

На правах рукописи

САФАРОВ САЙФИДИН ШАХОБИДИНОВИЧ

**СИНТЕЗ И ИНГИБИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА
ПРОИЗВОДНЫХ НЕКОТОРЫХ АЗОТ- И
СЕРОСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ
СИСТЕМ**

02.00.03 – органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора химических наук

Душанбе – 2021 г.

Работа выполнена в лаборатории «Химия гетероциклических соединений» ГНУ «Институт химии им. В.И. Никитина» НАН Таджикистана и Института органической химии Университета Росток (Германия)

Научные консультанты:

Лангер Петер,
доктор химических наук, профессор
Куканиев Махмадшо Ахмадович,
доктор химических наук, чл.-корр.
НАН Таджикистана, профессор

Официальные оппоненты:

Ведущая организация:

Защита состоится «__» ____ 2021 г. в 9-00 часов на заседании диссертационного совета Д 003.049.01 при Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова по адресу: Российская Федерация. 630090. г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д.9. E-mail: luzina@nioch.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии им. В.И. Никитина НАН Таджикистана и на сайте Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук <http://web.nioch.nsc.ru>

Автореферат разослан «__» ____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук, профессор

Лузина О.Ю.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Процесс глобализации вызвал рост заболеваемости населения Земли практически по всем нозологическим группам: от сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний до психических расстройств и масштабных эпидемий. На этом фоне резко возрастают потребность в новых эффективных, избирательно действующих и малотоксичных лекарственных препаратах природного и синтетического происхождения для фармакотерапии и химико-лабораторной диагностики различных заболеваний, а также в разработке оригинальных и усовершенствований известных синтетических подходов для их получения.

В настоящее время более 90% новых лекарственных препаратов являются гетероциклическими соединениями, причем изучение механизма действия различных препаратов, в свою очередь, позволяет выяснить тонкие механизмы конкретных биохимических процессов, что делает связь между органической химией гетероциклов и биоорганической химией и биохимией взаимонаправленной. В последние 10-15 лет методами высокопроизводительного скрининга (HTS) и комбинаторной химии различными исследовательскими группами и фармацевтическими фирмами среди серо- и азотсодержащих гетероциклов были отобраны структуры – лидеры, на основе которых в медицинскую практику был введен ряд новых лекарственных препаратов. Таким образом, химия серо- и азотсодержащих гетероциклических соединений (пиrimидинов, синтетических аналогов пуринов, бензимидазолов, бензотиазолов, хиназолов и др.) и их конденсированных систем является одним из наиболее динамично развивающихся разделов современной органической и биоорганической химии. Среди большого числа серо- и азотсодержащих гетероциклов с различным размером циклов и числом гетероатомов, тиазолы, имидазолы, пиrimидины и их конденсированные производные (бензотиазолы, пурины и др.) наиболее распространены в природе и представлены в биомолекулах. Особое значение приобретают их синтетические и конденсированные производные, представляющие структурные аналоги природных соединений с широким спектром биологической активности и рассматриваемые, как привилегированные структуры в синтезе физиологически активных соединений. Более того, аннелирование различных гетероциклов с другими гетероциклами приводят к образованию поликонденсированных соединений с планарным строением и уникальным электронным контуром, которые объединяют в одной молекуле структурные мотивы различных фармакофоров, что позволяет ожидать от поликлинических соединений новых интересных физико-химических и биологических свойств, не свойственных исходным гетероциклическим системам.

В настоящей работе обобщены систематические исследования по синтезу и предварительному биологическому изучению производных серо- и азотсодержащих гетероциклов на основе тиадиазола, тиазола, имидазола,

пиримидина, а также их би-, три, и тетрациклических производных серо- и азотсодержащих гетероциклических соединений и их функционализации.

Цель исследования. Поиск, разработка эффективных и универсальных методов синтеза новых производных 1,3,4-тиадиазола, 5- и 7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина, фенилимидазо[2,1-б]-[1,3,4]-тиадиазола, бензо[4,5]тиазоло[1,2-а]пиримидина, бензотиазоло[3,2-б]хиназолина и 2-этил-5-(замещенных)-5Н-[1,3,4]тиадиазоло[2',3':2,3]имидазо[4,5-б]индола, включающих кольцевые системы тиадиазола, пиримидина, имидазола, бензотиазола и индола, а также, поиск новых биологически активных веществ в ряду их производных. В соответствии с этой целью в настоящей диссертационной работе были поставлены следующие **задачи**:

- проведение предварительного молекулярного доркинга отдельных структур с ферментами для прогнозирования наиболее выгодных для образования устойчивого комплекса ориентаций и положений синтезируемой молекулы по отношению к ферменту (мишени);
- разработка новых и оптимизация известных синтетических методов получения малоизученных тиадиазоловых, имидазоловых, пиримидиновых и других гетероциклических скаффолдов;
- адаптация известных и разработка принципиально новых и удобных методов синтеза производных би-, три- и тетрагетероциклов, объединяющих в структуре комбинации различных пяти- и шестичленных гетероциклических систем с атомами O, S, N;
- изучение биологических свойств синтезированных соединений и установление связей между их строением и биологической активностью с целью получения новых активных препаратов биомедицинского применения;
- систематизация и обобщение результатов проведенных исследований, выяснение границ применимости обнаруженных новых синтетических подходов, создание научно практических основ для выявления перспективных направлений в области синтеза и биологического изучения новых полициклических гетероциклических соединений потенциального медицинского применения.

Работа проводилась в соответствии с планом НИР Института химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан «Синтез, выделение и исследование стереохимии и фармакологических свойств производных ацетилена, тиадолидинтионов, тиадиазолпиримидинов, а также природных растительных масел, являющихся перспективными для создания новых лекарственных средств» (ГР №0106ТД4 от 16 марта 2006 г., «Синтез и исследование физико-химических свойств производных тиадиазолпиримидинов содержащих атом фтора в шестом положении, являющихся перспективными для создания новых лекарственных средств» (ГР 0102ТД9 от 11 февраля 2011 г.) и «Синтез, исследование физико-химических и биологических свойств производных имидазотиадиазолов, бензотиофенов и выделение их аналогов из сернистой нефти Республики Таджикистан» (ГР 0116ТJ 005 от 30 марта 2016 г.).

Научная новизна работы:

- синтезированы 173 ранее неизвестных производных 1,3,4-тиадиазола, 5- и 7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидина, фенилимида[2,1-b]-[1,3,4]-тиадиазола, бинзо[4,5]тиазоло[1,2-а]пиrimидина и бензотиазоло[3,2-b]хиназолина и 2-этил-5-(замещенные)-5Н-[1,3,4]тиадиазоло [2',3':2,3]имида[4,5-b]индола. Взаимодействие 2-R-5-бром-1,3,4-тиадиазола с дикетеном приводит к образованию N-(5-R-1,3,4-тиадиазол-2-ил)-ацетоацетамида, который при циклизации образует 2-R-5-метил-7Н-7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-b]пиrimидин, (где R= Br, H, C₂H₅S). Первичные, вторичные, а также ароматические и гетероциклические тиолы замещаются 2-бромом и образуют соответствующие амины и тиоляты. Замещение хлора и брома может протекать по углероду 6-С, при его взаимодействии с NBC, NCS. 2-Бром-6-хлоро-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-7-он при аминировании диметиламином показал хемиоселективность с образованием 2-диметиламино-6-хлор-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-7-она. Окисление 2-этилтио-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-7-она с мета-хлорнадбензойной кислотой приводит к селективному образованию сульфона - 2-этилсульфонил-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-7-она;
- разработана новая стратегия стандартного блока для синтеза 2-арилзамещенных тиадиазолпиrimидинов с использованием реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры. Эти условия реакции позволяют получить целевые продукты с очень хорошими выходами - три разных производных тиадиазолпиrimидина: 2-бром-7-метил-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-5-он, 2-бром-6-фтор-7-метил-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-5-он и 2-бром-7-трифторметил-5Н-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин, приводящие к соответствующим 2-арилзамещенных -7-метил-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-5-ону, 2-арилзамещенных-6-фтор-7-метил-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-5-ону, 2-арилзамещенных-7-трифторметил-5Н-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло [3,2-а]пиrimидину. 2-Бром-7-трифторметил-5Н-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло [3,2-а]пиrimидин был задействован в реакции S_NAr и были получены соответствующие амины с очень хорошими выходами;
- изучена функционализация легко доступных 8-хлор-2-метилбензотиазоло[3,2-а]пиrimидин-4-она и 8-хлоро-3фторзамещенных- 2- метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиrimидин-4-она с применением палладий каталитической реакции кросс-сочетания Сузуки, Бухвальд-Хартвига и Соногаширы. Все реакции были полностью оптимизированы и привели к соответствующим продуктам с хорошими и превосходными выходами. Эти реакции позволяют синтезировать множество производных бензотиазолпиrimидин-4-онов;
- экстенсивно изучено применение палладий каталитической реакции Сузуки-Мияуры легко доступного 2-бромзамещенного-12Н-

бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она. При оптимизированных условиях реакции 2-бromo-12H-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-он показал широкую функциональную терпимость группы, и можно получить соответствующие продукты кросс-сочетания от умеренных до высоких выходов. Был изучен синтез 2-амино- и 2-алкинилпроизводных-12H-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов с применением палладиевых катализаторов в условиях реакции Бухвальд-Хартвига и Соногаширы;

- впервые были синтезированы 5-арил-5H-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидазо[4,5-*b*]индолы с применением палладий каталитической двойной реакции Бухвальд-Хартвига, как заключительный шаг циклизации. При оптимизации условий реакции все продукты реакции были получены с хорошими и очень хорошими выходами. Из-за разнообразных биологических свойств производных имидазотиадиазолов, эти новые гетероциклические структуры найдут потенциальное применение в медицинской химии.

Практическая значимость работы. Все соединения ряда 2-замещенных-7-метил-5H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-5-она и 2-замещенных-6-фтор-7-метил-5H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-5-она были селективными ингибиторами h-NPPs и с небольшим эффектом для h-NTPDase1, h-NTPDase2, h-NTPDase3 и h-NTPDase8. Кроме того, полученные результаты подтвердили, что большинство соединений, представленных здесь, являются более эффективными ингибиторами h-NPP1, чем h-NPP3. Поэтому эти соединения проявляют более селективный потенциал ингибирования против h-NPP1. Результаты исследований представляют большой интерес для дальнейшего их применения в медицинской химии. Почти все производные серии 2-бром-7-трифторметил-5H-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло [3,2-*a*]пиrimидина, составляющие библиотеку, были мощными, но неселективными ингибиторами обоих изозимов щелочной фосфатазы (h-TNAP, h-IAP) со значением IC₅₀ в микромолярном диапазоне. Эти новые ингибиторы АР могут далее использоваться в качестве ведущих соединений в фармацевтической химии. Особенно, 2-н-пропиламино-7-трифторметил-5H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-5-он и 2-(4-метилфенил)-7-трифторметил-5H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-5-он показали обнадеживающую активность для дальнейших исследований. Изучение стыковки (докинга) способствовало пониманию возможного отношения режима связывания на активных местах фермента. Три из испытанных производных 8-хлор-2-метилбензотиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-4-она, а именно: 8-(4-метокси)фенилэтинил-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-4-он, 8-(2-метокси-5-фторфенил)-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-4-он и 8-(4-толил)-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-4-он, показали многообещающий антипролиферативный потенциал против линии клеток HeLa, с относительно меньшим ингибированием нормальных фибробластов

(отборный индекс >3). Анализ некроза клеток подтвердил индукцию апоптоза S-фазы в клетках HeLa.

Синтезированные производные серии 8-хлоро-3- фторозамещенных-2-метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиrimидин-4-она были оценены для их отношений активности структуры к моноаминоксидазам А и В. Большинство соединений проявили ингибиование в более низких микромолярных концентрациях и показали обнадёживающее ингибиование к изозимам МАО-А и МАО-В. Результаты *in vitro* теста были оправданы выполненными исследованиями молекулярного моделирования для ингибиования моноаминоксидазы А и В. Поэтому такие соединения могли бы быть многообещающей отправной точкой для определения полезных зацепок для разработки новых ингибиторов МАО-В. Синтезированные производные серии 2-арилзамещенного-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она были протестированы на ингибирующую активность против моноаминоксидаз А и В. Некоторые производные показали селективную активность против МАО А, в то время как некоторые другие были активны против МАО В. Молекулярные докинги были выполнены, чтобы лучше понимать режимы стыковки селективных ингибиторов. Исследования *in vitro* и *in silico* производных 2-амино- и 2-алкинилпроизводных-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов приводят к выводу, что большая часть синтезированных производных проявляет многообещающий ингибирующий потенциал против моноаминоксидаз А и В.

Методология и методы исследования. Установление состава и структуры соединений, а также контроль за протеканием реакции осуществлены с широким использованием методов спектроскопии ЯМР ¹Н, ¹³С, ¹⁹F, двухмерных корреляций, тонкослойной хроматографии, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и элементного анализа.

Основные положения, выносимые на защиту.

- Разработка методов синтеза 1,3,4-тиадиазолов, 7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидинов. Физико-химические исследования синтезированных соединений с привлечением широкого круга современных методов: спектроскопии ЯМР ¹Н, ¹³С (2D, НМВС).
- Разработка методов синтеза 7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидинов и их производных, включая катализируемые палладием С–С кросс-сочетания (по Сузуки-Мияуры) и изучение ингибирующих свойств синтезированных соединений.
- Синтез и ингибирующая активность производных 8-хлор-2-метилбензо[3,2-а]пиrimидин-4-она, 8-хлоро-3-фторозамещенных-2-метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиrimидин-4-она и 2-арилзамещенного-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она с применением катализируемых палладием С–С и С–N кросс-сочетаний Сузуки, Бухвальд-Хартвига и Соногаширы.

- Разработка методов синтеза 5-арил-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидаzo[4,5-*b*]индолов с применением палладий катализической двойной реакции С–N кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига, как заключительный шаг циклизации.

Личный вклад автора заключается в анализе литературных данных, в постановке и решении задач исследований, подготовке и проведении экспериментальных исследований в лабораторных условиях, анализе полученных результатов, в формулировке основных положений и выводов диссертации.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы обсуждались на: Международной конференции «Комплексный подход к использованию и переработке угля» (Душанбе, 2013), XIV Нумановских чтениях «Вклад молодых учёных в развитие химической науки», посвящённых «Году молодежи» (Душанбе, 2017), Республиканской конференции «Фармация – неотъемлемая часть социальной политики государства» (Душанбе, 2019), XV Нумановских чтениях «Современное состояние химической науки и использование её достижений в народном хозяйстве Республики Таджикистан» (Душанбе, 2019), Международной научно-практической конференции «Роль женщин-учёных в развитии науки, инноваций и технологий» (Душанбе, 2020), Республиканской научно-практической конференции «Иновационное развитие науки» (Душанбе, 2020), Республиканской научно-практической конференции «Роль лекарственных средств в охране здоровья населения» (Душанбе, 2020), Международная научно-практическая конференция "Современные проблемы химии, применение и их перспективы" (Душанбе, 2021).

Публикации. По тематике диссертационной работы опубликовано 22 научных работ, из них 16 статей в местных и международных журналах и рецензируемых в базе данных Web of Science, а также 6 публикаций в материалах и тезисах международных и республиканских конференций.

Объём и структура работы. Диссертация представляет собой рукопись объёмом 263 страниц компьютерного набора, состоит из введения и трёх глав, включающих обзор литературных источников по тематике диссертационной работы, экспериментальную часть, результаты исследований и их обсуждение, а также включает основные выводы и приложение. Иллюстрирована 14 таблицами и 22 рисунками. Список использованной литературы состоит из 220 наименований литературных источников.

Во введении обосновывается актуальность темы, изложены цель и научная новизна диссертации, практическая ценность и ее структура.

В литературном обзоре (глава 1) проанализированы основные подходы к получению некоторых гетероциклических систем, а также синтез их производных простым элиминированием и катализическим методом, включая пионерское применение реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры для 2-бром-6-фенилимидаzo[2,1-*b*][1,3,4]-тиадиазола. Приведена общая

информация о реакциях, катализируемых палладием, кросс-сочетаниях Сузуки-Мияуры, Бухвальд-Хартвига, Соногаширы. Также, описаны общие понятия о нуклеотид-пирофосфатазе/фосфодиэстеразе (NPPs), щелочной фосфатазе (APs),monoаминовых оксидазах (MAO) (ЕС 1.4.3.4,) А и В и их функции, также их цитотоксическая, проапоптотическая активности.

В главе 2 «Результаты и их обсуждение» приводятся экспериментальные данные, полученные автором при изучении синтеза, оптимизации, изучении строения синтезированных соединений и взаимосвязь между структурой и их биологической активностью. На основании обширных экспериментальных данных дана интерпретация полученных результатов в соответствии с целью и задачами исследований.

В экспериментальной части (глава 3) приведена характеристика исходных материалов, реагентов и рабочих растворов, методики проведения синтеза и физико-химических исследований.

В приложение приводятся биологические протоколы проведения тестов по биологической активности и молекулярном моделировании ингибиторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение содержит обоснование актуальности работы и выбора объектов исследования, в нем сформулированы цели, показана научная новизна и практическая значимость полученных результатов. В аналитическом обзоре литературы (глава 1) проанализированы основные подходы к получению некоторых гетероциклических систем, а также к синтезу их производных простым элиминированием и катализитическим методом, включая пионерское применение реакции кросс-сочетаний Сузуки-Мияуры для 2-бром-6-фенилимидаzo[2,1-*b*][1,3,4]-тиадиазола. Приведена общая информация о реакциях катализируемых палладием кросс-сочетаний Сузуки-Мияуры, Бухвальд-Хартвига, Соногаширы. Также приводятся общие понятия о нуклеотид-пирофосфатазе/фосфодиэстеразе (NPPs), щелочных фосфатазах (APs), monoаминовых оксидазах (MAO) (ЕС 1.4.3.4,) А и В, их функции и цитотоксическая, проапоптотическая активность. Результаты и обсуждения собственных исследований приведены в главе 2. В экспериментальной части (глава 3) описаны объекты исследования, оборудование, реактивы, материалы, методы и методики проведения синтеза и физико-химических исследований.

Глава 2. Обсуждение результатов

В главе 2 представлены результаты исследований реакций циклообразования, нуклеофильного замещения, электрофильного замещения, а также реакций кросс-сочетания по Сузуки, Бухвальду-Хартвигу, Соногашире, что позволяют получить широкий спектр ранее неизвестных производных 2-R-5-метил-5-оксо-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидина, 2-замещенных-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, 2-замещенных-7-

трифторметил-5Н-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидинов, 8-замещенных-2-метилбензо[4,5][1,3]тиазоло[3,2-а]пиrimидинов, 8-замещенных-3-фторо-2-метилбензо[4,5][1,3]тиазоло[3,2-а]пиrimидинов, 2-арил-2-алкинил-и 2-аминозамещенных-12Н- бензотиазоло[3,2-б]хиназолин-12-онов, 5-арил-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имида[4,5-б]индолов, а также приведены данные по биологической активности некоторых полученных соединений.

2.1.1. Синтез 2-Р-5-метил-5-оксо-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидина

2-Аминозамещенные 7Н-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин-7-он, **6а-ф** были получены реакцией 2-бромо-5-амино-1,3,4-тиадиазола (**1b**) и дикетена (**2**), последующей циклоконденсацией (**3b** → **4b**) (схема 1)

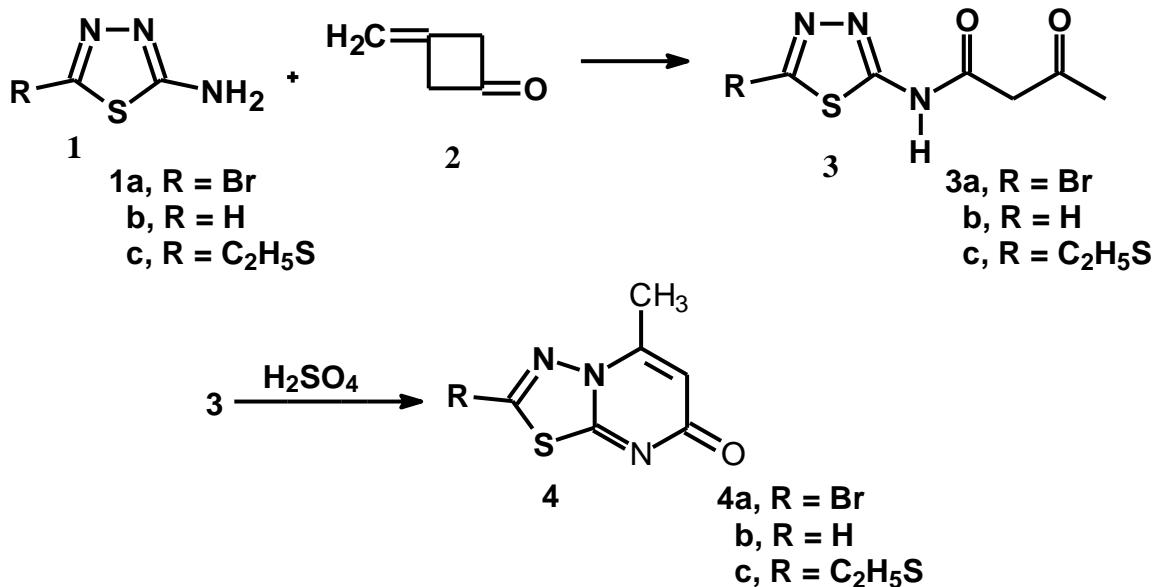


Схема 1.

и замещения брома в реакции с первичными и вторичными аминами (**4b** → **6а-е**) (схема 2).

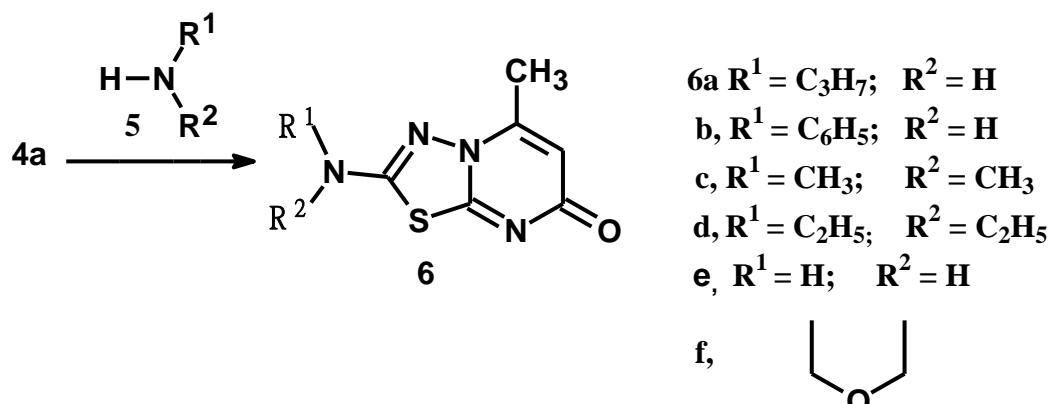


Схема 2.

Атом водорода, 6-Н на гетеробицикле **4b,c** замещается атомами хлора и брома, превращаясь в **4b,c** → **9a,b**. 2-Бром- 6-хлор- соединение **9a** реагирует хемоселективно по 2-ому положению с диметиламином (**9a**→**10**) (схема 3).

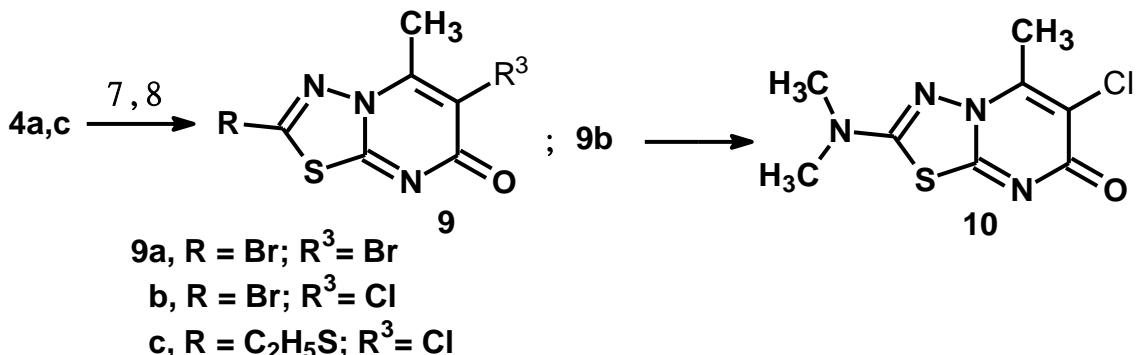


Схема 3.

Для синтеза 2-тиозамещенных-7Н-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидин-7-онов необходимо учитывать, что для **14a,b** арилтио-заместители (SC₆H₅) могут вводиться во 2-ое положение заменой брома (**4a**, **9b** + **13**(NaOH + HSC₆H₅) → **14a,b**) (схема 4), для **4c** алкилтио-группа (SC₂H₅) должна быть уже существующей в стартовом 5-амино-1,3,4-тиадиазоле (**1c** → **3c** → **4c**) (схема 1). Окисление **4c** с мета-хлорнадбензойной кислотой приводит к селективному образованию сульфон-соединения **12** (схема 4).

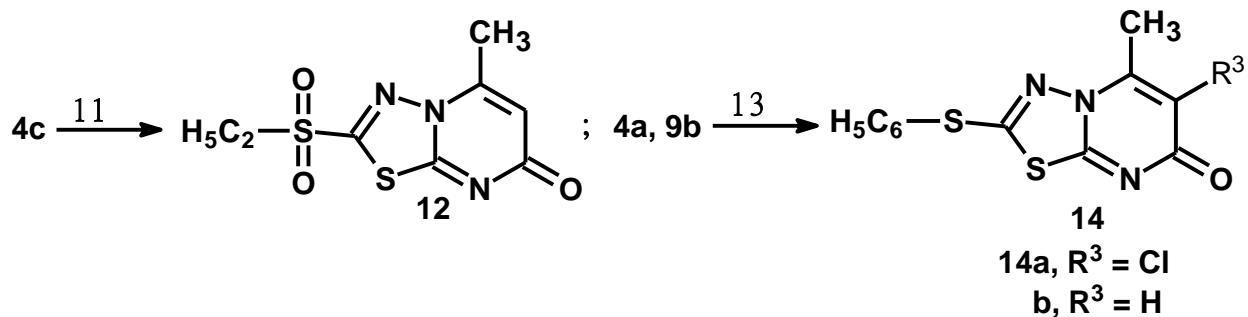


Схема 4.

Дополнительно мы изучили реакцию **4a** с амбидентным S/N-нуклеофилом-2-мерканто-4,5-дигидро-1,3-тиазолом (**15**). Соединение **15** существует полностью в тионной форме **15b**. При её депротонировании образуется соединение **16** (схема 5).

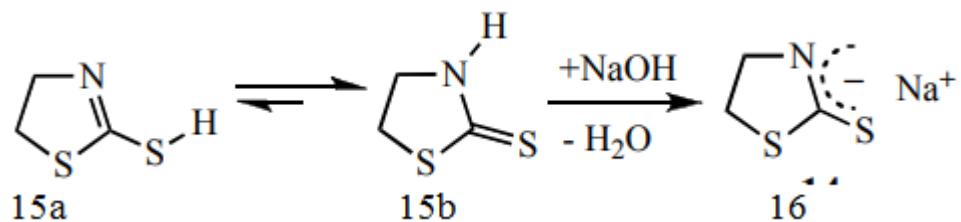


Схема 5.

ЯМР-исследование продукта реакции соединений **4a** и **16** показывает, что им является соединение **18**. Является ли соединение **18** первичным или вторичным продуктом, образующимся при 1,3-перегруппировке соединения **17**, остается открытым вопросом. Также не была обнаружена миграция тиадиазолпиримидиного радикала между S и N. Чистое соединение **18** было получено перекристаллизацией из смеси ДМФА/H₂O (4:1) без обнаружения следов равновесия с соединением **17** (схема 5).

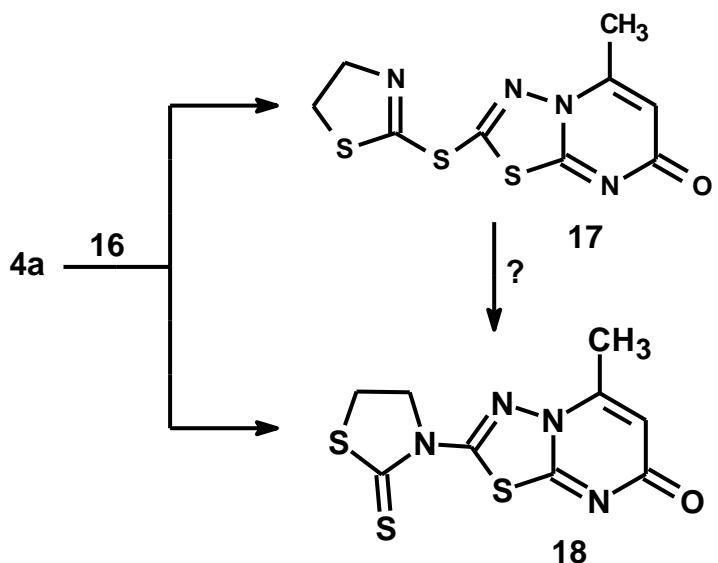


Схема 6 - Синтез соединения **18**.

Структурные разъяснения соединений **3**, **4**, **6**, **9**, **10**, **12**, **14**, **16** и **18** обоснованы данными ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопий, включая двухмерный способ (2D, HMBC), и регистрацией гетеро-ядерного эффекта Оверхаузера (NOE). На рисунке 1а, показано NOE - резонансный спектр соединения **4a**, который был получен при облучении сигнала 6-Н (δ =6.07). Соседние атомы углерода C-5 и C-7 проявляют высокое возрастание интенсивности своих сигналов. C-5 (δ =147.5) показывает широкий сигнал из-за существующего сцепления, в то время, как C-7 (δ =166.1) проявляет тонкий сигнал. На рисунке 1б показаны результаты 2D-измерения соединения **4a**, что также позволило провести корреляцию других атомов углерода бициклического скаффолда. Группа 5-CH₃ [δ (¹H) = 2.48] спровоцировала кросс-пик на δ (¹³C) = 109.2 и 147.5 м.д., которые соответствуют C-5 и C-7. Согласно сцеплению ⁴J, небольшой кросс-пик можно видеть для C-8а. Протон 6-Н может образовать кросс-пик с сигналом 109.2 (¹J) для C-6, 147.5 (²J) для C-5 и 166.1 (¹J) для C-7, и кросс-пик для отдалённого сигнала в области δ (¹³C) = 146.7 м.д., для C-2 кросс-пиков не было спровоцировано. На основе этого распределения данных были определены химические сдвиги на спектрах ¹³C ЯМР других производных 5-метил-5-оксо-5H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина.

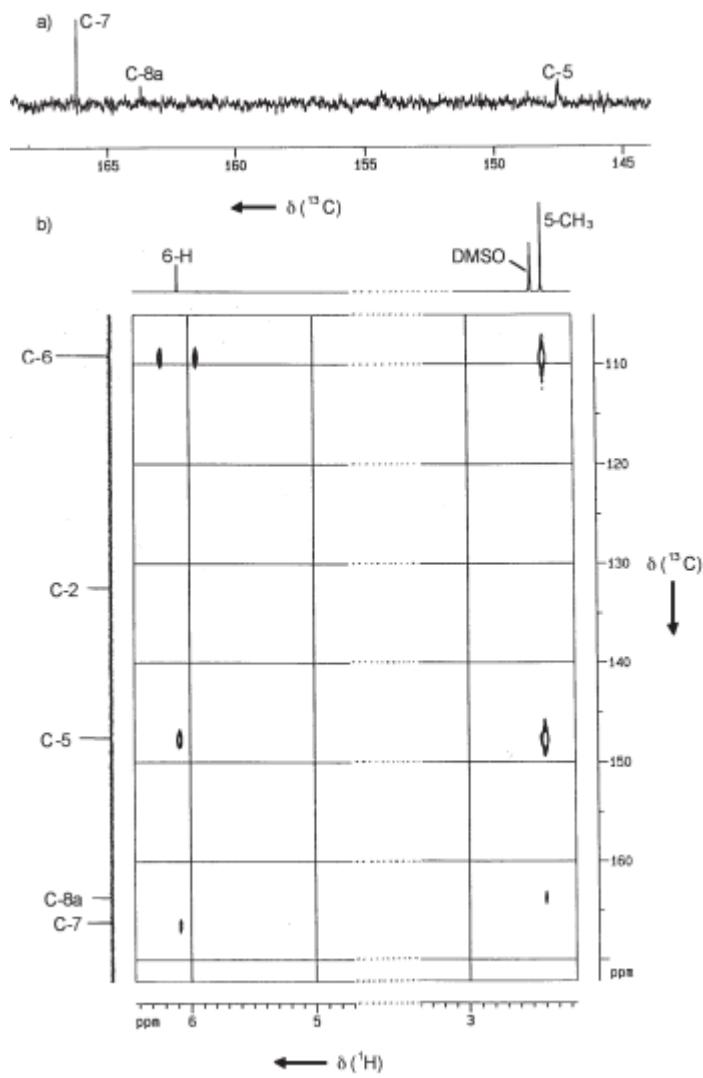


Рисунок 1 - Эффект Оверхаузера (а), двухмерный ^1H и ^{13}C ЯМР-спектр 2-бром-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-7-она (4а).

2.1.2. Синтез и ингибирующие свойства 5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидинов

Избыточная экспрессия активности пирофосфатазы нуклеотида (NPPs) связана с хондрокальцинозом, остеоартритом, диабетом 2 типа, нейродегенеративными заболеваниями, аллергиями и метастазами рака. Потенциал ингибиторов NPPs, как терапевтических агентов, и недостаточность их отношений активности структуры вдохновил нас разработать новые ингибиторы NPPs. А именно, исходя из 2-бromo-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазолпиримидина и его 6-фторозамещенного соединения (**1** + **21** → **22**) (схема 9) были синтезированы их производные через реакцию кросс-сочетания Сузуки-Мияуры.

Реакции с различными приборными кислотами привели к получению прогнозируемых продуктов с хорошими и превосходными выходами и показали широкую функциональную терпимость группы (**22** + $\text{R(OH)}_2 \rightarrow \text{23, 24}$) (схема 10).

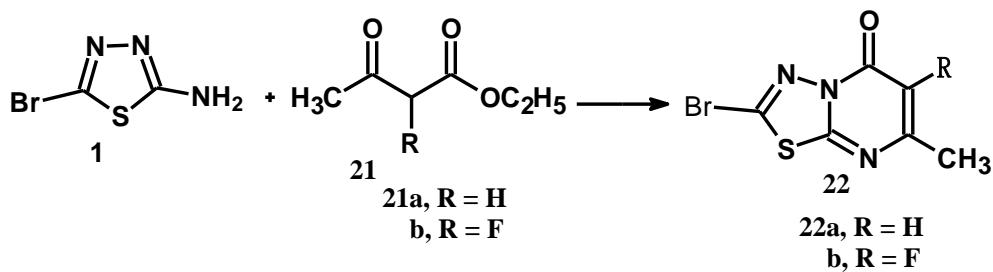


Схема 9.

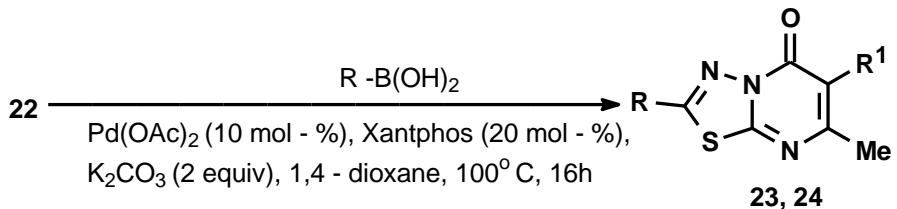


Схема 10 - Получение целевого продукта **23** и **24** из **22** и **23**: R¹ = H; R = 2-MeC₆H₄ (**a**) (88%); 3-MeC₆H₄ (**b**) (75%); 4-EtC₆H₄ (**c**) (80%); 4-MeOC₆H₄ (**d**) (75%); 4-EtOC₆H₄ (**e**) (70%); 4-3,3-(MeO)₂C₆H₃ (**f**) (81%); 3,3-(Me)₂C₆H₃ (**g**) (77%); 3,4-(Me)₂C₆H₃ (**h**) (79%); 4-ClC₆H₄ (**i**) (65%). **24**: R¹ = F; R = C₆H₅ (**a**) (92%); 4-MeC₆H₄ (**b**) (80%); 2-MeC₆H₄ (**c**) (72%); 3,4-(Me)₂C₆H₃ (**d**) (92%); 3,4-(Me)₂C₆H₃ (**e**) (85%); 3-O₂NC₆H₃ (**f**) (84%); 4-MeOC₆H₄ (**g**) (88%); 4-EtOC₆H₄ (**h**) (75%); 3-MeOC₆H₄ (**i**) (70%); 3,3-(MeO)₂C₆H₃ (**j**) (85%); 4-C₆H₅C₆H₄ (**k**) (62%); 4-ClC₆H₄ (**l**) (72%); 3-FC₆H₄ (**m**) (88%); 2-FC₆H₄ (**n**) (88%); 3-F₃CC₆H₄ (**o**) (72%); 4-F₃COC₆H₄ (**p**) (50%); 3-NCC₆H₄ (**q**) (77%).

Механизм реакции протекал по одной из схем Сузуки, включал три основных стадии: окислительное присоединение, трансметаллирование и восстановительное элиминирование (рисунок 2).

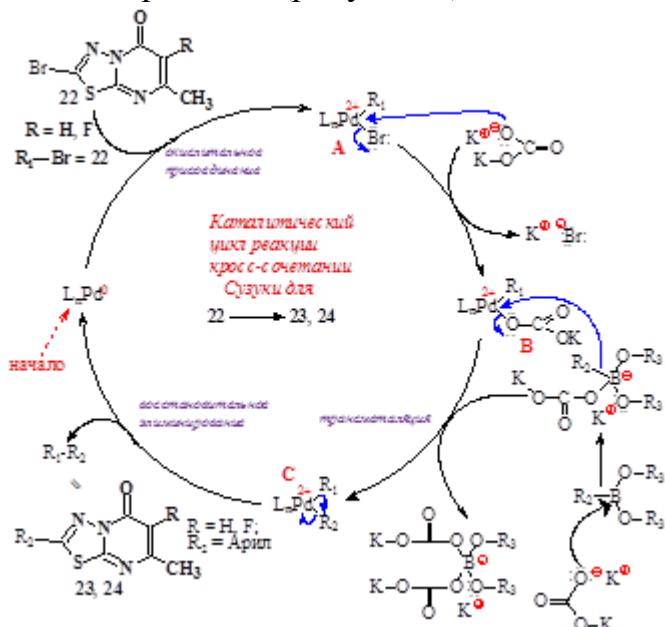


Рисунок 2 - Каталитический цикл реакции кросс-сочетания Сузуки для получения соединений **23**, **24** из **22**.

Кроме того, все синтезированные соединения были привлечены для теста ингибиования двух семей эктонуклеотидаз, то есть трифосфата нуклеозида дифосфогидролазы (NTPDase) и NPPs. Наши соединения были идентифицированы, как селективные ингибиторы NPPs. Было определено, что среди серий соединений **23a–23i**, у **23i** имеется большой ингибиующий потенциал против h-NPP1 ($IC_{50} \pm SEM = 0.39 \pm 0.01 \mu M$), и соединение **23h** имеет большой ингибиующий потенциал против h-NPP3. Подобным образом среди 6-фторзамещенных 2-бromo-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазолпиримидина, производное **24e** показало лучшее ингибиование против NPP1 ($IC_{50} \pm SEM = 0.31 \pm 0.01 \mu M$) и было определено, что это соединение демонстрировало на 28 сгибов улучшение по потенциальному ингибиования сравнительно контрольного соединения – Сурамина ($IC_{50} \pm SEM = 8.67 \pm 1.3 \mu M$) (таблица 1).

Таблица 1 - Ингибиование экто-нуклеотидазов (включая пирофосфатазы нуклеотида фосфодиэстеразы h-NPP1 и h-NPP3)

IC ₅₀ ± SEM (μM)							
№ п/п	Соединение	h-NTPDase1	h-NTPDase2	h-NTPDase3	h-NTPDase8	h-NPP1	h-NPP3
1.	22a	-	-	-	-	-	2.19±0.22
2.	22c	-	-	-	-	2.26±0.13	15.1±1.89
3.	22d	-	-	-	-	1.39±0.13	7.37±0.96
4.	22e	-	-	-	-	0.69±0.02	10.3±1.09
5.	22g	-	-	-	-	0.41±0.01	6.28±0.79
6.	22h	-	-	-	-	0.43±0.02	1.02±0.05
7.	22i	-	-	-	-	0.39±0.01	4.18±0.41
8.	23a	-	-	-	-	0.83±0.04	2.79±0.31
9.	23b	-	-	-	-	1.31±0.05	2.01±0.16
10.	23c	-	-	-	-	0.85±0.02	15.5±1.56
11.	23d	-	-	-	-	1.56±0.16	2.89±0.15
12.	23e	-	-	-	-	0.31±0.01	4.63±0.62
13.	23f	-	-	-	-	0.63±0.03	4.39±0.61
14.	23g	-	-	-	-	1.24±0.02	4.57±0.86
15.	23i	-	-	-	-	0.79±0.02	2.87±0.78
16.	23j	-	-	-	-	2.01±0.16	0.92±0.02
17.	23k	-	-	-	-	1.04±0.14	2.21±0.13
18.	23l	-	-	-	-	1.11±0.11	1.79±0.03
19.	23m	-	-	-	-	0.94±0.07	0.94±0.05
20.	23n	-	-	-	-	0.37±0.02	8.95±1.08
21.	23o	-	-	-	-	1.32±0.32	4.67±0.56
22.	23p	-	-	-	-	0.39±0.03	5.34±0.71
23.	23q	-	-	-	-	1.02±0.11	12.2±1.34
контроль	Сурамин	16.1±1.02	24.1±3.01	4.31±0.41	>100	8.67±1.3	1.27±0.08

Примечание: Значения выражены, как среднее значение - SEM и n = 3.

IC₅₀ - это концентрация, при которой ингибируется 50% фермента.

Также было исследовано гомологическое моделирование и молекулярный докинг обоих ингибиторов, для нахождения режима путативных связываний ингибиторов с соответствующими ферментами, то есть h-NPP1 и h-NPP3 (в приложении диссертационной работы, 1е. Рисунки П1 и П2).

2.1.3. Синтез и ингибирующие свойства

7-трифторметил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидинов

Щелочные фосфатазы (APs) играют ключевую роль в поддержании соотношения фосфата к неорганическому пирофосфату (Pi/PPi) и, таким образом, регулируют внеклеточное матричное отвердение во время формирования костей и роста. Среди различных изомиров AP отклоняющееся увеличение уровня ткани неопределенной щелочной фосфатазы (TNAP) сильно связано с сосудистым отвердением и терминалными стадиями почечной недостаточности. В этом контексте мы синтезировали новую серию фторированных производных пипимидона, то есть 2-бromo-7-трифторметил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазолпиrimидинов (**26**). Соединение **26** было синтезировано, исходя из коммерчески доступных 5-бромзамещенных 2-амино-1,3,4-тиадиазола (**1**) и трифторметилацето-уксусного эфира (**25**) (схема 11).

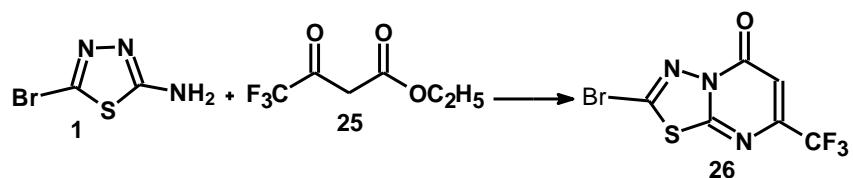


Схема 11 - Реакция циклоконденсации соединений **1** и **25**.

Функциональность брома далее использовалась для дериватизации нуклеофильного ароматического замещения, с использованием аминов (**26** + **R**¹**R**²**NH** → **28** (схема 12)), как нуклеофилов, а также палладий катализируемого кросс-сочетания Сузуки-Мияуры (**26** + Ar-B(OH)₂ → **29** (схема 13)).

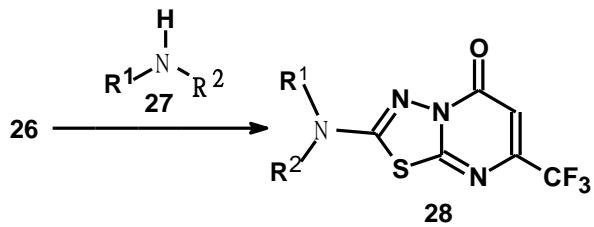


Схема 12 - Получение соединения **28** из **26** и **27**. Условия: амин (2 эквивалент), MeOH (растворитель), 5ч. При 20°C. **28** (выход): **a**) R¹=H, R² = C₆H₅ (91%); **b**) R¹=H, R² = 4-FC₆H₄ (90%); **c**) R¹=H, R²=3-MeOC₆H₄ (60%); **d**) R¹=H, R²=4-EtOC₆H₄ (90%); **e**) R¹=H, R²=4-iPrC₆H₄ (87%); **f**) R¹=H, R²=4-H₂NC₆H₄ (65%); **g**) R¹=H, R²=аллил (75%); **h**) R¹=H, R²=nPr (30%); **i**) R¹=H, R²=nBu (66%); **j**) R¹=H, R²=nPent (72%); **k**) R¹=H, R²=(Me)₂NCH₂CH₂ (45%); **l**) R¹=Me, R²=NH₂ (51%); **m**) R¹=nBu, R²=nBu (67%); **n**) R¹=Me, R²=C₆H₅ (50%).

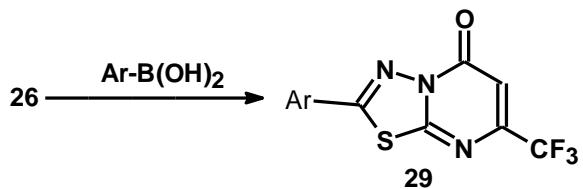


Схема 13 - Условия: Ar-B(OH)₂ (1.1 эквивалент), Pd(OAc)₂ (10 моль%), Xantphos (2.0 эквивалент), K₂CO₃ (2.0 эквивалент), 1,4-диоксан (растворитель), 100°C, 16ч. **29** (выход): **a**) C₆H₅ (90%); **b**) 4-MeC₆H₄ (81%); **c**) 2-MeC₆H₄ (75%); **d**) 4-EtC₆H₄ (66%); **e**) 3,3-(Me)₂C₆H₃ (60%); **f**) 3,4-(Me)₂C₆H₃ (63%); **g**) 4-MeOC₆H₄ (78%); **h**) 3-MeOC₆H₄ (65%); **i**) 2-MeOC₆H₄ (45%); **j**) 3,3-(MeO)₂C₆H₃ (88%); **k**) 2,3-(MeO)₂C₆H₃ (35%); **l**) 4-EtOC₆H₄ (90%); **m**) 2-EtOC₆H₄ (40%); **n**) 2-FC₆H₄ (51%); **o**) 3-FC₆H₄ (65%); **p**) 3-F₃CC₆H₄ (55%); **q**) 4-F₃COC₆H₄ (60%); **r**) 3-NCC₆H₄ (55%); **s**) 3-N₂OC₆H₄ (65%); **t**) 3-H₅C₆C₆H₄ (70%).

Синтезированные производные были определены, как мощные, но не отборные ингибиторы против обоих изоизомов AP. При арилировании тиадиазолпирииминон показали более сильную ингибирующую активность, чем 2-амино-тиадиазолпирииминон. Обязательные способы и возможные взаимодействия самого активного ингибитора на активном месте фермента наблюдались молекулярными исследованиями стыковки (таблица 2).

Таблица 2 - Ингибиование щелочных фосфатаз (*h-TNAP* и *h-IAP*)

Сер.номер IC ₅₀ ±SEM(μM)	Соединение	h-TNAP	h-IAP
1	28c	0,38±0,06	0,44±0,07
2	28d	1,58±0,11	0,02±0,16
3	28e	1,98±0,12	31,5±3,67
4	28e	1,98±0,12	31,5±3,67
5	28g	0,29±0,03	0,89±0,07
6	28h	1,44±0,14	0,31±0,01
7	28i	0,88±0,09	0,71 ±0,07
8	28j	0,61±0,05	0,76±0,06
9	28k	0,45±0,04	3,75±102
10	28l	2,02±0,17	2,22±0,06
11	28m	1,53±0,13	4,63±1,16
12	29a	0,21±0,02	0,43±0,07
13	29b	1,06±0,05	0,36±0,04
14	29d	>100	4,55±1,08
15	29e	0,52±0,08	0,46±0,05
16	29f	0,54±0,11	1,75±0,14
17	29g	0,28±0,02	0,48±0,02
18	29i	3,48±0,25	>100
19	29g	1,15±0,16	0,76±0,12

20	29l	0,93±0,12	0,79±0,15
21	29m	4,52±0,91	>100
22	29n	>100	>100
23	29o	1,39±0,1	0,74±0,09
24	29p	0,52±0,08	0,68±0,03
25	29q	>100	0,24±0,02
26	29r	0,56±0,04	1,12±0,26
27	29s	0,62±0,02	0,48±0,04
28	29t	1,12±0,25	1,67±0,25
Левамизол		19,2±0,1	-
L-Фенилаланин		-	80,02±1,1

Примечание: Значения выражены, как среднее значение - SEM и n = 3.

IC₅₀ - это концентрация, при которой ингибируется 50% фермента.

Исследование молекулярной стыковки позволило найти наиболее выгодную ориентацию и конформацию для образования комплекса: лиганда (соединений **29a** и **29q**) в моделях обоих изозимов (приложение 2, рисунки П3 и П4).

2.1.4. Синтез и биологические свойства 8-замещенных-2-метил-бензо[4,5][1,3]тиазоло[3,2-а]пириимидинов

Для исследования мы выбрали хлорзамещенный бензотиазоло[3,2-а]пириимидин-4-она **31**, как легкодоступный стартовый материал. Соединение **31** синтезировалось присоединением коммерчески доступных 2-амино-6-хлорбензотиазола с ацетоуксусным эфиром **21a** (схема 14).

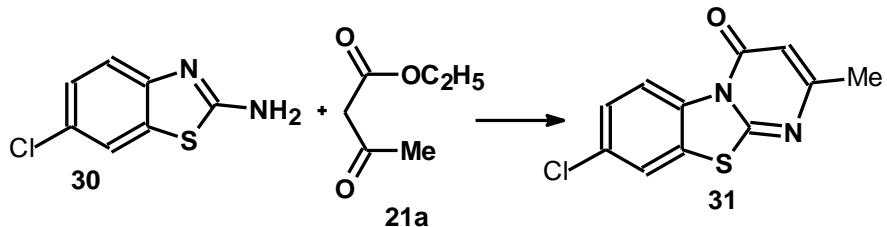


Схема 14 - Синтез исходного соединения **31**. Условие: нагревание в полифосфорной кислоте.

Мы начали наше исследование, оптимизировав синтез соединения **32a** в условиях реакции Сузуки-Мияуры. Были проверены различные катализаторы, лиганды, основания и растворители (таблица 3).

Реакция кросс-сочетания Сузуки-Мияуры для соединения **31** (**31** → **32a**, Ph=C₆H₅) протекала по схеме 15.

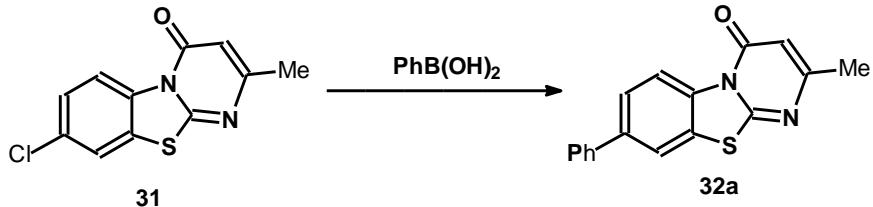


Схема 15 - Реакция кросс-сочетания Сузуки-Мияуры для соединения **31** (**31** → **32a**, Ph=C₆H₅).

Таблица 3 - Оптимизация синтеза соединения 32a из 31: (Ph=C₆H₅)

№ реакции	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание, экв.	Растворитель, мл	[%] ^a – выход продукта, в %
1	Pd ₂ (dba) ₃ , 1	XPhos, 4	K ₃ PO ₄ , 2	н-бутанол, 2	0
2	Pd ₂ (dba) ₃ , 1	XPhos, 4	K ₃ PO ₄ , 2	этанол, 2	0
3	Pd(PPh ₃) ₄ , 1	XPhos, 4	K ₃ PO ₄ , 2	н-бутанол, 2	0
4	Pd(PPh ₃) ₄ , 4	DavePhos, 8	Na ₂ CO ₃ , 2.4	диоксан/H ₂ O, 4:1	47
5	Pd(PPh ₃) ₄ , 4	XPhos, 8	Na ₂ CO ₃ , 2.4	диоксан/H ₂ O, 4:1	34
6	Pd ₂ (dba) ₃ , 1	DavePhos, 8	Na ₂ CO ₃ , 2.4	диоксан/H ₂ O, 4:1	52
7	Pd ₂ (dba) ₃ , 1	XPhos, 8	Na ₂ CO ₃ , 2.4	диоксан/H ₂ O, 4:1	85
8	Pd ₂ (dba) ₃ , 4	XPhos, 4	Na ₂ CO ₃ , 2.4	диоксан/H ₂ O, 4:1	42

Выявлено, что выбор растворителя и основания оказывает огромное влияние на результат реакции. Применение смеси растворителей на основе 1,4-диоксана и воды, Na₂CO₃ как основания, XPhos в качестве лиганда, привело к очень хорошему выходу продукта реакции.

После разработки соответствующих условий для реакции Сузуки-Мияуры, мы начали оценивать масштаб этой реакции при помощи различных бороновых кислот. Оптимизированные условия терпимо соотносились с некоторыми функциональными группами, включая N- и S-гетероциклы, а также с функциональными группами формила и сложного эфира. Арилборные кислоты, содержащие электронно-донорные или электронно-акцепторные группы, привели к одинаково хорошим выходам продукта реакции. Однако, арилборные кислоты, содержащие стерические препятствующие орто-заместители, привели к более низким выходам продукта реакции, чем производные с пара-заместителями (сравнение выхода продукта реакции у производных **32b**, **32c** и **32d**, а также **32m** с **32l**) (схема 16).

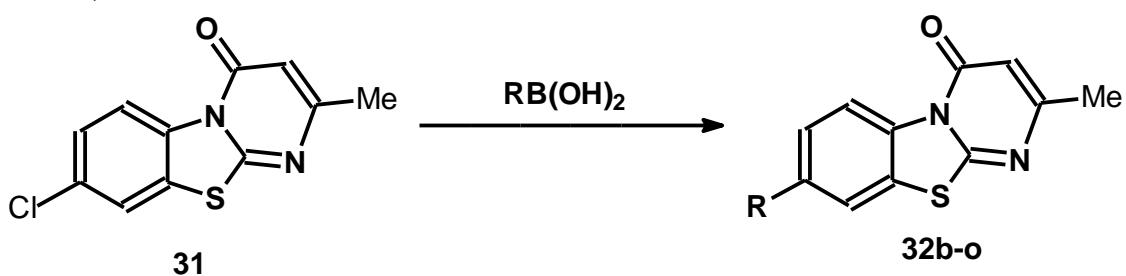


Схема 16 - Синтез целевых продуктов 32b-o: R = **b**) 4-MeC₆H₄; **c**) 2-MeC₆H₄; **d**) 2-MeC₆H₄; **e**) 3,3-(Me)₂C₆H₃; **f**) 4-FC₆H₄; **g**) 4-F₃CC₆H₄; **h**) радикал хинолина-3; **i**) H₅C₆H₄; **j**) 4-MeOC₆H₄; **k**) 2-MeO,3-FC₆H₃; **l**) 2-OHCC₆H₄; **m**) 2-EtO₂CC₆H₄; **n**) Me; **o**) радикал тиофена-3. Условия: фенилборная кислота (1.5 эквивалент), Pd₂(dba)₃ (0.04 эквивалент), XPhos (0.08 эквивалент), K₂CO₃ (2.4 эквивалент), диоксан : вода (4:1 растворитель), 100°C, 16 ч.

Другая часть нашего исследования была посвящена аминированию соединения **31** при использовании реакции Бухвальд-Хартвига, из-за

важности функций аминов в медицинской химии и фармакологии. При оптимизации данной реакции лучшие результаты были получены с использованием $Pd_2(dbu)_3xCHCl_3$ - как катализатора, XPhos - как лиганда и $NaOtBu$ - как основания в толуоле. Нужно отметить, что реакция **31** с морфолином дала желаемый продукт **32a** с выходом 85% (схема 17, таблица 4).

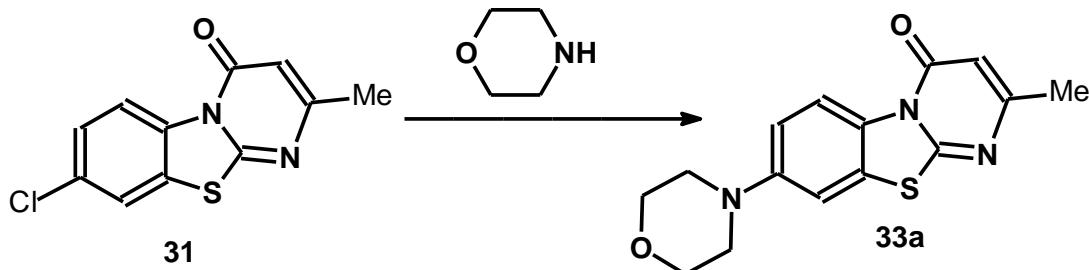


Схема 17 - Реакция кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига для соединения **32a**. Оптимизация соединения **31**.

Таблица 4 - Оптимизация синтеза соединения **33a**

№ реак- ции	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание, экв.	Растворитель, мл	[%] ^a – выход продукта, в %
1	$Pd_2(dbu)_3xCHCl_3$, 2	XPhos, 8	$NaOtBu$, 1.4	толуол, 2	45
2	$Pd_2(dbu)_3xCHCl_3$, 2	DavePhos, 1.5	$NaOtBu$, 1.4	толуол, 3	0
3	$Pd(PPh_3)_4$, 1	DavePhos, 8	$NaOtBu$, 1.4	толуол, 3	0
4	$Pd_2(dbu)_3xCHCl_3$, 2	XPhos, 8	$NaOtBu$, 1.4	толуол, 2	30
5	$Pd_2(dbu)_3xCHCl_3$, 4	XPhos, 8	$NaOtBu$, 1.4	толуол, 2	85
6	$Pd_2(dbu)_3xCHCl_3$, 1	XPhos, 2	$NaOtBu$, 1.4	толуол, 2	0
7	$Pd_2(dbu)_3$, 1	XPhos, 8	$NaOtBu$, 1.4	толуол, 2	0
8	-	-	$NaOtBu$, 1.4	метанол, 2	0

Важно отметить, что простое нуклеофильное ароматическое замещение (S_NAr) в отсутствии палладиевого катализатора не приводило к желаемому продукту (таблица 4, вход 8).

Реакция **31** с различными анилинами предоставила продукты **33b-e** с хорошими выходами (схема 18). Причём успешно были использованы анилины, содержащие электронно-донорные и электронно-акцепторные заместители.

Механизм реакции **31** + **B¹** (амин) → **33** происходит по одной из схем катализитического цикла Бухвальд-Хартвига (рисунок 3). После образования пре-катализитического процесса L_nPd^0 ($n=1$ или $L=XPhos$) происходит окислительное присоединение L_nPd^0 к соединению **31** (Het-Br) с образованием **A¹**, дальнейшая координация **B¹** с **A¹** в присутствии основания приводит к образованию депротонированного **C¹→D¹**, далее восстановительное элиминирование **D¹** приводит к образованию целевого продукта **33** с формированием C-N-связи и регенерацией катализатора.

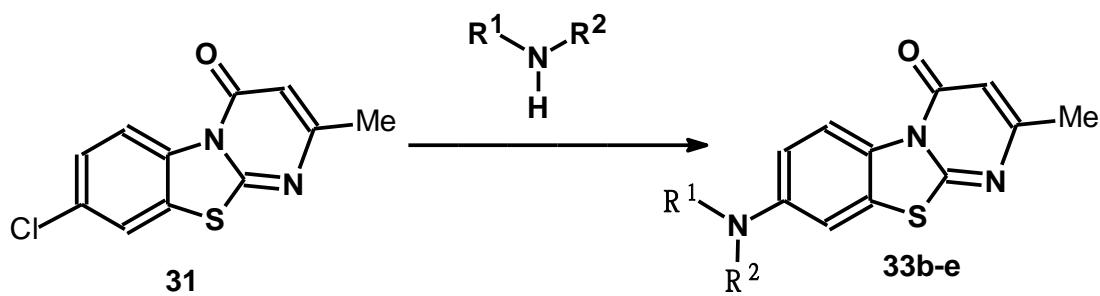


Схема 18 - Получение целевых продуктов 33b-e: **b)** $R^1=Me$, $R^2=C_6H_5$; **c)** $R^1=H$, $R^2=4-FC_6H_4$; **d)** $R^1=H$, $R^2=3-F_3CC_6H_4$; **e)** $R^1=H$, $R^2=3,3-(MeO)_2C_6H_3$. Условия: амин (1.1 эквивалент), $Pd_2(dbu)_3 \cdot CHCl_3$ (0.04 и 0.08 эквивалент), $NaOtBu$ (1.4 эквивалент), толуол (растворитель), $100^\circ C$, 16 ч.

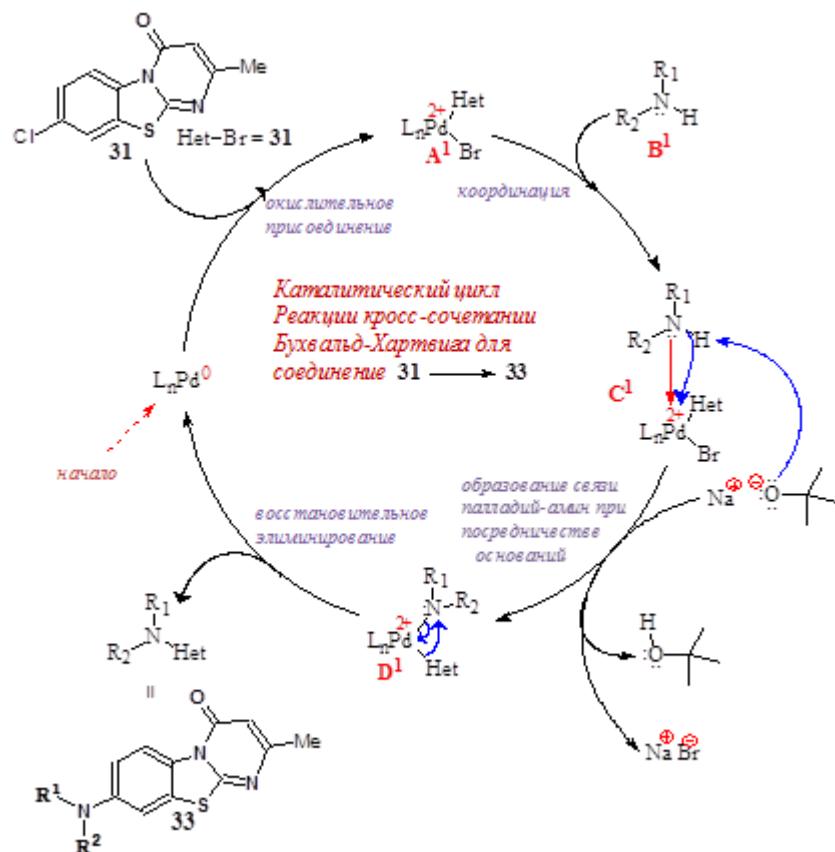


Рисунок 3 - Каталитический цикл реакции кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига для получения соединения 33 из 31.

В заключительной части наших исследований по синтезу мы изучили реакцию Соногаширы для соединения 31. Во время оптимизации мы установили, что использование $Pd(OAc)_2$, как катализатора, диметилацетамида (DMA), как растворителя и K_2CO_3 , как основания и XPhos, как лиганда, дало лучшие результаты (схема 19, таблица 5).

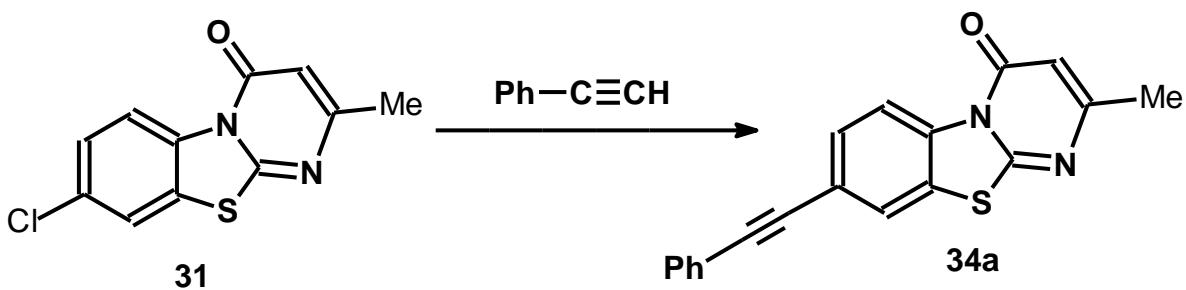


Схема 19 - Синтез соединения **34а** из **31** в условиях реакции кросс-сочетания Соногаширы.

Таблица 5 - Оптимизация синтеза соединения **34а**

№ реак- ции	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание, экв.	Добавка, моль%	Раствори- тель, мл	[%] ^a – выход продукта, в %
1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ , 1.2	-	Et ₃ N, 2	CuI, 4	ДМФ	30
2	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ , 1.2	-	Et ₃ N, 2	CuI, 4	диоксан	0
3	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ , 4	PtBu ₃ хHBF ₄ , 8	Cs ₂ CO ₃ , 2	DBU, 20	ДМФ	0
4	Pd(CH ₃ CN) ₂ Cl ₂ , 3	XPhos, 9	Cs ₂ CO ₃ , 2.1	-	CH ₃ CN	0
5	Pd/C, 10	XPhos, 8	K ₂ CO ₃ , 2.1	-	ДМА	25
6	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	XPhos, 8	Et ₃ N, 2.1	CuI, 4	ДМА, 2	10
7	Pd ₂ (OAc) ₂ , 5	XPhos, 10	Cs ₂ CO ₃ , 2.1	-	ДМСО, 2	0
8	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	XPhos, 10	Cs ₂ CO ₃ , 2.1	-	ДМФ, 2	0
9	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	XPhos, 8	K ₂ CO ₃ , 2.1	-	ДМА, 2	35
10	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	XPhos, 8	K ₂ CO ₃ , 2.1	CuI, 4	ДМА, 2	0
11	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	XPhos, 8	Et ₃ N, 2.1	-	ДМА, 2	40
12	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	PtBu ₃ хHBF ₄ , 8	Cs ₂ CO ₃ , 2.1	DBU	ДМА, 2	0
13	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	XantPhos, 8	Et ₃ N, 2.1	-	ДМА, 2	15
14	Pd ₂ (OAc) ₂ , 4	XPhos, 8	K ₂ CO ₃ , 2.1	-	ДМА, 2	77

После оптимизации условий реакции, продукты **34а-е** были синтезированы с умеренных до хороших выходов желаемых продуктов. В этом контексте, были успешно использованы арилированные ацетилены, имеющие заместители с богатыми и бедными электронами (схема 20).

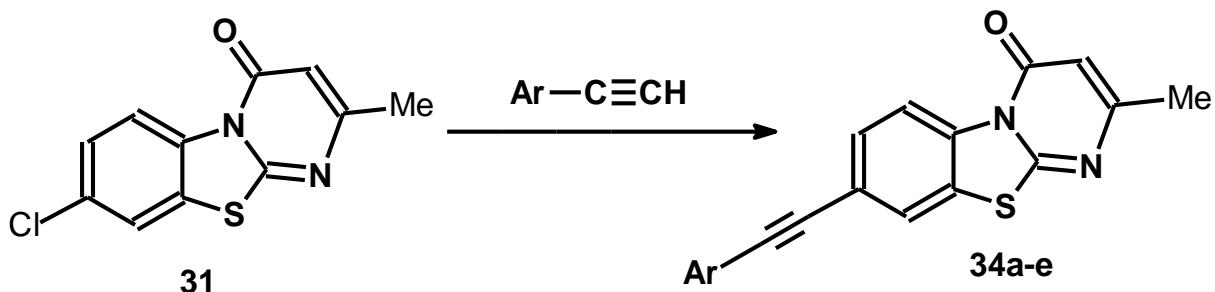


Схема 20 - Получение целевых продуктов **34а-е**. Ar = **a**) C₆H₅; **b**) 4-MeC₆H₄; **c**) 4-tBuC₆H₄; **d**) 4-MeOC₆H₄; **e**) 4-FC₆H₄. Условия: алкин (1.5 эквивалент), Pd(OAc)₂ (0.04 эквивалент), XPhos (0.08 эквивалент), K₂CO₃ (2.1-5 эквивалент), ДМФА (растворитель), 100°C, 16 ч.

Механизм реакции протекает согласно утвержденной свободной от меди реакции кросс-сочетания Соногаширы (рисунок 4) и включает циклы **А** (Pd^0) и **Б** (Pd^{2+}). После образования L_nPd^0 из L_nPd^{2+} в цикле **А** начинается окислительное присоединение (**ОП**) L_nPd^0 к **31** с формированием комплекса **А** и активацией гетерил-галидного субстрата для реакции.

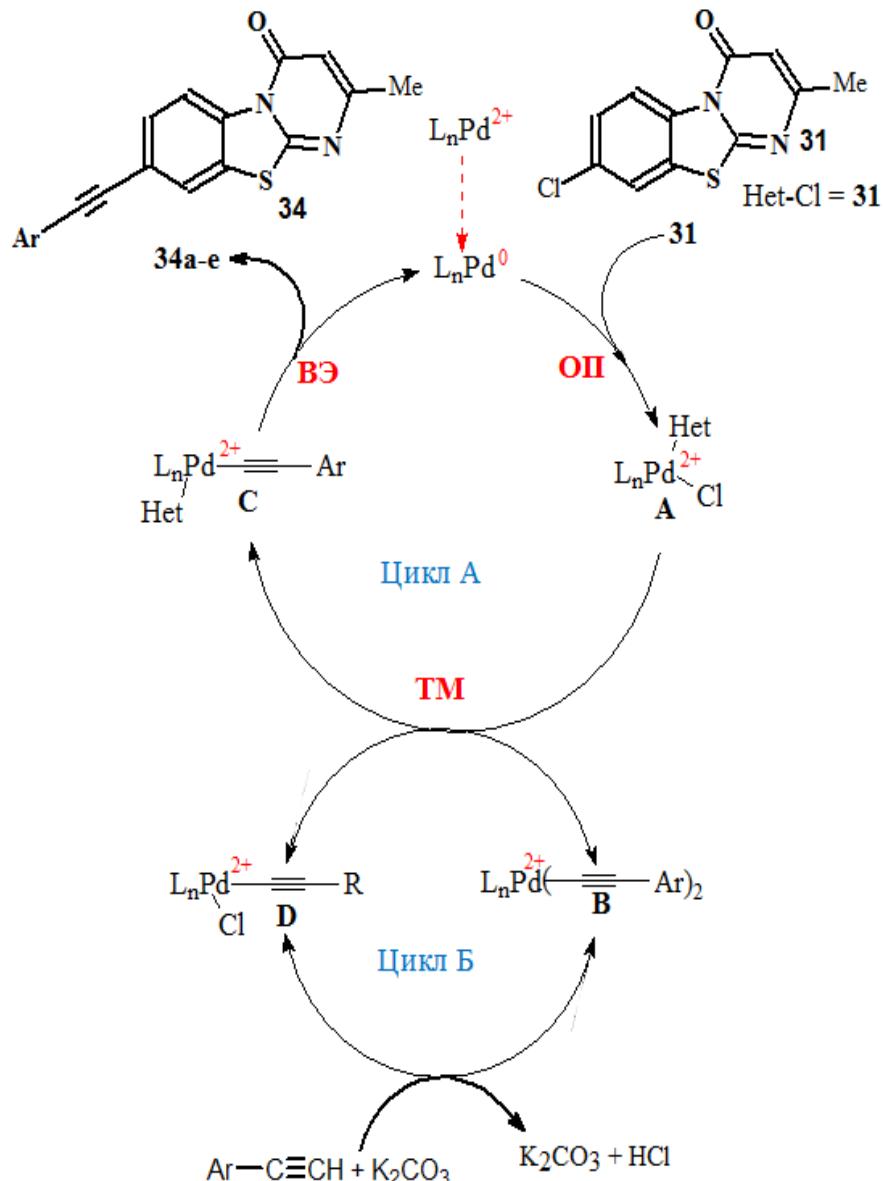


Рисунок 4 - Механизм свободной от меди реакции образования соединения **34а-е** из **31** по реакции кросс-сочетания Соногаширы. **ОП** – окислительное присоединение, **ТМ** - трансметаллирование, **ВЭ** - восстановительное элиминирование, $\text{L} = \text{Xphos}$, $n = 2$.

Фенилацетилены активируются во втором **цикле Б** (Pd^{2+}), образуя моноацетилпроизводный комплекс палладия **D**, а также биацетилзамещенный комплекс **B**. Обе активированные разновидности, а именно, комплексы **A** и **B**, участвуют в стадии трансметаллирования, формируя комплекс **C** и регенерацию катализатора L_nPd^0 . Каталитический цикл заканчивается

восстановительным элиминированием С, с образованием целевого продукта **34a-e** и регенерацией катализатора Pd^0 .

2.1.4.1. Тест МТТ

Синтезированные соединения были первоначально проверены по оценке противораковых эффектов, с использованием теста МТТ против клеток рака шейки матки (HeLa). Все соединения были активны и составляют больше, чем 50% ингибирование роста при концентрациях 100 μM . Затем соединения были последовательно разбавлены с получением 8 различных концентраций, и были определены концентрации ингибирования, используя призму подушки графа (GraphPad Prism). Цитостатические эффекты всех производных дополнительно наблюдались против нормальных клеток почки детёныши хомяка (ВНК-21). Полученные результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Противораковый потенциал синтезированных соединений и карбоплатина против клеток рака шейки матки (HeLa) и нормальных клеток почки детёныша хомяка (ВНК-21) ($\text{IC}_{50} (\mu\text{M}) \pm \text{SEM}$ ингибирования, в процентах)

Соединение	HeLa	ВНК-21
32a	6.58 \pm 0.23	40.1 \pm 1.11
32b	1.84 \pm 0.06	29.6 \pm 3.33
32c	20.7 \pm 0.15	38.8 \pm 8.90
32d	3.30 \pm 0.08	38.2 \pm 3.53
32e	2.09 \pm 0.13	36.2 \pm 3.93
32f	3.40 \pm 0.07	39.6 \pm 6.67
32g	3.47 \pm 0.08	36.6 \pm 6.72
32h	9.87 \pm 0.11	29.4 \pm 4.74
32i	HT	HT
32j	43.3 \pm 0.16	36.3 \pm 3.33
32k	1.55 \pm 0.08	24.5 \pm 3.10
32l	19.4 \pm 1.03	32.6 \pm 4.79
32m	4.67 \pm 0.41	40.5 \pm 3.36
32n	8.80 \pm 0.10	27.3 \pm 5.23
32o	3.23 \pm 0.25	36.7 \pm 7.84
33a	2.29 \pm 0.09	30.8 \pm 8.89
33b	HT	HT
33c	5.04 \pm 0.11	39.4 \pm 4.65
33d	2.65 \pm 0.20	33.1 \pm 1.41
33e	HT	HT
34a	2.85 \pm 0.13	36.1 \pm 7.64
34b	4.17 \pm 0.25	26.7 \pm 6.47
34c	4.25 \pm 0.34	21.1 \pm 7.64

34d	0.93±0.01	25.5±8.82
34e	49.7±1.67	24.4±1.17
Карбоплатин	5.13±0.45	19.3±1.12
HT- тест не приводился		

Было определено, что синтетические производные демонстрируют значительное ингибирование роста линий раковых клеток. Среди всех производных соединения **34d**, **32k** и **32b** были идентифицированы, как самые активные, приводящие к сокращению роста ячеек HeLa больше чем на 70%. Также подобные результаты были получены после разбавления и были найдены мощные потенциалы ингибирования. Также эти производные показывали цитостатические эффекты меньше, чем 30% против нормальных клеток.

2.1.4.2. Отношения активности структуры

Было определено, что соединение **34d** является самым мощным ингибитором среди трех серий наших синтетических производных с оценкой IC_{50} $0,93\pm0,01$ μM против клеточной линии HeLa. Также это производное показало ингибирование против ВНК-2 на $125,5\pm8,82\%$, клетки были использованы в качестве нормального контроля в испытании, чтобы проверить цитотоксичность синтезированных соединений. Среди 8-арил-2-метил- бензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиrimидин-4-онов **32a-o** самым активным соединением было 2-метокси-5-фторфенил-производное **32k** с концентрацией ингибирования $1,55\pm0,08$ μM против клеточной линии HeLa. Другими производными, показывающими сильное ингибирование, явились **32b** (4-толил) и **32e** (3,5-диметилфенил) с концентрацией ингибирования $1,84\pm0,06$ и $2,09\pm0,13$ μM , соответственно. Все другие комплексы показали ингибирование в пределах $3.23-20.7$ μM . Однако соединение **32j** (4-метоксифенил) показало самое низкое ингибирование с оценкой IC_{50} $43,3\pm0,16$ μM . Соединения **32b** и **32e**, содержащие заместители метила, показывают более высокую активность, чем производные, имеющие метокси-заместители **32j**. Было замечено, что присутствие группы фтора наряду с метокси-заместителем, как в случае соединения **32k**, приводит к значительному увеличению активности. Когда были изучены производные с амино-заместителями (**33a-e**), лучшее ингибирование наблюдалось у соединения **33d** (содержащего 3-тирифторметилфениламино-группу), имеющего оценку IC_{50} $2,65\pm0,20$ μM . Однако **33a** (имеющего группу морфолина) и **33c** (4-фторфениламино-группу) также показали превосходные оценки IC_{50} $2,99\pm0,09$ и $5,04\pm0,11$ μM , соответственно. В этом ряду прибавление заместителя - группы фтора привело к уменьшению активности, в то время как присутствие 3-тирифторметилфениламино-группы вызвало сильное ингибирование клеточной линии HeLa. Однако значительное снижение ингибирования было отмечено в присутствии морфолино-группы, как заместителя. Среди алкильных производных в соединениях **34a-e** лучшая активность наблюдалась у соединения **34a**, имеющего фенилэтинильный

заместитель (концентрация ингибиования была определена равной $2,95 \pm 0,13 \mu\text{M}$). Снижение ингибиования было замечено для соединения **34b** (с 4-толилэтил-производным) и **34c** (4-*tert*-бутил - фенилэтильное производное) с оценкой $\text{IC}_{50} 4,17 \pm 0,25$ и $4,25 \pm 0,34 \mu\text{M}$, соответственно. Соединение **34e** (4-фторфенилэтил-производное), имеющее оценку $\text{IC}_{50} 49,7 \pm 1,67 \mu\text{M}$, было наименее активным производным среди этого ряда. Эти результаты указывают, что прибавление группы галогена может быть причиной уменьшения потенциала ингибиования этих производных. Однако 4-метокси-заместитель соединения **34d** показал замечательное ингибиование. Следовательно, это использовалось для дальнейших исследований механизма ингибиования наряду с позитивным контролем (карбоплатин) против клеточных линий HeLa.

Также была исследована связующая способность мощного ингибитора (**34d**) к ДНК и его способность взаимодействовать с канавками ДНК. Для этого были выполнены состыковывающиеся исследования с использованием белка E2 вируса папилломы человека (HPV-18). Результаты исследований по стыковке представлены в приложении 3 (рисунок П5 (а и б)).

2.1.5. Синтез и биологические свойства 8-замещенных-3-фторо-2-метил-бензо[4,5][1,3]тиазоло[3,2-*a*]пиrimидинов

2.1.5.1. Синтез

Исходное вещество **31a** синтезировалось, по аналогии с известными процедурами, циклоконденсацией 2-аминозамещенным-6-хлоробензотиазолом с 2-фторацетоуксусным эфиrom **21a** (схема 21).

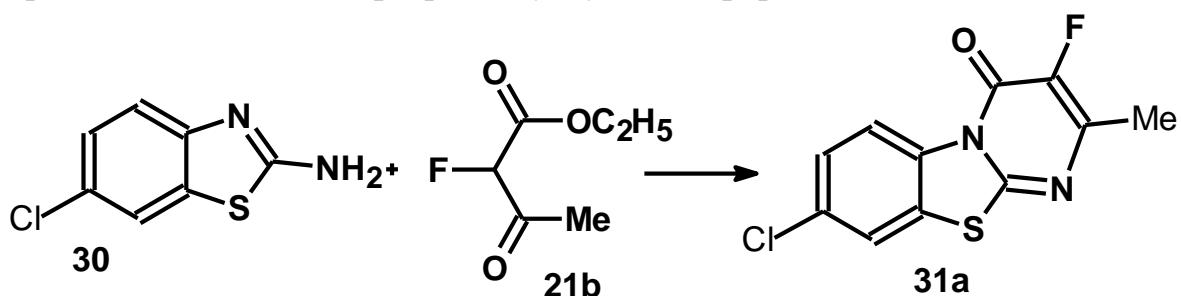


Схема 21 - Синтез исходного соединения **31a** циклоконденсацией **30** и **21b**.

Имея на руках стартовый материал **31a**, мы изучили различные реакционные условия (оптимизацию) по реакции Сузуки-Мияуры для соединения **31a** с арилбороновыми кислотами (таблица 7). В двух случаях не были получены продукты кросс-сочетания, в других случаях выход целевого продукта составлял от 12 до 57%. Благодаря сочетанию $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ с K_3PO_4 в смеси 1,4-диоксана и воды, а также лиганда XPhos был получен арилзамещенный продукт с высоким выходом (схема 22, таблица 7).

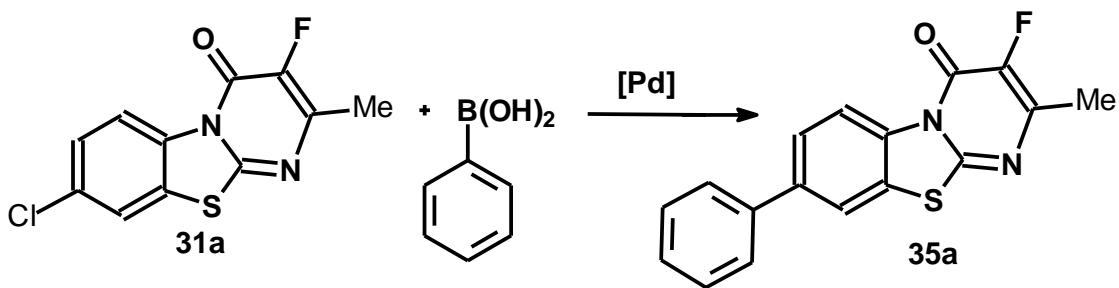


Схема 22 - Реакции Сузуки-Мияуры для соединения **35a**.

Таблица 7 - Оптимизации реакции Сузуки-Мияуры для соединения **35a**. Условия: температура - 100°C, продолжительность - 16 ч

Реакции	Катализатор, 4.0 моль%	Лиганд, 8.0 моль%	Основание, 2.4 экв.	Растворитель	[%] ^a , выход продукта, в %
1	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	Na ₂ CO ₃	диоксан:H ₂ O	36
2	Pd ₂ (dba) ₃	DavePhos	Na ₂ CO ₃	диоксан:H ₂ O	24
3	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	K ₃ PO ₄	диоксан:H ₂ O	57
4	Pd ₂ (OAc) ₂	XPhos	Na ₂ CO ₃	диоксан:H ₂ O	42
5	Pd ₂ (OAc) ₂	XPhos	K ₃ PO ₄	диоксан:H ₂ O	82
6	Pd ₂ (OAc) ₂	XPhos	K ₃ PO ₄	ДМФ	0
7	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	K ₃ PO ₄	ДМФ	12
8	Pd ₂ (dba) ₃	XantPhos	K ₃ PO ₄	диоксан:H ₂ O	0
9	Pd ₂ (OAc) ₂	PtBu ₃ xHBF	Cs ₂ CO ₃	ДМФ	0

После разработки соответствующих условий для реакции Сузуки-Мияуры мы оценили масштаб этой реакции при помощи различных производных борной кислоты. Арилборные кислоты, содержащие группы с электронно-донорными заместителями, привели к немного лучшему выходу желаемого продукта, в то время как продукт **35h** был получен только с умеренным выходом (55%), по-видимому, из-за стерических препятствий *o*-метокси-группы (схема 23).

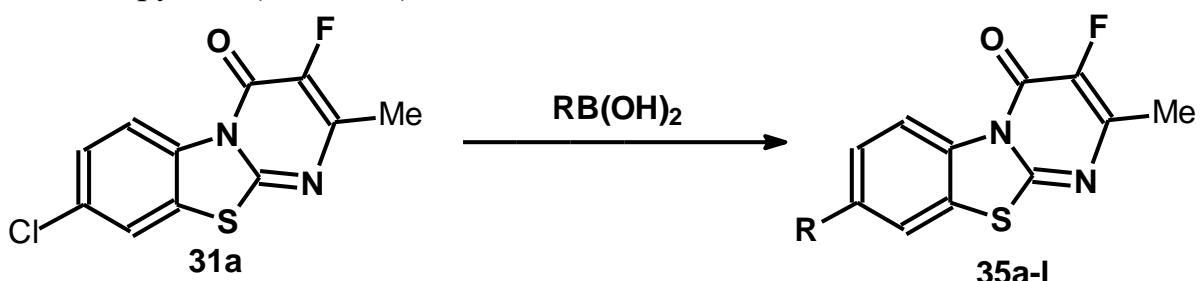


Схема 23 - Синтез соединения **35a-I** из **31a** при использовании условий реакции кросс-сочетания Сузуки. R = a) C₆H₅; b) 4-MeC₆H₄; c) 3-MeC₆H₄; d) 3,3-(Me)₂C₆H₃; e) 4-EtC₆H₄; f) 4-MeOC₆H₄; g) 3,3-(MeO)₂C₆H₃; h) 2-MeO,3-FC₆H₃; i) 4-FC₆H₄; j) 4-F₃CC₆H₄; k) 4-F₃COC₆H₄; l) CH₃.

2.1.5.2. Реакция Бухвальд-Хартвига для производных 31a

Следующая часть нашего исследования была связана с аминированием по Бухвальд-Хартвигу соединения **31a**, для определения роли аминов в медицинской химии и фармакологии. Как начальные точки нашего исследования мы использовали $Pd_2(dbu)_3$ - как катализатор, **XPhos** - лиганд, толуол - растворитель и $NaOtBu$ - основание, поскольку эти условия оказались эффективными для не фторированных бензотиазолопиримидинов (схема 18, соединения **33a-e**), К сожалению, при этих условиях продукт **36c** был получен только с 10% выходом (схема 24). Затем, мы проверили действие различных катализаторов, оснований и растворителей на выход конечного продукта (таблица 8).

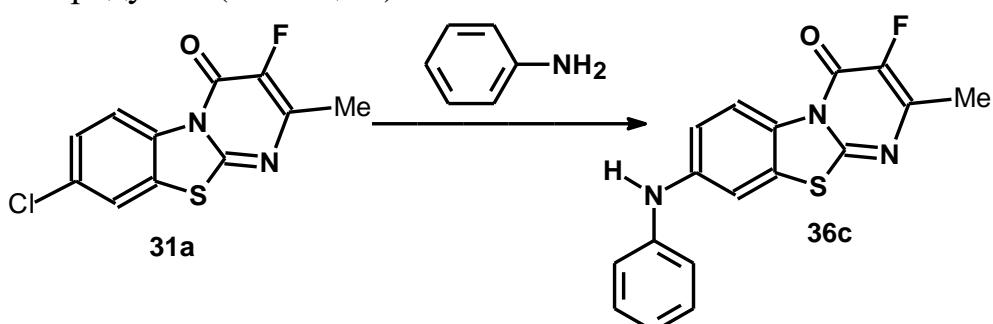


Схема 24 - Синтез соединения **36c** из **31a** по Бухвальд-Хартвигу.

Таблица 8 - Оптимизация синтеза соединения **36c**. Условия: анилины (1.2 экв.); ^b 20 моль% DBU - как добавка; ^c 0.05 экв. фенилборной кислоты - как добавка; ^d реакция нуклеофильного замещения без катализатора, лиганда и основания; **KHMDS** : 1,1,1-триметил-*N*(триметилсилил)-силанаминид калия - $((CH_3)_3Si)_2NK$; $t=100^{\circ}C$, продолжительность - 16 ч

Реакции	Катализатор, 4.0 моль%	Лиганд, 4.0 моль%	Основание, 1.4 экв.	Растворитель	[%] ^a , выход продукта, в %
1	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	$NaOtBu$	толуол	10
2	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	$NaOtBu$	ксиол	41
3	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	KHMDS	ксиол	57
4	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	KHMDS	ДМФ	0
5 ^b	$Pd_2(dbu)_3$	$PtBu_3xHBF_4$	Cs_2CO_3	ДМФ	22
6	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	KHMDS	ксиол	0
7	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	K_2CO_3	t-бутанол	55
8 ^c	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	K_2CO_3	диоксан	81
9	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	KHMDS	диоксан	0
10	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	$NaOtBu$	диоксан	0
11 ^c	$Pd_2(dbu)_3$	XPhos	Et_3N	диоксан	2
12 ^d	-	-	-	метанол	0

Применение $\text{Pd}(\text{OAc})_2/\text{XPhos}$ в присутствии более слабого основания K_2CO_3 в 1,4-диоксане и каталитического количества $\text{PhB}(\text{OH})_2$, значительно повышающего эффективность преобразования $\text{Pd}(\text{II})$ в $\text{Pd}(0)$, привело к получению **36a** с максимальным выходом (81%). Более сильные основания, такие, как NaOtBu или KHMDS были абсолютно неэффективны. Простое опосредованное основание и нуклеофильное замещение не были возможными (таблица 8, вход 12). Далее были изучены масштабы реакции Бухвальд-Хартвига. Анилины выступили хорошо в этих условиях реакции, в то время как электронно-акцепторный фторзамещённый анилин привел к низкому выходу (**36g**, 60%) из-за его низкой нуклеофильности. Лучший выход (89%) был получен для соединения **36d**, синтезированного из N -метил-анилина и **31a**. В дополнение к анилинам, могли также успешно использоваться морфолин и N -метил-бензиламин, и продукты **36a** и **36b** были получены с выходами 65 и 42%, соответственно (схема 25).

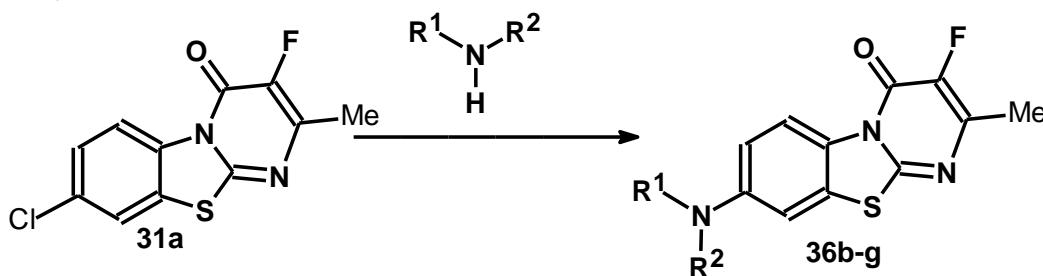


Схема 25 - Получение целевых продуктов **36a-g** из **31a** в условиях реакции кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига. **36a-g:** **a)** $\text{R}^1=\text{R}^2=(\text{C}_2\text{H}_4)_2\text{O}$; **b)** $\text{R}^1=\text{Me}$, $\text{R}^2=\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$; **c)** $\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=\text{C}_6\text{H}_5$; **d)** $\text{R}^1=\text{Me}$, $\text{R}^2=\text{C}_6\text{H}_5$; **e)** $\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=4\text{-MeC}_6\text{H}_4$; **f)** $\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=4\text{-FC}_6\text{H}_4$; **g)** $\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=3,4,5\text{-(OCH}_3)_3\text{C}_6\text{H}_2$.

Далее мы изучили реакцию Соногаширы для **31a**. Используя условия ранее нами разработанной методики для подобных молекул, целевые продукты **37a-c** были получены с умеренными и хорошими выходами (схема 26).

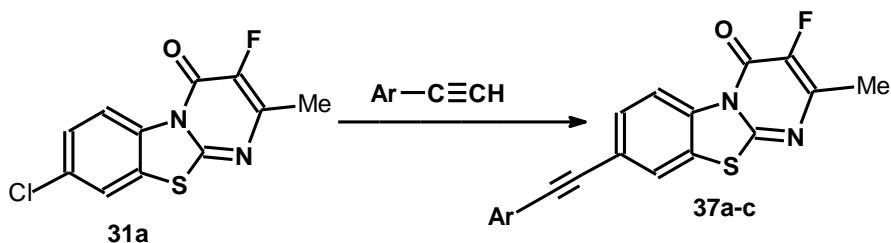


Схема 26 - Получение целевых продуктов **37a-c**. $\text{Ar} = \text{a}) \text{C}_6\text{H}_5$; **b)** $4\text{-MeC}_6\text{H}_4$; **c)** $4\text{-tBuC}_6\text{H}_4$. Условия: Анкинарил (1.5 эквивалент), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (4.0 моль%), XPhos (8.0 моль%), K_2CO_3 (2.1 эквивалент), ДМФА (растворитель), $\text{t}=100^\circ\text{C}$, 16 ч.

2.1.5.3. Биологическая активность

После синтеза 3-фторзамещенных бензо[4,5]тиадизоло[3,2-a]примидин-4-онов были оценены их ингибирующие активности наmonoаминной оксидазе, с использованием красного набора для анализа

перекиси водорода (H_2O_2), (Amplex Red), производного *p*-тирамина. Позитивным контролем противmonoаминной оксидазы А был клоргилин, обладающий концентрацией ингибиования $0,0045\pm0,0003 \mu\text{M}$, в то время как контролем противmonoаминной оксидазы В был селегилин с оценкой $\text{IC}_{50} 0,0196\pm0,001 \mu\text{M}$. Результаты испытаний (*in vitro*) показали, что большинство соединений показали от умеренного до мощного ингибиования противmonoаминоксидазы А (таблица 9). Самыми мощными и отборными ингибиторами monoаминоксидазы А показали себя соединения **35j**, **35l** и **36h** с концентрацией ингибиования $1,95\pm0,08$, $1,66\pm0,01$ и $1,69\pm0,05 \mu\text{M}$, соответственно. Интересно, что производные соединения **35l**, содержащие метил-группу, расположенную в 8 положении, показали лучший ингибирующий результат по сравнению со всеми исследованными производными. Соединения **35l** и **36h** являются селективными ингибиторами МАО-А, в то время как **35j** является хорошим ингибитором обоих изоформов. Другие протестированные производные бензотиазолопиримидины показали только умеренно-низкие IC_{50} величины против МАО-А.

Таблица 9 - Активность ингибиования соединений **32a-l**, **33a-h** и **34a-d** на monoаминах оксидазы

Соединение	МАО-А	МАО-Б
35a	2.82 ± 0.02	1.80 ± 0.03
35e	2.72 ± 0.08	4.93 ± 0.07
35f	22.2 ± 0.09	1.21 ± 0.05
35g	26.9%	4.09 ± 0.04
35i	14.2 ± 0.01	1.06 ± 0.05
35j	1.95 ± 0.08	1.02 ± 0.01
35l	1.66 ± 0.01	39.0%
36a	16.9 ± 0.01	4.03 ± 0.02
36b	6.80 ± 0.06	45.1%
36c	2.43 ± 0.05	5.81 ± 0.01
36d	10.5 ± 0.07	1.38 ± 0.01
36e	47%	40.3%
36g	15.2 ± 0.09	1.59 ± 0.08
36h	1.69 ± 0.05	48.1%
37a	2.40 ± 0.01	1.42 ± 0.08
37b	5.06 ± 0.06	42.2%
Клоргилин	0.0045 ± 0.0003	61.35 ± 1.13
Селегилин	67.25 ± 1.02	0.0196 ± 0.001
$\text{IC}_{50}\pm \text{SEM} (\mu\text{M})/\%$ ингибиования		

Производные **35a**, **35f**, **35i**, **35j**, **36d**, **36g** и **37a** показали отчетливое ингибиование против monoаминоксидазы В (таблица 9). В частности,

соединения **35i** и **35j** были самыми мощными ингибиторами моноаминоксидазы В с показателями IC_{50} $1,06\pm0,05$ и $1,02\pm0,01$ μM , соответственно. Другие соединения - **35f**, **36g**, **37a**, **35a** и **36d** показали сильную ингибиющую активность против МАО-В с показателем IC_{50} в диапазоне 1.21 - 1.80 μM . В случае **35i** и **36g** наблюдалась хорошая селективность против МАО-В по сравнению с МАО-А. Присутствие фторсодержащих функциональных групп приводит к увеличению ингибиющей активности к МАО-В. Результаты показывают, что вовлечение метил- или метокси-групп приводит к улучшению ингибиющей активности к МАО-А, в то время как замена фтора приводит к улучшению ингибиющей активности и селективности против МАО-В. Полученные результаты показывают, что эти соединения могут служить ведущими для дальнейших подробных исследований. IC_{50} - это концентрация, при которой ингибируется 50% фермента. Если процент ингибирования составляет меньше, чем 50%, тогда его обозначают процентом.

2.1.5.4. Прогноз физико-химических свойств полученных соединений, касающихся абсорбции, распределения, метаболизма и экскреции (ADME)

Были изучены эффекты соединений к проницаемости гематоэнцефалического барьера (BBB) и их лекарствоподобные свойства. Вычисление данные для прогноза физико-химического и профиля ADME серии селективных соединений из числа 8-функционилизованных-3-фторзамещенных-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиримидин-4-онов были проведены с использованием калькулятора Molinspiration (таблица 10).

Таблица 10 - Прогнозирование физико-химических свойств полученных соединений относительно к ADME

Соединение (\AA^2) (Da)	LogP	TPSA	ММ	<i>n</i> OH	<i>n</i> OHNH м/моль)	<i>n</i> вр.с	Объем
35a	4.38	34.38	310.35	3	0	1	255.83
35e	5.29	34.38	338.41	3	0	2	289.20
35i	4.54	34.58	328.34	3	0	1	260.76
35j	5.27	34.58	378.35	3	0	2	287.13
35l	3.03	34.58	248.28	3	0	0	200.99
36a	2.53	46.85	319.36	5	0	1	262.56
36c	4.57	46.41	325.37	4	1	2	268.24
36h	4.20	74.11	415.45	7	1	5	344.87
37a	4.01	34.38	334.38	3	0	0	277.98

LogP - логарифм порции коэффициента октан/вода; TPSA - площадь топологической полярной поверхности; ММ - молекулярная масса; *n*OH - количество акцепторных связей; *n*OHNH - количество донорных связей; *n*вр.с - количество вращающихся связей; молекулярный объем (см/моль).

Полученные данные показывают, что только 2 соединения нарушили первое правило Липинского со значением LogP немного выше 5. Это означает, что соединения обладают способностью преодолеть мембрану и могут легко проникнуть в ЦНС. Изученные соединения показывают топологическую полярную площадь поверхности в диапазоне 34.38-74.11 Å² и, следовательно, являются подходящими для проницания гематоэнцефалического барьера. Дополнительно были проведены исследования молекулярного моделирования соединений сmonoаминокисидазами (**35l** и **36h** для МАО А и **35i** и **35j** для МАО-В). Это позволило исследовать связующие взаимодействия соединений с МАО-А и МАО-В при использовании рентгеноструктурных данных кристаллической структуры человеческой monoаминоксидазы А (2Z5Y) и monoаминоксидазы В (2V5Z) (приложение 4б 5, рисунки П6-П10).

2.1.6. Синтез и биологические свойства 2-арил-2-алкинил- и 2-аминозамещенных-12Н-бензотиазоло[3,2-*b*]хиназолин-12-онов

Исходное соединение - бромированный бензотиазолохиназолинон (**40**) был синтезирован конденсацией коммерчески доступного 2-хлоробензотиадиазола (**38**) с 5-антраниловой кислотой (**39**) с выходом 90% (схема 27).

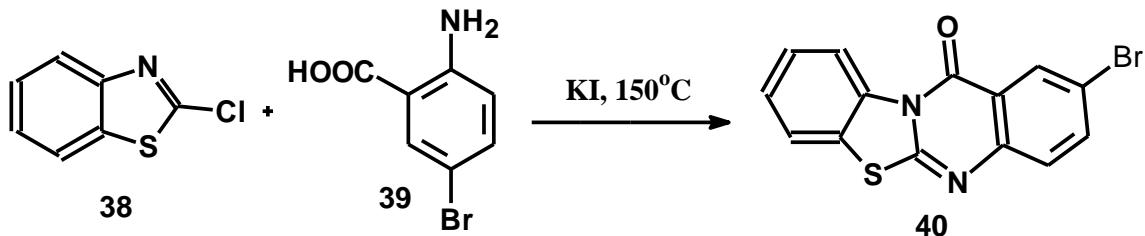


Схема 27 - Синтез 2-бромо-12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она.

В дальнейшем соединение **40**, было использовано, как субстрат в реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры (схема 28 и таблица 11).

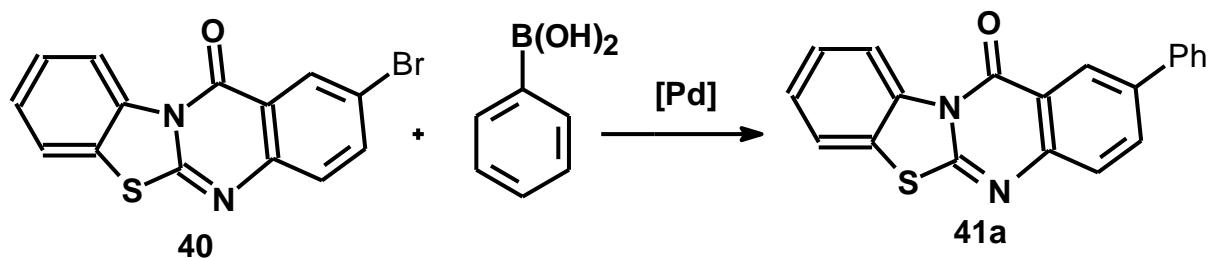


Схема 28 - Реакция кросс-сочетания Сузуки-Мияуры для соединения **40**.

Чтобы оптимизировать реакцию, мы изучили несколько условий, изменив предшественников - палладий, лиганды, основания и растворители. Для этого используемый источник палладий оказался очень важен для результата реакции. Применение Pd(OAc)₂ не привело к образованию целевого продукта, при Pd₂(dba)₃ желаемый арилированный продукт образовывался с низким выходом. Наконец, продукт **41a** был получен с

высоким выходом с применением $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, как катализатора, в присутствии 8 моль% дополнительного лиганда XPhos.

Таблица 11 - Оптимизация реакции Сузуки-Мияуры для соединения **41a**

Реакции	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание, экв.	Растворитель	Выход, %
1	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 1	XPhos 2	K_2CO_3 2.0	DMF	-
2	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ 1	XPhos, 4	K_3PO_4 2.0	<i>n</i> -бутанол	24
3	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ 1	DavePhos 8	K_3PO_4 2.0	<i>n</i> -бутанол	22
4	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ 1	XPhos 2	Na_2CO_3 2.4	Диоксан: H_2O	30
5	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 4	XPhos 8	Na_2CO_3 2.4	Диоксан: H_2O	85

После разработки соответствующих условий для реакции Сузуки-Мияуры был изучен объем этой реакции при помощи различных арилбороновых кислот (схема 29).

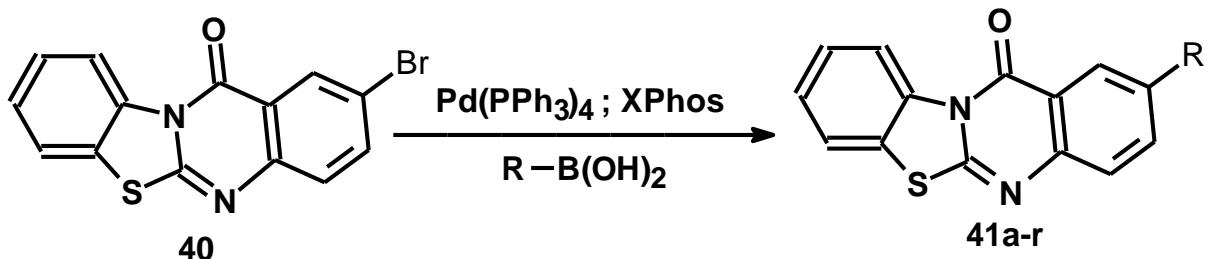


Схема 29 - Получение целевых продуктов **41a-f** из **40** в условиях реакции кросс-сочетания Сузуки. R=C₆H₅: **41a** (выход 85%); R=4-CH₃C₆H₄: **41b** (80%); R=2-CH₃C₆H₄: **41c** (73%); 3-CH₃C₆H₄: **41d** (70%); 3,3-(CH₃)₂C₆H₃: **41e** (69%); 4-CH₃OC₆H₄: **41f** (76%); 2-CH₃OC₆H₄: **41g** (73%); 3-CH₃OC₆H₄: **41h** (68%); 2,2-(CH₃O)₂C₆H₃: **41i** (68%); 3,3-(CH₃O)₂C₆H₃: **41j** (65%); R=4-FC₆H₄: **41k** (55%); R=4-CF₃C₆H₄: **41l** (43%); R=2-фурил-C₆H₄: **41m** (53%); R=3-фурил-C₆H₄: **41n** (48%); 4-H₅C₆C₆H₄: **41o** (43%); 2-HOCC₆H₄: **41p** (51%); 2-EtOOCC₆H₄: **41q** (53%); CH₃: **41r** (61%).

Все продукты были получены с умеренными и хорошими выходами. Разработанные условия реакции показали широкую терпимость к различным функциональным группам, включая фтор-метокси-, сложный эфир- или группы формила. Кроме того, 2- и 3-тиенил- и даже метилбороновая кислота успешно использовались в этой реакции. Обычно электронно-донорные группы, такие как алкилированные или метокси-замещенные, приводили к более высоким выходам желаемого продукта, чем группы электронно-акцепторных заместителей. Стерические эффекты также оказывают незначительное влияние на выход продуктов реакции. В частности, *ортого*-, *мета*- и *пара*-замещенные арилбороновые кислоты приводили к одинаково хорошему выходу целевых продуктов (см. **41b-d** и **41f-h**).

2.1.6.1. Изучение *in vitro* ингибиование моноаминоксидазы

Был исследован *in vitro* тест арилированных бензотиазолохиназолинов против моноаминоксидазы А и изозима В. Соединения были первоначально проверены при конечной концентрации 100 μM против моноаминоксидаз. Производные с ингибирующим показателем меньше чем 50% не были далее проанализированы, однако соединения с ингибирующим показателем $>50\%$ далее были разбавлены серийно на 8-9 последовательных концентраций, и оценки IC_{50} этих производных приведены в таблице 12.

Таблица 12 - Ингибирующая активность избранных серий соединения 41

Соединение	MAO-A	MAO-B
	$\text{IC}_{50} \pm \text{SEM} (\mu\text{M})/\%$ ингибиование	
41a	6.14 ± 0.19	17.6 ± 1.02
41d	10%	6.0%
41e	3.4%	4.0%
41f	2.88 ± 0.79	2.96 ± 0.13
41k	2.82 ± 0.02	25.7 ± 0.48
41o	13.4 ± 1.45	9.23 ± 1.91
41p	8.02 ± 1.92	24.8 ± 1.53
41q	14%	21%
41r	39.9 ± 1.53	22.1 ± 1.56
Клоргилин	0.0045 ± 0.0003	61.35 ± 1.13
Селегилин	67.25 ± 1.02	0.0196 ± 0.001
Гармин	0.006	-
Сафинамид	-	0.08

При *in vitro* биотесты с клоргилином и депренилом использовались в качестве положительного контроля с ингибирующими ценностями $\text{IC}_{50} 0,0045 \pm 0,0003 \mu\text{M}$ и $0,0196 \pm 0,001 \mu\text{M}$ против MAO-A и MAO-B, соответственно. Кроме того, ингибирующие показатели IC_{50} реверсивных ингибиторов MAO-A (гармин) и MAO-B (сафинамид) также приведены в таблице 12. Эти реверсивные ингибиторы были состыкованы внутри активного кармана отобранных белков и использовались для сравнения стыковочных взаимодействий наших выбранных соединений.

Результаты исследований показывают, что большинство бензотиазолохиназолинов показали значительные ингибирующие эффекты против фермента MAO при протестированных концентрациях. Изученные производные показали значительные ингибирующие активности с показателями IC_{50} в диапазоне $2,82 \pm 0,02 - 39.9 \pm 2,53 \mu\text{M}$ для моноаминоксидазы А и $2,96 \pm 0,13 - 25.7 \pm 0,48 \mu\text{M}$ для моноаминоксидазы В. Среди проанализированного ряда соединение **41a**, являющееся фенилзамещенным 12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-оном, показало значение $\text{IC}_{50} 6,14 \pm 0,19 \mu\text{M}$ против MAO-A и $17,6 \pm 1,02 \mu\text{M}$ для MAO-B. Толил- и диметилфенилзамещение в любом положении бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов не

проявляли ингибирующей активности против МАО А и МАО В. Однако 2-метил-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-он **41r** показал умеренное ингибирирование МАО-А и МАО-В со значениями IC_{50} $39,9\pm1,53$ μM и $22,1\pm1,56$ μM , соответственно. Кроме того, значительные ингибирующие активности против изозимов А и В с ингибирующими концентрациями $8,02\pm1,92$ μM и $24,8\pm1,53$ μM были установлены для соединения **41p**, содержащего 2-формилфенил-заместитель. Замена группы формила на COOEt (соединение **41q**) привела к сильному снижению ингибирирования (14% для МАО-А и 21% для МАО-В). Соединение **41k**, имеющее 4-фторофенил, было определено, как селективный ингибитор для МАО-А со значением IC_{50} $2,82\pm0,12$ μM , в то время как соединение **41o**, имеющее бифенил-заместитель, показывало более селективный эффект против МАО-В с ингибирующей концентрацией $9,23\pm1,91$ μM . Соединение **41f** проявило двойное ингибирирование, с имеющимся ингибирующим потенциалом для обоих изозимов со значениями IC_{50} $2,86\pm0,11$ μM и $2,95\pm0,13$ μM против МАО-А и МАО-В, соответственно. Аналогично, введение *p*-метоксифентильного заместителя приводило к двойному ингибирированию МАО-А и МАО-В. Также был проведен анализ стыковки селективных и двойных ингибиторов – соединений **41**, **41f** и **41o**, с использованием кристаллических структур человеческой моноаминоксидазы (hMAO-A: 2Z5Y) и моноаминоксидазы В (hMAO-B: 2V5Z). Результаты исследования приведены в приложениях 6 и 7 (рисунки П11 и П12).

2.1.7. Синтез 2-алкинил- и 2-аминозамещенных-12Н-бензотиазол[2,3-*b*]хиназолин-12-онов и их ингибирующий потенциал против моноаминоксидазы А и В

2.1.7.1. Реакция Бухвальд-Хартвига для соединения **40**

Как следующий шаг стратегии синтеза новых производных соединения **40**, было изучено введение различных функциональных групп к соединению **40** с использованием палладий катализируемой реакции Бухвальд-Хартвига. В качестве начальной точки нашего исследования мы использовали $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ – как катализатор, XPhos – как лиганд, ДМФ – как растворитель и NaOtBu – как основание в присутствии морфолина. К сожалению, никакого продукта при этих условиях получить не удалось. Далее мы проанализировали роль используемого лиганда и растворителя в этой реакции. Оказалось, что использование менее полярного растворителя – толуола привело к очень хорошему выходу (86%) желаемого продукта (**42a**). (схема 30, таблица 13).

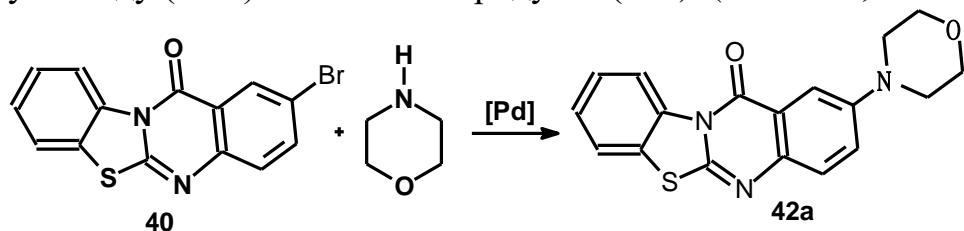


Схема 30 - Реакция кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига для соединения **40**.

Таблица 13 - Оптимизация реакции Бухвальд-Хартвига для соединения 42a

Реакция	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание	Растворитель	Выход [%] ^a
1	Pd ₂ (dba) ₃ 2	XPhos 8	NaOtBu	ДМФ	0
2	Pd(PPh ₃) ₄ 1	XPhos 1.5	NaOtBu	толуол	0
3	Pd ₂ (dba) ₃ 4	Xantphos 8	NaOtBu	толуол	40
4	Pd ₂ (dba) ₃ 4	DavePhos 8	NaOtBu	толуол	57
5	Pd ₂ (dba) ₃ 4	XPhos 8	NaOtBu	толуол	86

Далее мы изучили объем этой реакции, используя различные амины, такие, как анилины, алифатические и бензиламины. Результаты приведены на схеме 31. Алифатические амины и анилин дали самый высокий выход целевых продуктов в пределах 74-86%. Бензил и другие амины привели к более низкому выходу. Интересно, что даже менее нуклеофильный пентафторанилин (42h) привел к желаемому продукту со средним выходом 54%.

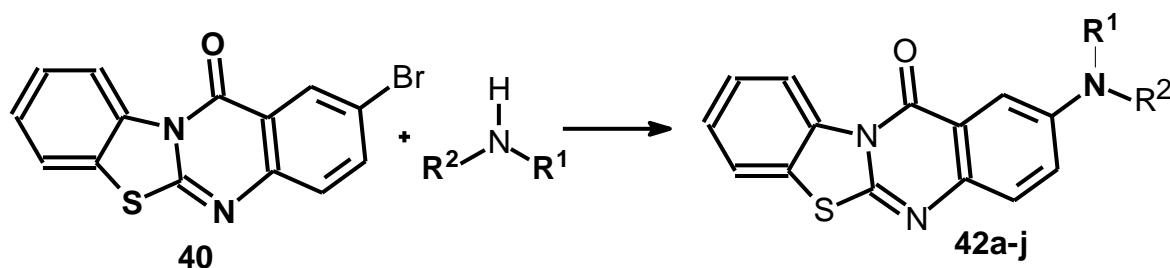


Схема 31 - Получение целевых продуктов **42a-j** из **40** по Бухвальд-Хартвигу. Условия: амин (1.2 эквивалент), Pd₂dba₃ (4 моль%), XPhos (8 моль%), NaOtBu (1.4 эквивалент), растворитель толуол, t=105°C, продолжительность 16 ч. **42a:** R¹=R²=-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂- (выход 86%); **42b:** R¹=H, R²=CH₂CH₂CH₃ (83%); **42c:** R¹=H, R²=изопропил (74%); **42d:** R¹=CH₂CH₂CH₂; R²=CH₂CH₂CH₂ (63%). **42e:** R¹=H; R²=3-CF₃C₆H₄CH₂ (56%); **42f:** R¹=H; R²=C₆H₅ (83%); **42g:** R¹=H; R²=4-C₆H₄ (62%); **42h:** R¹=H; R²=C₆F₅ (54%); **42i:** R¹=C₆H₅; R²=C₆H₅ (49%); **42j:** R¹=CH₃SC₆H₄; R²=C₆H₅ (65%).

2.1.7.2. Реакция Соногаширы

В рамках нашего исследования мы изучили реакцию Соногаширы субстрата **40**. Во время оптимизации мы проверили несколько условий реакции. Комбинация Pd(OAc)₂ и XPhos была снова лучшей катализитической системой для этой реакции (схема 32 и таблица 14). Кроме того, мы нашли, что использование ДМФ - как растворителя и Et₃N - как основания в присутствии CuI - как сокатализатора является необходимым условием для получения продукта реакции с высоким выходом.

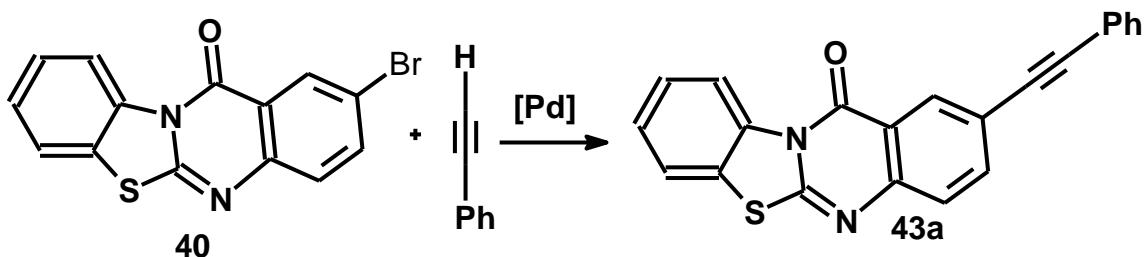


Схема 32 - Получение соединения 43а из 40 по реакции Соногаширы.

Таблица 14 - Оптимизация реакции Соногаширы для соединения 40

Реакция	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основа -ние	Сокатализатор, моль%	Растворитель	Выход, %
1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 1.2	-	Et ₃ N	CuI 4	ДМФ	59
2	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 1.2	-	Et ₃ N	CuI 4	диоксан	43
3	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 4	PrBu ₃ ·HBF ₄ 8	Cs ₂ CO ₃	DBU 20	ДМФ	0
4	Pd(CH ₃ CN) ₂ Cl ₂ 3	XPhos 9	Cs ₂ CO ₃	-	CH ₃ CN	56
5	Pd(CH ₃ CN) ₂ Cl ₂ 4	XPhos 8	K ₂ CO ₃	-	CH ₃ CN	0
6	Pd(OAc) ₂ 4	XPhos 8	Et ₃ N	CuI 4	ДМФ	10
7	Pd(OAc) ₂ 5	XPhos 10	Cs ₂ CO ₃	CuI 4	ДМФ	10
8	Pd(OAc) ₂ 4	XPhos 8	K ₂ CO ₃	-	ДМФ	35
9	Pd(OAc) ₂ 4	XPhos 8	Et ₃ N	CuI 4	ДМФ	78
10	Pd(OAc) ₂ 4	XPhos 8	Cs ₂ CO ₃	CuI 4	ДМФ	0
11	Pd(OAc) ₂ 4	XPhos 8	Et ₃ N	-	ДМФ	0
12	Pd(OAc) ₂ 4	PrBu ₃ ·HBF ₄ 8	Cs ₂ CO ₃	DBU 20	ДМФ	0
13	Pd(OAc) ₂ 4	Xantphos 8	Et ₃ N	-	ДМФ	0
14	Pd(OAc) ₂ 4	XPhos 8	Et ₃ N	-	ДМФ	0

Используя наши оптимизированные условия реакции, были синтезированы несколько алкинилбензотиазолохиназолиноны с умеренными и хорошими выходами (схема 33). Было найдено, что реакция 40 и электронно-бедного *пара*-фторфенилацетилен проходила с немного низким выходом желаемого продукта 43с (53%), в то время как реакции 40 с электронно-богатыми арилацетиленами привели к образованию 43b и 43d с 75 и 65% выходами, соответственно.

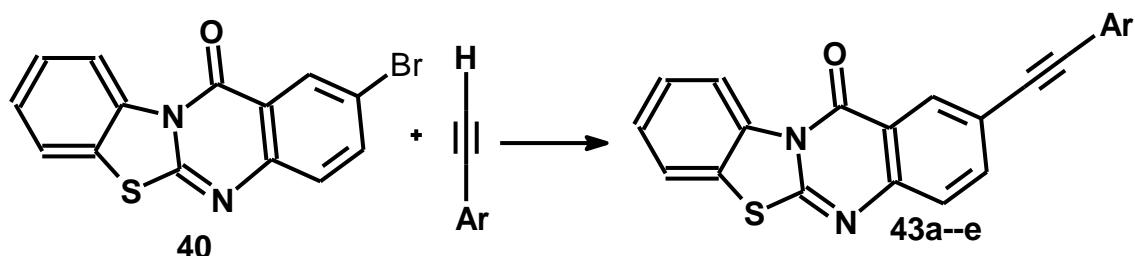


Схема 33 - Синтезирование алкинилбензотиазолохиназолинонов. Условия: арилацетилен (1.5 эквивалент), Pd(OAc)₂ (4 моль%), XPhos (8 моль%), NEt₃ (2.1 эквивалент), растворитель - ДМФ, температура - 150°C, продолжительность - 16 ч. 43a: Ar=C₆H₅ (выход 78%); 43b: Ar=4-CH₃OC₆H₄ (75%); 43c: Ar=4-FC₆H₄ (53%); 43d: Ar=4-*трет*-бутил-C₆H₄ (65%); 43e: Ar=4-нафтил (45%).

2.1.7.3. Тест ингибиования фермента и отношения активности структуры синтезированных соединений

Синтезированные 2-амино- и 2-арилалкинил-12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-оны были проанализированы для их потенциальной роли в качестве ингибиторов МАО-А и -В, используя митохондриальный фермент печени крысы. Во время проведения экспериментов были использованы в качестве позитивного контроля клоргилин - ингибитор МАО-А, и селегилин (deprenyl) - ингибитор МАО-В. Ингибирующий потенциал был измерен в дозах 100 μ M. Ингибирующие потенциалы большинства соединений против изомизов МАО-А и -В найдены больше, чем на 50%, кроме некоторых соединений (таблица 15). Аминозамещенный 12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-он, соединение **42e**, как оказалось, было потенциальным ингибитором МАО-В со значением $IC_{50} \pm SEM$ 1,01 \pm 0,05 μ M, за ним следуют соединения **42g**, **42f** и **42h** со значениями $IC_{50} \pm SEM$ 4,54 \pm 0.12; 8.65 \pm 0.05 и 14.8 \pm 1,41 μ M, соответственно (таблица 15). Среди всех изученных соединений **42a** и **42b** оказались сравнительно более слабыми ингибиторами. Соединение **42e** оказалось более активным ингибитором против МАО-В, чем производные серии арилзамещенных-12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов **41f** со значением 2,96 μ M.

Таблица 15 - Ингибиование МАО-А и МАО-В целевыми аналогами и известными рефератными соединениями

Соединение	МАО-А	МАО-В
	$IC_{50} \pm SEM$ (μ M)/% ингибиования	
42a	нерасторимое	нерасторимое
42b	49.0 \pm 5.14	71.8 \pm 6.07
42c	18.7 \pm 1.09	21.2 \pm 1.08
42e	4.01 \pm 0.22	1.01 \pm 0.05
42f	64.8 \pm 6.21	8.65 \pm 0.69
42g	1.04 \pm 0.06	4.54 \pm 0.12
42h	0.42 \pm 0.01	14.8 \pm 1.41
42i	нерасторимое	нерасторимое
42j	нерасторимое	нерасторимое
43a	45%	49.6 \pm 2.12
43b	1.45 \pm 0.11	3.31 \pm 0.41
43c	9.22 \pm 0.77	16.0 \pm 1.74
Клоргилин	0.0045 \pm 0.0003	61.35 \pm 1.13
Селегилин	67.25 \pm 1.02	0.0196 \pm 0.001

Соединения были также протестированы по их ингибирующему потенциальному против МАО-А. Среди всех протестированных соединений, соединение **42h** было определено, как потенциальный и отборный ингибитор МАО-А со значением $IC_{50} \pm SEM$ 0,42 \pm 0,01 μ M, за ним следуют **42g** и **42i**,

показав сильные ингибирующие показатели $1,04\pm0,06$ и $4,01\pm0,22$ μM , соответственно. Соединение **42h** проявило значительно высокую активность против МАО-А, чем производные серии арилзамещенных 12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она **41k** со значением 2,82 μM . Алкинилзамещенные 12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-оны **43c** и **42c** показали относительно низкий ингибирующий потенциал против МАО-А со значениями IC_{50} $9,22\pm0,77$ и $18,7\pm1,09$ μM , соответственно. Остальные соединения не показали значительного ингибирования против МАО-А. Соединение **43b** было идентифицировано, как двойной ингибитор с IC_{50} $1,45\pm0,11$ для МАО-А и $3,31\pm0,41$ μM для МАО-В.

Отношения активности структуры показывают, что замещение анилинами приводит к более высокой активности по сравнению с алкиламинами. Особенно фторированные анилины **42g** и **42h** проявляют перспективную ингибирующую активность против МАО-А. Особенно **42h** показал селективную ингибирующую активность в наномолярном диапазоне для МАО-А. Напротив, соединение **42f** с незамещёнными анилинами показывает очень слабую ингибирующую активность против МАО-А и определенную активность к МАО-В. Производное **42e** с 3-трифторметилбензиламином идентифицировано, как потенциальный ингибитор против обеих изоформ с немного низкой ингибирующей активностью к МАО-А. Арильная замена у алкинилпроизводных оказывает аналогично высокое влияние на ингибирующую активность **43a-c**. Например, **43a** показывает очень слабую ингибирующую активность к обоим МАО, соединение **43b**, имеющее *пара*-метокси-группу, является мощным ингибитором для обоих изоизимов. Замена электронно-донорной группы фтором в том же положении привело к более низкой активности против МАО-А и В по сравнению с **43b**.

Проведенное изучение молекулярного докинга соединений **42h** и **42b** на активном центре МАО-А и соединений **42e** и **42b** на активном центре МАО-В позволили лучше понимать режимыстыковки предполагаемого комплекса, образующегося из лиганда **42h** или **42b** и МАО-А, также **42e** или **42b** и МАО-В (приложение 7, рисунки П13-П15).

2.1.8. Синтез 5-арил-тиадиазолоимидазоиндоллов

Исходное соединение **44** для синтеза 5-арил-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидаzo[4,5-*b*]индоллов **45**→**46** было синтезировано конденсацией 2,2'-дибромацетофенона с коммерчески доступным 2-аминотиазолом **1d** с последующим бромированием продукта реакции **45**→**46** (схема 34).

Как следующий шаг, было начато исследование закрывания цикла двойной реакцией Бухвальд-Хартвига для **46**, используя *p*-толуидины (схема 35, таблица 16). Сначала мы проанализировали воздействие различных фосфин-лигандов на результат этой реакции в присутствии Pd_2dba_3 в ксилоле. Стало очевидно, что реакция очень чувствительна относительно

используемого лиганда. Использование лиганда Xanthphos привело к очень хорошему выходу (84%) желаемого продукта, в то время как моно-зубчатый XPhos и бидентальные dppf или DPEPhos не привели ни к какому обнаружению следов продукта (TCX). Наконец, были использованы в качестве источников катализаторы Pd(0) и Pd(PPh₃)₄ вместо Pd₂dba₃, что привело только к умеренному выходу продукта циклизации.

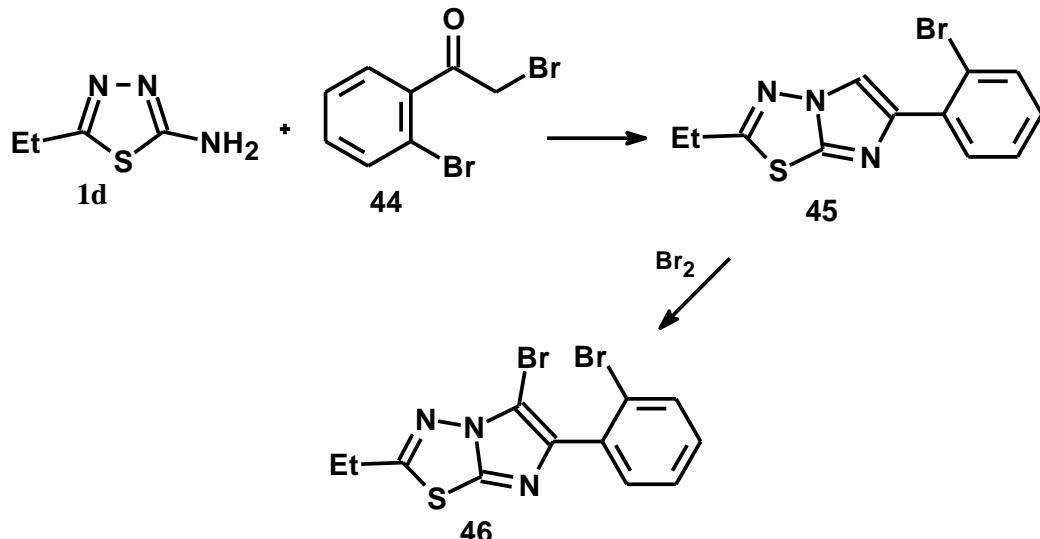


Схема 34 - Получение исходного соединения **46**.

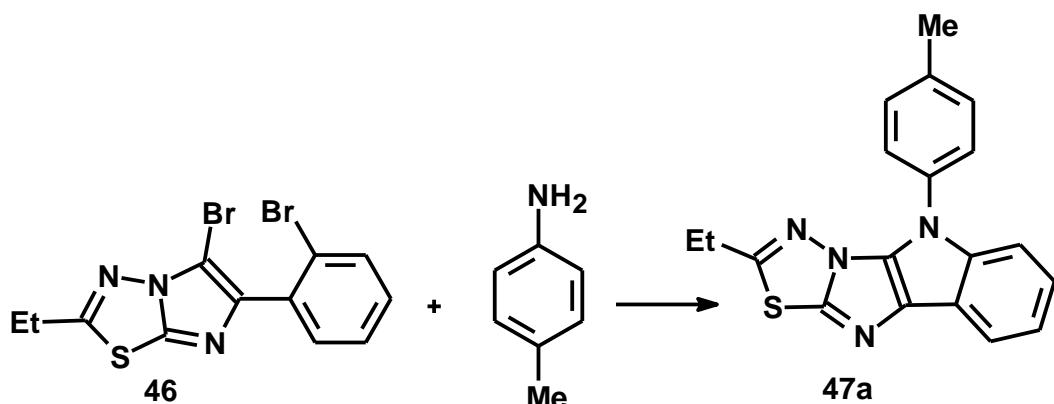


Схема 35 - Синтез соединения **47a** из реакции **46** по Бухвальд-Хартвигу.

Таблица 16 - Оптимизация реакции Бухвальд-Хартвига для соединения **46**

Эксперимент	Катализатор	Лиганд	Выход, %
1	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	0
2	Pd ₂ (dba) ₃	Xantphos	84
3	Pd ₂ (dba) ₃	DPEPhos	0
4	Pd ₂ (dba) ₃	Dppf	0
5	Pd(PPh ₃) ₄	Xantphos	42

Затем мы изучили объем этой реакции, используя различные анилины (схема 36, таблица 2.16). Все проверенные анилины работали, давая от хороших до очень хороших выходов продуктов циклизации. Метил- и *трет*-

бутилзамещенные анилины работали, лучше чем другие анилины, приводя к выходу более 80%, в то время как 4-метилтиоанилин привел к самому низкому выходу (61%). Кроме того, паразамещенные анилины привели к более высокому выходу по сравнению со своими метазамещенными аналогами (**47a** и **47b** или **47f** и **47g**).

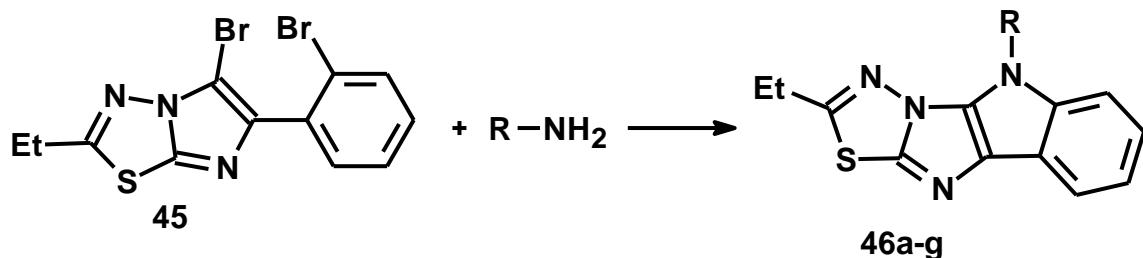
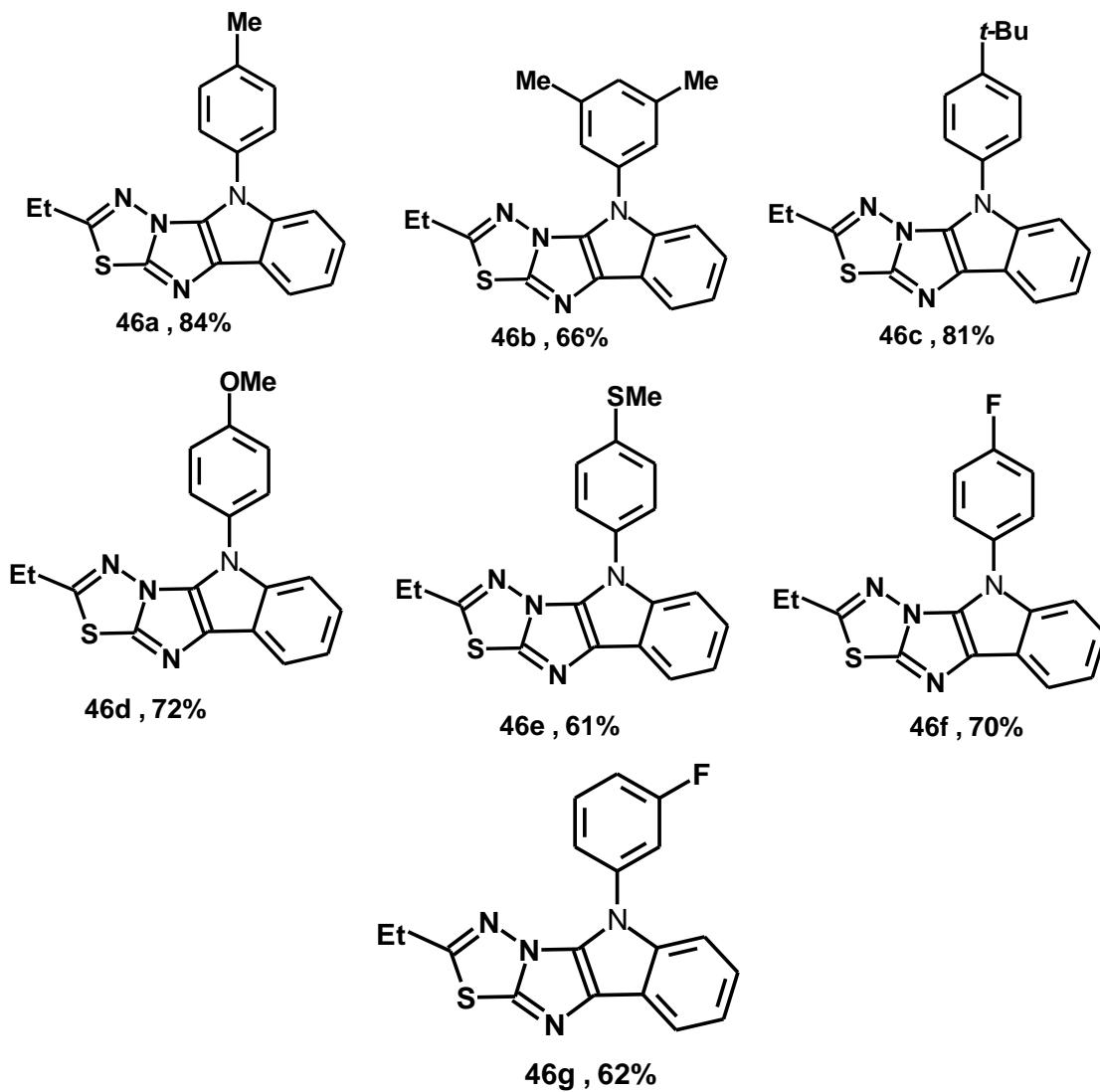


Схема 36 - Получение 5-арил-5H-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имиазо[4,5-b]индолов. Условия: анилины (1.5 эквивалент), Pd_2dba_3 (9 моль%), XPhos (27 моль%), основание - NaOtBu , растворитель - толуол, температура 150°C , продолжительность 24 ч.

Таблица 17 - Структуры полученных веществ **47a-g** и их выходы



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты вносят существенный вклад в химию производных S-, N-содержащих гетероциклических систем, обладающих широким спектром практического применения.

Показано, что реакция 2-R-5-бром-1,3,4-тиадиазола **1a-c** с дикетеном **2** приводит к образованию N-(5-R-1,3,4-тиадиазол-2-ил)-ацетоацетамида **3a-c**, который при циклизации образует 2-R-5-метил-7Н-7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидин **4a-c**, где R = Br, H, C₂H₅S. Первичные, вторичные, а также ароматические и гетероциклические тиолы замещаются 2-бромом и образуют соответствующие амины и тиоляты. Замещение хлора и брома может протекать по углероду 6-С **4a,c**, при его взаимодействии с NBC, NCS **4a, c**→**9a-c**. Соединение **9b** при аминировании диметиламином показало хемиоселективность с образованием соединения **10**. Окисление соединения **4c** с *мета*-хлорнадбензойной кислотой приводит к селективному образованию сульфона - соединения **12**.

Разработана новая стратегия стандартного блока для синтеза 2-арилзамещенных тиадиазолпиrimидинов с использованием реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры. Эти условия реакции позволяют получить целевые продукты - два разных производных тиадиазолпиrimидинов с очень хорошими выходами. Все соединения были селективными ингибиторами h-NPPs и с небольшим эффектом на h-NTPDase1, h-NTPDase2, h-NTPDase3 и h-NTPDase8. Кроме того, полученные результаты подтвердили, что большинство соединений, представленных здесь, являются более эффективными ингибиторами h-NPP1, чем h-NPP3. Поэтому эти соединения проявляют более селективный потенциал ингибирования против h-NPP1. Результаты исследований представляют большой интерес для дальнейшего их применения в медицинской химии.

Показано применение 2-бром-7-трифторметил-5Н-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидина в качестве шаблона и задействованного в реакции S_NAr и реакции Сузуки-Мияуры, приводящее к соответствующим 2-замещенным-7-трифторметил-5Н-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидина. Почти все рассматриваемые производные были мощными, но неселективными ингибиторами обоих изозимов щелочной фосфатазы (h-TNAP, h-IAP) со значениями IC₅₀ в микромолярном диапазоне. Эти новые ингибиторы AP могут далее использоваться в качестве ведущих соединений в фармацевтической химии. Особенno соединения **28h** и **29b**, которые показали обнадеживающую активность для дальнейших исследований. Изучение стыковки (докинг) позволило установить понимание возможного отношения режима связывания на активных местах фермента.

Предложена функционализация легко доступных 8-хлор-2-метилбензотиазоло[3,2-а]пиrimидин-4-онов с применением палладий катализитической реакции кросс сочетания Сузуки, Бухвальд-Хартвига и Соногаширы. Эти реакции позволяют синтезировать множество производных бензотиазолопиrimидин-4-она. Три из испытанных производных - **34d**, **32k** и

32b, показали многообещающий антипролиферативный потенциал против линии клеток HeLa с относительно меньшим ингибированием нормальных фибробластов (отборный индекс >3). Анализ некроза клеток утверждал индукцию апоптоза S-фазы в клетках HeLa.

Предложены различные палладий катализитические реакции кросс-сочетаний (Сузуки-Мияуры, Соногаширы и Бухвальд-Хартвига) с 8-хлоро-3-фторозамещенными-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-]пиrimидин-4-оном. Все реакции были полностью оптимизированы и привели к соответствующим продуктам с хорошими и превосходными выходами. Синтезированные производные были оценены для их отношений активности структуры к моноаминоксидазам А и В. Большинство соединений проявили ингибирование в более низких микромолярных концентрациях и показали обнадёживающее ингибирование к изозимам МАО-А и МАО-В. Результаты *in vitro* теста были оправданы с выполненными молекулярными исследованиями моделирования для ингибирования моноаминоксидазы А и В. Поэтому такие соединения могли бы быть многообещающей отправной точкой для определения полезных зацепок в разработке новых ингибиторов МАО-В.

Экстенсивно проведено применение палладий катализитической реакции Сузуки-Мияуры для синтеза легко доступного 2-бромзамещенного-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она **40**. При оптимизированных условиях реакция соединения **40** показала широкую функциональную терпимость группы, и можно получать соответствующие продукты кросс-сочетания с выходами от умеренных до высоких. Синтезированные производные были протестированы на ингибирующую активность против моноаминоксидазы А и В. Некоторые производные показали селективную активность против МАО-А, в то время как некоторые другие были активны против МАО-В. Молекулярные докинги были выполнены, чтобы получить дальнейшее понимание режима стыковки селективных ингибиторов.

Был проведен синтез 2-амино- и 2-алкинилпроизводных-12-бромзамещенных-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов с применением палладиевых катализаторов в условиях реакции Бухвальд-Хартвига и Соногаширы. В результате исследования *in vitro* и *in silico* сделан вывод, что большая часть синтезированных производных проявляет многообещающий ингибирующий потенциал против моноаминоксидаз А и В.

Впервые были синтезированы 5-арил-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидазо[4,5-*b*]индолы с применением палладий катализитической двойной реакции Бухвальд-Хартвига, как заключительного шага циклизации. При оптимизации условий реакции все продукты реакции были получены с хорошими и очень хорошими выходами. Из-за разнообразных биологических свойств производных имидазотиадиазолов, эти новые гетероциклические структуры могут найти потенциальное применение в медицинской химии.

*Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:
Статьи, опубликованные в научных журналах, рекомендованных ВАК
Российской Федерации:*

1. Щелочные фосфотазы (APs), 2-замещенные-7-трифторметил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидины как щелочные ингибиторы фосфотазы. Синтез, отношения активности структуры и исследования молекулярной стыковки / Б. Джafari, С. Мамадшоева, М. Халикова, А. Саидов, Ш. Самихов, И. Рахимов, П. Лангер, **С. Сафаров** // Вестник Таджикского национального университета. -2020. -№2. - С. 177-186.
2. Synthesis of 1,3,4-Thiadiazolo[2',3':2,3]imidazo[4,5-b]indoles / B. Jafari, **S. Safarov**, M. Khalikova, P. Ehlers, P. Langer // Synlett. -2019. -№30(15). -P. 1791-1794.
3. Synthesis of 2-Alkynyl- and 2-Amino-12H-benzothiazolo[2,3-b]quinazolin - 12-ones and Their Inhibitory Potential against Monoamine Oxidase A and B / B. Jafari, S. Jalil, S. Zaib, **S. Safarov**, M. Khalikova, D. Khalikov, M. Ospanov, N. Yelibayeva, Sh. Zhumagalieva, Zh.A. Abilov, M.Z. Turmukhanova, S.N. Kalugin, Gh.A. Salman, P. Ehlers, A. Hameed, J. Iqbal, P. Langer // ChemistrySelect.2019. -V. 4. – Is.47. -P. 13760-13767.
4. Synthesis of 2-Aryl-12H-benzothiazolo[2,3-b]quinazolin-12-ones and Their Activity Against Monoamine Oxidase / B. Jafari, S. Jalil, S. Zaib, J. Iqbal, **S. Safarov**, M. Khalikova, M. Isobaev, A. Munshi, Q. Rahman, M. Ospanov, N. Yelibayeva, N. Kelzhanova, Zh.A. Abilov, M.Z. Turmukhanova, S.N. Kalugin, P. Ehlers, P. Langer // ChemistrySelect. -2019. -V. 4. –Is.3. -P. 11071-11076.
5. Synthesis and Inhibitory Activity towards Monoamine Oxidase A and B of 8-Functionalized 3-Fluoro-2-methyl-benzo[4,5]thiazolo[3,2-a]pyrimidin-4-ones / B. Jafari, **S. Safarov**, P. Langer [et. all] // ChemistrySelect. -2019. -V. 4. -P. 7284-7291.
6. Synthesis of Novel Benzothiazolo[3,2-a]pyridimidin-4-ones with Potential Cytotoxic and Pro-Apoptotic Potential / B. Jafari, F. Rashid, **S. Safarov**, M. Ospanov, N. Yelibayeva, Zh.A. Abilov, M.Z. Turmukhanova, S.N. Kalugin, P. Ehlers, M.I. Umar, S. Zaib, J. Iqbal, P. Langer // ChemistrySelect.-2018. - V. 3. -P. 12213-12218.
7. 2-Substituted 7-trifluoromethyl-thiadiazolopyrimidones as alkaline phosphatase inhibitors. Synthesis, structure activity relationship and molecular docking study / B. Jafari, M. Ospanov, S.A. Ejaz, N. Yelibayeva, Sh.U. Khan, S.T. Amjad, **S. Safarov**, Zh.A. Abilov, M.Zh. Turmukhanova, S.N. Kalugin, P. Ehlers, J. Lecka, J. Sevigny, J. Iqbal, P. Langer // European Journal of Medicinal Chemistry. -2018. –V. 144. -P.116-127.

8. Synthesis 2-arylated thiadiazolopyrimidones by Suzuki-Miyaura cross-coupling: a new class of nucleotide of pyrophosphatase (NPPs) inhibitors / B. Jafari, N. Yelibayeva, M. Ospanov, S.A. Ejaz, S. Afzal, Sh.U. Khan, Zh.A. Abilov, M.Z. Turmukhanova, S.N. Kalugin, **S. Safarov**, J. Lecka, J. Sevigny, Q. Rahman, P. Ehlers, J. Iqbal, P. Langer // RSC Adv. -2016. №6. –P. 107556-107571.
9. Synthesis of 3-methyl-6-R-6H-thiazolo-[4,3-*b*]-1,2,4-triazolo[4,3-*d*]-1,3,4-thiadiazoles / M.A. Kukaniev, M.M. Akbarova, Z.G. Sangov, **S.S. Safarov**, D.M. Osimov // J. Het compounds. -2010. -V. 46. –P. 605-607.
10. Polyfunctional nitriles in the synthesis of derivatives of 1,3,4-thiadiazolo-(3,2-*a*)pyrimidines / M.A. Kukaniev, D.M. Osimov, Z.G. Sangov, **S. Safarov**, M. Karimov, T. Radjabov // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2008. -V. 44. –Is.7. -№882 (Translated from Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii, №7. –P. 1096-1100.
11. Preparation 2-Sulfonyl-5-methyl-7H-1,3,4-thiadiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-7-ones / **S. Safarov**, M.A. Kukaniev, E. Karpouk, H. Meier // J. Het. Chem. -2007. -V.44. –P. 269-271.
12. Куканиев, М.А. Синтез 2-амино-5-метил-7-оксо-7H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидина / М.А. Куканиев, **С. Сафаров** // Доклады АН Республики Таджикистан. -2006. -Т. 49. -№2. -С. 158-160.
13. Kukaniev, M.A. The synthesis of 2-amino-5-methyl-7-oxo-7H-1,3,4-thiadiazol[3,2-*a*]pyrimidine / M.A. Kukaniev, **S. Safarov** // Bulletin of Astrophysical Institute. -2006. -V. 49(2). -P. 158-161.
14. Preparation of 2-Amino-5-methyl-7H-1,3,4-thiadiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-7-ones / **S. Safarov**, M.A. Kukaniev, H. Kolshorn, H. Meier // J. Het. Chem. -2005. -V.42. -P. 1105-1109.

Публикации в материалах научных конференций:

15. 7-Трифторметил-5-оксо-5H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидины как селективные ингибиторы щелочных фосфатаз (APs) TNAP, IAP, эктонуклеосид-трифосфат-дигидрофосфогидролаз (ENTPDase1, 2, 3 и 8), дипептидилпептидазы-4 (DPP-4) / Б. Джafari, С.С.Мамадшоева, М.Дж. Халикова, А.А. Саидов, Ш.Р. Самихов, П. Лангер, **С.Ш. Сафаров** // Республикаанская научно-практическая конференция «Роль лекарственных средств в охране здоровья населения». –Специ выпуск журнала «Наука и инновации». -Душанбе, 2020. -№4. - С. 222-230.
16. Ингибирующие свойства 7-трифторметил-5-оксо-5H-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиrimидинов / Б. Джafari, С. Мамадшоева, И. Наимов, М. Халикова, А. Саидов, Ш. Самихов, П. Лангер, **С. Сафаров** //

Республиканская научно-практическая конференция «Инновационное развитие науки». - Душанбе, 2020. -С. 209-211.

17. Синтез 2-аминозамещенных-7-трифторметил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиrimидина / С. Мамадшоева, Б. Джадари, И. Наимов, М. Халикова, А. Сайдов, Ш. Самихов, П. Лангер, **С. Сафаров** // Международная научно-практическая конференция «Роль женщин-ученых в развитии науки, инноваций и технологий». -Душанбе, 2020. - С. 26-28.
18. Синтез ингибиторов h-NPP1, h-NPP3 и исследование влияния закономерности их структуры на ингибирующую активность / Б. Джадари, М. Халикова, П. Лангер, А. Сайдов, **С. Сафаров** // Республиканская конференция «Фармация – неотъемлемая часть социальной политики государства». Спецвыпуск журнала «Наука и инновации» - Душанбе, 2019. -№3. -С. 144-154.
19. Design and synthesis of some Imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazoles derivatives / B. Jafari, M. Khalikova, P. Langer, **S. Safarov** // Materials of international conference. -Dushanbe, 2016. -P. 37-39.