

На правах рукописи



Агарков Артем Сергеевич

**2-ЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТИАЗОЛО[3,2-*a*]ПИРИМИДИНА:
СИНТЕЗ, СТРУКТУРА, ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И
ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ**

1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Казань – 2022

Работа выполнена в Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

Научный руководитель:

Соловьева Светлана Евгеньевна

доктор химических наук, доцент

Официальные оппоненты:

Аксенов Николай Александрович

доктор химических наук, заведующий кафедрой органической и аналитической химии, ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», г. Ставрополь

Беликов Михаил Юрьевич

кандидат химических наук, доцент кафедры органической и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары

Ведущая организация:

ФГБУН Институт органического синтеза им. И.Я.

Постовского Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург

Защита диссертации состоится **1 февраля 2023 г. в 14 часов 30 минут** на заседании диссертационного совета 24.1.225.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» по адресу: 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, конференц-зал.

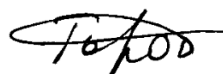
С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН и на сайте <http://www.iopc.ru/>.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах просим присылать по адресу: 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова, ученому секретарю совета, e-mail:

toropchina@iopc.ru

Автореферат разослан «8» декабря 2022 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук



А.В. Торопчина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Конденсированные гетероциклические системы постоянно привлекают внимание химиков и фармакологов. К подобным структурам относятся тиазолопиримидины, у которых была обнаружена противомикробная, противораковая, антивирусная, противовоспалительная, антипсихотическая и антипаркинсоническая активность. Производные тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, особенно 2-замещенные, помимо огромного синтетического потенциала, являются перспективными структурными фрагментами для разработки лекарственных веществ, в том числе и противораковых препаратов. Структура тиазоло[3,2-*a*]пиримидина напоминает пурин, достаточно легко модифицируется введением новых центров связывания, что крайне необходимо для оптимизации взаимодействия лиганда с активным центром биомишени, и может быть использовано в конструировании структур, активно связывающихся с биологическими мишенями. Производные 5*H*-тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3(2*H*)-она содержат активную метиленовую группу, расположенную во втором положении тиазолидинового фрагмента, которую можно рассматривать как одну из наиболее привлекательных для функционализации из-за ее высокой активности в реакциях с электрофильными реагентами различной природы. В этих соединениях присутствует асимметрический атом углерода, что обуславливает наличие оптических изомеров. Хорошо известно, что большинство биологически активных веществ, используемых в медицине для лечения людей или животных, содержат в своей молекулярной структуре хиральные центры, и в большинстве случаев только один из энантиомеров обладает необходимой биологической активностью.

К настоящему времени установлено, что нековалентные контакты играют существенную роль в синтезе новых соединений и современных материалов. Каталитические химические превращения, движущей силой которых являются такие взаимодействия или их синергетическое действие при координации (например, в кооперативном катализе), представляют собой одну из наиболее перспективных стратегий в органическом синтезе. Кроме того, нековалентные взаимодействия могут оказаться крайне важными для понимания механизма действия лекарственных средств и функционирования каталитических центров биологических систем. Учитывая это, более глубокое понимание и сознательное использование этих взаимодействий может оказаться важным для биомедицины и смежных с ней областей. Так, например, нековалентные взаимодействия могут быть использованы при кристаллизации с целью разделения рацематных систем на чистые энантиомеры, что может способствовать увеличению биологической активности. Поскольку при синтезе производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина образуется рацематная смесь, то исследование данных производных в кристаллической фазе является актуальной проблемой в современной органической химии.

Таким образом, синтез новых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, изучение их строения и биологической активности, а также возможности разделения рацемической смеси на энантиоочищенные изомеры, несомненно, представляют **актуальную** задачу.

Цели и задачи работы. Целью настоящей работы является разработка и оптимизация методов синтеза 2-замещенных производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, изучение их структуры, в том числе и нековалентных взаимодействий в кристаллической фазе, химических свойств и цитотоксической активности.

Для реализации целей работы необходимо выполнение следующих задач:

- Выбор и оптимизация методов получения и синтез исходных 1,2,3,4-тетрагидропиримидин-2-тионов и тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов.

- Разработка методов синтеза 2-замещенных производных путем взаимодействия тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов с солями диазония и ароматическими альдегидами.

- Изучение структуры 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина в растворе методами ЯМР и в кристаллической фазе методом РСА.

- Изучение реакций 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов с различными восстановительными реагентами.

- Изучение структуры 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина в растворе методами ЯМР и характера внутри- и межмолекулярных нековалентных взаимодействий в кристаллической фазе методом РСА.

- Изучение реакции 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина с *O*-нуклеофилами.

- Исследование противоопухолевой активности 2-арилгидразоновых и 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина.

Научная новизна.

1. Открыты две новые перегруппировки в ряду тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов: 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов в 1-арил-3-гидроксиметил[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидины и 2-арилметилидентиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов в 3-арил-2,3-дигидро-тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-2-карбоксилаты.

2. Показано, что как в кристаллической фазе, так и в растворе преимущественно образуется *Z*-изомер арилгидразоновых производных 2-тиазоло[3,2-*a*]пиримидина.

3. Установлены структурные факторы, влияющие на кристаллическую упаковку 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина: положение заместителя в ароматическом фрагменте при пятом атоме углерода тиазолопиримидинового каркаса и в арилметилиденовом фрагменте.

4. Установлено влияние природы растворителя на супрамолекулярную организацию в кристаллической фазе 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина.

5. Определена роль галогенной связи в образовании супрамолекулярных ансамблей в кристаллической фазе производных 2-арилметилидентиазоло[3,2-*a*]пиримидина, содержащих 3- или 4-бромфенильный фрагмент.

6. Исследована цитотоксическая активность синтезированных 2-арилгидразоновых и 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина и триазоло[4,3-*a*]пиримидина, и выявлены соединения-лидеры.

7. Синтезировано и охарактеризовано 82 новых соединения.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в разработке новых путей синтеза ранее недоступных гетероциклических производных триазоло[4,3-*a*]пиримидина и 2,3-дигидро-тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, а также эффективных методов синтеза 2-арилгидразоновых и 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина с высокими выходами. Показано, что нековалентные взаимодействия (водородное и галогенное связывание) являются движущей силой хиральной дискриминации в кристаллической фазе 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина. Синтезированные гетероциклы являются перспективными для поиска структур с потенциальной противораковой, противовоспалительной и противогрибковой активностью. Выявлены соединения-лидеры с высокой противоопухолевой активностью в отношении клеточных линий карциномы шейки матки (M-HeLa) и аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека (HuTu 80).

Положения, выносимые на защиту:

1. Новая перегруппировка 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов в 1-арил-3-гидроксиметил[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидины.
2. Метод синтеза 1-арил-3-гидроксиметил[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидинов из 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов путем восстановления в присутствии NaBH_4 и V_2O_5 .
3. Новая перегруппировка 2-арилметилидентиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов в 3-арил-2,3-дигидротиазоло[3,2-*a*]пиримидин-2-карбоксилаты.
4. Метод синтеза 3-арил-2,3-дигидротиазоло[3,2-*a*]пиримидин-2-карбоксилатов из 2-арилметилидентиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов путем нуклеофильного присоединения метилового спирта в условиях микроволновой активации.
5. Синтез и особенности строения 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-она.
6. Синтез и особенности строения 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина.
7. Супрамолекулярная организация 2-арилгидразоновых и 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина и тиазоло[4,3-*a*]пиримидина в кристаллической фазе.
8. Результаты исследования цитотоксического действия 2-арилгидразоновых и 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина и тиазоло[4,3-*a*]пиримидина в отношении опухолевых и нормальных клеточных линий.

Апробация работы. Основные результаты работы были представлены и обсуждались на следующих конференциях: II Школа-конференция «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием) (Казань, 2020), II Научная конференция «Динамические процессы в химии элементоорганических соединений», посвященная 75-летию ИОФХ им. А.Е. Арбузова и Казанского научного центра РАН (Казань, 2020), «Mendeleev 2021. XII International Conference on Chemistry for Young Scientists» (Санкт-Петербург, 2021), Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (Сочи, 2021), Всероссийский конгресс по химии гетероциклических соединений «KOST-2021» (Сочи, 2021), Итоговая научная конференция за 2021 г. ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН (Казань, 2022), III Школа-конференция «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием) (Казань, 2021), IX Молодежная конференция ИОХ РАН (Москва, 2021), VI North Caucasus Organic Chemistry Symposium (Ставрополь, 2022), XXXII Российская молодёжная научная конференция с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии», посвященная 110-летию со дня рождения профессора А.А. Тагер (Екатеринбург, 2022), III Научная конференция «Динамические процессы в химии элементоорганических соединений», посвященная 145-летию со дня рождения академика А.Е. Арбузова (Казань, 2022), Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (Сочи, 2022).

Публикации. По материалам данной диссертации опубликованы 5 статей в российских (Доклады Академии Наук, Бутлеровские сообщения) и международных (Crystals, Chemistry of Heterocyclic Compounds) журналах, входящих в перечень, рекомендуемых ВАК, а также 11 тезисов докладов в материалах конференций и симпозиумов различного уровня.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 174 страницах печатного текста и содержит 29 таблиц, 53 схемы, 86 рисунков. Структура диссертации включает в себя введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальную часть, заключение, список использованных сокращений и список литературы, в который входят 186 ссылок на отечественные и зарубежные работы.

В первой главе диссертации представлен обзор литературных данных по синтезу тиазоло[3,2-*a*]пиримидина и 2-замещенных производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, химическим свойствам 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина и биологической активности производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина. Во второй главе обсуждаются результаты собственных исследований. Третья глава содержит описание экспериментальных данных.

Личный вклад автора. Автор диссертации участвовал в постановке цели и задач исследования, анализе и обобщении литературных данных, реализации экспериментальных исследований, обработке и обсуждении их результатов, подготовке публикаций и представлении докладов по теме диссертационной работы на конференциях различного уровня. Экспериментальные данные, приведенные в диссертационной работе, получены автором лично либо при его непосредственном участии.

Работа выполнена в лаборатории Химии каликсаренов Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова - обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН. Исследования проводили в рамках выполнения государственного задания ФГБУН «ФИЦ «Казанский научный центр Российской академии наук» по теме «Создание интеллектуальных систем и функциональных материалов для нано- и биотехнологий, элементной базы наноэлектроники и оптоэлектроники, устройств преобразования и хранения энергии. Диагностика дисперсных систем, наночастиц и материалов, включая наноматериалы», а также при поддержке проекта РФФИ 20-33-90124 «Диагностика супрамолекулярных взаимодействий макроциклических тиазолопиримидиновых конъюгатов с нуклеотидами в составе ультратонких пленок для выявления потенциальной биоактивности».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез 1,2,3,4-тетрагидропиримидин-2-тионов и тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов

Первым этапом работы стал синтез 1,2,3,4-тетрагидропиримидин-2-тионов **1.1-1.20** - конденсация Биджинелли, как наиболее простой и удобный вариант получения данных производных, в которой использовались следующие реагенты: бензоилацетон, ацетилацетон или ацетоуксусный эфир в качестве 1,3-дикарбонильной компоненты, ароматические альдегиды (бензальдегид, анисовый альдегид, 2-метоксибензальдегид, *para*-толуиловый альдегид, *para*- и *meta*-бромбензальдегиды, *para*-трифторметилбензальдегид и *meta*-нитробензальдегид) и тиомочевина. В зависимости от природы реагирующих компонентов были предложены три методики синтеза, что позволило увеличить выходы большинства производных до практически количественных (таблица 1) по сравнению с литературными данными. Далее полученные производные **1.1-1.20** вводились в реакцию с этилхлорацетатом, что приводило к образованию гидрохлоридов тиазоло[3,2-*a*]пиримидина **2.1-2.20**, которые переводили в основания **3.1-3.20** путём их обработки 1%-ным раствором щёлочи (схема 1). Структуры полученных соединений, в том числе 5 новых тетрагидропиримидин-2-тионов и 8 новых тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, были подтверждены методами ^1H , ^{13}C ЯМР-, ИК-

спектрологии и ESI MS масс-спектрометрии, а структура соединения **3.5** была подтверждена методом PCA (рисунок 1).

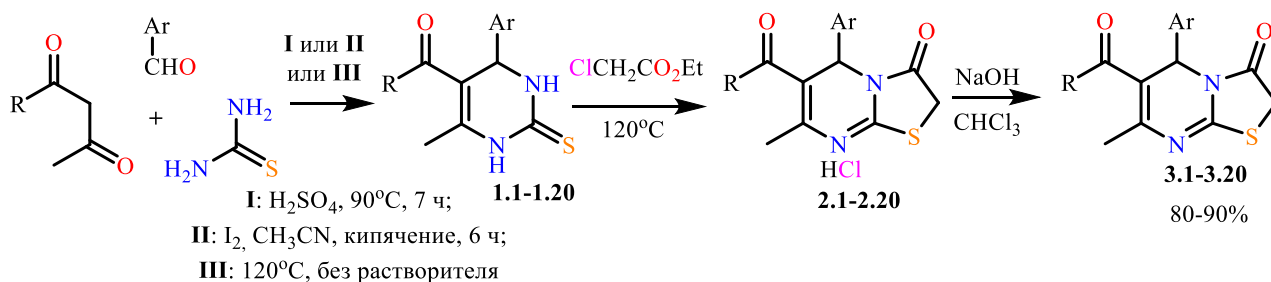


Схема 1.

Таблица 1. Синтез соединений **1.1-1.20** по реакции Биджинелли.

№	Ar	R	Условия реакции	Выход, %
1.1	Ph	OEt	I	95
1.2	4-OMe-C ₆ H ₄	OEt	II	90
1.3	4-Me-C ₆ H ₄	OEt	II	89
1.4	2-OMe-C ₆ H ₄	OEt	II	94
1.5	4-Br-C ₆ H ₄	OEt	III	98
1.6	3-Br-C ₆ H ₄	OEt	III	98
1.7	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	OEt	III	96
1.8	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	OEt	III	97
1.9	Ph	CH ₃	II	91
1.10	4-Me-C ₆ H ₄	CH ₃	II	87
1.11	4-OMe-C ₆ H ₄	CH ₃	II	89
1.12	2-OMe-C ₆ H ₄	CH ₃	II	90
1.13	4-Br-C ₆ H ₄	CH ₃	II	86
1.14	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	CH ₃	II	88
1.15	Ph	Ph	II	75
1.16	4-Me-C ₆ H ₄	Ph	II	78
1.17	4-OMe-C ₆ H ₄	Ph	II	76
1.18	2-OMe-C ₆ H ₄	Ph	II	79
1.19	4-Br-C ₆ H ₄	Ph	II	80
1.20	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	Ph	II	75

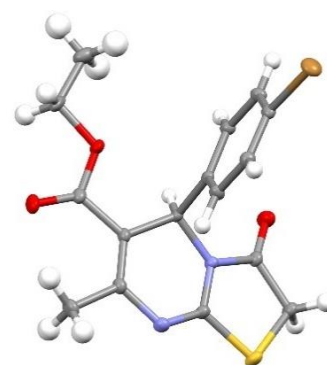


Рисунок 1. Геометрия соединения **3.5** в кристалле

2.1. Синтез 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-а]пиримидина

Одним из основных реакционным центром в молекуле тиазоло[3,2-а]пиримидина является активная метиленовая группа тиазолидинового фрагмента. В связи с этим для данных производных характерны реакции с электрофильными реагентами. Первоначально мы исследовали реакцию с *N*-электрофилами на примере взаимодействия с солями арилдиазоний хлоридов. Таким образом была получена серия 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-а]пиримидина **4.1-4.16** (схема 2) с хорошими выходами (таблица 2). Структуры полученных соединений, в том числе 13 новых (**4.2**, **4.5-4.16**), были подтверждены методами ¹H, ¹³C ЯМР-, ИК-спектрологии и ESI MS масс-спектрометрии, а структуры соединений **4.10** и **4.11** были подтверждены методом PCA (рисунок 2).

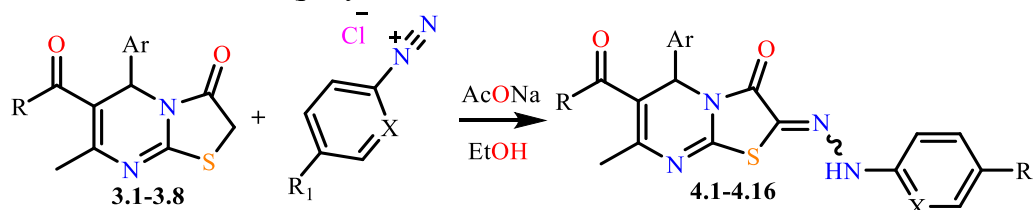


Схема 2.

Таблица 2. Соединения 4.1-4.16 и их выходы.

№	R	Ar	R ₁	X	Выход, %
4.1	OEt	Ph	H	CH	59
4.2	OEt	Ph	COOH	CH	61
4.3	OEt	4-Me-C ₆ H ₄	H	CH	58
4.4	OEt	4-OMe-C ₆ H ₄	H	CH	58
4.5	OEt	4-OMe-C ₆ H ₄	COOH	CH	59
4.6	Ph	2-OMe-C ₆ H ₄	H	CH	65
4.7	OEt	2-OMe-C ₆ H ₄	H	CH	53
4.8	OEt	2-OMe-C ₆ H ₄	COOH	CH	60
4.9	OEt	2-OMe-C ₆ H ₄	H	N	67
4.10	OEt	4-Br-C ₆ H ₄	H	CH	65
4.11	OEt	4-Br-C ₆ H ₄	COOH	CH	58
4.12	OEt	4-Br-C ₆ H ₄	H	N	69
4.13	OEt	3-Br-C ₆ H ₄	H	CH	54
4.14	OEt	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	H	CH	70
4.15	OEt	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	COOH	CH	68
4.16	OEt	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	H	CH	65

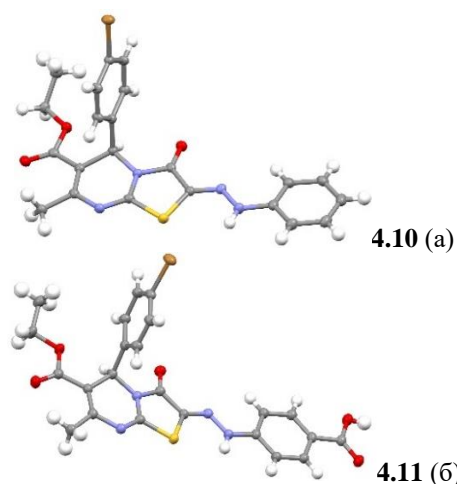


Рисунок 2. Геометрия соединений 4.10 (а) и 4.11 (б) в кристалле

2.2. Структура 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-а]пиримидина

Ряд важных вопросов структуры полученных соединений, связанных с возможностью существования двух таутомеров (азо-гидразонная таутомерия) и двух геометрических изомеров (*Z* и *E*) относительно C=N или N=N связей, оставались открытыми до недавнего времени (рисунок 3).

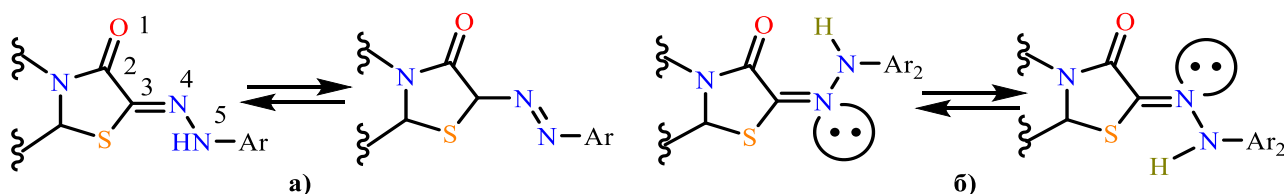


Рисунок 3. а) Азо-гидразонная таутомерия; б) геометрическая изомерия, характерная для 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-а]пиримидина

Во всех спектрах ¹H ЯМР синтезированных соединений наблюдается лишь один набор сигналов, что свидетельствует о существовании в растворе одного таутомера. Наблюдаемая величина химического сдвига указывает на наличие в данных соединениях скорее гидразонной, чем азо-группы. Стоит отметить, что химический сдвиг данного протона сильно зависит от используемого растворителя: 7-9 м.д. в CDCl₃ и 11-12 м.д. в ДМСО-d₆, что также свидетельствует об образовании гидразона. Дополнительным аргументом в пользу гидразонного фрагмента являются спектры ЯМР ¹³C DEPT, в которых не наблюдалось положительного сигнала метинового атома углерода. Для однозначного определения структуры данных соединений медленным испарением из этанольного раствора был получен пригодный для РСА монокристалл соединения 4.10. В таблице 3 проведено сравнение экспериментальных длин связей фрагмента O=C-C=N-NH с литературными данными, нумерация атомов которого приведена на рисунке 3а. Из данных таблицы 3 видно, что длина связи между атомами тиазольного углерода 3 и азота 4, составляет 1.279(2) Å, что соответствует двойной связи C=N, и подтверждает наличие одного таутомера – гидразонной формы. Но обращает на себя внимание тот факт, что длины связей C2-C3 (1.477(2) Å) и N4-N5 (1.328 Å) являются более короткими по сравнению с соответствующими одинарными связями (1.54 и 1.45 Å, соответственно), что свидетельствует о наличии сопряжения в этом фрагменте, включая фенильное кольцо при атоме N5. Плоская конформация фрагмента молекулы,

включающего гидразонную группу, а также наличие пятичленного гетероцикла и фенильного кольца благоприятны для такого сопряжения.

Таблица 3. Длины связи фрагмента O=C-C=N-NH соединения **4.10**.

Связи	Экспериментальное значение, Å	Связи	Литературные данные, Å
d _{O1-C2}	1.210(2)	d _{C-O}	1.43
d _{C2-C3}	1.477(2)	d _{C=O}	1.21
d _{C3-N4}	1.279(2)	d _{C-C}	1.54
d _{N4-N5}	1.328(2)	d _{C=C}	1.34
		d _{C-N}	1.47
		d _{C=N}	1.28
		d _{N-N}	1.45
		d _{N=N}	1.24

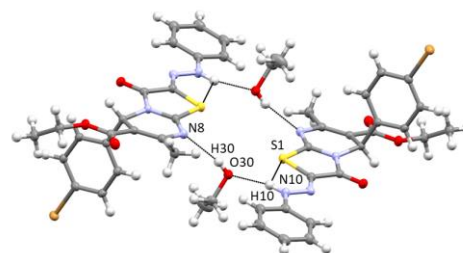


Рисунок 4. Система водородных связей в кристалле соединения **4.10**.

Интересно отметить, что данное соединение имеет *Z*-конфигурацию, хотя с термодинамической точки зрения, казалось, более выгодным должен быть *E*-изомер из-за возможного образования внутримолекулярной водородной связи N-H...O, приводящей к его стабилизации (рисунок 3б). Образование *Z*-изомера вызвано тем, что N-H фрагмент участвует во внутримолекулярном водородном связывании не с более жестким атомом кислорода (рисунок 3б), а с мягким атомом серы (рисунок 4). Кроме того, N-H фрагмент также участвует в образовании водородной связи с сольватной молекулой этанола. Таким образом, обнаружен редкий супрамолекулярный мотив формирования внутримолекулярных водородных связей в кристаллической фазе.

2.3. Перегруппировка 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов в 1-арил-3-гидрокси[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидины

В литературе отсутствуют сведения о химических свойствах 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, но общеизвестным фактом является разнообразие областей применения, в особенности обширный спектр биологической активности производных гидразина, образующихся при гидрировании гидразонов (схема 3). В настоящей работе по данным методов ¹H ЯМР-спектроскопии и ESI MS масс-спектрометрии было установлено, что при восстановлении в различных условиях 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, целевой гидразин **4б** образуется, но является неустойчивым и подвергается дальнейшей внутримолекулярной гетероциклизации с образованием 1,5-дигидро[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидинов **5.1-5.6** (схема 3, таблица 4). Показано, что оптимальным условием образования триазоло[4,3-*a*]пиримидинов является проведение реакции в этаноле при комнатной температуре в течение длительного времени (около 72 ч) при использовании в качестве катализатора оксида ванадия(V) и четырёхкратного избытка боргидрида натрия. При взаимодействии оксида ванадия(V) и боргидрида натрия образуются соли ванадия(III), которые являются сильными восстановителями. Структуры полученных соединений были подтверждены методами ¹H, ¹³C ЯМР-, ИК-спектроскопии и ESI MS масс-спектрометрии, а структуры соединений **5.1** и **5.2** были подтверждены методом PCA (рисунок 5).

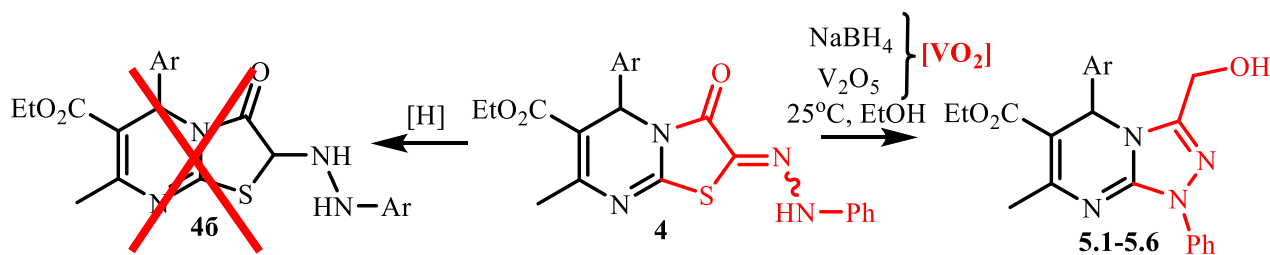


Схема 3.

Таблица 4. Соединения 5.1-5.6.

№	Ar	Выход, %
5.1	Ph	76
5.2	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	80
5.3	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	78
5.4	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄	75
5.5	4-Br-C ₆ H ₄	83
5.6	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	86

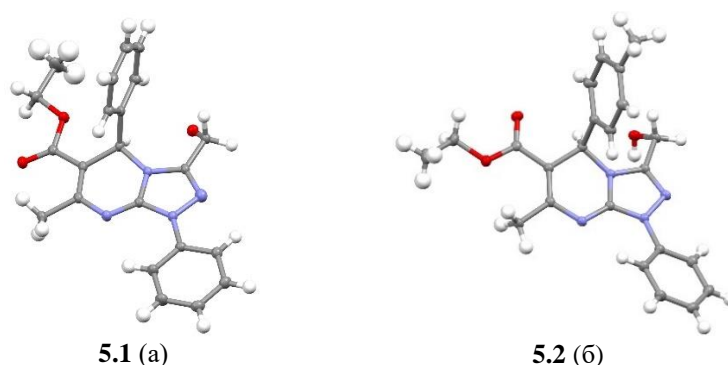


Рисунок 5. Геометрия соединений 5.1 (а) и 5.2 (б) в кристалле

Предположительно, механизм реакции (схема 4) заключается в гидрировании двойной связи C=N с образованием нестабильного производного гидразина А. Далее происходит нуклеофильная атака неподеленной электронной пары атома азота по атому углерода C8a, что приводит к образованию интермедиата В. Затем, происходит разрыв связи C-S, который сопровождается миграцией протона, и образуется бициклический тиол С, который, в свою очередь, десульфурится под действием оксида ванадия(III), образующегося *in situ*. Последующее восстановление альдегидной группы и внутримолекулярная циклизация приводит к целевым триазоло[4,2-*a*]пиримидинам 5.

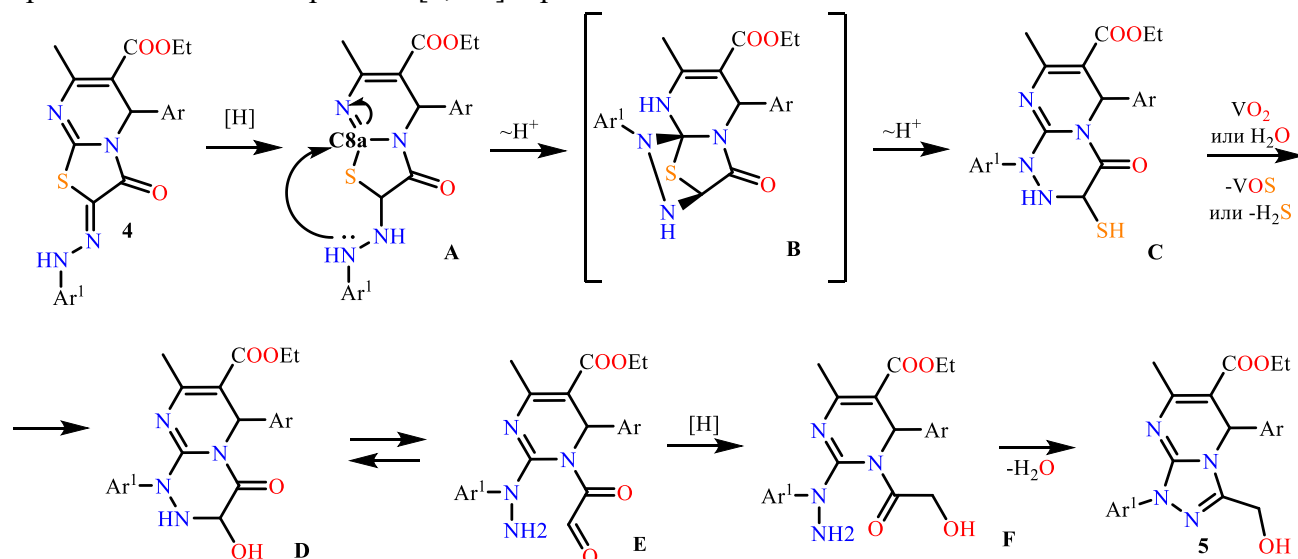


Схема 4.

Таким образом, найдена новая восстановительная система NaBH₄/V₂O₅, позволяющая синтезировать производные 3-(гидроксиметил)[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидина из соответствующих 2-арилгидразоновых производных триазоло[3,2-*a*]пиримидина. Предложен механизм, заключающийся в последовательном гидрировании, обессеривании и внутримолекулярной циклизации.

3.1. Синтез 2-арилметиленовых производных триазоло[3,2-*a*]пиримидина

Следующим этапом работы стал синтез 2-арилметиленовых производных триазоло[3,2-*a*]пиримидина. Данное превращение заключается во взаимодействии триазолопиримидинов с ароматическими альдегидами в присутствии основания. Был синтезирован большой ряд данных соединений с варьированием заместителей при шестом атоме углерода (этоксикарбонильная, ацетильная и бензоильная группы), а также в

ароматическом заместителе при пятом атоме углерода и арилметиленовой части (рисунок 6а). Продуктами реакции конденсации по Кневенагелю между *CH*-активными тиазолопиримидинами и ароматическими альдегидами являются 2-арилметиленовые производные, которые могут образовываться в виде двух геометрических *E*- и *Z*-изомеров (рисунок 6б). В спектрах ^1H ЯМР соединений **6.1-6.38** сигналы метиновых протонов экзоциклической двойной связи проявляются в области 7.68-8.01 м.д. (таблица 5). Проявление синглетов в области слабых полей связано с эффектом дезэкранирования карбонильной группы тиазолидинового фрагмента. Данный факт с учетом наличия только одного набора сигналов в протонном спектре ЯМР указывает на образование именно *Z*-изомеров синтезированных производных.

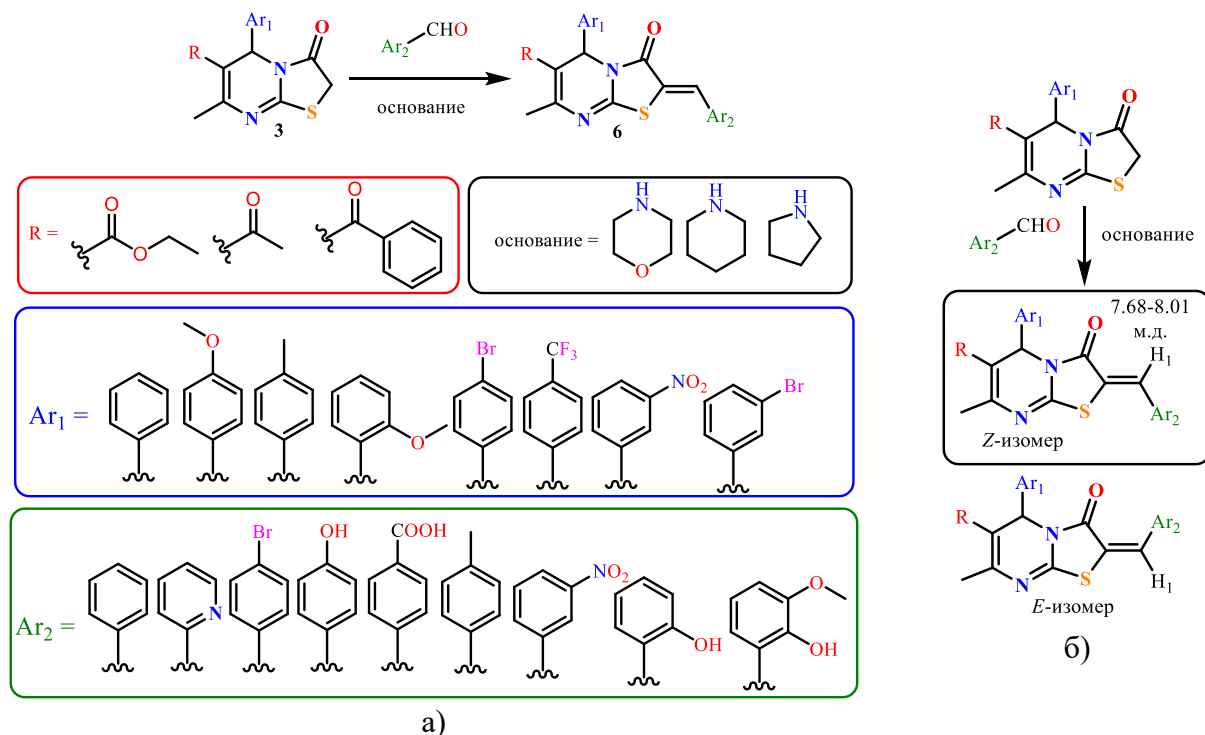


Рисунок 6. а) 2-Арилметиленовые производные тиазоло[3,2-*a*]пиримидина; б) возможные геометрические изомеры 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина

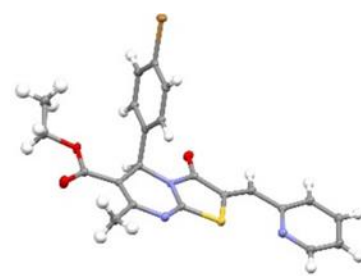
Таким образом, были синтезированы и охарактеризованы методами ^1H , ^{13}C ЯМР-, ИК-спектроскопии и ESI MS масс-спектрометрии 47 новых 2-арилметиленовых производных тиазолопиримидина, содержащих различные группы при втором, пятом и шестом атомах углерода. Выходы производных с бензоильной группой, значительно падали (31-48%), по сравнению с производными с этоксикарбоксылной и ацетиловой группами (68-94%), возможно, ввиду более плохой растворимости исходных соединений в спирте. Структуры соединений **6.27**, **6.36**, **6.47** и **6.56** были подтверждены методом РСА (рисунок 7).

Таблица 5. Соединения **6.1-6.56**.

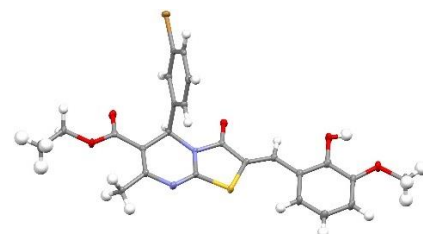
№	R	Ar ₁	Ar ₂	δ _{H1} , м.д.*	Выход, %
6.1	CO ₂ Et	Ph	Ph	7.79	86
6.2	CO ₂ Et	Ph	2-ОН-С ₆ H ₄	7.97	80
6.3	CO ₂ Et	Ph	4-ОН-С ₆ H ₄	7.69	84
6.4	CO ₂ Et	Ph	2-ОН-3-СН ₃ О-С ₆ H ₃	7.99	89
6.5	CO ₂ Et	Ph	4-Br-С ₆ H ₄	7.68	87
6.6	CO ₂ Et	Ph	4-СООН-С ₆ H ₄	7.79	85
6.7	CO ₂ Et	Ph	Ph	7.83	87
6.8	CO ₂ Et	4-СН ₃ О-С ₆ H ₄	2-ОН-С ₆ H ₄	7.96	88

6.9	CO ₂ Et	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	2-OH-3-CH ₃ O-C ₆ H ₃	7.99	89
6.10	CO ₂ Et	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	7.77	86
6.11	CO ₂ Et	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	7.75	83
6.12	CO ₂ Et	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	2-py	7.82	87
6.13	CO ₂ Et	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄	2-OH-C ₆ H ₄	7.89	88
6.14	CO ₂ Et	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄	2-OH-3-CH ₃ O-C ₆ H ₃	7.92	86
6.15	CO ₂ Et	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	7.77	81
6.16	CO ₂ Et	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	7.75	84
6.17	CO ₂ Et	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄	Ph	7.82	85
6.18	CO ₂ Et	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	2-OH-C ₆ H ₄	7.68	89
6.19	CO ₂ Et	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	4-OH-C ₆ H ₄	7.69	91
6.20	CO ₂ Et	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	7.73	90
6.21	CO ₂ Et	4-Br-C ₆ H ₄	Ph	7.80	93
6.22	CO ₂ Et	4-Br-C ₆ H ₄	2-OH-C ₆ H ₄	7.97	88
6.23	CO ₂ Et	4-Br-C ₆ H ₄	4-OH-C ₆ H ₄	7.69	87
6.24	CO ₂ Et	4-Br-C ₆ H ₄	2-OH-3-CH ₃ O-C ₆ H ₃	8.00	90
6.25	CO ₂ Et	4-Br-C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	7.77	79
6.26	CO ₂ Et	4-Br-C ₆ H ₄	4-COOH-C ₆ H ₄	7.79	93
6.27	CO ₂ Et	4-Br-C ₆ H ₄	2-py	7.84	82
6.28	CO ₂ Et	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	Ph	7.81	86
6.29	CO ₂ Et	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	2-OH-C ₆ H ₄	7.97	87
6.30	CO ₂ Et	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	4-OH-C ₆ H ₄	7.70	84
6.31	CO ₂ Et	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	2-OH-3-CH ₃ O-C ₆ H ₃	7.99	83
6.32	CO ₂ Et	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	7.98	68
6.33	CO ₂ Et	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	2-py	7.85	84
6.34	CO ₂ Et	3-Br-C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	7.79	94
6.35	CO ₂ Et	3-Br-C ₆ H ₄	4-OH-C ₆ H ₄	7.73	81
6.36	CO ₂ Et	3-Br-C ₆ H ₄	2-OH-3-CH ₃ O-C ₆ H ₃	8.01	85
6.37	CO ₂ Et	3-Br-C ₆ H ₄	Ph	7.82	89
6.38	CO ₂ Et	3-Br-C ₆ H ₄	2-py	7.85	78
6.39	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	Ph	7.91	39
6.40	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	7.78	31
6.41	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	2-OH-C ₆ H ₄	7.74	47
6.42	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-OH-C ₆ H ₄	7.76	34
6.43	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	2-OH-3-OH-C ₆ H ₃	7.74	42
6.44	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	7.74	40
6.45	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	7.73	36
6.46	PhCO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	Ph	7.80	37
6.47	PhCO	2-CH ₃ O-C ₆ H ₄	2-OH-C ₆ H ₄	7.94	48
6.48	CH ₃ CO	Ph	Ph	7.81	85
6.49	CH ₃ CO	Ph	2-OH-C ₆ H ₄	7.97	93
6.50	CH ₃ CO	Ph	4-OH	7.70	87
6.51	CH ₃ CO	Ph	2-OH, 3-OMe	7.99	88
6.52	CH ₃ CO	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄	4-Br	7.79	90
6.53	CH ₃ CO	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	4-Br	7.78	93
6.54	CH ₃ CO	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	2-OH	7.98	91
6.55	CH ₃ CO	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	4-OH	7.69	83
6.56	CH ₃ CO	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	2-OH, 3-OMe	8.01	87

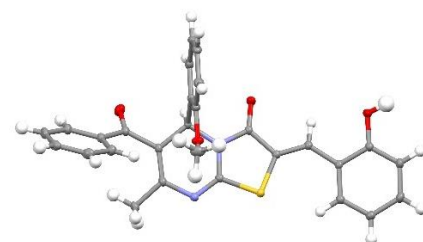
* сигналы метиновых протонов экзоциклической двойной связи



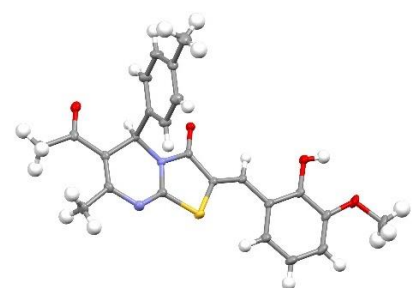
6.27 (a)



6.36 (б)



6.47 (в)



6.56 (г)

Рисунок 7. Геометрия соединений 6.27 (а), 6.36 (б), 6.47 (в) и 6.56 (г) в кристалле

3.2. Структура 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-а]пиримидина в кристаллической фазе

В Кембриджской структурной базе данных в настоящее время имеются 23 структуры, содержащие этоксикарбонильную группу при шестом атоме углерода тиазолопиримидинового каркаса. Следует отметить, что почти все публикации представлены в виде кратких сообщений о кристаллических структурах чаще всего в электронных журналах. Таким образом, систематические структурные исследования 2-арилметиленовых производных в кристалле в литературе отсутствуют. При этом все опубликованные кристаллы – центросимметричные, а значит, в них молекулы находятся в форме истинного рацемата.

Поэтому целью данной части работы являлось изучение кристаллической структуры новых 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, функционализированных различными донорно-акцепторными заместителями, а также электрофильными атомами брома и нуклеофильными заместителями для создания галогенной связи. Для контроля самосборки хиральных молекул в кристаллической фазе при кристаллизации использовались протонные и апротонные растворители.

Было установлено влияние структуры 2-арилметиленового фрагмента синтезируемых производных на упаковку молекул в кристаллической фазе. Так, при кристаллизации из этилового спирта производных **6.22**, **6.24** и **6.36**, содержащих 2-гидрокси- и 2-гидрокси-3-метоксибензилиденные фрагменты соответственно, образуются рацематные димеры за счет наличия двух водородных связей O-H \cdots O типа (рисунок 8а,в,г). Гидроксильная группа одного изомера взаимодействует с карбонильной группой тиазолидинового фрагмента другого изомера. Стоит отметить, что кристаллизация этих же производных из ДМСО в случае производного **6.22** с 2-гидроксибензилиденным фрагментом приводила к образованию кристаллосольватов (рисунок 8б), в которых реализуется OD-система водородных связей гидроксильной группы с молекулой растворителя. Однако образования кристаллосольватов в случае производных с 2-гидрокси-3-метоксибензилиденным фрагментом **6.24** не наблюдалось (рисунок 8в,г), что свидетельствует об энергетически выгодном образовании димерных структур.

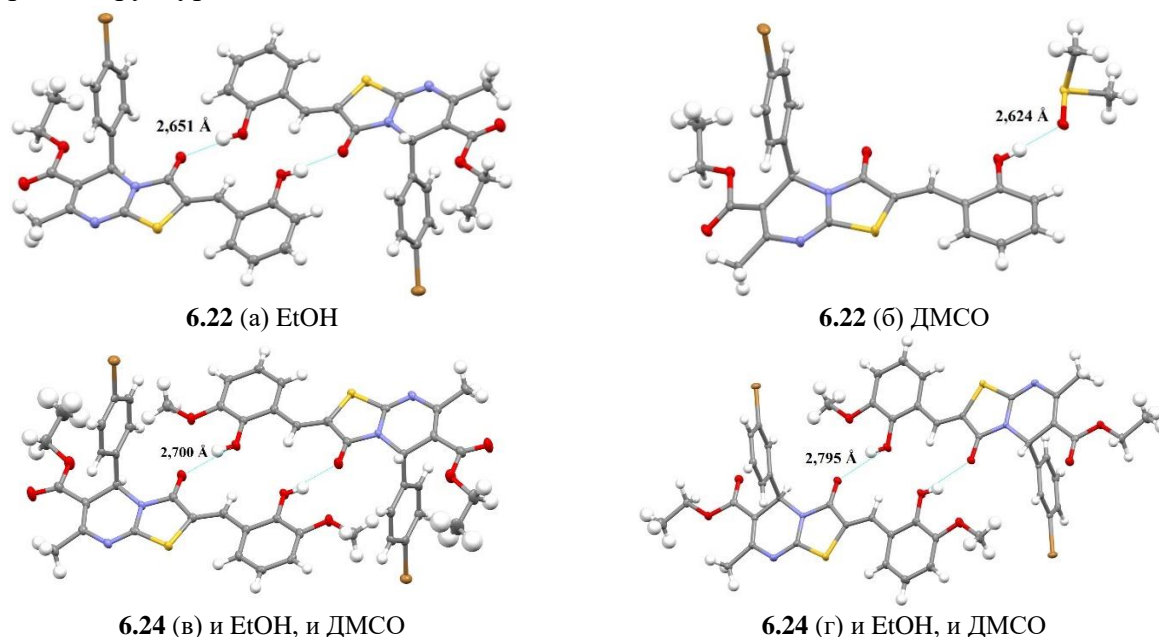


Рисунок 8. Система водородных связей в кристалле соединений **6.22** (а, EtOH), **6.22** (б, ДМСО), **6.24** (в, и EtOH, и ДМСО) и **6.36** (г, и EtOH, и ДМСО)

Кристаллы соединения **6.2**, в котором при атоме C5 содержится фенильный заместитель, были получены медленным испарением этанольного раствора и являются нецентросимметричными кристаллосольватами. Асимметрическую часть составляют две молекулы соединения **6.2** (*R*- и *S*-изомеры) и две молекулы этанола. Анализ кристаллической упаковки показывает, что в кристалле реализуется нецентросимметричная система водородных связей, образуются две зигзагообразные гомохиральные цепочки водородно-связанных молекул, одна - состоящая только из молекул *R*-изомера, другая – из молекул *S*-изомера (рисунок 9а). Интересно отметить, что в кристалле производного **6.29**, полученного из метанольного раствора, наблюдается схожий мотив супрамолекулярной организации в

кристаллической фазе. Также образуются водородно-связанные гомохиральные цепочки (рисунок 9б), но имеющие более четко выраженный лестничный характер.

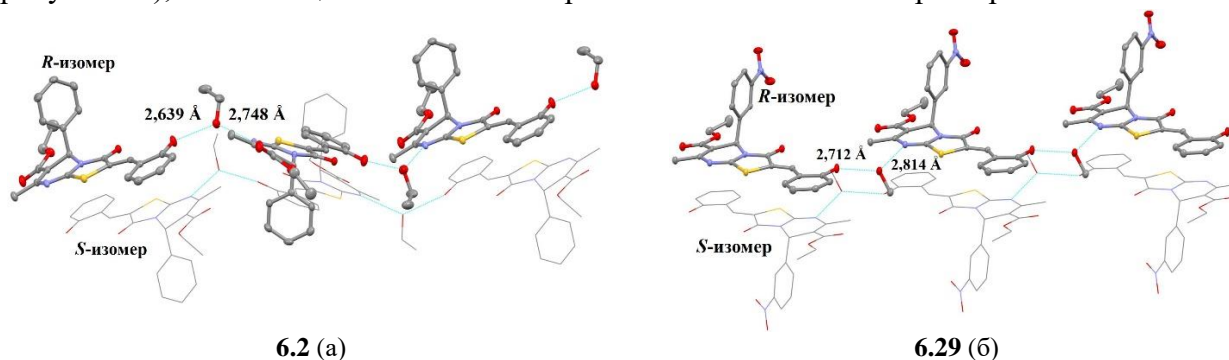


Рисунок 9. Гомохиральные цепочки водородно-связанных *R*- и *S*-изомеров в кристалле соединений **6.2** (а) и **6.29** (б) в кристалле

Следующим этапом работы стало исследование влияния положения гидроксильной группы в арилметиленовом фрагменте. Для этого были получены кристаллы соединений **6.3** и **6.23**, содержащие 4-гидроксифенильный фрагмент. При анализе кристаллической упаковки соединения **6.3** было установлено, что образуются межмолекулярные водородные связи O-H...N, приводящие к зигзагообразным гомохиральным цепочкам (рисунок 10а). В свою очередь две гомохиральные цепочки, состоящие из разных энантиомеров, переплетаются друг с другом (рисунок 10в) благодаря отсутствию стерических препятствий. Схожий супрамолекулярный мотив наблюдается в кристаллической фазе соединения **6.23**, содержащего *para*-бромфенильный фрагмент при C5. Образуется межмолекулярная водородная связь O-H...N типа, которая также приводит к образованию гомохиральных зигзагообразных цепочек (рисунок 10б). В данном случае не происходит закручивания двух гомохиральных цепочек, что, видимо, связано с наличием достаточно объемного заместителя (атома брома). Цепочки располагаются параллельно (рисунок 10г).

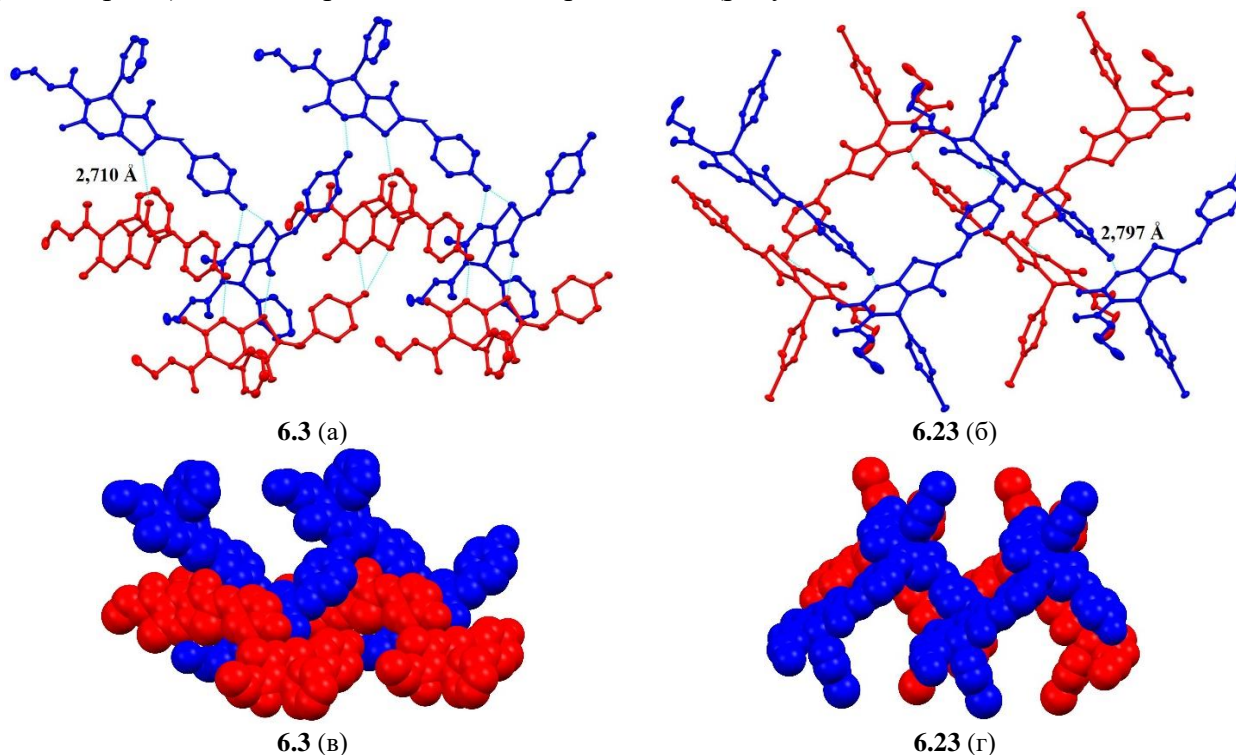


Рисунок 10. Гомохиральные цепочки водородно-связанных *R*- и *S*-изомеров в кристалле соединений **6.3** (а,в) и **6.23** (б,г) в кристалле. *R*- и *S*-изомеры выделены синим и красным цветом, соответственно

Кристаллизация соединения **6.13** привела к кристаллизации конгломерата в полярной нецентросимметричной пространственной группе $P2_12_12_1$ с одной независимой молекулой в асимметрической части. Следует отметить, что кристалл получен из этанольного раствора, но не содержит сольватных молекул. В каждом конкретном кристалле содержатся молекулы одного энантиомера, а в массе кристаллы представляют конгломерат энантиомерных кристаллов. Система водородных связей в этом кристалле представляет собой одномерную зигзагообразную цепочку молекул, связанных системой водородных связей O-H \cdots N типа (рисунок 11а). Кристаллизация соединения **6.4** привела к аналогичной конгломератной кристаллизации зигзагообразных водородно-связанных цепочек молекул (рисунок 11б) только в пространственной группе $P2_1$.

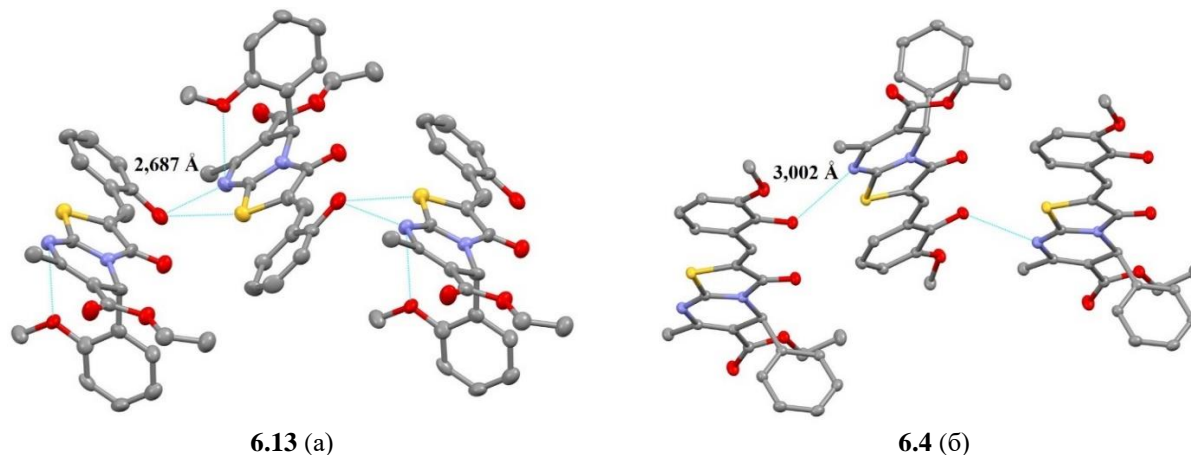
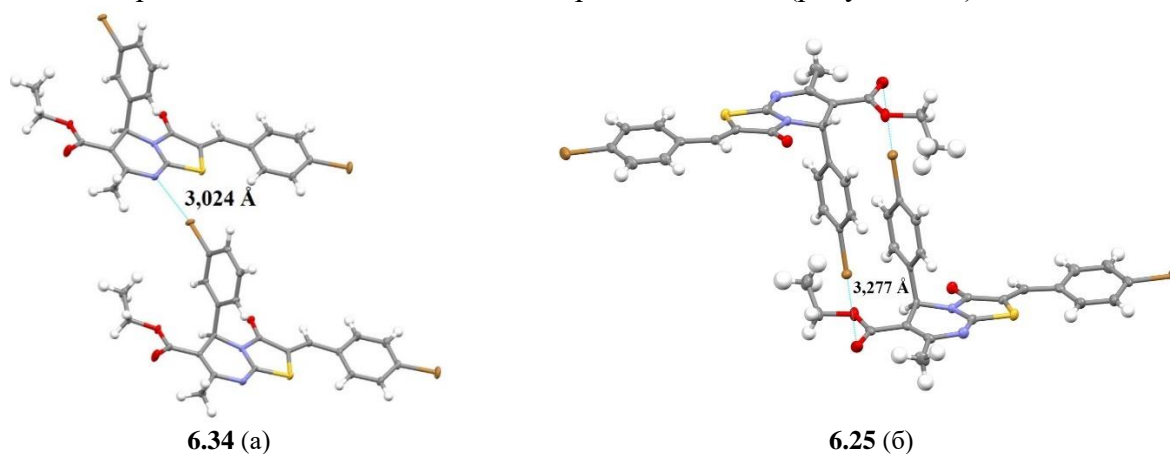
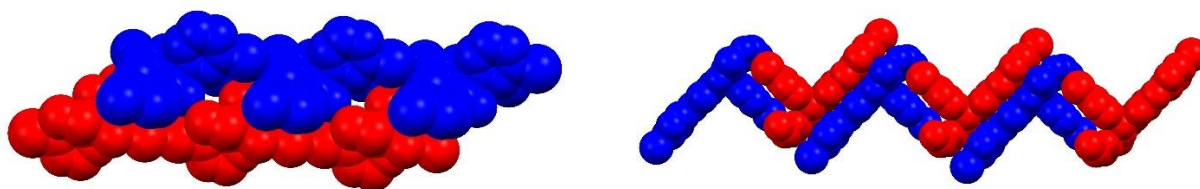


Рисунок 11. Часть гомохиральной зигзагообразной водородно-связанной цепочки, состоящей только из *R*-изомеров для соединения **6.13** (а) и только из *S*-изомеров для соединения **6.4** (б) в кристалле

В кристаллах производных **6.25** и **6.34**, содержащих бромфенильные заместители, при анализе кристаллической упаковки обнаружено наличие галогенного связывания, но абсолютно разного по своей природе. Показано, что только атомы брома в бромфенильном фрагменте при пятом атоме углерода тиазолидинового фрагмента способны образовывать галогенную связь. В случае соединения **6.34** с *мета*-бромфенильным фрагментом реализуется классическая галогенная связь N \cdots Br (рисунок 12а). Но в кристалле соединения **6.25** с *пара*-бромфенильным фрагментом наблюдается другой тип связывания – галогенная связь O \cdots Br (рисунок 12б). Выявлено, что галогенная связь O \cdots Br, возникает между двумя разными изомерами, что приводит к образованию димерных структур (рисунок 12г), а галогенная связь N \cdots Br ведет к образованию бесконечных гомохиральных цепей (рисунок 12в).





6.34 (в)

6.25 (г)

Рисунок 12. Система галогенных связей в кристалле соединений **6.34** (а,в) и **6.25** (б,г). *R*- и *S*-изомеры выделены синим и красным цветом, соответственно

Таким образом, впервые получена 21 новая кристаллическая структура 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина. Выявлены структурные факторы, влияющие на кристаллическую упаковку, и влияние водородного и галогенного связывания на супрамолекулярный мотив их организации в кристаллической фазе.

3.3. Химические свойства 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина в реакциях с *O*-нуклеофилами

В литературе описание химических свойств 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина в основном исчерпывается реакциями с достаточно сильными нуклеофилами (анионами *SH*-кислот и циклическими дисульфидами), которые приводят к образованию пирано(пиридо)тиазоло[3,2-*a*]пиримидинам и спиро[тиазоло[3,2-*a*]пиримидинтиофен]-3-онам. Сведения о реакционной способности с *O*-нуклеофилами в литературе отсутствуют. В качестве такого реагента в настоящей работе был выбран метиловый спирт. Оказалось, что даже при длительном кипячении (до 100 часов) в избытке метанола как в присутствии оснований (пиридин, триэтиламин, 4,4'-бипиридин), так и в их отсутствии, образования продукта присоединения не наблюдалось. В то же время взаимодействие с метилатом натрия даже при комнатной температуре происходило крайне энергично и приводило к образованию продуктов осмоления. В связи с этим была предпринята попытка провести реакцию с метанолом в условиях микроволновой активации. Оказалось, что во всех случаях микроволновое излучение приводило к инициированию реакции и присоединению молекулы метанола: в масс-спектрах реакционных смесей присутствовали пики молекулярных ионов, отличающихся от массы исходных соединений на молекулярную массу метилового спирта. Неожиданной оказалась структура продуктов взаимодействия, так как присоединение спирта по Михаэлю, что характерно для данных производных и показано в литературе на примерах взаимодействия с другими нуклеофилами, не наблюдалось (схема 5). Присоединение метанола сопровождалось последующей внутримолекулярной перегруппировкой и в качестве продуктов реакции были выделены и идентифицированы 2,3-дизамещенные 2,3-дигидротиазолопиримидины **7** (таблица б). Структура производного **7.3** была подтверждена методом РСА (рисунок 13).

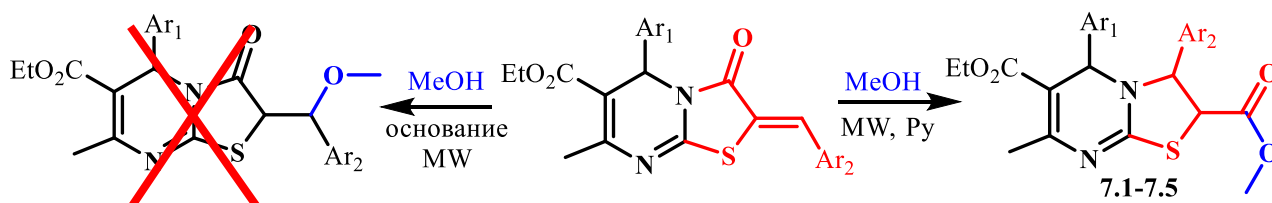


Схема 5.

Таблица 6. Соединения 7.1-7.5.

№	Ar ₁	Ar ₂	Выход, %
7.1	Ph	Ph	97
7.2	Ph	4-Br-C ₆ H ₄	95
7.3	4-Br-C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	96
7.4	3-Br-C ₆ H ₄	4-Br-C ₆ H ₄	98
7.5	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	3-NO ₂ -C ₆ H ₄	98

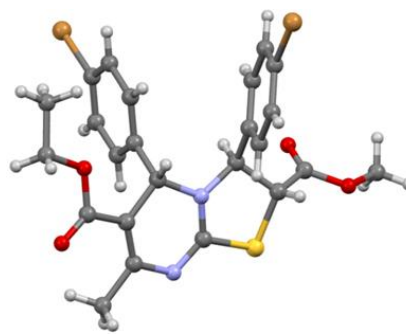


Рисунок 13. Геометрия соединения 7.3

Учитывая тот факт, что данная реакция идет только в присутствии основания (пиридина) в условиях микроволнового синтеза, предложен механизм, представленный на схеме 6. Роль пиридина (Py) может заключаться в увеличении нуклеофильности атома кислорода из-за образования водородно-связанного комплекса с пиридином (MeOH···Py). За счет этого атом кислорода комплекса атакует карбонильный атом углерода (C3) 2-арилметиленового производного тиазола[3,2-*a*]пиримидина с образованием *S*-алкилированного производного **A**. Далее происходит 1,4-нуклеофильная внутримолекулярная атака по Михаэлю неподеленной пары электронов атома азота с образованием енола **B**, миграция протона в котором приводит к целевым бициклическим производным.

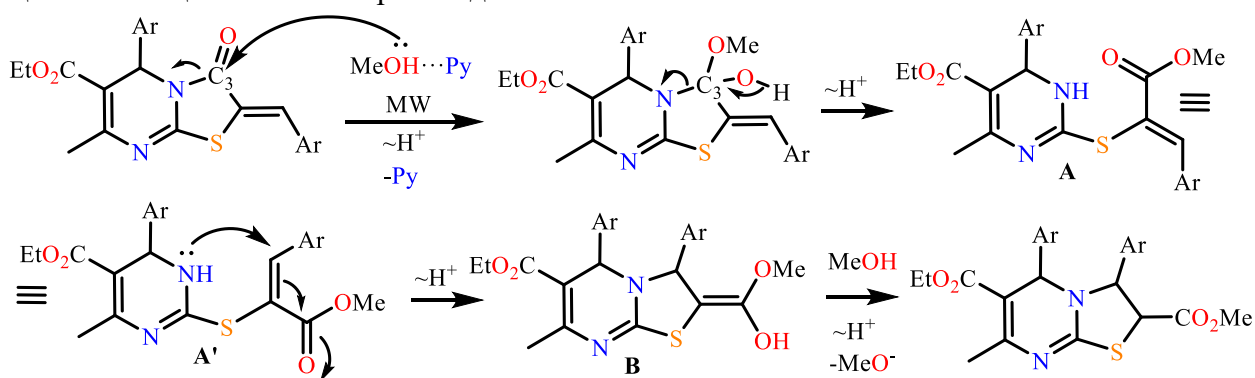


Схема 6.

Альтернативным вариантом протекания данной реакции может являться первоначальное раскрытие тиазолидинового фрагмента под действием пиридина в условиях микроволнового облучения с образованием цвиттер-иона **C**, содержащего хорошо уходящую группу (Py⁺) (схема 7). Последующие нуклеофильная атака метанола и внутримолекулярная циклизация приводят к 2,3-дигидро-2,3-дизамещенным производным тиазола[3,2-*a*]пиримидина 7.1-7.5.

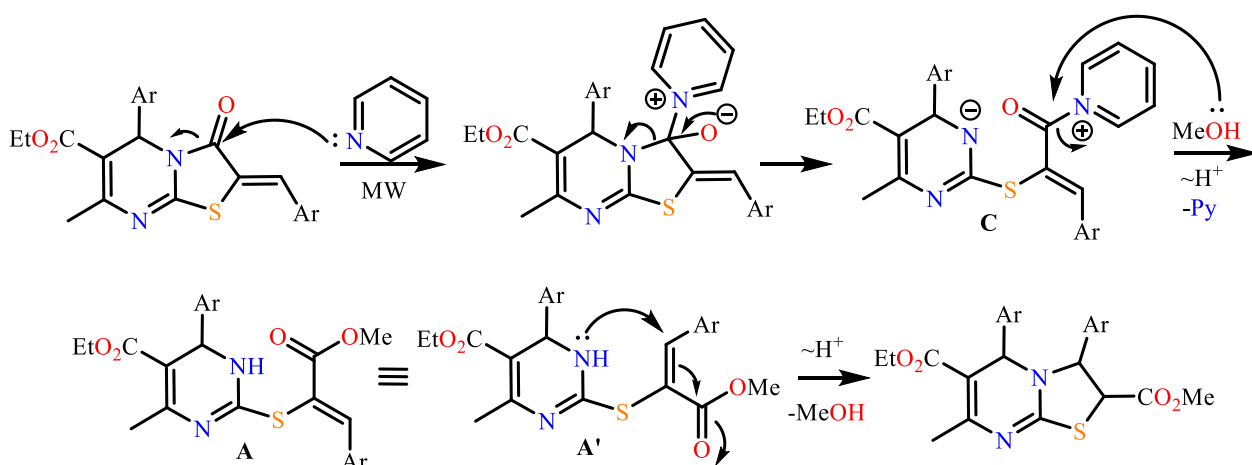


Схема 7.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено новое течение реакции 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина с *O*-нуклеофилами и предложен новый способ получения 3,5-диарил-2,3-дигидротиазоло[3,2-*a*]пиримидин-2,6-дикарбоксилатов под действием метилового спирта в условиях микроволнового синтеза в присутствии основания.

4. Биологическая активность синтезированных производных

Важнейшим этапом в исследованиях новых химических соединений, предлагаемых в качестве потенциальных лекарственных средств, является изучение их цитотоксических свойств. Синтезированные соединения были протестированы на цитотоксичность в отношении раковых и нормальных клеточных линий (таблица 7 и 8). Данные по цитотоксической активности представлены значениями IC_{50} (концентрация исследуемого соединения, которая вызывает гибель 50% клеток в опытной популяции). В таблице 7 приведены данные по IC_{50} 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидина **4.1**, **4.3**, **4.4**, **4.6**, **4.7**, **4.10**, **4.14** и **4.14** и триазоло[4,3-*a*]пиримидинов **5.1-5.4** (рисунок 14).

Таблица 7. Цитотоксическая активность 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидина и триазоло[4,3-*a*]пиримидинов.

№	IC_{50} (μM)				
	Линии раковых клеток				Нормальные клеточные линии
	M-HeLa	MCF-7	PC3	HuTu 80	
					Chang liver
4.1	82.6±7.6	67.3±5.3	60.1±5.4	>100	94.0±8.2
4.3	94±8.4	70.3±5.5	>100	>100	97.0±8.3
4.4	75.5±6.4	69.7±5.2	91.6±8.3	96.2±8.3	94.0±7.9
4.6	>100	>100	>100	>100	>100
4.7	>100	>100	>100	>100	70.1±6.7
4.10	>100	>100	>100	>100	>100
4.14	>100	70.7±5.6	>100	>100	>100
4.16	49.7±3.9	>100	48.3±3.8	44.4±3.5	73.5±5.8
5.1	87.4±7.2	72.2±6.1	>100	>100	92.5±8.5
5.2	59.5±4.8	70.5±5.5	>100	>100	97.1±8.8
5.3	96.5±8.3	68.8±5.4	>100	>100	93.7±8.1
5.4	>100	81.3±7.4	>100	>100	>100

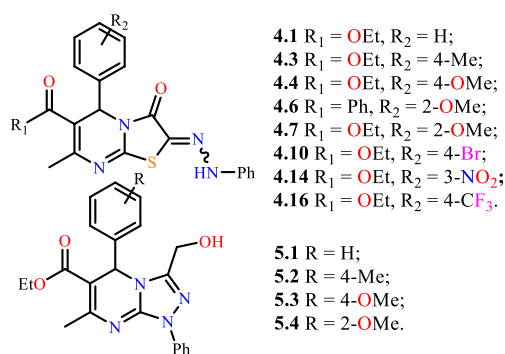


Рисунок 14. 2-Арилгидразоны тиазоло[3,2-*a*]пиримидина и триазоло[4,3-*a*]пиримидины

Видно, что соединения **4.1**, **4.16** и **5.2** проявляют среднюю цитотоксическую активность на клеточных линиях карциномы шейки матки (M-HeLa), аденокарциномы предстательной

железы (PC3) и аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека (HuTu 80). В отношении нормальных клеток печени (линия Chang liver) все соединения обладали цитотоксической активностью. Значения IC₅₀ наблюдались в диапазоне концентраций 73.5 – ≥100мкМ.

В таблице 8 приведены данные по IC₅₀ 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина **6.2**, **6.3**, **6.5**, **6.8-6.11**, **6.13-6.15**, **6.22-6.25**, **6.29-6.32**, **6.39**, **6.40**, **6.46** и **6.53** (Рисунок 15).

6.2 R₁ = OEt, R₂ = H, R₃ = 2-OH;

6.3 R₁ = OEt, R₂ = H, R₃ = 4-OH;

6.5 R₁ = OEt, R₂ = H, R₃ = 4-Br;

6.8 R₁ = OEt, R₂ = 4-OMe, R₃ = 2-OH;

6.9 R₁ = OEt, R₂ = 4-OMe, R₃ = 2-OH, 3-OMe;

6.10 R₁ = OEt, R₂ = 4-OMe, R₃ = 4-Br;

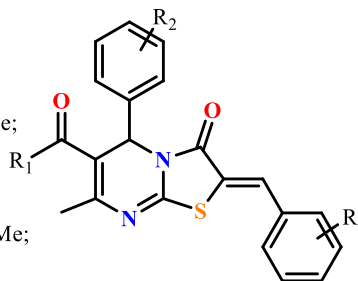
6.11 R₁ = OEt, R₂ = 4-OMe, R₃ = 4-Me;

6.13 R₁ = OEt, R₂ = 2-OMe, R₃ = 2-OH;

6.14 R₁ = OEt, R₂ = 2-OMe, R₃ = 2-OH, 3-OMe;

6.15 R₁ = OEt, R₂ = 2-OMe, R₃ = 4-Br;

6.22 R₁ = OEt, R₂ = 4-Br, R₃ = 2-OH;



6.23 R₁ = OEt, R₂ = 4-Br, R₃ = 4-OH;

6.24 R₁ = OEt, R₂ = 4-Br, R₃ = 2-OH, 3-OMe;

6.25 R₁ = OEt, R₂ = 4-Br, R₃ = 4-Br;

6.29 R₁ = OEt, R₂ = 3-NO₂, R₃ = 2-OH;

6.30 R₁ = OEt, R₂ = 3-NO₂, R₃ = 4-OH;

6.31 R₁ = OEt, R₂ = 3-NO₂, R₃ = 2-OH, 3-OMe;

6.32 R₁ = OEt, R₂ = 3-NO₂, R₃ = 3-NO₂;

6.40 R₁ = Ph, R₂ = 4-OMe, R₃ = 4-Br;

6.41 R₁ = Ph, R₂ = 4-OMe, R₃ = 2-OH;

6.47 R₁ = Ph, R₂ = 2-OMe, R₃ = 2-OH;

6.54 R₁ = CH₃, R₂ = 4-Me, R₃ = 2-OH.

Рисунок 15. 2-Арилметиленовые производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина

Таблица 8. Цитотоксическая активность 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина.

№	IC ₅₀ (μM)				
	Линии раковых клеток				Нормальные клеточные линии
	M-HeLa	MCF-7	PC3	HuTu 80	Chang liver
6.2	11.9±0.9	43.7±3.5	77.6±6.7	10.2±0.8	75.0±5.7
6.3	70.0±5.5	>100	54.0±4.3	43.3±3.5	86.1±6.8
6.5	96.5±7.6	>100	52.4±4.1	>100	>100
6.8	20.6±1.7	32.1±2.5	23.3±1.9	26.8±2.1	22.7±1.8
6.9	>100	>100	79.4±6.3	>100	>100
6.10	62.2±5.1	>100	>100	55±4.4	85.0±6.7
6.11	50.8±4.1	55.4±4.4	62.3±5.0	41.1±3.3	>100
6.13	90±8.3	93.3±8.2	93.7±8.5	85.9±8.0	56.4±4.5
6.14	98.1±7.7	>100	54.1±4.3	>100	96.0±7.5
6.15	>100	>100	>100	>100	97.1±8.8
6.22	18.8±1.5	22.3±1.4	28.1±2.2	23.7±1.8	78.2±6.2
6.23	31.0±2.4	53.3±4.2	49.3±3.9	32.1±2.5	53.2±4.2
6.24	85±7.8	>100	100±8.6	90.3±8.1	64.2±5.1
6.25	68±6.2	98.7±8.5	94.7±8.7	77.6±6.6	71.8±6.2
6.29	55.0±4.4	56.0±4.5	56.0±4.4	60±4.7	88.0±7.0
6.30	>100	>100	70.0±5.5	74.5±5.7	91.4±7.2
6.31	16.2±1.3	72.0±5.8	>100	90.0±8.0	>100
6.32	89.0±7.0	>100	51.0±4.0	99.0±7.8	>100
6.40	63.1±5.3	61.0±4.9	95.0±7.5	75.0±5.8	>100
6.41	>100	>100	73.4±5.8	>100	>100
6.47	56.4±4.5	81.0±7.4	54.0±4.3	39.0±3.1	64.0±5.1
6.54	88.0±7.0	>100	57.4±4.5	88.0±6.9	>100
Сорафениб	25.0±1.8	27.5±2.2	12.7±1.1	13.0±1.2	21.7±1.7

Исследуемые соединения показали высокую и умеренную активность в отношении ряда раковых линий различного генеза и демонстрировали умеренную цитотоксичность в отношении нормальных клеток печени. Наиболее значимые результаты исследуемые соединения показали в отношении клеточных линий карциномы шейки матки (M-HeLa) и аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека (HuTu 80). Их цитотоксическое действие проявлялось на уровне препарата сравнения сорафениба, а в случае соединения **6.2** в отношении M-HeLa в два раза превышало по активности известный противоопухолевый препарат.

Селективность соединений в отношении раковых клеток является важным критерием оценки цитотоксического действия. Для этого рассчитывали индекс селективности (SI) как отношение между значением IC₅₀ для нормальных клеток и значением IC₅₀ для раковых клеток. Значения индекса селективности для тестируемых соединений приведены в таблице 9. Видно, что самую высокую селективность в отношении раковых линий M-HeLa и HuTu 80 продемонстрировало соединение **6.2**, значение SI которого составил 6.3 и 7.5 соответственно. Как правило, селективными считаются соединения с SI ≥ 3. Согласно этим данным, соединение **6.2** можно считать селективным по отношению к клеточным линиям M-HeLa и HuTu 80. При этом референтный препарат сорафениб значительно уступал **6.2** по селективности.

Таблица 9. Значения индекса селективности для тестируемых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина.

№	Нормальные клеточные линии									
	M-HeLa		MCF-7		PC3		HuTu 80		Chang liver	
	IC ₅₀	SI	IC ₅₀	SI	IC ₅₀	SI	IC ₅₀	SI	IC ₅₀	SI
6.2	11.9±0.9	6.3	43.7±3.5	1.7	77.6±6.7	ос	10.0±0.8	7.5	75.0±5.7	
6.8	20.6±1.7	1.1	32.1±2.5	ос	23.3±1.9	ос	26.8±2.1	ос	22.7±1.8	
6.22	18.8±1.5	4.2	52.7±4.2	1.5	28.1±2.2	2.8	23.7±1.8	3.3	78.2±6.2	
6.29	55.0±4.4	1.6	56.0±4.5	1.6	56.0±4.4	1.6	60±4.7	6.0	88.0±7.0	
Сорафениб	25.0±1.8	ос	27.5±2.2	ос	27.5±2.2	ос	13.0±1.2	1.7	21.7±1.7	

Эксперименты проводились трижды. Результаты выражены как среднее значение ± стандартное отклонение; ос – отсутствие селективности.

При исследовании апоптотических эффектов в клетках M-HeLa после 24-часовой инкубации в присутствии **6.2** в клетках M-HeLa наблюдался дозозависимый апоптоз. Причем более активно регистрируемые эффекты протекали на поздней стадии апоптоза. Результаты анализа клеточного цикла после обработки соединением **6.2** в течение 24 часов в концентрациях IC₅₀/2 и IC₅₀ на клеточной линии M-HeLa показали достоверную задержку клеток в фазе G0/G1 по сравнению с контролем. При помощи мультиплексного анализа был определен цитотоксический эффект тестируемого соединения **6.2**, который может характеризоваться индукцией апоптоза по внутреннему пути, связанному с нарушением функции митохондрий, задержкой клеточного цикла в фазе G1/G0.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Открыта перегруппировка 2-арилгидразонов тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов в 1-арил-3-гидрокси-метил-[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидины, проходящая с хорошими выходами.
2. Открыта перегруппировка 2-арилметилидентиазоло[3,2-*a*]пиримидин-3-онов в 3-арил-2,3-дигидротиазоло[3,2-*a*]пиримидин-2-карбоксилаты, проходящая практически с количественными выходами.
3. Разработаны методики синтеза 2-арилгидразоновых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, и синтезировано 13 новых соединений, структура которых подтверждена комплексом физико-химических методов, включая монокристалльный РСА.
4. Разработаны методики синтеза 2-арилметилиденовых производных тиазопиримидина, содержащих различные (этоксикарбонильную, бензоильную и ацетильную) группы при шестом атоме углерода, и синтезировано 47 новых соединений, структура которых подтверждена комплексом физико-химических методов, включая монокристалльный РСА.
4. Показано, что 2-арилгидразоны тиазоло[3,2-*a*]пиримидина как в кристаллической фазе, так и в растворе находятся преимущественно в форме *Z*-изомеров за счёт внутри- и межмолекулярных водородных связей.

5. Установлено влияние структуры 2-арилметиленовых производных тиазолопиримидина на супрамолекулярный мотив их организации в кристаллической фазе, а именно:

- производные тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, содержащие 2- или 4-гидрокси- или 2-гидрокси-3-метоксибензилиденные фрагменты, при кристаллизации из протонных растворителей (этанола, метанола), образуют два типа водородно-связанных структур. Первый – centrosymmetricные рацемические димеры, образованные двумя межмолекулярными водородными связями O-H \cdots O типа между гидроксильной группой метиларилиденного фрагмента одного стереоизомера и карбонильной группой тиазолидинового каркаса другого. Второй - гомотиральные цепочки, формирующиеся за счет мостиковых водородных связей с молекулой растворителя;

- кристаллизация 2- и 4-гидроксибензилиденных производных из апротонного растворителя ДМСО ведет к образованию водородно-связанных с молекулой растворителя рацемических димеров. Введение же метоксильной группы в третье положение 2-гидрокси-бензилиденного фрагмента ведет к разрушению подобных димеров;

- кристаллизация из этилового спирта рацемата тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, содержащих 2-метоксифенильный и 2-гидроксибензилиденный, либо фенольный и 2-гидрокси-3-метоксибензилиденный фрагменты привела к формированию конгломерата в виде энантиоморфных кристаллов, состоящих из 1D-зигзагообразных цепочек;

- производные тиазоло[3,2-*a*]пиримидина с 3- и 4-бромфенильными фрагментами в кристалле образуют Vg \cdots N и Vg \cdots O галогенные связи соответственно, которые выступают в качестве связующего элемента при образовании димерных и полимерных 1D-супрамолекулярных структур.

6. Среди синтезированных тиазоло[4,3-*a*]пиримидинов, 2-арилгидразоновых и 2-арилметиленовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина выявлены соединения - лидеры с высокой противоопухолевой активностью в отношении клеточных линий карциномы шейки матки (M-HeLa) и аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека (HuTu 80), активность которых сопоставима или превосходит противоопухолевый препарат «Сорафениб». Показано, что этил-(2*Z*)-2-(2-гидроксибензилиден)-7-метил-3-оксо-5-фенил-2,3-дигидро-5*H*-[1,3]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-6-карбоксилат проявляет высокую селективность в отношении M-HeLa в отличие от референтного препарата «Сорафениб».

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты являются фундаментальной основой для **дальнейшей разработки перспективных** противоопухолевых агентов в рамках данного класса – производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина. Показаны высокие синтетические возможности 2-замещенных производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидина, позволяющие получать ранее недоступные гетероциклические производные с потенциальными практически полезными свойствами, что является важным для развития современной органической химии.

Основное содержание работы отражено в следующих публикациях:

Статьи:

1. Lashmanova, E.A. Rearrangement of thiazolo[3,2-*a*]pyrimidines into triazolo[4,3-*a*]pyrimidines induced by C=N bond reduction / E. A. Lashmanova, **A.S. Agarkov**, V.B. Rybakov, A.K. Shiryaev // *Chem. Heterocycl. Compd.* - **2019**. – V. 55. - P. 1217-1221.
2. **Агарков, А.С.** Синтез и структура новых производных триазоло[4,3-*a*]пиримидина и 2-фенилгидразонов триазоло[3,2-*a*]пиримидина / **А.С. Агарков**, Г.В. Коноров, А.А. Нефедова, Э.Р. Габитова, Д.Р. Исламов, А.С. Овсянников, А.К. Ширяев, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // *Бутлеровские сообщения.* – **2021**. - Т. 68. - №10. – С. 122-127.
3. **Агарков, А.С.** Структура и биологические свойства 2-фенилгидразоновых производных триазолопиримидинов / **А.С. Агарков**, Э.Р. Габитова, Ф.Б. Галиева, А.С. Овсянников, А.Д. Волошина, А.К. Ширяев, И.А. Литвинов, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // *Доклады Академии Наук. Химия, науки о материалах.* - **2022**. – Т. 503. - №1. - С. 9-15.
4. **Agarkov, A.S.** Crystalline State Hydrogen Bonding of 2-(2-Hydroxybenzylidene)Thiazolo[3,2-*a*]Pyrimidines: A Way to Non-Centrosymmetric Crystals / **A.S. Agarkov**, I.A. Litvinov, E.R. Gabitova, A.S. Ovsyannikov, P.V. Dorovatovskii, A.K. Shiryaev, S.E. Solovieva, I. S. Antipin // *Crystals.* – **2022**. – V. 12(4). – P. 494.
5. **Агарков, А.С.** Новый способ получения 2,3-дизамещенных 2,3-дигидротриазоло[3,2-*a*]пиримидинов / **А.С. Агарков**, А.А. Кожихов, А.А. Нефедова, А.С. Овсянников, Д.Р. Исламов, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // *Доклады Академии Наук. Химия, науки о материалах.* - **2022**. – Т. 505. – С. 50-57.

Тезисы:

1. **Агарков А.С.**, Синтез и биологическая активность новых производных триазоло[4,3-*a*]пиримидинов / **А.С. Агарков**, Г.В. Коноров, А.С. Сапунова, А.Д. Волошина, А.К. Ширяев, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // II Школа-конференция «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием) (Казань, Россия, 19-21 октября) – **2020**. – С. 60.
2. **Агарков А.С.**, Перегруппировка триазоло[3,2-*a*]пиримидинов в триазоло[4,3-*a*]пиримидины, вызываемая восстановлением связи C=N / **А.С. Агарков**, Коноров Г.В., Сапунова А.С., Волошина А.Д., Ширяев А.К., Соловьева С.Е., Антипин И.С. // II Научная конференция «Динамические процессы в химии элементоорганических соединений», посвященная 75-летию ИОФХ им. А.Е. Арбузова и Казанского научного центра РАН (Казань, Россия, 11-13 ноября) – **2020**. – С. 65.
3. **Agarkov A.S.**, Rearrangement of thiazolo[3,2-*a*]pyridines into triazolo[4,3-*a*]pyridines induced by C=N bond reduction / **A.S. Agarkov**, A.A. Nefedova, M.V. Knyazeva, A.S. Ovsyannikov, D.R. Islamov, A.K. Shiryaev, S.E. Solovieva, I.S. Antipin // Book of abstracts contains theses of plenary, keynote, invited, oral and poster presentations, which were presented on The 6th International Symposium «The Chemistry of Diazo Compounds and Related Systems». The Symposium «The Chemistry of Diazo Compounds and Related Systems» hold in Saint Petersburg (September 6–10, 2021) as the satellite event of Mendeleev 2021, the XII International Conference on Chemistry for Young Scientists. – **2021**. – P. 30.
4. **Агарков А.С.**, Восстановление производных 2-арилгидразонов триазоло[3,2-*a*]пиримидина с образованием производных триазоло[4,3-*a*]пиримидина / **А.С. Агарков**, А.А. Нефедова, Э.Р. Габитова, Д.Р. Исламов, А.С. Овсянников, А.К. Ширяев, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (Сочи, Россия, 8-11 октября) – **2021**. – С. 94.
5. **Агарков А.С.**, Производные триазоло[3,2-*a*]пиримидина в синтезе новых гетероциклов / **А.С. Агарков**, А.А. Нефедова, Э.Р. Габитова, Д.Р. Исламов, А.С. Овсянников, А.К. Ширяев, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // Всероссийский конгресс по химии гетероциклических соединений «KOST-2021» (Сочи, Россия, 12-16 октября) – **2021**. – С. 80.
6. Габитова Э.Р., Синтез и характеристика триазолопиримидиновых производных с электронодонорными заместителями / Э.Р. Габитова, **А.С. Агарков**, А.А. Нефедова, А.С.

Овсянников, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // III Школа-конференция «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием) (Казань, Россия, 25-28 октября) – 2021. – С. 75.

7. Нефедова А.А., Синтез, характеристика и изучение кристаллической структуры производных триазоло[4,3-*a*]пиримидина с электроакцепторными заместителями / А.А. Нефедова, **А.С. Агарков**, Э.Р. Габитова, Д.Р. Исламов, А.С. Овсянников, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // IX Молодежная конференция ИОХ РАН (Москва, Россия, 11-12 ноября) – 2021. – С. 209.

8. Gabitova E.R., Synthesis, structure and biological properties of 2-arylhydrazones and 2-arylmethylidene thiazolo[3,2-*a*]pyrimidines / E.R. Gabitova, **A.S. Agarkov**, A.A. Nefedova, D.R. Islamov, A.S. Ovsyannikov, I.A. Litvinov, S.E. Solovieva, I.S. Antipin // VI north caucasus organic chemistry symposium (Stavropol, Russia, April 18–22) – 2022. – P. 165.

9. Габитова Э.Р., Синтез, структура и биологические свойства 2-арилгидразонов и 2-арилметилидентиазоло[3,2-*a*]пиримидинов / Э.Р. Габитова, **А.С. Агарков**, А.А. Нефедова, И.А. Литвинов, А.С. Овсянников, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // XXXII Российская молодёжная научная конференция с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии», посвященная 110-летию со дня рождения профессора А.А. Тагер (Екатеринбург, Россия, 19-22 апреля) – 2022. – С. 310.

10. Габитова Э.Р., Синтез, структура и биологические свойства 2-арилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов / Э.Р. Габитова, **А.С. Агарков**, А.А. Нефедова, А.С. Овсянников, И.А. Литвинов, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // III Научная конференция с международным участием «Динамические процессы в химии элементоорганических соединений», посвященная 145-летию со дня рождения академика А.Е. Арбузова (Казань, Россия, 12-15 сентября) – 2022. - С. 109.

11. Кожихов А.А., Синтез, структура и химические свойства 2-арилметилиденовых производных тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-2,3-дионов / А.А. Кожихов, **А.С. Агарков**, А.А. Нефедова, А.С. Овсянников, Д.Р. Исламов, С.Е. Соловьева, И.С. Антипин // Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (Лоо, Сочи, Россия, 16-21 сентября) – 2022. - С. 61.