

DERIVADOS DE MONASTROL A PARTIR DE β -CETOÉSTERES LIPOFÍLICOS POR LA REACCIÓN DE BIGINELLI

Aguilera Palacios, Edna Ximena

Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas "Dr. Jorge J. Ronco", Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, calle 47 N° 257, 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina / Colombia.

ednaaguilera@quimica.unlp.edu.ar

RESUMEN: Las dihidropiridinas DHPMs son compuestos heterocíclicos de gran interés en la industria farmacológica por poseer múltiple actividad biológica en el tratamiento de diferentes enfermedades en especial contra el cáncer. La síntesis clásica se lleva a cabo mediante la reacción de Biginelli, sin embargo, nuevas estrategias se han estudiado modificando los compuestos de partida con el propósito de mejorar su eficiencia y minimizar su impacto ambiental. Una de las alternativas que ha sido poco explorada consiste en la modificación estructural de la molécula del monastrol a través de hibridación molecular o mediante un incremento en la lipofilidad; en esta revisión corta se abordará algunas de las investigaciones que se han llevado a cabo desde compuestos de cadena larga demostrado que al aumentar la lipofilidad tienen mayor actividad farmacológica.

PALABRAS CLAVE: Derivados, monastrol, β -cetoésteres, lipofílicos, Reacción de Biginelli.

MONASTROL DERIVATIVES FROM LIPOPHILIC β -KETOESTERS BY THE BIGINELLI REACTION

ABSTRACT: The dihydropyridines DHPMs are heterocyclic compounds of great interest in the pharmacological industry because they have multiple biological activity in the treatment of different diseases, especially against cancer. The classical synthesis is carried out through the Biginelli reaction, however, new strategies have been studied by modifying the starting compounds in order to improve their efficiency and minimize their environmental impact. One of the alternatives that has been little explored consists of the structural modification of the monastrol molecule through molecular hybridization or through an increase in lipophilicity; this short review will address some of the research that has been carried out since long chain compounds have shown that by increasing lipophilicity they have greater pharmacological activity.

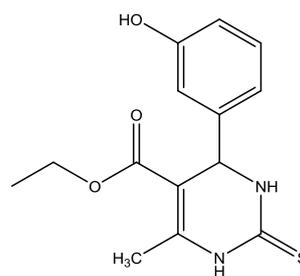
KEYWORDS: Derivatives, monastrol, β -ketoesters, lipophilic, Biginelli reaction.

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda por encontrar moléculas biológicamente activas, se ha encontrado que la familia de heterociclos constituida por las pirimidinas y sus derivados ha suscitado gran interés a nivel farmacológico [1-4]. La amplia variedad de aplicaciones como agentes terapéuticos en la actividad antidiabética ha sido evidenciada en el tratamiento de la diabetes mellitus o diabetes tipo 2 (DM2), una enfermedad metabólica crónica insulino dependiente caracterizada por un metabolismo anormal de los carbohidratos en el que se presenta un elevado nivel de glucosa en sangre [5-6]; además, a estos compuestos se les atribuye propiedades antimicrobianas [7], anti-inflamatorias, antioxidantes [8], antipalúdicas [9-11], antituberculosas, antehelmínticas [10], anti-VIH [12,13], anticancerígenas [14-19], actividad antilarvica [10] y como bloqueadores de los canales de calcio [18,20]. A las 3,4-dihidropirimidin-2 (1H)-onas (DHPMs) también se les han atribuido propiedades para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares tales como la hipertensión y la angina [21].

Es por ello que en la actualidad, las investigaciones científicas se han dirigido al desarrollo de nuevas moléculas análogas al Monastrol, el compuesto más simple de las pirimidin-2-tionas a la cual se le atribuyen

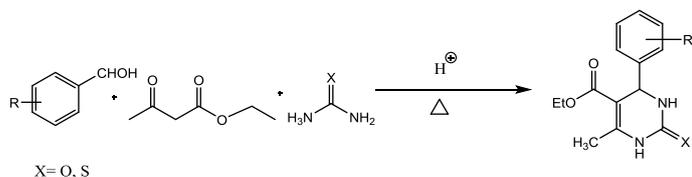
propiedades para ser empleada en el tratamiento del cáncer debido a que inhibe la proteína motora mitótica kinesina Eg5 (KSP) [14,22-24] con la estructura química que se muestra en la Figura 1. Otras de las DHMPs de gran importancia que han sido estudiadas por poseer actividad biológica son el piperastrol, enastron, dimetilenastron [25-28], fluoratrol [15,29], nitractina [20,30-31], nitrendipina [32,33], batzeladina [34] y otras moléculas asociadas con ellos.



Monastrol

Figura 1 - Estructura química del monastrol.

Dentro de este grupo de compuestos cíclicos, destacan las 3,4-dihidropirimidinas-2 (1H) -onas (tionas), cuya ruta sintética fue descubierta por el italiano Pietro Biginelli (1893); se trata de una reacción multicomponente que involucra como compuestos de partida un aldehído, un compuesto de β -dicarbonilo y urea o tiourea como se ve en el esquema 1[35- 37].



Esquema 1 - Reacción convencional de Biginelli.

La reacción de Biginelli ha sufrido muchos cambios en relación con las condiciones originalmente utilizadas. Estas variaciones fueron necesarias teniendo en cuenta las limitaciones de la síntesis inicial, como largos tiempos de reflujo, drásticas condiciones de reacción con el uso de HCl concentrado, disolventes tóxicos y bajos rendimientos [35]. Por consiguiente se han aplicado métodos de síntesis relacionados con los principios de la química verde y para reducir el uso de sustancias que contaminan el medio ambiente incluso en ausencia de solvente; esto ha sido posible combinando tres o más reactivos en un solo recipiente para obtener un producto en cuya molécula se encuentre la mayoría de los átomos de los sustratos a través de lo que se conoce en química orgánica como reacciones multicomponente (MCR). El objetivo de este modelo de reacción es asemejarse a las síntesis ideales en cuanto a lograr economía atómica, selectividad, procedimientos y equipos sencillos, periodos y ahorro de energía, así como un bajo impacto ambiental.

En los últimos años, estos problemas se han superado utilizando varios ácidos de Bronsted-Lowry y Lewis como catalizadores, procedimientos sin disolventes [38], nuevas fuentes de calor como microondas [39], sonicación, luz ultravioleta [40] y protocolos de irradiación solar [41] que reducen los tiempos de reacción, aumentan los rendimientos y, en general, se ajustan a los criterios de la química verde [21,42-43]. Además, una gran variedad de sustancias de naturaleza no ácida, como líquidos iónicos [44,45], nanografenos [46], grafito [5], complejos metálicos del Grupo IV[20], catalizadores quirales [35] e incluso levaduras han sido reportadas como catalizadores en este tipo de reacciones[47].

En la búsqueda de nuevos fármacos existen varias alternativas, el objetivo principal consiste en la modificación estructural de moléculas de un fármaco con actividad biológica comprobada a través de hibridación molecular o mediante un incremento en la lipofiliidad.

En esta revisión corta se abordará algunas de las investigaciones que se han llevado a cabo con el objeto de aumentar la lipofiliidad de estos compuestos con el empleo de compuestos de cadena larga, ya que se ha demostrado que al aumentar la lipofiliidad y por ende su polaridad tienen mayor actividad farmacológica debido a la ruta metabólica que siguen en el organismo.

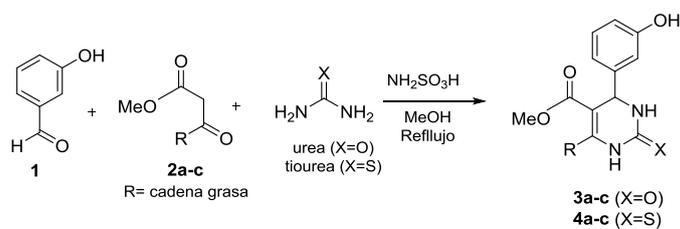
DISCUSIÓN

Recientemente, Franciele S. De Oliveira *et al.*[48], sintetizaron nuevos análogos a monastrol y oxo-monastrol sustituidos en C6 mediante la condensación multicomponente de Biginelli a partir de un β -cetoéster graso utilizando ácido sulfámico como catalizador y luego fueron evaluados en la actividad antitumoral *in vitro* contra células de

glioblastoma de rata. Aunque todo mostraron una buena actividad, se registró una actividad superior empleando los análogos derivados de las cadenas de los ácidos grasos palmítico y esteárico; estos compuestos fueron las moléculas más potentes, mostrando una potencia 13 veces mayor que el monastrol con valores de Cl_{50} (la mitad de la concentración inhibitoria máxima) de 5,11 y 6,85 μ M.

Inicialmente, como control positivo se sintetizó el monastrol usando como catalizador $InCl_3$ y enseguida se sintetizó un análogo oxo-monastrol sustituido en C5- derivado de la cadena palmítica con buenos rendimientos a partir del acetoacetato palmítico.

Posteriormente, los nuevos análogos de monastrol alquil grasos sustituidos en C6- se sintetizaron utilizando el protocolo multicomponente de Biginelli. Inicialmente, los β -cetoésteres grasos 2a-c derivados de los ácidos palmítico (C16: 0), esteárico (C18: 0) u oleico (cis-C18:1) se obtuvieron por acilación del ácido Meldrum (2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona), seguido de metanolisis. A continuación, los análogos oxo-monastrol- y monastrol-ácido graso 6-sustituido 2a-c se sintetizaron a partir de urea o tiourea, respectivamente, β -cetoésteres 4a-c y 3-hidroxi-benzaldehído (1), en condiciones libres de metales utilizando ácido sulfámico como catalizador como se puede observar en el esquema 2.

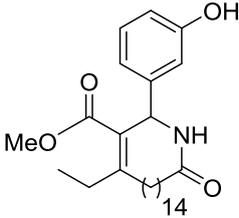
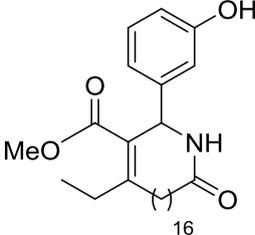
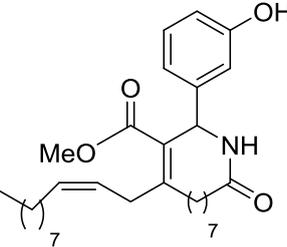
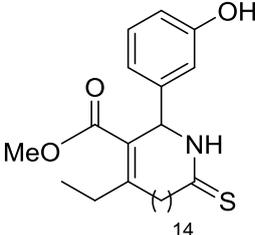
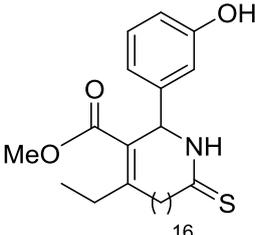
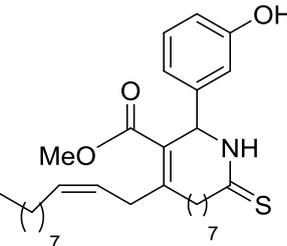


Esquema 2 - Síntesis multicomponente de nuevas DHPM-ácidos grasos 3a-c y 4a-c

En este trabajo describió la síntesis de nuevos análogos de ácidos grasos monastrol y oxo-monastrol sustituidos con C6 de familias de ácidos grasos con rendimientos entre 60-85% como se puede apreciar en la tabla 1. Se observa que el compuesto que se obtuvo con el mayor rendimiento fue se alcanzó cuando se empleó el β -cetoéster derivado del ácido esteárico, los autores de la investigación atribuyen que el aumento de la lipofiliidad podría contribuir a una mejor inhibición de Eg5 debido al mejoramiento en el transporte de moléculas a través de las barreras biológicas mediante procesos activos mediados por proteínas de unión a ácidos grasos (FABP).

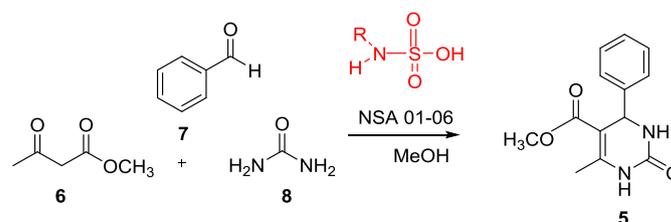
En otro trabajo realizado del mismo año por Carolina R. L. Hack *et al.* [49], se sintetizaron derivados del ácido sulfámico *N*-alquilado (NSA) como organocatalizadores ácidos prometedores con una acidez adecuada y una síntesis fácil. Los nuevos organocatalizadores derivados de diferentes compuestos nitrogenados (aminas, quitosano, urea y tiourea) se aplicaron en reacciones multicomponente para sintetizar varias dihidropirimidinonas (DHPM) en condiciones de reflujo y presencia de metanol; inicialmente, la reacción de Biginelli se llevó a cabo haciendo reaccionar acetoacetato de metilo, benzaldehído y urea en presencia de 10% en moles de SA como patrón.

Tabla 1 - Rendimientos de nuevos análogos de ácidos grasos oxo-monastrol y monastrol

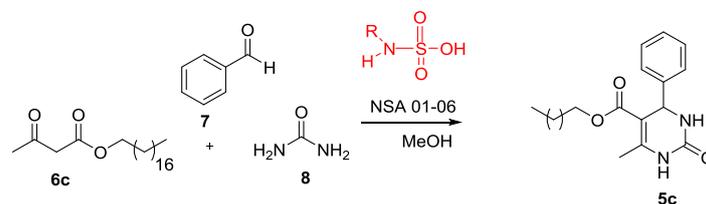
DHPM de alquil grasas sustituido en C6	% Rendimiento
 <p>3a</p>	78
 <p>3b</p>	85
 <p>3c</p>	78
 <p>4a</p>	81
 <p>4b</p>	74
 <p>4c</p>	80

Luego, se examinó la capacidad de los NSA como organocatalizadores para promover la reacción de Biginelli estudiando la carga de 10 o 20% en moles de NSA 01-06 en las mismas condiciones experimentales tal como se ilustra en el Esquema 3. La dihydropirimidinona **5** se formó con

buenos rendimientos en todos los casos examinados, sin embargo, el mejor comportamiento catalítico se observó cuando se empleó 20% en moles de organocatalizador NSA 04 alcanzando un rendimiento del 79%. Todos los organocatalizadores probados dieron como resultado buenos rendimientos de DHPM, utilizando compuestos clásicos de 1,3-dicarbonilo y derivados de 1,3-dicarbonilo de cadena larga, que demuestran eficacia catalítica. El ácido sulfámico *N*-alquilado derivado de la bencilamina mostró buenos resultados (rendimientos del 80% aproximadamente). Además, se obtuvieron excelentes resultados con organocatalizadores basados en ácido sulfámico y tiourea (rendimientos aprox. 80-97%), demostrando la eficacia catalítica de los derivados de catalizadores organosulfámicos de tiourea.

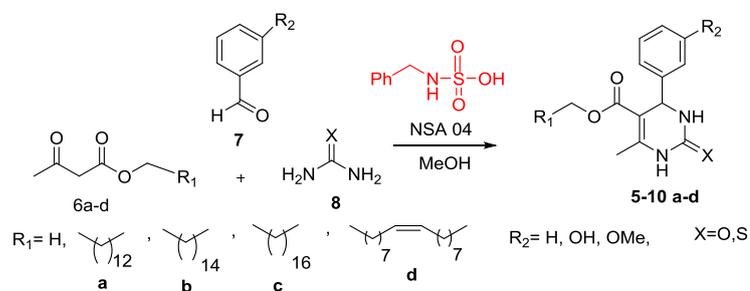
**Esquema 3** - Síntesis de DHPM **5** utilizando organocatalizadores aminosulfámicos

Con el objeto de sintetizar nuevas moléculas de híbridos grasos, se ejecutó el mismo protocolo a la síntesis de dihydropirimidinonas grasas híbridas (DHPM grasas). Así, la reacción de Biginelli multicomponente se realizó en presencia de acetoacetato de octadecilo de cadena larga **6c**, benzaldehído, urea y 20% en moles de NSA 01-06 bajo reflujo de metanol. En estos casos fueron necesarias 24 h para completar las reacciones (Esquema 4).

**Esquema 4** - Síntesis de DHPM **5c** grasa con los catalizadores NSA 01-06

El DHPM graso **5c** se formó con buenos rendimientos, siendo los catalizadores NSA 04 y NSA 01 los que mostraron los resultados más relevantes 79% y 80% respectivamente. Aunque el rendimiento de las reacciones que involucran el catalizador NSA 06, derivado del quitosano, fue más bajo 59% (mol%=10) y 67% (mol%=20) hacia **5** y 53% de rendimiento hacia **5c**, podrían considerarse relevantes, ya que el quitosano se obtiene fácilmente de recursos naturales y es un material de bajo costo.

Para aumentar el alcance de los productos obtenidos a través de este proceso, se utilizaron alquil acetoacetatos de cadena larga derivados de alcoholes grasos, combinados con urea o tiourea y varios aldehídos aromáticos. Después de reacciones usando 20% en moles de catalizador NSA 04, se obtuvieron las dihydropirimidinonas grasas **5-10a-d** (Esquema 5). Todos los compuestos fueron obtenidos con buenos rendimientos de dihydropirimidinonas grasas, lo que demuestra la eficacia catalítica de los organocatalizadores aminosulfámicos NSA 04 derivados de bencilamina en la reacción multicomponente de Biginelli, sin embargo, en la tabla 2 se muestran los de mayor rendimiento siendo ligeramente sobresalientes en donde se empleó urea.



Esquema 5 - Síntesis de DHPMs de cadena larga empleando NS04 como catalizador.

Tabla 2. Síntesis de DHPMs grasas empleando el catalizador NS 04

Compuesto	R ₁	R ₂	X	% Rendimiento
5a		H	O	89
9a		H	S	84
6b		OH	O	87
8b		OH	S	87
7c		OMe	O	81
8c		OMe	S	81
5d		H	O	87
9d		H	S	76

Basados en cálculos computacionales previos donde se sugería que la urea sería un buen catalizador para la síntesis de 3,4-dihidropirimidinonas a través de la reacción de Biginelli, los autores investigaron derivados de ácido sulfámico N-sustituidos basados en la estructura del ácido sulfámico y urea (NSA 07), así como tiourea (NSA 08) como organocatalizadores.

Este último mostró una capacidad catalítica superior cuando se usa al 20% en moles, lo que llevó a rendimientos excelentes del 81-97%. Además, se obtuvieron mayores rendimientos con NSA 08 (74-97%) en comparación con los organocatalizadores NSA 07 y NSA 01-06.

El trabajo finalmente concluye que los catalizadores de ácido aminosulfámico N-alquilado NSA 04 y NSA 01 derivados de bencilamina y butilamina, respectivamente, mostraron los resultados más relevantes. Además, se obtuvieron excelentes resultados con organocatalizadores NSA 08 basados en la estructura de ácido sulfámico y tiourea con buenos rendimientos (80-97%), demostrando, por primera vez, su eficiencia catalítica en la reacción multicomponente de Biginelli.

En un trabajo anterior llevado a cabo en Brasil por Milene Medeiros de Moraes *et al.* [50], donde T. G. M. Treptow también es coautor del trabajo anteriormente descrito, tuvo como objetivo estudiar los efectos de la inserción de la cadena de ácido palmítico y oleico en monastrol (Figura 2) en la línea celular de melanoma B16F10, el tipo de cáncer de piel más difícil debido a la producción de metástasis. La síntesis de estos compuestos se realizó en condiciones de reflujo usando InCl₃ (10% en moles) como catalizador en acetonitrilo a 90 °C durante 24 h.

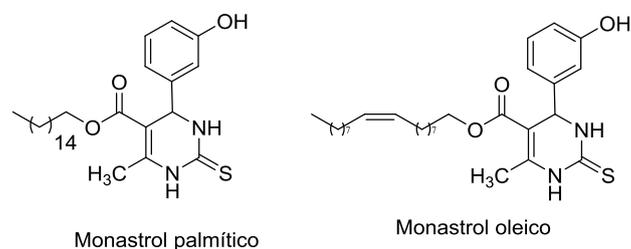


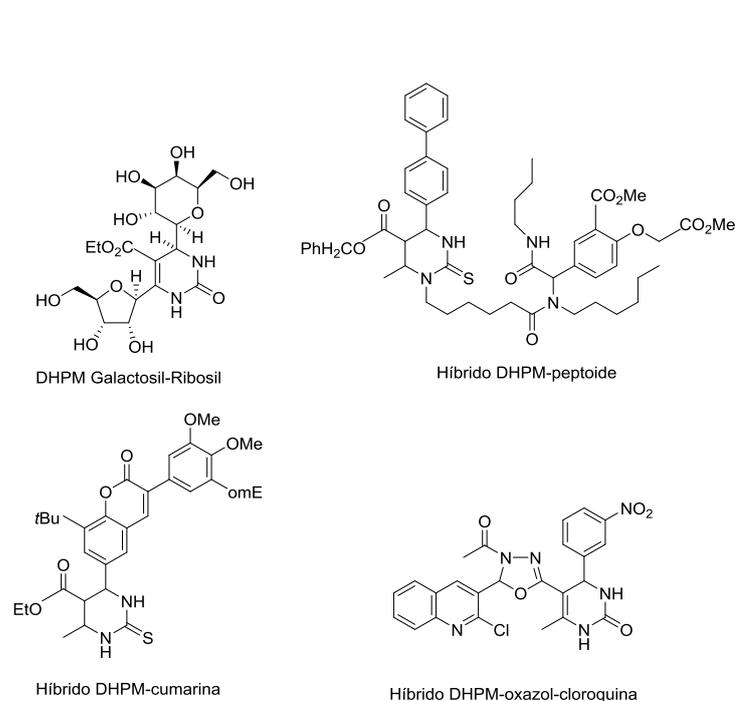
Figura 2 - Derivados monastrol palmítico y monastrol oleico

De acuerdo a los resultados demostrados por este estudio, el monastrol inhibe el crecimiento celular en las líneas celulares B16F10 y melan-a, con melan-a demostrando una mayor sensibilidad que B16F10. Se ha demostrado que las modificaciones estructurales son eficaces porque el monastrol-palmítico y monastrol-oleico fueron citotóxicos para ambas líneas celulares. Esta eficacia se ve reforzada por la falta de efecto citotóxico cuando los ácidos palmítico y oleico se probaron individualmente, así como cuando estos ácidos grasos se usaron solo en combinación con monastrol. A pesar de que estos cambios habían sido efectivos no solo en las células tumorales, la concentración más baja de oleico-monastrol inhibió la proliferación de células B16F10 en menos tiempo que en las células melan-a. Además, los valores de IC₅₀ demuestran que la hibridación de las moléculas hace que las células de melanoma sean más sensibles que los melanocitos no tumorales, especialmente para el monastrol oleico. Para la apoptosis y / o necrosis, monastrol provocó apoptosis después de 24 horas de exposición. Además, a las 48 horas y 72 horas, hubo un aumento de la apoptosis de 140 μM y se observó necrosis. Sin embargo, palmítico-monastrol y oleico-monastrol mostraron un efecto diferente: después de 3 horas de tratamiento, las células se desprendieron, lo que indica que podrían afectar las proteínas de adhesión que se encuentran en la membrana celular.

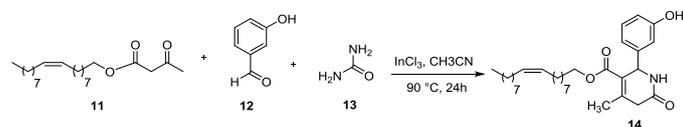
Otro estudio realizado en el que se sintetizaron DHPMs híbridas a partir de ácidos grasos es descrito por T. G. M. Treptow *et al.*, [51] siguiendo el protocolo multicomponente de Biginelli, no sin antes destacar que en este trabajo se mencionan algunas DHPMs híbridas que han propuesto otros autores en el que se fusionan moléculas de azúcar, péptidos, cumarinas y oxazoles como se muestra en la Figura 3 con el objeto de crear una nueva entidad química capaz de modular los procesos biológicos, así como una con una actividad completamente nueva o con múltiples actividades combinadas.

Los obtenidos los compuestos fueron obtenidos mediante el empleo del catalizador InCl₃ (10% molar o 20 % mol), acetonitrilo como solvente, temperatura de reacción de 90 °C por un tiempo de 24 h en donde se encontró que el compuesto que se obtuvo con mayor rendimiento (92%) **14** fue cuando se empleó el β-cetroéster derivado del ácido oleico **11** como se representa en la reacción del esquema 6.

Una vez sintetizados los compuestos, se evaluó la actividad antitumoral de estos nuevas DHPM derivadas de ácidos grasos contra dos líneas celulares de glioma (rata C6 y humana U-138-MG). También se evaluó la relación entre la actividad antitumoral y factores como el número de átomos de carbono, la lipofilia, la insaturación y los grupos funcionales. Como resultado se observó que las nuevas DHPM grasas redujeron la viabilidad de las células de glioma en relación con la temozolomida. Estos resultados sugieren que los derivados de los ácidos palmítico y oleico, respectivamente, son candidatos prometedores para el tratamiento del glioma.

**Figura 3 - DHPMS híbridas**

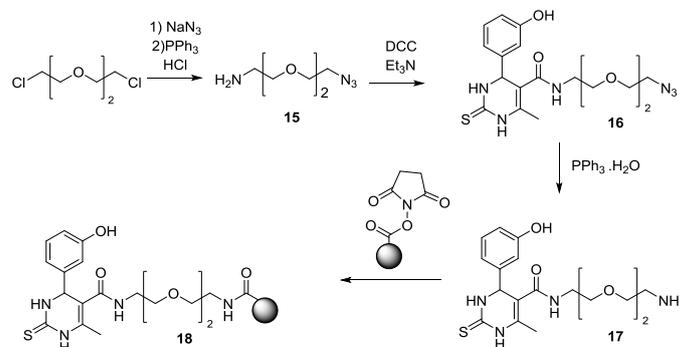
El ácido híbrido oxo-monastrol-palmitico fue el más potente, reduciendo la viabilidad de las células humanas U-138-MG en aprox. 50% a 10 mM lo que sugiere que el aumento de la lipofiliidad de las DHPM grasas ofrece un enfoque prometedor para superar la resistencia a la quimioterapia y pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de nuevos fármacos antitumorales.

**Esquema 6 - Ejemplo Obtención de DHPM grasa**

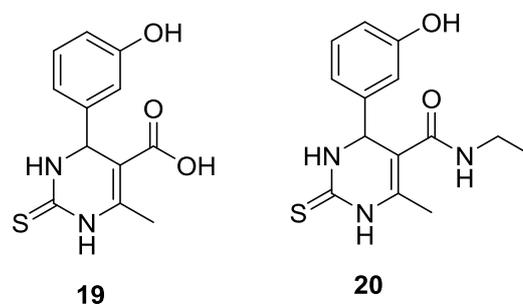
En un trabajo más distante, Emmanuel Klein *et al.*, [52] en su trabajo se llevó a cabo la síntesis de una serie de derivados de monastrol mediante la introducción de modificaciones estructurales estéricamente exigentes en el esqueleto del fármaco, se estudió su potencia para inhibir la actividad de Eg5 ATPasa y su fenotipo de detención mitótica; además, se hizo un ensayo basado en células que se suma a la inducción de husos de monastrol en células HeLa.

Por último, se reportó la inmovilización de un derivado de monastrol en una matriz polimérica con el fin de mejorar los protocolos para la purificación de Eg5 humana de longitud completa a partir de células eucariotas (Esquema 7). Los resultados demuestran que la inmovilización de dos enlaces amida garantizó la estabilidad hidrolítica para un reciclaje seguro y eficiente del soporte funcionalizado.

En general, se identificaron tres posibles sitios de anclaje en la estructura central de monastrol. El primero es el resto éster (C⁵), el segundo es el átomo de nitrógeno alílico (N¹) y el último es el anillo de fenol (C^{4'} y C^{6'}). Además, se investigó una cuarta posibilidad de modificación estructural de la cadena principal de monastrol que consiste en la alquilación o sustitución de azufre en C² en el anillo de pirimidina. Los resultados describen que los compuestos más interesantes fueron los modificados en el grupo carboxilo en la posición C⁵; donde todos ellos son inhibidores de Eg5, aunque un poco menos potentes que el monastrol.

**Esquema 7 - Síntesis de matriz basada en monastrol**

Algunos de los resultados de la investigación concluyen que el ácido carboxílico **19** (32 μ M) resultante de la hidrólisis del éster etílico en monastrol presentó un valor de IC₅₀ de 32 μ M. La sustitución del éster etílico en monastrol por la correspondiente etil amida conduce también a una disminución de la actividad de la ATPasa basal, siendo la amida **20** veintitrés menos activa que el monastrol (IC₅₀ = 6,1 μ M) en un factor cuatro veces mayor. Las estructuras químicas de los compuestos comparados se pueden apreciar en la figura 4.

**Figura 4 - Compuestos menos efectivos que el monastrol en la inhibición de TPAasa**

El aumento de la longitud de la cadena de amida confirma ese efecto (compuesto **16**, ver Esquema 7). Sin embargo, la introducción de un grupo terminal hidrófilo (NH₂, compuesto **17**) en el lado opuesto de la cadena tiene un efecto inverso, se presume que es debido a una mejor solubilidad acuosa. Lo mismo se observa cuando el éster etílico se reemplaza por un éster de cadena larga. Para los ésteres con longitud de cadena intermedia, se conservó la actividad ATPasa basal inicial del monastrol original. Es probable que la diferencia de potencia entre un éster de cadena larga y un éster de cadena corta no resulte estrictamente de un impedimento estérico dentro del sitio de unión de la proteína lo cual se evidencia en la sustitución del grupo hidroxilo libre en el extremo del brazo de dietilenglicol por el resto acetilsulfanilo más voluminoso en el que no se aprecia disminución de la actividad.

Para explorar un paso más la influencia de la sustitución en C⁵, se introdujo un residuo de furilo como un sustituyente estéricamente exigente planar en esa posición. El correspondiente compuesto **21** demostró ser más potente (IC₅₀ = 1,5 μ M) que el monastrol por un factor de cuatro.



Figura 5 - Estructura química del compuesto furfílico más potente que el monastrol.

REFERENCIAS

[1] N. N. A. Jafar, I. M. A. Mahdi, M. H. Hadwan, and A. A. Alameri, "The antifungal effect of some 4-chloro-6-methoxy-N, N-dimethylpyrimidin-2-amine derivatives containing a heterocyclic compound on the important types of fungi," *J. Young Pharm.*, vol. 9, no. 4, **2017**, 463–467.

[2] H. Mehrabi and M. Baniasad-Dashtabi, "One-pot synthesis of novel heterocyclic chromenopyrimidine-2,5-dione and thioxochromenopyrimidin-5-one derivatives," *J. Chem. Res.*, vol. 39, no. 5, **2015**, 294–295.

[3] H. ur Rashid *et al.*, "Research developments in the syntheses, anti-inflammatory activities and structure-activity relationships of pyrimidines," *RSC Adv.*, vol. 11, no. 11, **2021**, 6060–6098.

[4] A. M. Escobar, G. Blustein, R. Luque, and G. P. Romanelli, "Recent applications of heteropolyacids and related compounds in heterocycle synthesis. Contributions between 2010 and 2020," *Catalysts*, vol. 11, no. 2, **2021**, 1–36.

[5] K. L. Dhumaskar, S. N. Meena, S. C. Ghadi, and S. G. Tilve, "Graphite catalyzed solvent free synthesis of dihydropyrimidin-2(1H)-ones/thiones and their antidiabetic activity," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 24, no. 13, **2014**, 2897–2899.

[6] I. Batool, A. Saeed, I. Z. Qureshi, S. Kalsoom, and A. Razaq, "Synthesis, molecular docking and biological evaluation of new thiazolopyrimidine carboxylates as potential antidiabetic and antibacterial agents," *Res. Chem. Intermed.*, vol. 42, no. 2, **2016**, pp. 1139–1163.

[7] M. Pasupathi, N. Santhi, and K. Venkatesan, "Synthesis and in vitro antimicrobial studies of thiodihydropyrimidine derivatives," *J. Chinese Chem. Soc.*, vol. 67, no. 6, **2020**, 1113–1119.

[8] I. L. Gonçalves *et al.*, "New pharmacological findings linked to biphenyl DHPMs, kinesin Eg5 ligands: Anticancer and antioxidant effects," *Future Med. Chem.*, vol. 12, no. 12, **2020**, 1137–1154.

[9] Suresh and J. S. Sandhu, "Past, present and future of the Biginelli reaction: A critical perspective," *Arkivoc*, vol. 2012, no. 1, **2012**, 66–133.

[10] K. M. Bairagi *et al.*, "Chemistry, anti-diabetic activity and structural analysis of substituted dihydropyrimidine analogues," *J. Mol. Struct.*, vol. 1227, **2021**, 129412.

[11] T. B. Shah, A. Gupte, M. R. Patel, V. S. Chaudhari, H. Patel, and V. C. Patel, "Synthesis and in vitro study of biological activity of heterocyclic N-Mannich bases of 3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-thiones," *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.*, vol. 49, no. 5, **2010**, 578–586.

[12] J. Kim *et al.*, "Discovery of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones with inhibitory activity against HIV-1 replication," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 22, no. 5, **2012**, 2119–2124.

[13] W. A. Al-Masoudi, N. A. Al-Masoudi, B. Weibert, and R. Winter, "Synthesis, X-ray structure, in vitro HIV and kinesin Eg5 inhibition activities of new arene ruthenium complexes of pyrimidine analogs," *J. Coord. Chem.*, vol. 70, no. 12, **2017**, 2061–2073.

[14] I. Leizerman, R. Avunie-Masala, M. Elkabets, A. Fich, and L. Gheber, "Differential effects of monastrol in two human cell lines," *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 61, no. 16, **2004**, 2060–207.

[15] I. L. Gonçalves *et al.*, "Effect of N-1 arylation of monastrol on kinesin Eg5 inhibition in glioma cell lines," *Medchemcomm*, vol. 9, no. 6, **2018**, 995–1010.

[16] C. M. Crews and R. Mohan, "Small-molecule inhibitors of the cell cycle," *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 4, no. 1, **2000**, 47–53.

[17] F. A. R. Barbosa *et al.*, "Novel pyrimidinic selenourea induces DNA damage, cell cycle arrest, and apoptosis in human breast carcinoma," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 155, **2018**, 503–515.

[18] M. M. de Moraes, T. G. M. Treptow, W. K. O. Teixeira, L. A. Piovesan, M. G. M. D'Oca, and A. P. de S. Votto, "Fatty-monastrol derivatives and its cytotoxic effect against melanoma cell growth," *Bioorg. Chem.*, vol. 72, **2017**, 148–155.

[19] V. Sarli and A. Giannis, "Inhibitors of mitotic kinesins: Next-generation antimetotics," *ChemMedChem*, vol. 1, no. 3, **2006**, 293–298.

[20] N. Li *et al.*, "Air-stable zirconium (IV)-salophen perfluorooctanesulfonate as a highly efficient and reusable catalyst for the synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2-(1H)-ones/thiones under solvent-free conditions," *Appl. Organomet. Chem.*, vol. 34, no. 3, **2020**, 1–10.

[21] C. O. Kappe, "Biologically active dihydropyrimidones of the Biginelli-type - A literature survey," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 35, no. 12, **2000**, 1043–1052.

[22] D. S. Bose, R. K. Kumar, and L. Fatima, "A Remarkable Rate Acceleration of the One-Pot Three-Component Cyclocondensation Reaction at Room Temperature: An Expedient Synthesis of Mitotic Kinesin Eg5 Inhibitor Monastrol," *Synlett*, no. 2, **2004**, 279–282.

[23] J. K. Srivastava, G. G. Pillai, H. R. Bhat, A. Verma, and U. P. Singh, "Design and discovery of novel monastrol-1,3,5-triazines as potent anti-breast cancer agent via attenuating Epidermal Growth Factor Receptor tyrosine kinase," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, **2017**, 1–18.

[24] T. Peters, H. Lindenmaier, W. E. Haefeli, and J. Weiss, "Interaction of the mitotic kinesin Eg5 inhibitor monastrol with P-glycoprotein," *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.*, vol. 372, no. 4, **2006**, 291–299.

[25] H. O. Tawfik, M. H. El-Hamamsy, N. A. Sharafeldin, and T. F. El-Moselhy, "Design, synthesis, and bioactivity of dihydropyrimidine derivatives as kinesin spindle protein inhibitors," vol. 27, no. 23, **2019**, 115126.

[26] C. K. Khatri, S. M. Potadar, and G. U. Chaturbuj, "A reactant promoted solvent free synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-thione analogues using ammonium thiocyanate," *Tetrahedron Lett.*, vol. 58, no. 18, **2017**, 1778–1780.

[27] Ramos, Luciana M. *et al.*, "Mechanistic Studies on Lewis Acid Catalyzed Biginelli Reactions in Ionic Liquids: Evidence for the Reactive Intermediates and the Role of the Reagents," *J. Org. Chem.*, **2012**, vol. 77, 10184–10193.

[28] H. G. O. Alvim *et al.*, "Ionic liquid effect over the biginelli reaction under homogeneous and heterogeneous catalysis," *ACS Catal.*, vol. 3, no. 7, **2013**, 1420–1430.

[29] H. Y. K. Kaan *et al.*, "Structural basis for inhibition of Eg5 by dihydropyrimidines: Stereoselectivity of antimetotic inhibitors enastron, dimethylenastron and fluorastrol," *J. Med. Chem.*, vol. 53, no. 15, **2010**, 5676–5683.

[30] V. Singh, V. Sapehiyia, V. Srivastava, and S. Kaur, "ZrO₂-pillared clay:

An efficient catalyst for solventless synthesis of biologically active multifunctional dihydropyrimidinones," *Catal. Commun.*, vol. 7, no. 8, **2006**, 571–578.

[31] V. N. Pathak, R. Gupta, and B. Varshney, "An efficient, inexpensive 'Green Chemistry' route to multicomponent Biginelli condensation catalyzed by $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$," *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.*, vol. 47, no. 3, **2008**, 434–438.

[32] A. Khan *et al.*, "Dihydropyrimidine based hydrazine dihydrochloride derivatives as potent urease inhibitors," *Bioorg. Chem.*, vol. 64, **2016**, 85–96.

[33] E. González-Hernández, R. Aparicio, M. Garayoa, M. J. Montero, M. Á. Sevilla, and C. Pérez-Melero, "Dihydropyrimidine-2-thiones as Eg5 inhibitors and L-type calcium channel blockers: Potential antitumour dual agents," *Medchemcomm*, vol. 10, no. 9, **2019**, 1589–1598.

[34] D. L. Da Silva *et al.*, "Free radical scavenging and antiproliferative properties of Biginelli adducts," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 20, no. 8, **2012**, 2645–2650.

[35] L. V. Chopda and P. N. Dave, "Recent Advances in Homogeneous and Heterogeneous Catalyst in Biginelli Reaction from 2015-19: A Concise Review," *ChemistrySelect*, vol. 5, no. 19, **2020**, 5552–5572.

[36] B. Anjaneyulu and Dharma Rao G.B., "A Mini Review: Biginelli Reaction for the Synthesis of Dihydropyrimidinones," *I Int. J. Eng. Technol. Res.*, vol. 3, no. 6, **2015**, 26–37.

[37] K. Bhavya, M. N. Purohit, and G. V. Pujar, "Chemistry and biological activity of biginelli type dihydropyrimidinones - A brief review," *Indian Drugs*, vol. 48, no. 1, 7–18, **2011**.

[38] P. Salehi, M. Dabiri, M. A. Zolfigol, P. O. Box, and F. Science, "A green approach to the synthesis of 2, 3-dihydropyrimidin-2 (1H) -ones by uronium hydrogensulfate under solvent-free conditions 1. Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research 2. Department of Chemistry, Faculty of Science,," vol. 65, no. 5, **2005**, 1177–1181.

[39] R. Rezaei, M. K. Mohammadi, and A. Khaledi, "Microwave assisted solvent-free one pot biginelli synthesis of dihydropyrimidinone compounds on melamine-formaldehyde as a solid support," *Asian J. Chem.*, vol. 25, no. 8, **2013**, 4588–4590.

[40] B. Q. Cao, Y. F. Qiu, X. Zhang, Z. H. Zhu, Z. J. Quan, and X. C. Wang, "UV-Light-Irradiated Trifluoromethylation of Diheteroaryl Disulfides with $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{Na}$," *European J. Org. Chem.*, vol. 2019, no. 6, **2019**, 1208–1214.

[41] Y. U. Gadkari, N. T. Hatvate, B. S. Takale, and V. N. Telvekar, "Concentrated solar radiation as a renewable heat source for a preparative-scale and solvent-free Biginelli reaction," *New J. Chem.*, vol. 44, no. 20, **2020**, 8167–8170.

[42] D. Shobha, M. A. Chari, A. Mano, S. T. Selvan, K. Mukkanti, and A. Vinu, "Synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2-ones (DHPMs) using mesoporous aluminosilicate (AIKIT-5) catalyst with cage type pore structure," *Tetrahedron*, vol. 65, no. 51, **2009**, 10608–10611.

[43] A. Rajack, K. Yuvaraju, C. Praveen, and Y. L. N. Murthy, "A facile synthesis of 3,4-dihydropyrimidinones/thiones and novel N-dihydropyrimidinone-decahydroacridine-1,8-diones catalyzed by cellulose sulfuric acid," *J. Mol. Catal. A Chem.*, vol. 370, **2013**, 197–204.

[44] Z. Liu, R. Ma, D. Cao, and C. Liu, "New Efficient Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones Catalyzed by Benzotriazolium-Based Ionic Liquids under Solvent-Free Conditions," *Molecules*, vol. 21, no. 4, **2016**, 1–8.

[45] N. Basirat, "Preparation and application of a novel supported 3-(3-sulfamic acid imidazolium trifluoroacetate)propyl triethoxysilane on magnetic nanoparticles as a new magnetic ionic liquid for the synthesis of triazole quinazolinones and fused pyrimidines," *Res. Chem. Intermed.*, vol. 46, no. 12, **2020**, 5441–5458.

[46] K. Khazenipour, F. Moeinpour, and F. S. Mohseni-Shahri, "Cu(II)-supported graphene quantum dots modified NiFe₂O₄: A green and efficient catalyst for the synthesis of 4H-pyrimido[2,1-b]benzothiazoles in water," *J. Chinese Chem. Soc.*, vol. 68, no. 1, **2021**, 121–130.

[47] A. Kumar and R. A. Maurya, "An efficient bakers' yeast catalyzed synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2-(1H)-ones," *Tetrahedron Lett.*, vol. 48, no. 26, **2007**, 4569–4571.

[48] F. S. De Oliveira *et al.*, "Synthesis and antitumoral activity of novel analogues monastrol-fatty acids against glioma cells," *Medchemcomm*, vol. 9, no. 8, **2018**1282–1288.

[49] C. R. L. Hack *et al.*, "N-alkylated sulfamic acid derivatives as organocatalyst in multicomponent synthesis of fatty dihydropyrimidinones," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 29, no. 11, **2018**, 2342–2349.

[50] M. M. de Moraes, T. G. M. Treptow, W. K. O. Teixeira, L. A. Piovesan, M. G. M. D'Oca, and A. P. de S. Votto, "Fatty-monastrol derivatives and its cytotoxic effect against melanoma cell growth," *Bioorg. Chem.*, vol. 72, **2017**, 148–155.

[51] T. G. M. Treptow *et al.*, "Novel hybrid DHPM-fatty acids: Synthesis and activity against glioma cell growth in vitro," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 95, **2015**, 552–562.

[52] E. Klein, S. DeBonis, B. Thiede, D. A. Skoufias, F. Kozielski, and L. Lebeau, "New chemical tools for investigating human mitotic kinesin Eg5," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 15, no. 19, **2007**, 6474–6488.