$.

(±)-(3aR,8R,8aR)-N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-8-иодо-4,5,6,7,8,8a-гексагидро-3aH-циклогепта[d]тиазол-2-амин (74)



Соединение **68** (150 мг, 0.37 ммоль, 1 экв.) растворили в CH_2Cl_2 (10 мл), обработали I_2 (94 мг, 0.37 ммоль, 1 экв.). Реакционную смесь при комнатной температуре перемешивали в течение 24 ч, затем промыли насыщенным водным раствором Na_2SO_3 (3*10 мл) и $NaHCO_3$ (3*10мл). Органический слой отделили, высушили над Na_2SO_4 и сконцентрировали при пониженном давлении. Получили соединение **74** в виде желтоватого масла (195 мг, выход 99%).

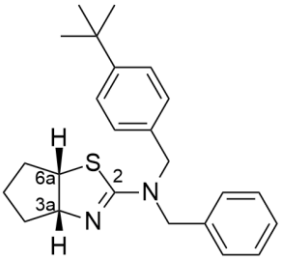
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.30 (с, 9H, *t*-Bu), 1.34 - 1.43 (м, 1H), 1.49 - 1.59 (м, 1H), 1.69 - 1.75 (м, 1H), 1.84 - 1.94 (м, 3H), 2.04 - 2.14 (м, 1H), 2.45 - 2.52 (м, 1H), 4.32 - 4.50 (м, 5H, $N\underline{CH_2}Ar+N\underline{CH_2}Ph+H^8$), 4.59 (м, 1H, H^{8a}), 4.96 (дд, 1H, *J*= 9.8, 8.6 Гц, H^{3a}), 7.14 (д, 2H, *J*= 8.2 Гц, H^{Ar}), 7.20 (д, 2H, *J*= 7.1 Гц, H^{Ar}), 7.27 (м, 1H, H^{Ar}), 7.30 - 7.35 (м, 4H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 26.3, 30.1, 31.3($C(\underline{C}H_3)_3$), 32.7, 34.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 40.8 (C^8), 52.3 (NCH_2Ph+ NCH_2Ar), 68.3 (C^{8a}), 72.9 (C^{3a}), 125.4 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.2, 127.4, 127.6, 128.5, 133.8, 137.1, 150.2, 158.4 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 533 $[M+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{26}H_{33}IN_2S$ Вычислено, %: C, 58.64; H, 6.25; N, 5.26; S, 6.02. Найдено, %: C, 58.96; H, 6.52; N, 5.15; S, 5.85.

(±)-(3aR,6aS)-N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,6a-тетрагидро-3aH-циклопента[d]тиазол-2-амин (75)



Соединение **72** (131 мг, 0.26 ммоль, 1 экв.) растворили в $PhCH_3$ (10 мл), обработали $^н Bu_3SnH$ (84 мкл, 0.31 ммоль, 1.2 экв.) и AIBN (2 мг, 0.012 ммоль, катал. экв.). Смесь грели при 100°C в атмосфере Ar в течение 5 ч, затем концентрировали при пониженном давлении и очищали методом колоночной хроматографии (элюент: 2% этилацетат и 2% Et_3N в гексане). Получили соединение **75** в виде бесцветного масла (63 мг, выход 64%).

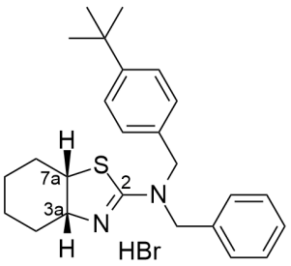
^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.33 (с, 9H, *t*-Bu), 1.59-1.67 (м, 1H), 1.77-1.97 (м, 4H), 1.99-2.07 (м, 1H), 4.24 (дт, 1H, *J*= 7.8, 3.3 Гц, H^{6a}), 4.37 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 4.43 (д, 1H, *J*= 16.0 Гц, NCH_2Ar), 4.48 (д, 1H, *J*= 16.0 Гц, NCH_2Ar), 4.52 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ph), 5.00 (ддд, 1H, *J*= 7.8, 6.3, 3.3 Гц, H^{3a}), 7.17 (д, 2H, *J*= 8.3 Гц, H^{Ar}), 7.24 (м, 2H, H^{Ar}), 7.28 (м, 1H, H^{Ar}), 7.32 - 7.37 (м, 4H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 23.6 (C^5), 31.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 34.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 35.1, 36.8, 52.7 (NCH_2Ar + NCH_2Ph), 53.4 (C^{6a}), 79.3 (C^{3a}), 125.4 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.2 ($C^{4\text{-}Ph}$), 127.4, 127.6, 128.5, 134.1 ($C^{1\text{-}Ar}$), 137.3 ($C^{1\text{-}Ph}$), 150.2 ($C^{4\text{-}Ar}$), 162.3 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 379 $[M+H]^+$.

Элементный анализ: $C_{24}H_{30}N_2S$ Вычислено, %: C, 76.14; H, 7.99; N, 7.40; S, 8.47. Найдено, %: C, 73.81; H, 8.03; N, 6.95; S 7.62.

(±)-(3aR,7aS)-N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-3a,4,5,6,7,7a-гексагидробензо[d]тиазол-2-амина гидробромид (76)



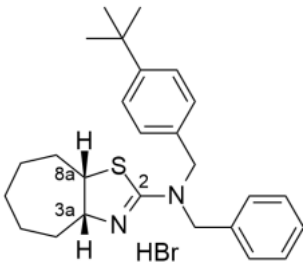
Раствор AcBr (37 мкл, 0.5 ммоль, 3 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали MeOH (20 мкл, 0.5 ммоль, 3 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте. Через 10 минут добавили раствор соединения **67** (65 мг, 0.165 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) и перемешивали ещё 12 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: CH_2Cl_2, затем 3% MeOH в CH_2Cl_2). Получили соединение **76** в виде белого твердого вещества (77 мг, выход 99%). Т.пл. 169-171°C.

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.35 (с, 9H, *t*-Bu), 1.41 - 1.51 (м, 2H), 1.64 - 1.74 (м, 2H), 1.83-2.03 (м, 3H), 2.26 - 2.37 (м, 1H), 4.04 (дт, 1H, *J*= 7.4, 5.4 Гц, H^{7a}), 4.33 (дт, 1H, *J*= 5.6, 5.4 Гц, H^{3a}), 4.63 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ar), 4.69 (д, 1H, *J*= 16.9 Гц, NCH_2Ph), 4.75 (д, 1H, *J*= 16,9 Гц, NCH_2Ph), 4.80 (д, 1H, *J*= 15.8 Гц, NCH_2Ar), 7.20 (д, 2H, *J*= 8.2 Гц, H^{Ar}), 7.27 (д, 2H, *J*= 8.0 Гц, H^{Ar}), 7.35 - 7.42 (м, 5H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 20.8, 22.2, 27.9, 28.7, 31.1 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 34.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 50.7 (C^{7a}), 54.5 (NCH_2Ar+ NCH_2Ph), 65.0 (C^{3a}), 125.8 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.6, 127.8, 128.1, 128.8 ($C^{3,5\text{-}Ph}$), 131.1, 134.4, 151.3, 169.0 (C^2).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 393 $[M+H]^+$.

(±)-(3aR,8aS)-N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,7,8,8a-гексагидро-3aH-циклогепта[d]тиазол-2-амина гидробромид (77)



Раствор AcBr (82 мкл, 1.1 ммоль, 3 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) обработали MeOH (45 мкл, 1.1 ммоль, 3 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в темноте. Через 10 минут добавили раствор соединения **68** (150 мг, 0.37 ммоль, 1 экв.) в CH_2Cl_2 (5 мл) и перемешивали ещё 12 ч. Реакционную массу сконцентрировали при пониженном давлении и остаток очищали методом колоночной хроматографии (элюент: этилацетат, затем CH_2Cl_2). Получили соединение **77** в виде светло-желтого масла (150 мг, выход 83%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, δ): 1.31 (с, 9H, *t*-Bu), 1.32 - 1.46 (м, 3H), 1.70 - 1.78 (м, 1H), 1.81 - 1.91 (м, 2H), 1.94 - 2.08 (м, 3H), 2.38 - 2.44 (м, 1H), 4.25 (тд, 1H, *J*= 8.8, 5.9 Гц, H^{8a}), 4.55 - 4.91 (уш. м, 4H, $N\underline{CH_2}Ar$+ $N\underline{CH_2}Ph$), 4.65 (м, 1H, H^{3a}), 7.15 (д, 2H, *J*= 8.1 Гц, H^{Ar}), 7.22 (д, 2H, *J*= 6.4Гц, H^{Ar}), 7. 29 - 7.38 (м, 5H, H^{Ar}).

^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$, δ): 24.8, 27.1, 30.3, 30.5, 31.1 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 31.6, 34.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 52.2 (C^{8a}), 55.0 (NCH_2Ar), 55.3 (NCH_2Ph), 68.0 (C^{3a}), 125.9 ($C^{3,5\text{-}Ar}$), 127.8, 127.9, 128.5, 129.0 ($C^{3,5\text{-}Ph}$),130.2, 133.4, 151.7, 161.6 (C^{2}).

Масс-спектр (ЭСИ), m/z: 407 $[M+H]^+$.

Заключение и выводы

В ходе выполнения данной работы проведен молекулярный дизайн и синтез нескольких серий новых производных циклических изотиомочевин, и для каждой серии изучены зависимости *структура – активность* по отношению к определенной биологической мишени. Выявлены два вещества с антимитотической активностью, эффективный и селективный ингибитор бутирилхолинэстеразы с хорошим токсикологическим профилем, а также два эффективных антишоковых агента продолжительного действия.

На основании полученных результатов сделаны следующие выводы:

1) Для увеличения продолжительности антигипотензивного действия известных антишоковых агентов 2-амино-2-тиазолина и 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазина (ингибиторов синтазы оксида азота) предложены структуры их более липофильных аналогов, полученных путем «введения» моноцикла в аннелированную, мостиковую или каркасную структуру. Разработана и реализована эффективная препаративная схема синтеза соответствующих бициклических изотиомочевин с использованием в качестве ключевой стадии реакции внутримолекулярной циклизации N-циклоалкенил-замещенных тиомочевин с участием электрофильного реагента. Применение разработанной схемы позволило в 16 раз повысить общий выход одного из соединений серии – (±)-(1S,5R)-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-3-амина – по сравнению с описанной в литературе методикой. Для (±)-(3aR,7aS)-3a,4,5,6,7,7a-гексагидро-1,3-бензотиазол-2-амина и (±)-(1R,5R,8R)-3-амино-2-тиа-4-азабицикло[3.3.1]нон-3-ен-8-ола продемонстрировано выраженное и продолжительное антигипотензивное действие *in vivo* на модели эндотоксического шока у экспериментальных животных.

2) Обнаружено необычное протекание реакции N-(*эндо*-бицикло[3.3.1]нон-6-ен-3-ил)-N'-(*трет*-бутил)тиомочевины с бромом, в ходе которого внутримолекулярная циклизация реализуется не по атому серы, а по атому азота предварительно окисленной до мочевины тиомочевинной группировки. Образующийся в ходе этой реакции продукт принадлежит к новому структурному типу каркасных трициклических производных мочевины. В реакции N-[(*эндо*-3-бицикло[3.3.1]нон-6-енил)метил]-N'-(*трет*-бутил)-тиомочевины с йодом в присутствии ^{t}BuOOH или K_2CO_3 получены продукты внутримолекулярной циклизации с 4-азатрицикло[4.3.1.1^{3,8}]ундекановым ядром.

3) Реализована многостадийная схема синтеза конъюгата тубулин-направленного агента колхицина с производным 3a,5,6,6a-тетрагидро-4H-циклопента[*d*]тиазол-5-ила и доказано его цитотоксическое действие в концентрации 10мкМ по отношению к клеткам карциномы легких A549. Синтезирована серия аналогов тубулин-направленного агента верубулина, полученных путем нестандартной замены метилхиназолиновой группировки исходной молекулы фрагментом циклической изотиомочевины, аннелированной с различными алициклами. Для (±)-(3aR,8aS)-N-(4-метоксифенил)-N-метил-3a,5,6,7,8,8a-гексагидро-4H-циклогепта[d]тиазол-2-амина гидробромида продемонстрирована выраженная антимитотическая активность в концентрации 10мкМ по отношению к клеткам карциномы A549, не связанная с воздействием на тубулин.

4) Метод ограничения конформационной подвижности в сочетании с гомологизацией применен для оптимизации известных соединений структурного класса 5-бромометил- и 5-иодометил-N,N-дизамещенных-2-аминотиазолинов, – умеренно активных, но селективных (по сравнению с ацетилхолинэстеразой) ингибиторов бутирилхолинэстеразы. Реализован синтез предложенной серии циклических изотиомочевин, аннелированных с циклоалкановыми фрагментами. Показано, что все соединения полученной серии селективно ингибируют бутирилхолинэстеразу и продемонстрирована зависимость эффективности ингибирования от размера алицикла и природы заместителя в алициклическом фрагменте. Наиболее активное соединение серии – N-бензил-N-(4-(*трет*-бутил)бензил)-4,5,6,7,8,8a-гексагидро-3aH-циклогепта[d]тиазол-2-амина гидробромид.

4. Список литературы

1. Mitchell, J. B.; Wink, D. A.; DeGraff, W.; Gamson, J.; Keefer, L. K.; Krishna, M. C. Hypoxic Mammalian Cell Radiosensitization by Nitric Oxide. *Cancer Res.* **1993**, 53 (24), 5845–5848.
2. Ohta, S.; Matsuda, S.; Gunji, M.; Kamogawa, A. The Role of Nitric Oxide in Radiation Damage. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, 30 (6), 1102–1107. https://doi.org/10.1248/bpb.30.1102.
3. Clarencon, D.; Lestaevel, P.; Laval, J. D.; Multon, E.; Gourmelon, P.; Buguet, A.; Cespuglio, R. Voltammetric Measurement of Blood Nitric Oxide in Irradiated Rats. *Int. J. Radiat. Biol.* **1999**, 75 (2), 201—208. https://doi.org/10.1080/095530099140654.
4. Konopliannikov, A.; Proskuriakov, S.; Konopliannikov, O.; Trishkina, A.; Shteĭn, L.; Verkhovskiĭ, I.; Kolesnikova, A.; Trofimova, T.; Mandrugin, A.; Fedoseev, V.; Bachurin, S.; Proshin, A.; Skvortsov, V. [The Influence of Some Retarding Agents NOS of Dihydrothiazine-Thiazoline Rank on Postradiational of Recovery Endogenous CFU-S-8 of Mice]. *Radiats. Biol. Radioecol.* **2007**, 47, 5–9.
5. Rousseau, D. L.; Li, D.; Couture, M.; Yeh, S.-R. Ligand-Protein Interactions in Nitric Oxide Synthase. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, 99 (1), 306—323. https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2004.11.007.
6. Fedoseev, V. M.; Tarasenko, A. G.; Mandrugin, A. A.; Churilin, V. S.; Nekrasova, I. V.; Gintsburg, E. . *Mechanisms of Natural and Modified Radiosensitivity [in Russian]*; MSU Moscow, 1977.
7. Garvey, E. P.; Oplinger, J. A.; Tanoury, G. J.; Sherman, P. A.; Fowler, M.; Marshall, S.; Harmon, M. F.; Paith, J. E.; Furfine, E. S. Potent and Selective Inhibition of Human Nitric Oxide Synthases. Inhibition by Non-Amino Acid Isothioureas. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269 (43), 26669–26676. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)47071-8.
8. Mandrugin, A. A.; Fedoseev, V. M.; Khomutov, S. M.; Rodyunin, A. A.; Leshchev, Y. A. Intramolecular Cyclization of Guanidinoalkanethiols in Aqueous Solution. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1987**, 23 (11), 1262–1266. https://doi.org/10.1007/BF00479384.
9. Latli, B.; D'Amour, K.; Casida, J. E. Novel and Potent 6-Chloro-3-Pyridinyl Ligands for the A4β2 Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor. *J. Med. Chem.* **1999**, 42 (12), 2227–2234. https://doi.org/10.1021/jm980721x.
10. Proskuryakov, S. Y.; Kucherenko, N. G.; Semenenko, M. N.; Trishkina, A. I.; Trofimova, T. P.; Shtejn, L. V.; Verkhovskij, Y. G.; Konoplyannikov, A. G.; Mandrugin, A. A.; Fedoseev, V. M.; Skvortsov, V. G. NO-Inhibiting Activity of Radioprotectors. *Radiatsionnaya Biol. Radioekol.* **2003**, 43 (1), 51–55.

11. Gintsburg, E. I.; Mandrugin, A. A.; Tarasenko, A. G.; Graevsky, E. Y.; Fedoseev, V. . Study of the Behavior of 2-Amino-Delta-2-Thiazoline and 2-Amino-Delta-2-Dihydro-1,3-Thiazine in the Body of Mammals. *Radiobiologiia* **1974**, 14 (2), 26–30.
12. Ya Proskuryakov, S.; Konoplyannikov, A. G.; Skvortzov, V. G.; Mandrugin, A. A.; Fedoseev, V. M. Nitric Oxide Synthase Inhibitors Containing the Carboxamidine Group or Its Isosteres. *Usp. Khim.* **2005**, 74 (9), 939–952. https://doi.org/10.1070/rc2005v074n09abeh000923.
13. Proskuryakov, S. Y.; Konoplyannikov, A. G.; Skvortsov, V. G.; Mandrugin, A. A.; Fedoseev, V. M. Structure and Activity of NO Synthase Inhibitors Specific to the L-Arginine Binding Site. *Biochemistry. (Mosc).* **2005**, 70 (1), 8–23.
14. Proskuryakov, S.Y.; Filimonova, M. V..; Mandrugin, A. A.; Verkhovskij, Y.G.; Konoplyannikov, A.G.; Fedoseev, V. M. The Effect of Nitric Oxide Synthase Inhibitor, 2-ADT on Endotoxin-Induced Changes in Rat Hemodynamics and Respiration. *Bull. Exp. Biol. Med.* **2004**, 138 (10), 446–449.
15. Shah, S.K., Grant, S.K., Maccoss, OE., Shankaran, Š., Guthikonda, R. N. International Patent WO 96/14842. International Patent WO 96/14842., 1996.
16. Ueda, S.; Terauchi, H.; Yano, A.; Ido, M.; Matsumoto, M.; Kawasaki, M. 4,5-Disubstituted-1,3-Oxazolidin-2-Imine Derivatives: A New Class of Orally Bioavailable Nitric Oxide Synthase Inhibitor. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2004**, 14 (2), 313–316. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.11.010.
17. Ueda, S.; Terauchi, H.; Yano, A.; Matsumoto, M.; Kubo, T.; Kyoya, Y.; Suzuki, K.; Ido, M.; Kawasaki, M. 4,5-Dialkylsubstituted 2-Imino-1,3-Thiazolidine Derivatives as Potent Inducible Nitric Oxide Synthase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12 (15), 4101–4116. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.05.031.
18. Shankaran, K.; Donnelly, K. L.; Shah, S. K.; Guthikonda, R. N.; MacCoss, M.; Humes, J. L.; Pacholok, S. G.; Grant, S. K.; Kelly, T. M.; Wong, K. K. Evaluation of Pyrrolidin-2-Imines and 1,3-Thiazolidin-2-Imines as Inhibitors of Nitric Oxide Synthase. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2004**, 14 (17), 4539–4544. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.06.033.
19. Plotnikova, E. D.; Nurieva, E. V.; Peregud, D. I.; Onufriev, M. V.; Gulyaeva, N. V.; Makarchuk, V. M.; Filimonova, M. V.; Zefirov, N. S.; Zefirova, O. N. Molecular Modeling, X-Ray Diffraction Analysis, and the Study of INOS Inhibitor Activity of 3-Imino-2,4-Diazabicyclo[3.3.1]Nonan-1-Ol Hydrochloride. *Russ. J. Org. Chem.* **2013**, 49 (8), 1108–1111. https://doi.org/10.1134/S1070428013080022.
20. Ueda, S.; Terauchi, H.; Kawasaki, M.; Yano, A.; Ido, M. Structure-Activity Relationships of 2-Aminothiazole Derivatives as Inducible Nitric Oxide Synthase Inhibitor. *Chem.*

Pharm. Bull. **2004**, 52 (5), 634–637. https://doi.org/10.1248/cpb.52.634.

21. Levtsova, A. A.; Chupakhin, V. I.; Proshin, A. N.; Pushin, A. N.; Trofimova, T. P.; Zefirova, O. N. Design of Potential NO-Synthase Inhibitors on the Basis of 2-Amino-5,6-Dihydro-4H-1,3-Thiazine Derivatives. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 2: Khimiya*. 2007, pp 299–301.
22. Shankaran, K.; Donnelly, K. L.; Shah, S. K.; Humes, J. L.; Pacholok, S. G.; Grant, S. K.; Green, B. G.; MacCoss, M. Inhibition of Nitric Oxide Synthase by Benzoxazolones. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **1997**, 7 (22), 2887–2892. https://doi.org/10.1016/S0960-894X(97)10101-9.
23. Zefirova, O. N.; Nurieva, E. V.; Chupakhin, V. I.; Semenova, I. S.; Peregud, D. I.; Onufriev, M. V.; Gulyaeva, N. V. Design, Synthesis and Biotest of a Bicyclo[3.3.1]Nonane Analogue of 2-Amino-5,6-Dihydro-4H-1,3-Thiazine. *Mendeleev Commun.* **2010**, 20 (6), 323–325. https://doi.org/10.1016/j.mencom.2010.11.007.
24. Zefirova, O. N.; Plotnikova, E. D.; Nurieva, E. V.; Peregud, D. I.; Onufriev, M. V.; Gulyaeva, N. V. Synthesis of 2-Thia-4-Azabicyclo[3.3.1]Non-3-En-3-Amine-Bridged Nitric Oxide Synthase Inhibitor with Enhanced Lipophilicity. *Mendeleev Commun.* **2013**, 23 (2), 76–77. https://doi.org/10.1016/j.mencom.2013.03.006.
25. Oehlrich, D.; Prokopcova, H.; Gijsen, H. J. M. The Evolution of Amidine-Based Brain Penetrant BACE1 Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2014**, 24 (9), 2033–2045. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.03.025.
26. Wu, Q.; Li, X.; Gao, Q.; Wang, J.; Li, Y.; Yang, L. Interaction Mechanism Exploration of HEA Derivatives as BACE1 Inhibitors by in Silico Analysis. *Mol. Biosyst.* **2016**, 12 (4), 1151–1165. https://doi.org/10.1039/c5mb00859j.
27. Zhu, Z.; Sun, Z. Y.; Ye, Y.; Voigt, J.; Strickland, C.; Smith, E. M.; Cumming, J.; Wang, L.; Wong, J.; Wang, Y. Sen; Wyss, D. F.; Chen, X.; Kuvelkar, R.; Kennedy, M. E.; Favreau, L.; Parker, E.; McKittrick, B. A.; Stamford, A.; Czarniecki, M.; Greenlee, W.; Hunter, J. C. Discovery of Cyclic Acylguanidines as Highly Potent and Selective β-Site Amyloid Cleaving Enzyme (BACE) Inhibitors: Part I - Inhibitor Design and Validation. *J. Med. Chem.* **2010**, 53 (3), 951–965. https://doi.org/10.1021/jm901408p.
28. Butler, C. R.; Ogilvie, K.; Martinez-Alsina, L.; Barreiro, G.; Beck, E. M.; Nolan, C. E.; Atchison, K.; Benvenuti, E.; Buzon, L.; Doran, S.; Gonzales, C.; Helal, C. J.; Hou, X.; Hsu, M. H.; Johnson, E. F.; Lapham, K.; Lanyon, L.; Parris, K.; O'Neill, B. T.; Riddell, D.; Robshaw, A.; Vajdos, F.; Brodney, M. A. Aminomethyl-Derived Beta Secretase (BACE1) Inhibitors: Engaging Gly230 without an Anilide Functionality. *J. Med. Chem.* **2017**, 60 (1), 386–402. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01451.

29. Thomas, A. A.; Hunt, K. W.; Volgraf, M.; Watts, R. J.; Liu, X.; Vigers, G.; Smith, D.; Sammond, D.; Tang, T. P.; Rhodes, S. P.; Metcalf, A. T.; Brown, K. D.; Otten, J. N.; Burkard, M.; Cox, A. A.; Do, M. K. G.; Dutcher, D.; Rana, S.; DeLisle, R. K.; Regal, K.; Wright, A. D.; Groneberg, R.; Scearce-Levie, K.; Siu, M.; Purkey, H. E.; Lyssikatos, J. P.; Gunawardana, I. W. Discovery of 7-Tetrahydropyran-2-Yl Chromans: β-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 (BACE1) Inhibitors That Reduce Amyloid β-Protein (Aβ) in the Central Nervous System. *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (3), 878–902. https://doi.org/10.1021/jm401635n.

30. Woltering, T. J.; Wostl, W.; Hilpert, H.; Rogers-Evans, M.; Pinard, E.; Mayweg, A.; Göbel, M.; Banner, D. W.; Benz, J.; Travagli, M.; Pollastrini, M.; Marconi, G.; Gabellieri, E.; Guba, W.; Mauser, H.; Andreini, M.; Jacobsen, H.; Power, E.; Narquizian, R. BACE1 Inhibitors: A Head Group Scan on a Series of Amides. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2013**, 23 (14), 4239–4243. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.05.003.

31. Wu, Y.-J.; Guernon, J.; Yang, F.; Snyder, L.; Shi, J.; Mcclure, A.; Rajamani, R.; Park, H.; Ng, A.; Lewis, H.; Chang, C.; Camac, D.; Toyn, J. H.; Ahlijanian, M. K.; Albright, C. F.; Macor, J. E.; Thompson, L. A. Targeting the BACE1 Active Site Flap Leads to a Potent Inhibitor That Elicits Robust Brain Aβ Reduction in Rodents. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, 7 (3), 271–276. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5b00432.

32. Yuan, J.; Venkatraman, S.; Zheng, Y.; McKeever, B. M.; Dillard, L. W.; Singh, S. B. Structure-Based Design of β-Site APP Cleaving Enzyme 1 (BACE1) Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J. Med. Chem.* **2013**, 56 (11), 4156–4180. https://doi.org/10.1021/jm301659n.

33. Johnson, T. W.; Richardson, P. F.; Bailey, S.; Brooun, A.; Burke, B. J.; Collins, M. R.; Cui, J. J.; Deal, J. G.; Deng, Y. L.; Dinh, D.; Engstrom, L. D.; He, M.; Hoffman, J.; Hoffman, R. L.; Huang, Q.; Kania, R. S.; Kath, J. C.; Lam, H.; Lam, J. L.; Le, P. T.; Lingardo, L.; Liu, W.; McTigue, M.; Palmer, C. L.; Sach, N. W.; Smeal, T.; Smith, G. L.; Stewart, A. E.; Timofeevski, S.; Zhu, H.; Zhu, J.; Zou, H. Y.; Edwards, M. P. Discovery of (10 R)-7-Amino-12-Fluoro-2,10,16-Trimethyl-15-Oxo-10,15,16,17- Tetrahydro- 2H -8,4-(Metheno)Pyrazolo[4,3- h][2,5,11]- Benzoxadiazacyclotetradecine-3-Carbonitrile (PF-06463922), a Macrocyclic Inhibitor of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) And . *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (11), 4720–4744. https://doi.org/10.1021/jm500261q.

34. Butler, C. R.; Brodney, M. A.; Beck, E. M.; Barreiro, G.; Nolan, C. E.; Pan, F.; Vajdos, F.; Parris, K.; Varghese, A. H.; Helal, C. J.; Lira, R.; Doran, S. D.; Riddell, D. R.; Buzon, L. M.; Dutra, J. K.; Martinez-Alsina, L. A.; Ogilvie, K.; Murray, J. C.; Young, J. M.; Atchison, K.; Robshaw, A.; Gonzales, C.; Wang, J.; Zhang, Y.; Oneill, B. T. Discovery of a Series of

Efficient, Centrally Efficacious Bace1 Inhibitors through Structure-Based Drug Design. *J. Med. Chem.* **2015**, 58 (6), 2678–2702. https://doi.org/10.1021/jm501833t.

35. Winneroski, L. L.; Schiffler, M. A.; Erickson, J. A.; May, P. C.; Monk, S. A.; Timm, D. E.; Audia, J. E.; Beck, J. P.; Boggs, L. N.; Borders, A. R.; Boyer, R. D.; Brier, R. A.; Hudziak, K. J.; Klimkowski, V. J.; Garcia Losada, P.; Mathes, B. M.; Stout, S. L.; Watson, B. M.; Mergott, D. J. Preparation and Biological Evaluation of Conformationally Constrained BACE1 Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem.* **2015**, 23 (13), 3260–3268. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.062.
36. Fujimoto, K.; Matsuoka, E.; Asada, N.; Tadano, G.; Yamamoto, T.; Nakahara, K.; Fuchino, K.; Ito, H.; Kanegawa, N.; Moechars, D.; Gijsen, H. J. M.; Kusakabe, K. Structure-Based Design of Selective β-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 (BACE1) Inhibitors: Targeting the Flap to Gain Selectivity over BACE2. *J. Med. Chem.* **2019**, 62 (10), 5080–5095. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00309.
37. Wu, Y. J.; Guernon, J.; Rajamani, R.; Toyn, J. H.; Ahlijanian, M. K.; Albright, C. F.; Muckelbauer, J.; Chang, C. Y.; Camac, D.; Macor, J. E.; Thompson, L. A. Discovery of Furo[2,3-d][1,3]Thiazinamines as Beta Amyloid Cleaving Enzyme-1 (BACE1) Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2016**, 26 (23), 5729–5731. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.10.055.
38. Qiu, R.; Ahn, J. E.; Alexander, R.; Brodney, M. A.; He, P.; Leurent, C.; Mancuso, J.; Margolin, R. A.; Tankisheva, E.; Chen, D.; Murphy, M. P. Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamic Effects of PF-06751979, a Potent and Selective Oral BACE1 Inhibitor: Results from Phase i Studies in Healthy Adults and Healthy Older Subjects. *Journal of Alzheimer's Disease*. IOS Press September 17, 2019, pp 581–595. https://doi.org/10.3233/JAD-190228.
39. Das, B.; Yan, R. A Close Look at BACE1 Inhibitors for Alzheimer's Disease Treatment. *CNS Drugs* **2019**, 33 (3), 251–263. https://doi.org/10.1007/s40263-019-00613-7.
40. Hansen, M. M.; Jarmer, D. J.; Arslantas, E.; DeBaillie, A. C.; Frederick, A. L.; Harding, M.; Hoard, D. W.; Hollister, A.; Huber, D.; Kolis, S. P.; Kuehne-Willmore, J. E.; Kull, T.; Laurila, M. E.; Linder, R. J.; Martin, T. J.; Martinelli, J. R.; McCulley, M. J.; Richey, R. N.; Starkey, D. R.; Ward, J. A.; Zaborenko, N.; Zweifel, T. Synthesis of BACE Inhibitor LY2886721. Part II. Isoxazolidines as Precursors to Chiral Aminothiazines, Selective Peptide Coupling, and a Controlled Reactive Crystallization. *Org. Process Res. Dev.* **2015**, 19 (9), 1214–1230. https://doi.org/10.1021/op500327t.
41. O'Neill, B. T.; Beck, E. M.; Butler, C. R.; Nolan, C. E.; Gonzales, C.; Zhang, L.; Doran, S. D.; Lapham, K.; Buzon, L. M.; Dutra, J. K.; Barreiro, G.; Hou, X.; Martinez-Alsina, L. A.;

Rogers, B. N.; Villalobos, A.; Murray, J. C.; Ogilvie, K.; LaChapelle, E. A.; Chang, C.; Lanyon, L. F.; Steppan, C. M.; Robshaw, A.; Hales, K.; Boucher, G. G.; Pandher, K.; Houle, C.; Ambroise, C. W.; Karanian, D.; Riddell, D.; Bales, K. R.; Brodney, M. A. Design and Synthesis of Clinical Candidate PF-06751979: A Potent, Brain Penetrant, β-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 (BACE1) Inhibitor Lacking Hypopigmentation. *J. Med. Chem.* **2018**, 61 (10), 4476–4504. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00246.

42. Mena-Barragán, T.; García-Moreno, M. I.; Nanba, E.; Higaki, K.; Concia, A. L.; Clapés, P.; García Fernández, J. M.; Ortiz Mellet, C. Inhibitor versus Chaperone Behaviour of D-Fagomine, DAB and LAB Sp2-Iminosugar Conjugates against Glycosidases: A Structure–Activity Relationship Study in Gaucher Fibroblasts. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 121, 880–891. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.08.038.

43. Fleet, G. W. J.; Toyooka, N.; Kinami, K.; Hoshino, M.; Minehira, D.; Adachi, I.; Kato, A. Strategy for Designing Selective α-L-Rhamnosidase Inhibitors: Synthesis and Biological Evaluation of L-DMDP Cyclic Isothioureas. *Bioorganic Med. Chem.* **2017**, 25 (1), 107–115. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.10.015.

44. Giraudo, A.; Krall, J.; Bavo, F.; Nielsen, B.; Kongstad, K. T.; Rolando, B.; De Blasio, R.; Gloriam, D. E.; Löffler, R.; Thiesen, L.; Harpsøe, K.; Frydenvang, K.; Boschi, D.; Wellendorph, P.; Lolli, M. L.; Jensen, A. A.; Frølund, B. Five-Membered N -Heterocyclic Scaffolds as Novel Amino Bioisosteres at γ-Aminobutyric Acid (GABA) Type A Receptors and GABA Transporters. *J. Med. Chem.* **2019**, 62 (12), 5797–5809. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00026.

45. Grembecka, J.; He, S.; Shi, A.; Purohit, T.; Muntean, A. G.; Sorenson, R. J.; Showalter, H. D.; Murai, M. J.; Belcher, A. M.; Hartley, T.; Hess, J. L.; Cierpicki, T. Menin-MLL Inhibitors Reverse Oncogenic Activity of MLL Fusion Proteins in Leukemia. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, 8 (3), 277–284. https://doi.org/10.1038/nchembio.773.

46. Shi, A.; Murai, M. J.; He, S.; Lund, G.; Hartley, T.; Purohit, T.; Reddy, G.; Chruszcz, M.; Grembecka, J.; Cierpicki, T. Structural Insights into Inhibition of the Bivalent Menin-MLL Interaction by Small Molecules in Leukemia. *Blood* **2012**, 120 (23), 4461–4469. https://doi.org/10.1182/blood-2012-05-429274.

47. Ohno, I.; Tomizawa, M.; Miyazu, N.; Kushibiki, G.; Noda, K.; Hasebe, Y.; Durkin, K. A.; Miyake, T.; Kagabu, S. Structural Features of Phenoxycarbonylimino Neonicotinoids Acting at the Insect Nicotinic Receptor. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2010**, 20 (19), 5933–5935. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.07.049.

48. Tomizawa, M.; Durkin, K. A.; Ohno, I.; Nagura, K.; Manabe, M.; Kumazawa, S.; Kagabu, S. N-Haloacetylimino Neonicotinoids: Potency and Molecular Recognition at the Insect

Nicotinic Receptor. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2011**, 21 (12), 3583–3586. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.04.107.

49. Bhargava, K. K.; Lee, M. H.; Cunningham, L. S.; Agrawal, K. C.; Sartorelli, A. C.; Huang, Y. M. Tetramisole Analogs as Inhibitors of Alkaline Phosphatase, an Enzyme Involved in the Resistance of Neoplastic Cells to 6-Thiopurines. *J. Med. Chem.* **1977**, 20 (4), 563–566. https://doi.org/10.1021/jm00214a021.
50. Moreno, A.; Pérez, S.; Galiano, S.; Juanenea, L.; Erviti, O.; Frígola, C.; Aldana, I.; Monge, A. Synthesis and Evaluation of New Arylsulfonamidomethylcyclohexyl Derivatives as Human Neuropeptide Y Y 5 Receptor Antagonists for the Treatment of Obesity. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39 (1), 49–58. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2003.10.001.
51. Chiara, J. L.; Storch de Gracia, I.; García, Á.; Bastida, Á.; Bobo, S.; Martín-Ortega, M. D. Synthesis, Inhibition Properties, and Theoretical Study of the New Nanomolar Trehalase Inhibitor 1-Thiatrehazolin: Towards a Structural Understanding of Trehazolin Inhibition. *ChemBioChem* **2005**, 6 (1), 186–191. https://doi.org/10.1002/cbic.200400231.
52. Benavides-Serrato, A.; Lee, J.; Holmes, B.; Landon, K. A.; Bashir, T.; Jung, M. E.; Lichtenstein, A.; Gera, J. Correction: Specific Blockade of Rictor-MTOR Association Inhibits MTORC2 Activity and Is Cytotoxic in Glioblastoma (PLoS One (2017) 12:4 (E0176599) DOI: 10.1371/Journal.Pone.0176599). *PLoS One* **2019**, 14 (2), 1–20. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212160.
53. Sun, Z. Y.; Zhu, Z.; Ye, Y.; McKittrick, B.; Czarniecki, M.; Greenlee, W.; Mullins, D.; Guzzi, M. Discovery and SAR of Cyclic Isothioureas as Novel NPY Y1 Receptor Antagonists. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2009**, 19 (23), 6801–6805. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.09.048.
54. Kai, H.; Morioka, Y.; Murashi, T.; Morita, K.; Shinonome, S.; Nakazato, H.; Kawamoto, K.; Hanasaki, K.; Takahashi, F.; Mihara, S. ichi; Arai, T.; Abe, K.; Okabe, H.; Baba, T.; Yoshikawa, T.; Takenaka, H. 2-Arylimino-5,6-Dihydro-4H-1,3-Thiazines as a New Class of Cannabinoid Receptor Agonists. Part 1: Discovery of CB2 Receptor Selective Compounds. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2007**, 17 (14), 4030–4034. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.04.093.
55. Kai, H.; Morioka, Y.; Tomida, M.; Takahashi, T.; Hattori, M.; Hanasaki, K.; Koike, K.; Chiba, H.; Shinohara, S.; Kanemasa, T.; Iwamoto, Y.; Takahashi, K.; Yamaguchi, Y.; Baba, T.; Yoshikawa, T.; Takenaka, H. 2-Arylimino-5,6-Dihydro-4H-1,3-Thiazines as a New Class of Cannabinoid Receptor Agonists. Part 2: Orally Bioavailable Compounds. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2007**, 17 (14), 3925–3929. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.04.099.

56. Arns, S.; Balgi, A. D.; Shimizu, Y.; Pfeifer, T. A.; Kumar, N.; Shidmoossavee, F. S.; Sun, S.; Tai, S. S.-H.; Agafitei, O.; Jaquith, J. B.; Bourque, E.; Niikura, M.; Roberge, M. Novel Spirothiazamenthane Inhibitors of the Influenza A M2 Proton Channel. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 120, 64–73. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.05.008.

57. Carroll King, L.; Subluskey, L. A.; Stern, E. W. The Reactions of Terpenes with Thiourea and Acid. II. Preparation, Properties, and Evidence for the Structure of 1(S),8(N)-p-Menthyieneisothiourea, a New Ring System. *J. Org. Chem.* **1956**, 21 (11), 1232–1236. https://doi.org/10.1021/jo01117a008.

58. Makhaeva, G. F.; Boltneva, N. P.; Lushchekina, S. V.; Serebryakova, O. G.; Stupina, T. S.; Terentiev, A. A.; Serkov, I. V.; Proshin, A. N.; Bachurin, S. O.; Richardson, R. J. Synthesis, Molecular Docking and Biological Evaluation of N,N-Disubstituted 2-Aminothiazolines as a New Class of Butyrylcholinesterase and Carboxylesterase Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem.* **2016**, 24 (5), 1050–1062. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.01.031.

59. Hikida, M.; Itahashi, K.; Igarashi, A.; Shiba, T.; Kitamura, M. In Vitro Antibacterial Activity of LJC 11,036, an Active Metabolite of L-084, a New Oral Carbapenem Antibiotic with Potent Antipneumococcal Activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43 (8), 2010–2016. https://doi.org/10.1128/AAC.43.8.2010.

60. Isoda, T.; Ushirogochi, H.; Satoh, K.; Takasaki, T.; Yamamura, I.; Sato, C.; Mihira, A.; Abe, T.; Tamai, S.; Yamamoto, S.; Kumagai, T.; Nagao, Y. Syntheses and Pharmacokinetic Studies of Prodrug Esters for the Development of Oral Carbapenem, L-084. *J. Antibiot. (Tokyo).* **2006**, 59 (4), 241–247. https://doi.org/10.1038/ja.2006.34.

61. Jain, A.; Utley, L.; Parr, T. R.; Zabawa, T.; Pucci, M. J. Tebipenem, the First Oral Carbapenem Antibiotic. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* **2018**, 16 (7), 513–522. https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1496821.

62. Cambia, R. C.; Lee, H. H.; Rutledge, P. S.; Woodgate, P. D. Vic-Iodothiocyanates and Iodoisothiocyanates. Part 2. New Syntheses of Thiazolidin-2-Ones and 2-Amino-2-Thiazolines. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1979**, No. 0, 765. https://doi.org/10.1039/p19790000765.

63. Smolanka, I. V; Man'o, N. P. No Title. *Ukr. Khim. Zh.* **1968**, 34, 700.

64. Trofimova, T. P.; Pushin, A. N.; Proshin, A. N.; Stash, A. I.; Mandrugin, A. A.; Fedoseev, V. M.; Proskuryakov, S. Y. Synthesis of New 2-Amino-5-Hydroxymethyl-2-Thiazolines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2007**, 43 (3), 370–376. https://doi.org/10.1007/s10593-007-0054-5.

65. Buchanan, J. G.; Diggle, R. A.; Ruggiero, G. D.; Williams, I. H. The Walden Cycle Revisited: A Computational Study of Competitive Ring Closure to α- and β-Lactones.

Chem. Commun. **2006**, No. 10, 1106–1108. https://doi.org/10.1039/b517461a.

66. Lebel, H.; Leogane, O. Boc-Protected Amines via a Mild and Efficient One-Pot Curtius Rearrangement. *Org. Lett.* **2005**, 7 (19), 4107–4110. https://doi.org/10.1021/ol051428b.
67. Sahu, S.; Rani Sahoo, P.; Patel, S.; Mishra, B. K. Oxidation of Thiourea and Substituted Thioureas: A Review. *Journal of Sulfur Chemistry*. Taylor & Francis April 2011, pp 171–197. https://doi.org/10.1080/17415993.2010.550294.
68. Sasaki, T.; Eguchi, S.; Toru, T. Synthesis of Adamantane Derivatives. XII. the Schmidt Reaction of Adamantan-2-One. *J. Org. Chem.* **1970**, 35 (12), 4109–4114. https://doi.org/10.1021/jo00837a004.
69. Hassner, A.; Morgan, T. K.; McLaughlin, A. R. Transannular Reactions of Substituted Bicyclo[3.3.1]Nonane-3-Endo-Carbonitriles: Synthesis of Bifunctional 4-Azahomoadamantanes. *J. Org. Chem.* **1979**, 44 (12), 1999–2004. https://doi.org/10.1021/jo01326a023.
70. Zotov, A. Y.; Palyulin, V. A.; Zefirov, N. S. RICON - The Computer Program for the Quantitative Investigations of Cyclic Organic Molecule Conformations. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1997**, 37 (4), 766–773. https://doi.org/10.1021/ci960115f.
71. Nekrasov, D. D. Synthesis and Chemical Transformations of Mono- and Disubstituted Cyanamides. *Russian Journal of Organic Chemistry*. Springer October 2004, pp 1387–1402. https://doi.org/10.1007/s11178-005-0030-4.
72. Kumar, B.; Kumar, R.; Skvortsova, I.; Kumar, V. Mechanisms of Tubulin Binding Ligands to Target Cancer Cells: Updates on Their Therapeutic Potential and Clinical Trials. *Curr. Cancer Drug Targets* **2017**, 17 (4), 357—375. https://doi.org/10.2174/1568009616666160928110818.
73. Stanton, R. A.; Gernert, K. M.; Nettles, J. H.; Aneja, R. Drugs That Target Dynamic Microtubules: A New Molecular Perspective. *Med. Res. Rev.* **2011**, 31 (3), 443–481. https://doi.org/10.1002/med.20242.
74. Cheng, Z.; Lu, X.; Feng, B. A Review of Research Progress of Antitumor Drugs Based on Tubulin Targets. *Transl. Cancer Res.* **2020**, 9 (6), 4020–4027. https://doi.org/10.21037/tcr-20-682.
75. Steinmetz, M. O.; Prota, A. E. Microtubule-Targeting Agents: Strategies To Hijack the Cytoskeleton. *Trends Cell Biol.* **2018**, 28 (10), 776–792. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.05.001.
76. Islam, M. N.; Iskander, M. N. Microtubulin Binding Sites as Target for Developing Anticancer Agents. *Mini Rev. Med. Chem.* **2004**, 4 (10), 1077—1104. https://doi.org/10.2174/1389557043402946.

77. Liu, Y.-M.; Chen, H.-L.; Lee, H.-Y.; Liou, J.-P. Tubulin Inhibitors: A Patent Review. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2014**, 24 (1), 69—88. https://doi.org/10.1517/13543776.2014.859247.
78. Dorléans, A.; Gigant, B.; Ravelli, R.; Mailliet, P.; Mikol, V.; Knossow, M. Variations in the Colchicine-Binding Domain Provide Insight into the Structural Switch of Tubulin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, 106, 13775–13779.
79. Barbier, P.; Dorléans, A.; Devred, F.; Sanz, L.; Allegro, D.; Alfonso, C.; Knossow, M.; Peyrot, V.; Andreu, J. Stathmin and Interfacial Microtubule Inhibitors Recognize a Naturally Curved Conformation of Tubulin Dimers*. *J. Biol. Chem.* **2010**, 285, 31672–31681.
80. Wang, Y.; Zhang, H.; Gigant, B.; Yu, Y.; Wu, Y.; Chen, X.; Lai, Q.; Yang, Z.; Chen, Q.; Yang, J. Structures of a Diverse Set of Colchicine Binding Site Inhibitors in Complex with Tubulin Provide a Rationale for Drug Discovery. *FEBS J.* **2016**, 283 (1), 102—111. https://doi.org/10.1111/febs.13555.
81. Howard, H. J. EP1209157A1. Heteroarylamino and Heteroarylsulfonamido Substituted 3-Benzylaminomethyl Piperidines and Related Compounds, 2002.
82. Palma, C.; Bigioni, M.; Irrissuto, C.; Nardelli, F.; Maggi, C. A.; Manzini, S. Anti-Tumour Activity of Tachykinin NK1 Receptor Antagonists on Human Glioma U373 MG Xenograft. *Br. J. Cancer* **2000**, 82 (2), 480–487. https://doi.org/10.1054/bjoc.1999.0946.
83. Muñoz, M.; Coveñas, R. Neurokinin-1 Receptor Antagonists as Anticancer Drugs. *Lett. Drug Des. Discov.* **2019**, 16 (10), 1110–1129. https://doi.org/10.2174/1570180816666190221091955.
84. Shah, Z.; Gohar, U. F.; Jamshed, I.; Mushtaq, A.; Mukhtar, H.; Zia-UI-Haq, M.; Toma, S. I.; Manea, R.; Moga, M.; Popovici, B. Podophyllotoxin: History, Recent Advances and Future Prospects. *Biomolecules* **2021**, 11 (4), 603. https://doi.org/10.3390/biom11040603.
85. Gracheva, I. A.; Shchegravina, E. S.; Schmalz, H.-G.; Beletskaya, I. P.; Fedorov, A. Y. Colchicine Alkaloids and Synthetic Analogues: Current Progress and Perspectives. *J. Med. Chem.* **2020**, 63 (19), 10618–10651. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00222.
86. Wu, G.-R.; Xu, B.; Yang, Y.-Q.; Zhang, X.-Y.; Fang, K.; Ma, T.; Wang, H.; Xue, N.-N.; Chen, M.; Guo, W.-B.; Jia, X.-H.; Wang, P.-L.; Lei, H.-M. Synthesis and Biological Evaluation of Podophyllotoxin Derivatives as Selective Antitumor Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 155, 183–196. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.052.
87. Han, H.-W.; Lin, H.-Y.; He, D.-L.; Ren, Y.; Sun, W.-X.; Liang, L.; Du, M.-H.; Li, D.-C.; Chu, Y.-C.; Yang, M.-K.; Wang, X.-M.; Yang, Y.-H. Novel Podophyllotoxin Derivatives as Potential Tubulin Inhibitors: Design, Synthesis, and Antiproliferative Activity Evaluation. *Chem. Biodivers.* **2018**, 15 (11), e1800289.

https://doi.org/10.1002/cbdv.201800289.

88. Hu, C.; Zhu, X.; Wang, G.-H.; Wu, X.; Han, H.-W.; Lu, G.-H.; Qi, J.-L.; Pang, Y.-J.; Yang, R.-W.; Wang, X.-M.; Yang, Y.-H. Design, Synthesis and Anti-Cancer Evaluation of Novel Podophyllotoxin Derivatives as Potent Tubulin-Targeting Agents. *Med. Chem. Res.* **2018**, 27 (2), 351–365. https://doi.org/10.1007/s00044-017-1992-9.

89. Larocque, K.; Ovadje, P.; Djurdjevic, S.; Mehdi, M.; Green, J.; Pandey, S. Novel Analogue of Colchicine Induces Selective Pro-Death Autophagy and Necrosis in Human Cancer Cells. *PLoS One* **2014**, 9 (1), e87064. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087064.

90. Krzywik, J.; Nasulewicz-Goldeman, A.; Mozga, W.; Wietrzyk, J.; Huczyński, A. Novel Double-Modified Colchicine Derivatives Bearing 1,2,3-Triazole: Design, Synthesis, and Biological Activity Evaluation. *ACS Omega* **2021**, 6 (40), 26583–26600. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03948.

91. Zefirova, O. N.; Nurieva, E. V.; Wobith, B.; Schulz, S.; Zefirov, N. A.; Kuznetsov, S. A. Novel Colchicine Conjugate with Unusual Effect on the Microtubules of Cancer Cells. *Pure Appl. Chem.* **2020**, 92 (8), 1217–1226. https://doi.org/10.1515/pac-2019-1215.

92. Nicolaus, N.; Zapke, J.; Riesterer, P.; Neudörfl, J.-M.; Prokop, A.; Oschkinat, H.; Schmalz, H.-G. Azides Derived from Colchicine and Their Use in Library Synthesis: A Practical Entry to New Bioactive Derivatives of an Old Natural Drug. *ChemMedChem* **2010**, 5 (5), 661–665. https://doi.org/10.1002/cmdc.201000063.

93. Thomopoulou, P.; Sachs, J.; Teusch, N.; Mariappan, A.; Gopalakrishnan, J.; Schmalz, H.-G. New Colchicine-Derived Triazoles and Their Influence on Cytotoxicity and Microtubule Morphology. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, 7 (2), 188–191. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5b00418.

94. Nurieva, E. V.; Zefirov, N. A.; Temnyakova, N. S.; Kuznetsov, S. A.; Zefirova, O. N. C(7)-Derivatives of Colchicine with Guanosine and Biphenyl Moieties: Molecular Modeling, Synthesis, and Tubulin Clustering Effect in Cancer Cells. *Russ. Chem. Bull.* **2020**, 69 (11), 2222–2227. https://doi.org/10.1007/s11172-020-3025-y.

95. Kim, S.-K.; Cho, S.-M.; Kim, H.; Seok, H.; Kim, S.-O.; Kyu Kwon, T.; Chang, J.-S. The Colchicine Derivative CT20126 Shows a Novel Microtubule-Modulating Activity with Apoptosis. *Exp. Mol. Med.* **2013**, 45 (4), e19–e19. https://doi.org/10.1038/emm.2013.38.

96. Zefirov, N. A.; Gadert, L.; Fatkulin, A. R.; Shibilev, V. M.; Butov, G. M.; Mokhov, V. M.; Kuznetsov, S. A.; Zefirova, O. N. Tubuloclustin Analogues with Ether Moiety: Synthesis and Evaluation of Tubulin Clustering and Antimitotic Activity in Cancer Cells. *Mendeleev Commun.* **2020**, 30 (1), 106–108. https://doi.org/10.1016/j.mencom.2020.01.035.

97. Zefirov, N. A.; Evteeva, Y. A.; Wobith, B.; Kuznetsov, S. A.; Zefirova, O. N. Adamantyl-

Substituted Ligands of Colchicine Binding Site in Tubulin: Different Effects on Microtubule Network in Cancer Cells. *Struct. Chem.* **2019**, 30 (2), 465–471. https://doi.org/10.1007/s11224-018-1219-9.

98. Cambie, R. C.; Lee, H. H.; Rutledge, P. S.; Woodgate, P. D. Vic-Iodothiocyanates and Iodoisothiocyanates. Part 1. Preparation and Isomerization. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1979**, 757. https://doi.org/10.1039/p19790000757.
99. Cambie, R. C.; Mayer, G. D.; Rutledge, P. S.; Woodgate, P. D. Vic-Iodothiocyanates and Iodoisothiocyanates. Part 5. Reactions of Iodoisothiocyanates with Sulphur Nucleophiles. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1981**, 52. https://doi.org/10.1039/p19810000052.
100. Nain Singh, K.; Singh, P.; Kaur, A. 4,5-Dihydrothiazoline—A New Protecting and Activating Group for Generation of A-Aminocarbanions of Secondary Amines. *Synth. Commun.* **2006**, 36 (22), 3339–3343. https://doi.org/10.1080/00397910600941331.
101. WHITTINGHAM, DAVID J, ; MCKAY, A. F. Rubber Accelerators. US2881169 (A), 1958.
102. Bagnato, J. D.; Eilers, A. L.; Horton, R. A.; Grissom, C. B. Synthesis and Characterization of a Cobalamin−Colchicine Conjugate as a Novel Tumor-Targeted Cytotoxin. *J. Org. Chem.* **2004**, 69 (26), 8987–8996. https://doi.org/10.1021/jo049953w.
103. Kalinina, M. A.; Skvortsov, D. A.; Rubtsova, M. P.; Komarova, E. S.; Dontsova, O. A. Cytotoxicity Test Based on Human Cells Labeled with Fluorescent Proteins: Fluorimetry, Photography, and Scanning for High-Throughput Assay. *Mol. Imaging Biol.* **2018**, 20 (3), 368–377. https://doi.org/10.1007/s11307-017-1152-0.
104. Nurieva, E. V.; Zefirov, N. A.; Fritsch, N.; Milaeva, E. R.; Kuznetsov, S. A.; Zefirova, O. N. Molecular Design and Synthesis of New Heterobivalent Compounds Based on Chlorambucil and Colchicine. *Mendeleev Commun.* **2020**, 30 (6), 706–708. https://doi.org/10.1016/j.mencom.2020.11.005.
105. Greig, N. H.; Utsuki, T.; Yu, Q.; Zhu, X.; Holloway, H. W.; Perry, T.; Lee, B.; Ingram, D. K.; Lahiri, D. K. A New Therapeutic Target in Alzheimer's Disease Treatment: Attention to Butyrylcholinesterase. *Curr. Med. Res. Opin.* **2001**, 17 (3), 159–165. https://doi.org/10.1185/0300799039117057.
106. Greig, N. H.; Lahiri, D. K.; Sambamurti, K. Butyrylcholinesterase: An Important New Target in Alzheimer's Disease Therapy. *Int. Psychogeriatrics* **2002**, 14 (S1), 77–91. https://doi.org/10.1017/S1041610203008676.
107. Darvesh, S. Butyrylcholinesterase as a Diagnostic and Therapeutic Target for Alzheimer's Disease. *Curr. Alzheimer Res.* **2016**, 13 (10), 1173–1177. https://doi.org/10.2174/1567205013666160404120542.

108. Andrisano, V.; Naldi, M.; De Simone, A.; Bartolini, M. A Patent Review of Butyrylcholinesterase Inhibitors and Reactivators 2010–2017. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2018**, 28 (6), 455–465. https://doi.org/10.1080/13543776.2018.1476494.

109. Meden, A.; Knez, D.; Malikowska-Racia, N.; Brazzolotto, X.; Nachon, F.; Svete, J.; Sałat, K.; Grošelj, U.; Gobec, S. Structure-Activity Relationship Study of Tryptophan-Based Butyrylcholinesterase Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 208, 112766. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112766.

110. Nordberg, A.; Ballard, C.; Bullock, R.; Darreh-Shori, T.; Somogyi, M. A Review of Butyrylcholinesterase as a Therapeutic Target in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Prim. Care Companion CNS Disord.* **2013**, 15 (2). https://doi.org/10.4088/PCC.12r01412.

111. Greig, N. H.; Utsuki, T.; Ingram, D. K.; Wang, Y.; Pepeu, G.; Scali, C.; Yu, Q.-S.; Mamczarz, J.; Holloway, H. W.; Giordano, T.; Chen, D.; Furukawa, K.; Sambamurti, K.; Brossi, A.; Lahiri, D. K. Selective Butyrylcholinesterase Inhibition Elevates Brain Acetylcholine, Augments Learning and Lowers Alzheimer β-Amyloid Peptide in Rodent. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, 102 (47), 17213–17218. https://doi.org/10.1073/pnas.0508575102.

112. King, F. D. *Medicinal Chemistry: Principles and Practice, 2nd Edition*; Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry, 2002.

113. Rideau, E.; You, H.; Sidera, M.; Claridge, T. D. W.; Fletcher, S. P. Mechanistic Studies on a Cu-Catalyzed Asymmetric Allylic Alkylation with Cyclic Racemic Starting Materials. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139 (15), 5614–5624. https://doi.org/10.1021/jacs.7b02440.

114. Banerjee, D.; Junge, K.; Beller, M. A General Catalytic Hydroamidation of 1,3-Dienes: Atom-Efficient Synthesis of N -Allyl Heterocycles, Amides, and Sulfonamides. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, 53 (6), 1630–1635. https://doi.org/10.1002/anie.201308874.

115. Rueping, M.; Vila, C.; Uria, U. Direct Catalytic Azidation of Allylic Alcohols. *Org. Lett.* **2012**, 14 (3), 768–771. https://doi.org/10.1021/ol203310h.

116. Murahashi, S.; Taniguchi, Y.; Imada, Y.; Tanigawa, Y. Palladium(0)-Catalyzed Azidation of Allyl Esters. Selective Synthesis of Allyl Azides, Primary Allylamines, and Related Compounds. *J. Org. Chem.* **1989**, 54 (14), 3292–3303. https://doi.org/10.1021/jo00275a011.

117. Kapferer, P.; Vasella, A. Electrophilic Bromination OfN-Acylated Cyclohex-3-En-1-Amines: Synthesis of 7-Azanorbornanes. *Helv. Chim. Acta* **2004**, 87 (11), 2764–2789. https://doi.org/10.1002/hlca.200490249.

118. Marco-Contelles, J.; Soriano, E.; Gómez-Sánchez, E.; Valderas, C.; Álvarez-Pérez, M.; Samadi, A. Synthesis of New 7-Azabicyclo[2.2.1]Heptane Derivatives. *Arkivoc* **2009**, 2010

(3), 56–73. https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0011.307.

119. Faulkner, D.; McKervey, M. A. The π-Route to Substituted Adamantanes. Part I. *J. Chem. Soc. C Org. Chem.* **1971**, No. 0, 3906–3910. https://doi.org/10.1039/J39710003906.

120. Wnuk, T. A.; Tonnis, J. A.; Dolan, M. J.; Padegimas, S. J.; Kovacic, P. Adamantanes and Related Compounds. XII. Diazotization of Endo-7-Aminomethylbicyclo[3.3.1]Nonan-3-Ols and Endo-7-Aminomethylbicyclo[3.3.1]Non-2-Ene. *J. Org. Chem.* **1975**, 40 (4), 444–449. https://doi.org/10.1021/jo00892a014.

121. Cheng, C.; Sun, J.; Xing, L.; Xu, J.; Wang, X.; Hu, Y. Highly Chemoselective Pd−C Catalytic Hydrodechlorination Leading to the Highly Efficient *N* -Debenzylation of Benzylamines. *J. Org. Chem.* **2009**, 74 (15), 5671–5674. https://doi.org/10.1021/jo9007282.

122. Maheswara Rao, B. L.; Nowshuddin, S.; Jha, A.; Divi, M. K.; Rao, M. N. A. New Reagent for the Introduction of Boc Protecting Group to Amines: Boc-OASUD. *Synth. Commun.* **2017**, 47 (22), 2127–2132. https://doi.org/10.1080/00397911.2017.1366525.

123. Mulliez, M. Etude d'un Schema de Synthese Peptidique Intramoleculaire a l'aide de Derives Du Phosphore Tetraedrique. *Tetrahedron* **1981**, 37 (10), 2027–2041. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)97957-8.

124. Chen, N.; Jia, W.; Xu, J. A Versatile Synthesis of Various Substituted Taurines from Vicinal Amino Alcohols and Aziridines. *European J. Org. Chem.* **2009**, 2009 (33), 5841–5846. https://doi.org/10.1002/ejoc.200900759.