

На правах рукописи



САФАРОВ САЙФИДИН ШАХОБИДИНОВИЧ

**СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ НЕКОТОРЫХ
АЗОТ- И СЕРОСОДЕРЖАЩИХ
ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СИСТЕМ И ИХ
ИНГИБИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА В
ОТНОШЕНИИ h-TNAP и MAO**

1.4.3 – органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора химических наук

Душанбе – 2022 г.

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

Официальные
оппоненты:

д.х.н., проф. **Бандаев Сирожидин Гадоевич**, профессор кафедры органической и биологической химии, Таджикский государственный педагогический университет имени Садриддина Айни, г. Душанбе

д.х.н., проф. **Бабаев Евгений Вениаминович**, профессор кафедры органической химии химического факультета МГУ, ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва

д.х.н., доц. **Розенцвейг Игорь Борисович**, заместитель директора, зав. лабораторией галогенорганических соединений, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, г. Иркутск

Ведущая
организация:

ГОУ Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино (кафедра биоорганической и физколлоидной химии), г. Душанбе

Защита состоится «07» октября 2022 г. в 9-30 часов на заседании диссертационного совета 24.1.192.01 при Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова (НИОХ СО РАН) по адресу: Российская Федерация. 630090. г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д.9, конференц-зал

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии им. В.И. Никитина НАН Таджикистана, в библиотеке НИОХ СО РАН и на сайте по адресу: <http://web.nioch.nsc.ru>. Текст автореферата размещён на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации по адресу: <https://vak.minobrnauki.gov.ru/main>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах, заверенные печатью, просим отправлять по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 9, Новосибирский институт органической химии, учёному секретарю диссертационного совета 24.1.192.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан «___» августа 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук

Лузина Ольга Анатольевна

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 возрастает 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 усовершенствовании 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 выяснять тонкие механизмы конкретных биохимических процессов, что делает связь между органической химией гетероциклов, 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, среди которых производные, серо- и азотсодержащих гетероциклических соединений (пиримидинов, синтетических аналогов пуринов, бензимидазолов, бензотиазолов, хиназолинов и др.) и их конденсированных систем, химия которых 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 наиболее распространенными в природе и представленными в биомолекулах являются тиазолы, имидазолы, пиримидины и их конденсированные производные (бензотиазолы, пурины и др.). 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 приводит к образованию поликонденсированных соединений с планарным строением и уникальным электронным контуром, которые объединяют в одной молекуле структурные мотивы различных фармакофоров, что позволяет ожидать от полициклических соединений новых интересных физико-химических и биологических свойств, не свойственных исходным гетероциклическим системам.

В настоящей работе проведены систематические исследования по синтезу, функционализации и предварительному изучению биологической

активности производных серо- и азотсодержащих гетероциклов на основе тиadiaзола, тиазола, имидазола, пиримидина, а также их би-, три-, и тетрациклических производных.

Цель исследования. Поиск, разработка эффективных и универсальных методов синтеза новых производных 1,3,4-тиadiaзола, 5- и 7-оксо-1,3,4-тиadiaзола[3,2-*a*]пиримидина, фенилимидазо[2,1-*b*]-[1,3,4]-тиadiaзола, бензо[4,5]тиазоло[1,2-*a*]пиримидина, бензотиазоло[3,2-*b*]хиназолина и 2-этил-5-(замещенного)-5*H*-[1,3,4]тиadiaзола[2',3':2,3]имидазо[4,5-*b*]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 докинга 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 тиadiaзоловых, 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 профессором Джамшедом Икбалом (J. Iqbal, Centre for Advanced Drug Research, COMSATS Institute of Information Technology, Abbottabad, Pakistan) 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 ацетиленов, тиазолидинтионов, тиadiaзолпиримидинов, 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 тиadiaзолпиримидинов, 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 имидазотиadiaзолов,

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-*a*]пиримидина, фенилимидазо[4,5]тиазоло[1,3,4]-тиазола, бензо[4,5]тиазоло[1,2-*a*]пиримидина, бензотиазоло[3,2-*b*]хиназолина и 2-этил-5-(замещенного)-5*H*-[1,3,4]тиадиазоло [2',3':2,3]имидазо[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-7*H*-7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*b*]пиримидин, (где *R*= Br, H, C₂H₅S). Первичные и вторичные амины, а также ароматические и гетероциклические тиолы замещают бром в положении 2, приводя к образованию соответствующих аминов и тиолов. Замещение хлора и брома протекает по углероду С-6 при его взаимодействии с NBC или NCS. Аминирование 2-бром-6-хлоро-5-метил-7*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-7-она и диметиламином хемоселективно приводит к образованию 2-диметиламино-6-хлор-5-метил-7*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-7-она. При окислении 2-этилтио-5-метил-7*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-7-она метаклорнадбензойной кислотой наблюдалось селективное образование сульфона-2-этилсульфонил-5-метил-7*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-7-она;
- разработана новая стратегия конструирования стандартного блока для синтеза 2-арилзамещенных тиадиазолпиримидинов с использованием реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры. Подобраны условия реакции, которые позволяют получить с очень хорошими выходами производные тиадиазолпиримидина: 2-бром-7-метил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-он, 2-бром-6-фтор-7-метил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-он и 2-бром-7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин. На их основе были получены соответствующие 2-арилзамещенные производные 7-метил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-она, 6-фтор-7-метил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-она и 7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло [3,2-*a*]пиримидина. Исходя из 2-бром-7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло [3,2-*a*]пиримидина по реакции нуклеофильного ароматического замещения получены соответствующие амины с очень хорошими выходами;
- изучена функционализация легко доступных 8-хлор-2-метилбензотиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-она и 8-хлоро-3-фторозамещенных- 2-метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-она с применением палладий-каталитических реакций кросс-сочетания Сузуки, Бухвальд-Хартвига и Соногаширы. Все реакции были полностью оптимизированы и привели к соответствующим продуктам с

выходами от хороших до высоких. С использованием этих превращений можно синтезировать разнообразные производные бензотиазолопиримидин-4-онов;

- широко изучено применение в палладий-каталитической реакции Сузуки-Мияуры легко доступного 2-бромзамещенного-12*H*-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она и найдены оптимальные условия для проведения реакции кросс-сочетания, причем эти оптимизированные условия реакции позволили 2-бromo-12*H*-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-ону показать широкую функциональную толерантность группы. Соответствующие продукты кросс-сочетания были получены с выходами от умеренных до высоких. Был осуществлён синтез 2-амино- и 2-алкинилпроизводных-12*H*-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов с применением палладиевых катализаторов в условиях реакций Бухвальд-Хартвига и Соногаширы;
- впервые были синтезированы с хорошими выходами 5-арил-5*H*-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидазо[4,5-*b*]индолы с применением палладий-каталитической двойной реакции Бухвальд-Хартвига, как заключительного шага циклизации.

Практическая значимость работы. Все синтезированные в работе соединения ряда 2-замещенных-7-метил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-она и 2-замещенных-6-фтор-7-метил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-она являются селективными ингибиторами *h*-NPPs, проявляя существенно меньший ингибирующий эффект в отношении *h*-NTPDase1, *h*-NTPDase2, *h*-NTPDase3 и *h*-NTPDase8. Показано, что большинство соединений, представленных в работе, являются более эффективными ингибиторами *h*-NPP1, чем *h*-NPP3 (Нуклеозид трифосфат дифосфогидролазы (NTPDases), нуклеотид пирофосфатазы (NPPs), а также щелочные фосфатазы (APs), являются представителями большой семьи эктонуклеотидаз, которые регулируют передачу сигналов нуклеотидов, контролируя скорость, время и количество деградации нуклеотидов. Эти ферменты отвечают за гидролиз нуклеотидаз (нуклеозид-5'-трифосфатов, 5'-дифосфатов и 5'-монофосфатов). Они модулируют передачу сигналов, опосредованных P1- и P2-рецепторами. Изменения внеклеточного нуклеотида и уровень аденозина может увеличивать или уменьшать активность P1 и P2. Мощные и селективные лиганды(ингибиторы) для таких эктонуклеотидаз важны, как фармакологические инструменты для исследования (пато)физиологических ролей этих ферментов. Кроме того, такие лиганды необходимы для изучения их потенциала в качестве новых лекарственных средств, например, в качестве иммуномоделирующих средств для лечения рака, заболеваний сердечно-сосудистой и центральной нервной системы). Почти все производные серии 2-бром-7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло [3,2-*a*]пиримидина, описанные в данной работе, являются эффективными, но неселективными ингибиторами обоих изоформ щелочной фосфатазы (*h*-TNAP, *h*-IAP) со значением IC₅₀ в микромолярном диапазоне.

Выявлены наиболее перспективные для фармацевтической химии ингибиторы щелочной фосфатазы. Проведение докинга 2-*n*-пропиламино-7-трифторметил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-она и 2-(4-метилфенил)-7-трифторметил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-она способствовало пониманию возможного типа связывания соединений в активных сайтах фермента. Три из испытанных производных 8-хлор-2-метилбензотиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-она, а именно, 8-(4-метокси)фенилэтинил-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-он, 8-(2-метокси-5-фторфенил)-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-он и 8-(4-толил)-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-он, показали перспективный антипролиферативный потенциал в отношении линии клеток HeLa, с относительно меньшим ингибированием нормальных фибробластов (индекс селективности >3). Анализ гибели клеток подтвердил индукцию апоптоза S-фазы в клетках HeLa.

Для серии синтезированных производных 8-хлоро-3-фторозамещенных-2-метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-она изучена взаимосвязь «структура-ингибирующая активность» в отношении моноаминоксидаз А и В. Большинство соединений проявили ингибирующие свойства в низких микромолярных концентрациях к изозимам MAO-A и MAO-B. Результаты *in vitro* теста были подтверждены данными молекулярного моделирования. В серии синтезированных производных 2-арилзамещенного-12*H*-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она были выявлены селективные ингибиторы как моноаминоксидазы А, так и моноаминоксидазы В. Исследования *in vitro* и *in silico* производных также выявили потенциал 2-амино- и 2-алкинилпроизводных-12*H*-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов в качестве ингибиторов 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 ^1H , ^{13}C , ^{19}F , 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-*a*]пиримидинов. Физико-химические исследования синтезированных соединений с привлечением широкого круга современных методов: спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C (2D, НМВС).
- Разработка методов синтеза 7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидинов и их производных, включая катализируемые палладием реакции C–C кросс-сочетания (реакция Сузуки-Мияуры), установление связей между их строением и ингибирующей активностью в отношении нуклеотид-пирофосфатаз/фосфодиэстераз.

- Разработка методов синтеза производных 8-хлор-2-метилбензотиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-она, 8-хлоро-3-фторозамещенных-2-метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-она и 2-арилзамещенного-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она с применением катализируемых палладием реакций С–С и С–N кросс-сочетания Сузуки, Бухвальд-Хартвига и Соногаширы, установление связей между их строением и ингибирующей активностью в отношении...
- Разработка методов синтеза 5-арил-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидазо[4,5-*b*]индолов с применением палладий-каталитической двойной реакции С–N кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига, как заключительного шага 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 «Инновационное развитие науки» (Душанбе, 2020), Республиканской научно-практической конференции «Роль лекарственных средств в охране здоровья населения» (Душанбе, 2020), Международной научно-практической конференции «Современные проблемы химии, применение и их перспективы» (Душанбе, 2021), Международной научной конференции «Наука, техника и развитие инновационных технологий», посвященной 30-летию юбилею независимости Туркменистана (Ашгабад, 2021).

Публикации. По тематике диссертационной работы опубликовано 24 научных работы, из них 12 статей в международных журналах, индексируемых базой данных Web of Science, 4 статьи в республиканских журналах, не входящих в список журналов, рекомендованных ВАК Российской Федерации, а также 8 публикаций в материалах и тезисах международных и республиканских конференций.

Объём и структура работы. Диссертация представляет собой рукопись объёмом 321 страниц, 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 к синтезу их производных простым элиминированием и каталитическим методом, включая пионерское применение реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры для получения арилзамещенных 2-бром-6-фенилимидазо[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), моноаминовых оксидазах (MAO) (EC 1.4.3.4) А и В и их функции, приведены общие понятия о цитотоксической и проапоптотической активности.

В главе 2 «Результаты и их обсуждение» приводятся экспериментальные данные, полученные автором при изучении синтеза, оптимизации, строения синтезированных соединений и взаимосвязи 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 приложении приводятся биологические протоколы, содержащиерезультаты тестирования биологической активности и данные о молекулярном моделировании ингибиторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 2. Обсуждение результатов

В главе 2 представлены результаты исследований реакций циклизации, 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-7*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидина, 2-замещенных-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, 2-замещенных-7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, 8-замещенных-2-метилбензо[4,5][1,3]тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, 8-замещенных-3-фторо-2-метилбензо[4,5][1,3]тиазоло[3,2-*a*]пиримидинов, 2-арил-2-алкинил- и 2-аминозамещенных-12*H*-бензотиазоло[3,2-*b*]хиназолин-12-онов, 5-арил-5*H*-

[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидазо[4,5-b]индолов, а также приведены данные по биологической активности некоторых полученных соединений.

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

2-Аминозамещенные 7Н-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-7-оны (**6a-f**), были получены реакцией 2-R-5-амино-1,3,4-тиадиазола (**1**, где R = Br) и diketena (**2**), последующей циклоконденсацией (**3** → **4**) (схема 1)

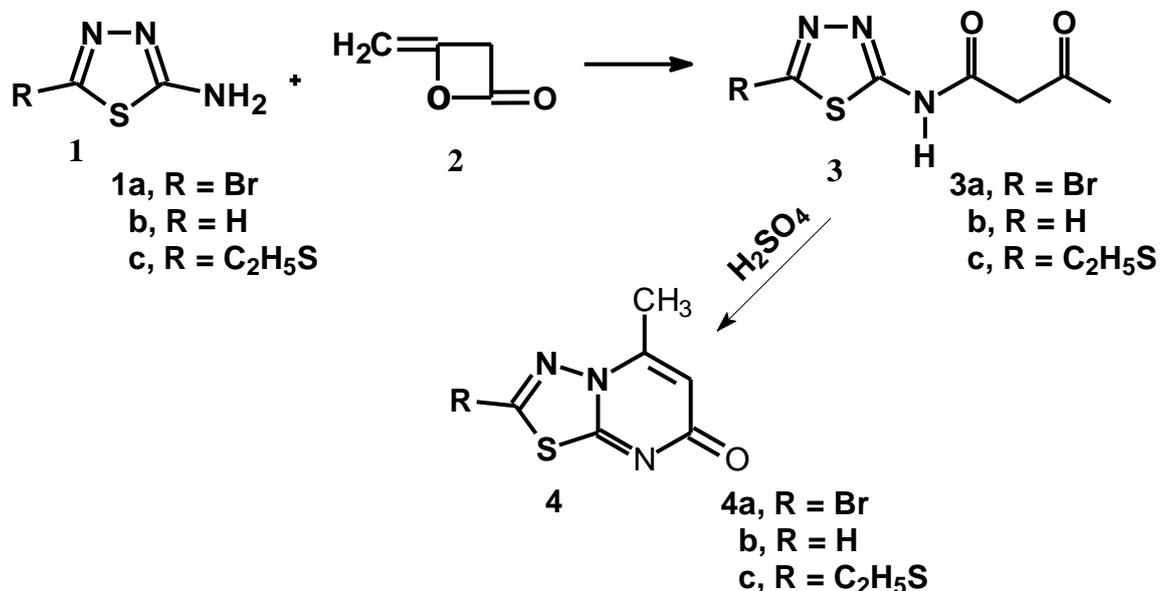
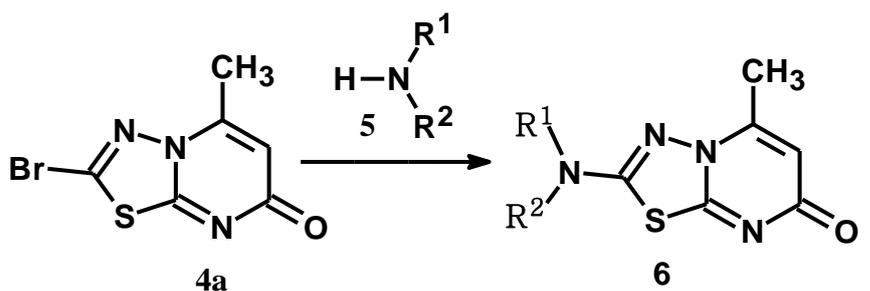


Схема 1.

и замещением брома в реакции с первичными и вторичными аминами (**4a** → **6a-e**) (схема 2).



- 6a R¹ = C₃H₇; R² = H
b, R¹ = C₆H₅; R² = H
c, R¹ = CH₃; R² = CH₃
d, R¹ = C₂H₅; R² = C₂H₅
e, R¹ = H; R² = H

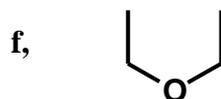


Схема 2.

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

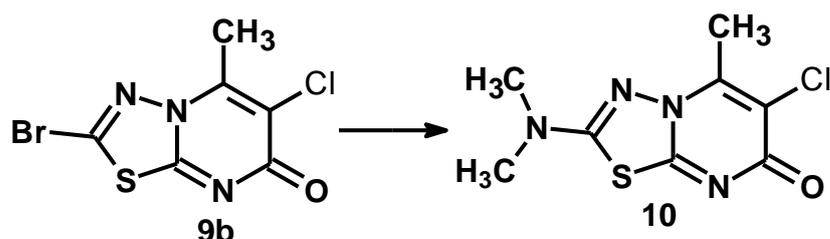
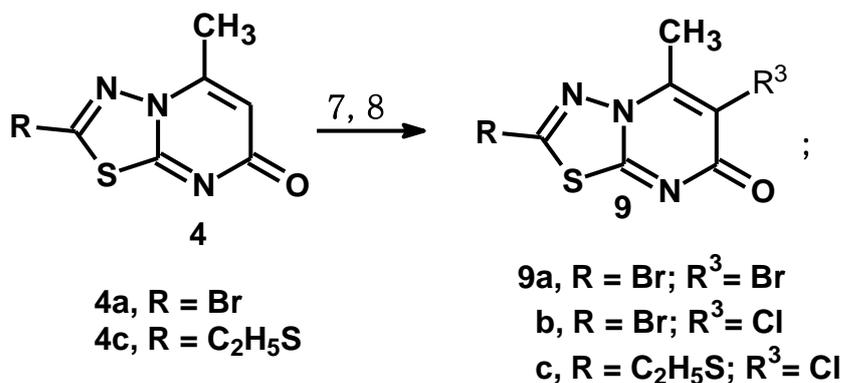


Схема 3.

Для целей синтеза 2-тиозамещенных-7Н-5-метил-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-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 уже присутствовать в стартовом 5-амино-1,3,4-тиадиазоле (**1c** → **3c** → **4c**) (схема 1). Окисление **4c** мета-хлорнадбензойной кислотой приводит к селективному образованию сульфона **12** (схема 4).

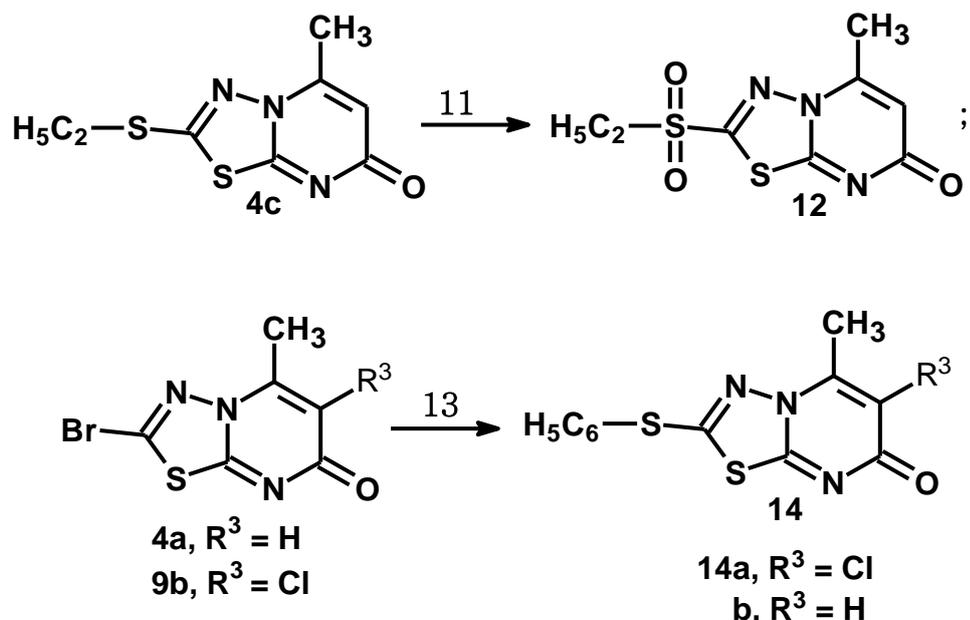


Схема 4.

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

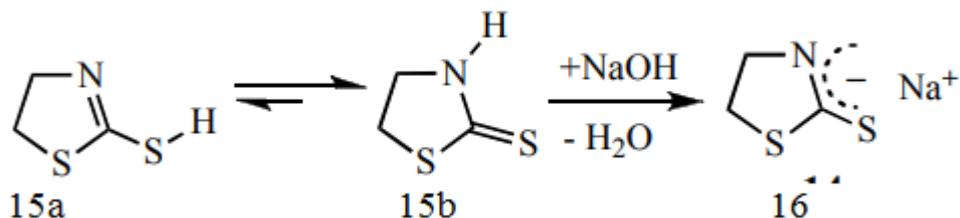


Схема 5.

Анализ данных спектра ЯМР продукта реакции соединений **4a** и **16** показывает, что структура продукта реакции соответствует соединению **18**. Является ли соединение **18** первичным или вторичным продуктом, образующимся при 1,3-перегруппировке соединения **17**, остается открытым вопросом. Также не была обнаружена миграция триадиазолпиримидинового радикала между S и N. Индивидуальное соединение **18** было получено перекристаллизацией из смеси ДМФА/ H_2O (4:1) без обнаружения следов равновесия с соединением **17** (схема 6).

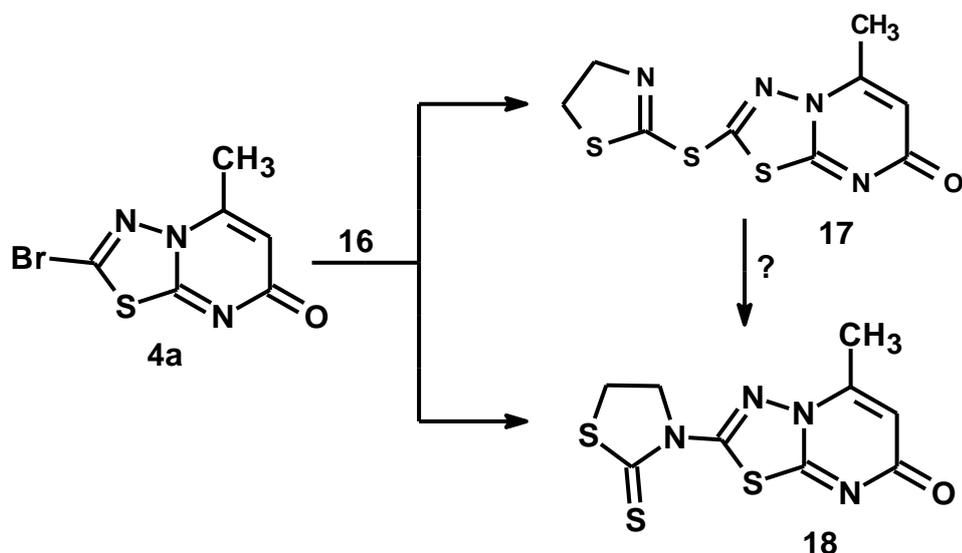


Схема 6 - Синтез соединения 18.

Структурные отнесения соединений 3, 4, 6, 9, 10, 12, 14, 16 и 18 основаны на данных спектров ЯМР ^1H и ^{13}C , включая двумерные (2D, НМВС), и регистрацию гетеро-ядерного эффекта Оверхаузера (NOE). Также для синтезированных соединений 3b и 4b (Схема 1) получены дополнительные доказательства отнесения сигнала 2-С на спектрах ЯМР ^{13}C тиадиазоопиримидинового фрагмента названных гетероциклов.

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 метастазированием рака. Потенциал ингибиторов NPPs как терапевтических агентов и недостаточность данных о взаимосвязи активности со структурой ингибиторов вдохновили нас разработать новые ингибиторы NPPs. А именно, исходя из 2-бromo-7-метил-5-оксо-5H-1,3,4-тиадиазолпиримидина и его 6-фторозамещенного соединения ($1 + 21 \rightarrow 22$) (схема 9) были синтезированы их производные с использованием реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры.

Реакции с различными арилбороновыми кислотами привели к получению прогнозируемых продуктов с хорошими и отличными выходами и показали широкую толерантность к функциональным группам ($22 + \text{R}-(\text{OH})_2 \rightarrow 23, 24$) (схема 10).

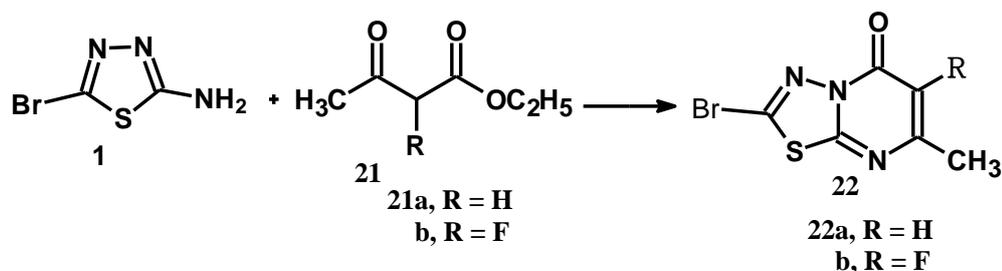


Схема 9.

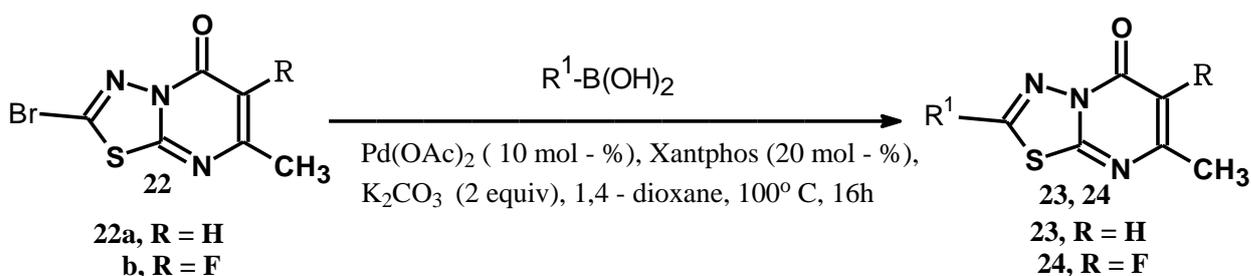


Схема 10 - Получение целевых продуктов **23** и **24** из **22** и **23**: $R^1 = H$; $R = 2\text{-MeC}_6\text{H}_4$ (**a**) (88%); $3\text{-MeC}_6\text{H}_4$ (**b**) (75%); $4\text{-EtC}_6\text{H}_4$ (**c**) (80%); $4\text{-MeOC}_6\text{H}_4$ (**d**) (75%); $4\text{-EtOC}_6\text{H}_4$ (**e**) (70%); $4\text{-3,3-(MeO)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (**f**) (81%); $3,3\text{-(Me)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (**g**) (77%); $3,4\text{-(Me)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (**h**) (79%); $4\text{-ClC}_6\text{H}_4$ (**i**) (65%). **24**: $R^1 = F$; $R = \text{C}_6\text{H}_5$ (**a**) (92%); $4\text{-MeC}_6\text{H}_4$ (**b**) (80%); $2\text{-MeC}_6\text{H}_4$ (**c**) (72%); $3,4\text{-(Me)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (**d**) (92%); $3,4\text{-(Me)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (**e**) (85%); $3\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_3$ (**f**) (84%); $4\text{-MeOC}_6\text{H}_4$ (**g**) (88%); $4\text{-EtOC}_6\text{H}_4$ (**h**) (75%); $3\text{-MeOC}_6\text{H}_4$ (**i**) (70%); $3,3\text{-(MeO)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (**j**) (85%); $4\text{-C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4$ (**k**) (62%); $4\text{-ClC}_6\text{H}_4$ (**l**) (72%); $3\text{-FC}_6\text{H}_4$ (**m**) (88%); $2\text{-FC}_6\text{H}_4$ (**n**) (88%); $3\text{-F}_3\text{CC}_6\text{H}_4$ (**o**) (72%); $4\text{-F}_3\text{COC}_6\text{H}_4$ (**p**) (50%); $3\text{-NCC}_6\text{H}_4$ (**q**) (77%).

Механизм реакции, в соответствии с одной из схем Сузуки, включает три основных стадии: окислительное присоединение, трансметаллирование и восстановительное элиминирование.

Кроме того, все синтезированные соединения исследовались в тестах *in vitro* для оценки их потенциала ингибирования двух семейств эктонуклеотидаз, а именно трифосфата нуклеозида дифосфогидролазы (NTPDase) и нуклеотида пирофосфатаза (NPPs). Исследованные соединения были идентифицированы как селективные ингибиторы NPPs. Было определено, что в серии **23a–23i**, соединение **23i** имеет большой ингибирующий потенциал в отношении h-NPP1 ($IC_{50} = 0.39 \pm 0.01 \mu\text{M}$), а соединение **23h** проявляет существенные ингибирующие свойства в отношении h-NPP3. Подобным образом среди 6-фторзамещенных 2-бromo-7-метил-5-оксо-5H-1,3,4-тиадиазолпиримидина, производное **24e** показало лучшее ингибирование NPP1 с ингибирующей концентрацией (IC_{50}) $0.31 \pm 0.01 \mu\text{M}$, что в 28 раз ниже, чем тот же показатель соединения сравнения Сурамина ($IC_{50} = 8.67 \pm 1.3 \mu\text{M}$) (таблица 1).

Таблица 1 - Ингибирование экто-нуклеотидаз (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.	23a	-	-	-	-	-	2.19±0.22
2.	23c	-	-	-	-	2.26±0.13	15.1±1.89
3.	23d	-	-	-	-	1.39±0.13	7.37±0.96
4.	23e	-	-	-	-	0.69±0.02	10.3±1.09
5.	23g	-	-	-	-	0.41±0.01	6.28±0.79
6.	23h	-	-	-	-	0.43±0.02	1.02±0.05
7.	23i	-	-	-	-	0.39±0.01	4.18±0.41
8.	24a	-	-	-	-	0.83±0.04	2.79±0.31
9.	24b	-	-	-	-	1.31±0.05	2.01±0.16
10.	24c	-	-	-	-	0.85±0.02	15.5±1.56
11.	24d	-	-	-	-	1.56±0.16	2.89±0.15
12.	24e	-	-	-	-	0.31±0.01	4.63±0.62
13.	24f	-	-	-	-	0.63±0.03	4.39±0.61
14.	24g	-	-	-	-	1.24±0.02	4.57±0.86
15.	24i	-	-	-	-	0.79±0.02	2.87±0.78
16.	24j	-	-	-	-	2.01±0.16	0.92±0.02
17.	24k	-	-	-	-	1.04±0.14	2.21±0.13
18.	24l	-	-	-	-	1.11±0.11	1.79±0.03
19.	24m	-	-	-	-	0.94±0.07	0.94±0.05
20.	24n	-	-	-	-	0.37±0.02	8.95±1.08
21.	24o	-	-	-	-	1.32±0.32	4.67±0.56
22.	24p	-	-	-	-	0.39±0.03	5.34±0.71
23.	24q	-	-	-	-	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. IC ₅₀ - это концентрация, при которой ингибируется 50% фермента.							

*B. Jafari and et.al. RSC Adv. 2016, 6, pp.107556-107571.

Для обоих ингибиторов проведено гомологическое моделирование и молекулярный докинг для определения предполагаемых связываний ингибиторов с соответствующими ферментами 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-гиадиазоло[3,2-а]пиримидинов

Щелочные фосфатазы (APs) играют ключевую роль в поддержании соотношения фосфата к неорганическому пирофосфату (Pi/PPi) и, таким образом, регулируют внеклеточное матричное отверждение во время

формирования костей и роста. Среди различных изоформ АР, TNAP в основном принимают участие в гидролизе (расщепления) неорганического пирофосфата (PPi) на неорганический фосфат (Pi), таким образом поддерживая уровень неорганического фосфата и регулируя отложение минералов в зубах и костях. Однако избыточная экспрессия TNAP в организме приводит к избыточной кальцификации в гладкомышечных клетках сосудов. Другой изоформ АР, кишечная щелочная фосфатаза (IAP) регулирует всасывание жирных кислот и участвует в регуляции ожирения, вызванного диетой и метаболическим синдромом. Хотя, TNAP и IAP имеют 50-и процентное структурное сходство, известно очень мало их селективных ингибиторов. Кроме того, константы ингибирования (Ki) известных ингибиторов достаточно высоки и лежат в миллимолярном диапазоне.

В этом контексте мы синтезировали новую серию фторированных производных пириmidона из 2-бromo-7-трифторметил-5-оксо-5H-1,3,4-тиадиазолпириmidина (**26**). Соединение **26** было синтезировано, исходя из коммерчески доступных 5-бромзамещенных 2-амино-1,3,4-тиадиола (**1**) и трифторметилацетоуксусного эфира (**25**) (схема 11).

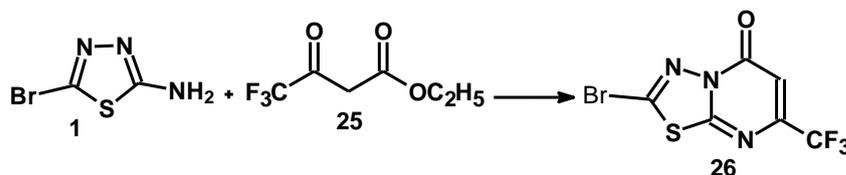


Схема 11 - Реакция циклоконденсации соединений **1** и **25**.

Для дериватизации проводилось нуклеофильное замещение брома с использованием аминов ($\mathbf{26} + \mathbf{R}^1\mathbf{R}^2\mathbf{NH} \rightarrow \mathbf{28}$ (схема 12)) как нуклеофилов, а также с применением реакции палладий-катализируемого кросс-сочетания Сузуки-Мияуры ($\mathbf{26} + \mathbf{Ar-B(OH)_2} \rightarrow \mathbf{29}$ (схема 13)).

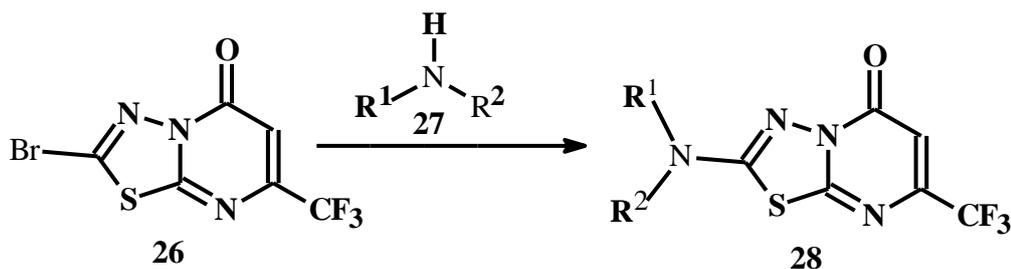


Схема 12 - Получение соединения **28** из **26** и **27**. Условия: амин (2 эквивалент), MeOH (растворитель), 5ч. При 20°C. **28** (выход): **a**) R¹=H, R²=C₆H₅ (91%); **b**) R¹=H, R²=4-FC₆H₄ (90%); **c**) R¹=H, R²=3-MeOC₆H₄ (60%); **d**) R¹=H, R²=4-EtOC₆H₄ (90%); **e**) R¹=H, R²=4-*i*PrC₆H₄ (87%); **f**) R¹=H, R²=4-H₂NC₆H₄ (65%); **g**) R¹=H, R²=аллил(75%); **h**) R¹=H, R²=*n*Pr (30%); **i**) R¹=H, R²=*n*Bu (66%); **j**) R¹=H, R²=*n*Pent (72%); **k**) R¹=H, R²=(Me)₂NCH₂CH₂ (45%); **l**) R¹=Me, R²=NH₂ (51%); **m**) R¹=*n*Bu, R²=*n*Bu (67%); **n**) R¹=Me, R²=C₆H₅ (50%).

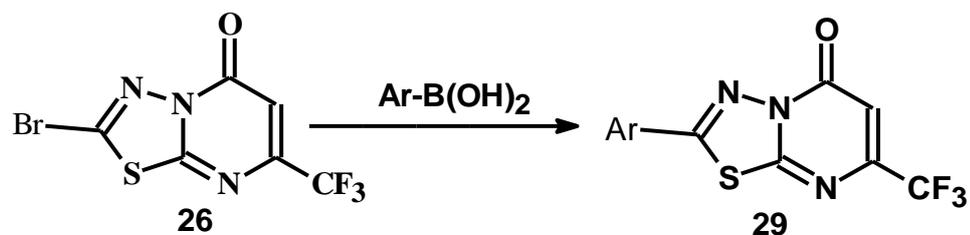


Схема 13 - Условия: Ar-B(OH)_2 (1.1 эквивалент), Pd(OAc)_2 (10 моль%), Хантфос (2.0 эквивалент), K_2CO_3 (2.0 эквивалент), 1,4-диоксан (растворитель), 100°C , 16ч. **29** (выход): **a**) C_6H_5 (90%); **b**) $4\text{-MeC}_6\text{H}_4$ (81%); **c**) $2\text{-MeC}_6\text{H}_4$ (75%); **d**) $4\text{-EtC}_6\text{H}_4$ (66%); **e**) $3,3\text{-(Me)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (60%); **f**) $3,4\text{-(Me)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (63%); **g**) $4\text{-MeOC}_6\text{H}_4$ (78%); **h**) $3\text{-MeOC}_6\text{H}_4$ (65%); **i**) $2\text{-MeOC}_6\text{H}_4$ (45%); **j**) $3,3\text{-(MeO)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (88%); **k**) $2,3\text{-(MeO)}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (35%); **l**) $4\text{-EtOC}_6\text{H}_4$ (90%); **m**) $2\text{-EtOC}_6\text{H}_4$ (40%); **n**) $2\text{-FC}_6\text{H}_4$ (51%); **o**) $3\text{-FC}_6\text{H}_4$ (65%); **p**) $3\text{-F}_3\text{CC}_6\text{H}_4$ (55%); **q**) $4\text{-F}_3\text{COC}_6\text{H}_4$ (60%); **r**) $3\text{-NCC}_6\text{H}_4$ (55%); **s**) $3\text{-N}_2\text{OC}_6\text{H}_4$ (65%); **t**) $3\text{-H}_5\text{C}_6\text{H}_4$ (70%).

Было показано, что синтезированные производные являются эффективными, но не селективными ингибиторами обоих изоформ АР. Арилированные производные тиадиазолпиримидонов обладают более сильной ингибирующей активностью, чем 2-амино-тиадиазолпиримидоны (таблица 2). С использованием молекулярного докинга подтверждена принципиальная возможность наличия взаимодействий изучаемых веществ с ключевыми аминокислотами мишени.

Таблица 2 - Ингибирование щелочных фосфатаз (*h*-TNAP и *h*-IAP) соединениями **28** и **29**.*

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

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

* *B. Jafari and et. al. Eur. J. Med. Chem., 2018, 144, pp.116-127.*

Проведение молекулярного докинга позволило предположить наиболее выгодную ориентацию и конформацию комплекса фермента с лигандами (соединения **29a** и **29q**) в моделях обоих изозимов (приложение 2, рисунки ПЗ и П4).

2.1.4. Синтез и биологические свойства

8-замещенных-2-метил-бензо[4,5][1,3]тиазоло[3,2-а]пиримидинов

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

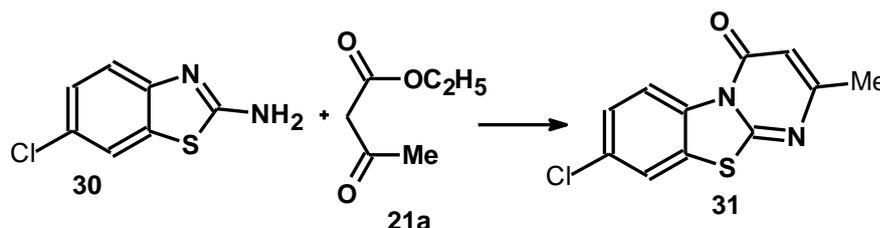


Схема 14 - Синтез исходного соединения **31**. Условие: нагревание в полифосфорной кислоте.

Мы начали наше исследование, оптимизировав синтез соединения **32a** в условиях реакции Сузуки-Мияуры с фенолбороновой кислотой (схема 15.). Были проверены различные катализаторы, лиганды, основания и растворители (таблица 3).

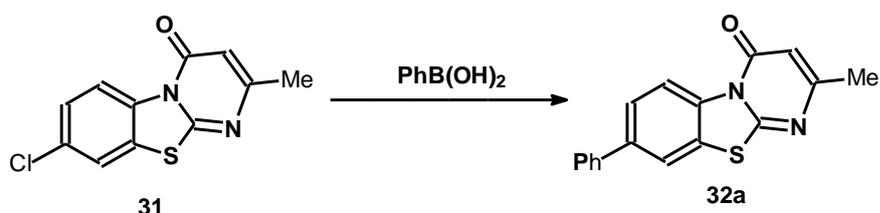


Схема 15 - Реакция кросс-сочетания Сузуки-Мияуры для соединения **31** ($31 \rightarrow 32a$, $Ph=C_6H_5$).

Таблица 3 - Оптимизация синтеза соединения **32a** из **31**: ($Ph=C_6H_5$)

№ реакции	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание, экв.	Растворитель, мл	[%] ^a – выход продукта, в %
1	$Pd_2(dba)_3$, 1	XPhos, 4	K_3PO_4 , 2	<i>n</i> -бутанол, 2	0
2	$Pd_2(dba)_3$, 1	XPhos, 4	K_3PO_4 , 2	этанол, 2	0
3	$Pd(PPh_3)_4$, 1	XPhos, 4	K_3PO_4 , 2	<i>n</i> -бутанол, 2	0
4	$Pd(PPh_3)_4$, 4	DavePhos, 8	Na_2CO_3 , 2.4	диоксан/ H_2O , 4:1	47
5	$Pd(PPh_3)_4$, 4	XPhos, 8	Na_2CO_3 , 2.4	диоксан/ H_2O , 4:1	34
6	$Pd_2(dba)_3$, 1	DavePhos, 8	Na_2CO_3 , 2.4	диоксан/ H_2O , 4:1	52
7	$Pd_2(dba)_3$, 1	XPhos, 8	Na_2CO_3 , 2.4	диоксан/ H_2O , 4:1	85
8	$Pd_2(dba)_3$, 4	XPhos, 4	Na_2CO_3 , 2.4	диоксан/ H_2O , 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, Na_2CO_3 как основания, XPhos в качестве лиганда, привело к очень хорошему выходу продукта реакции.

После отработки соответствующих условий для реакции Сузуки-Мияуры, мы оценили применимость этой реакции для кросс-сочетания с различными бороновыми кислотами. Оптимизированные условия оказались применимы для реакции с борными кислотами, содержащими некоторые функциональные группы, включая *N*- и *S*-гетероциклы, а также формильную и сложноэфирную. Использование в реакции арилборных кислот, содержащих как электронно-донорные, так и электронно-акцепторные группы, привело к одинаково хорошим выходам продукта реакции. Однако, арилбороновые кислоты, содержащие объёмные стерические *орто*-заместители, реагируют с образованием продукта реакции с более низкими выходами, чем производные с *пара*-заместителями (сравнение выхода продукта реакции у производных **32b**, **32c** и **32d**, а также **32m** с **32l**) (схема 16).

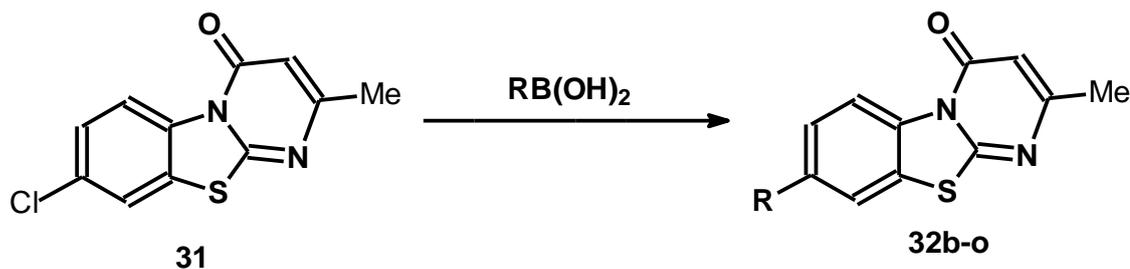


Схема 16 - Синтез целевых продуктов **32b-o** (выход): **R = b**) 4-MeC₆H₄ (75%); **c**) 2-MeC₆H₄ (65%); **d**) 2-MeC₆H₄ (62%); **e**) 3,3-(Me)₂C₆H₃(67%); **f**) 4-FC₆H₄(63%); **g**) 4-F₃CC₆H₄(47%); **h**) остаток хинолина-3 (50%); **i**) H₅C₆C₆H₄ (52%); **j**) 4-MeOC₆H₄ (72%); **k**) 2-MeO,3-FC₆H₃ (46%); **l**) 2-ОНСС₆H₄(65%); **m**) 2-EtO₂СС₆H₄(53%); **n**) Me(55%); **o**) остаток тиофена-3 (48%). Условия: фенолбороновая кислота (1.5 эквивалент), Pd₂(dba)₃ (0.04 эквивалент), XPhos (0.08 эквивалент), K₂CO₃ (2.4 эквивалент), диоксан : вода (4:1), 100°C, 16 ч.

Другая часть нашего исследования была посвящена аминированию соединения **31** с использованием реакции Бухвальд-Хартвига, актуальность чего обусловлена важностью аминов в медицинской химии и фармакологии. При оптимизации данной реакции лучшие результаты были получены с использованием Pd₂(dba)₃xCHCl₃ - как катализатора, XPhos - как лиганда и NaOtBu - как основания в толуоле. Нужно отметить, что реакция соединения **31** с морфолином дала желаемый продукт **32a** с выходом 85% (схема 17, таблица 4).

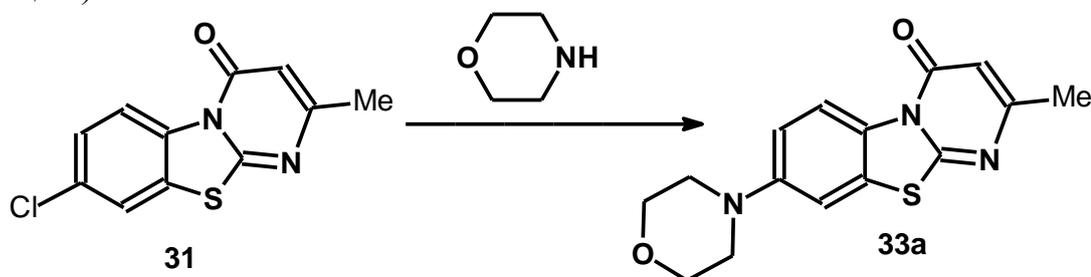


Схема 17 - Реакция кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига для соединения **32a**. Оптимизация соединения **31**.

Таблица 4 - Оптимизация синтеза соединения **32a**

№ реакции	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание, экв.	Растворитель, мл	[%] ^a – выход продукта, в %
1	Pd ₂ (dba) ₃ x CHCl ₃ , 2	XPhos, 8	NaOtBu, 1.4	толуол, 2	45
2	Pd ₂ (dba) ₃ xCHCl 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 (dba) ₃ x CHCl ₃ , 2	DaveXPhos, 8	NaOtBu, 1.4	толуол, 2	30
5	Pd ₂ (dba) ₃ x CHCl ₃ , 4	XPhos, 8	NaOtBu, 1.4	толуол, 2	85
6	Pd ₂ (dba) ₃ x CHCl ₃ , 1	XPhos, 2	NaOtBu, 1.4	толуол, 2	0
7	Pd ₂ (dba) 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 отсутствие палладиевого катализатора не приводило к желаемому продукту (таблица 4, строка 8).

Реакция **31** с различными анилинами позволила получить продукты **32b-e** с хорошими выходами (схема 18). Причём успешно были

использованы анилины, содержащие электронно-донорные и электронно-акцепторные заместители.

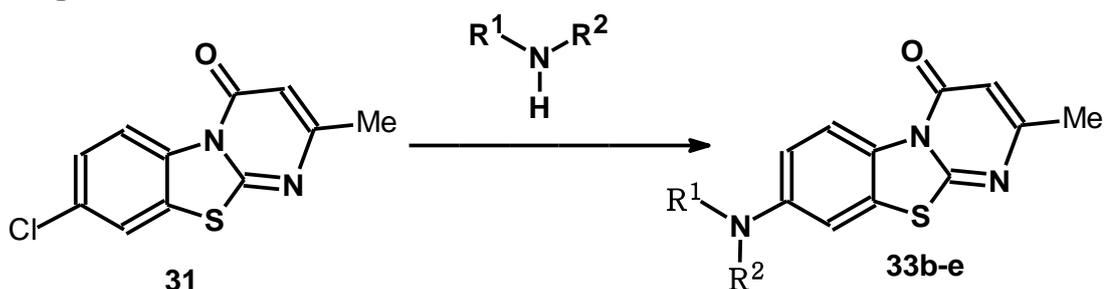


Схема 18 - Получение целевых продуктов **33b-e** (выход): **b)** $R^1=Me$, $R^2=C_6H_5$ (52%); **c)** $R^1=H$, $R^2=4-FC_6H_4$ (71%); **d)** $R^1=H$, $R^2=3-F_3CC_6H_4$ (56%); **e)** $R^1=H$, $R^2=3,3-(MeO)_2C_6H_3$ (63%). Условия: амин (1.1 эквивалент), $Pd_2(dba)_3 \cdot CHCl_3$ (0.04 и 0.08 эквивалент), $NaOtBu$ (1.4 эквивалент), толуол (растворитель), $100^\circ C$, 16 ч.

В заключительной части наших исследований по синтезу мы изучили реакцию Соногаширы с использованием в качестве субстрата соединения **31**. Во время оптимизации мы установили, что использование $Pd(OAc)_2$, как катализатора, димилацетамида (ДМА), как растворителя, и K_2CO_3 , как основания, и XPhos, как лиганда, дало лучшие результаты (схема 19, таблица 5).

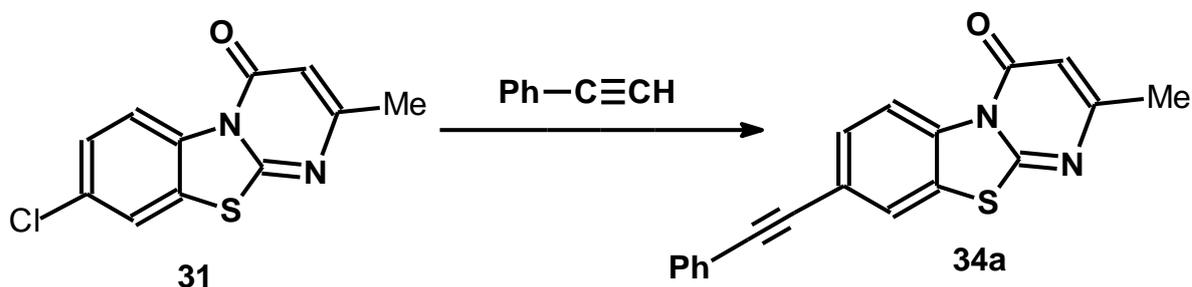


Схема 19 - Синтез соединения **34a** из **31** в условиях реакции кросс-сочетания Соногаширы.

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

№ реакции	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основание, экв.	Добавка, моль%	Растворитель, мл	[%] ^a – выход продукта, в %
1	$Pd(PPh_3)_2Cl_2$, 1.2	-	Et_3N , 2	CuI , 4	ДМФ	30
2	$Pd(PPh_3)_2Cl_2$, 1.2	-	Et_3N , 2	CuI , 4	диоксан	0
3	$Pd(PPh_3)_2Cl_2$, 4	$PtBu_3xHBF_4$, 8	Cs_2CO_3 , 2	DBU, 20	ДМФ	0
4	$Pd(CH_3CN)_2Cl_2$, 3	XPhos, 9	Cs_2CO_3 , 2.1	-	CH_3CN	0
5	Pd/C , 10	XPhos, 8	K_2CO_3 , 2.1	-	ДМА	25
6	$Pd_2(OAc)_2$, 4	XPhos, 8	Et_3N , 2.1	CuI , 4	ДМА, 2	10
7	$Pd_2(OAc)_2$, 5	XPhos, 10	Cs_2CO_3 , 2.1	-	ДМСО, 2	0
8	$Pd_2(OAc)_2$, 4	XPhos, 10	Cs_2CO_3 , 2.1	-	ДМФ, 2	0
9	$Pd_2(OAc)_2$, 4	XPhos, 8	K_2CO_3 , 2.1	-	ДМА, 2	35
10	$Pd_2(OAc)_2$, 4	XPhos, 8	K_2CO_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 xHBF 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 **34a-e** были синтезированы с выходами желаемых продуктов от умеренных до хороших. В реакцию были успешно вовлечены арилированные ацетилены, имеющие электронодонорные и электронодефицитные заместители (схема 20).

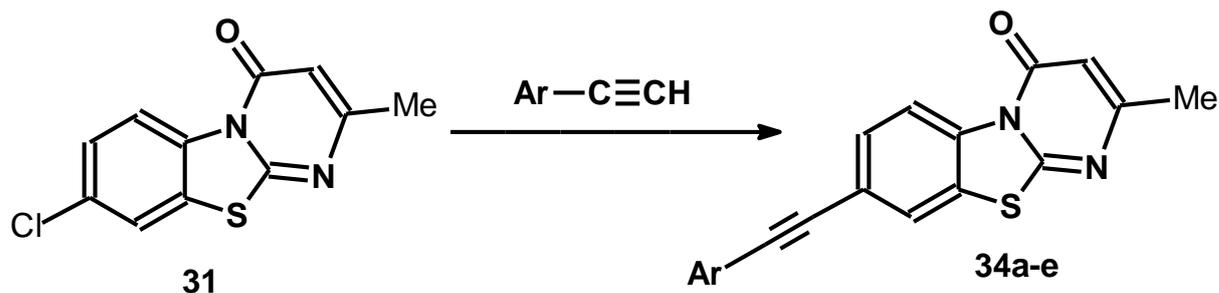


Схема 20 - Получение целевых продуктов **34a-e** (выход). Ar = **a**) C₆H₅ (77%); **b**) 4-MeC₆H₄ (66%); **c**) 4-tBuC₆H₄ (57%); **d**) 4-MeOC₆H₄ (64%); **e**) 4-FC₆H₄ (47%). Условия: алкин (1.5 эквивалент), Pd(OAc)₂ (0.04 эквивалент), XPhos (0.08 эквивалент), K₂CO₃ (2.1-5 эквивалент), ДМФА (растворитель), 100°C, 16 ч.

2.1.4.1. Тест МТТ

Для синтезированных соединений была проведена оценка противоопухолевых эффектов, с использованием теста МТТ на клетках рака шейки матки (HeLa). Все соединения оказали более чем 50% ингибирование роста клеток при тестировании в концентрациях 100 μM. Затем соединения были последовательно разбавлены с получением 8 различных концентраций, и были определены концентрации ингибирования, используя программу GraphPad Prism. Цитостатические эффекты всех производных дополнительно оценивались на линии нормальных клеток почек детёныша 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), (IC₅₀ с процентом ингибирования).*

Соединение	HeLa IC ₅₀ (μM) ± SEM	ВНК-21 ингибирования, в %
32a	6.58±0.23	40.1±1.11
32b	1.84±0.06	29.6±3.33
32c	20.7±0.15	38.8±8.90
32d	3.30±0.08	38.2±3.53

32e	2.09±0.13	36.2±3.93
32f	3.40±0.07	39.6±6.67
32g	3.47±0.08	36.6±6.72
32h	9.87±0.11	29.4±4.74
32i	НТ	НТ
32j	43.3±0.16	36.3±3.33
32k	1.55±0.08	24.5±3.10
32l	19.4±1.03	32.6±4.79
32m	4.67±0.41	40.5±3.36
32n	8.80±0.10	27.3±5.23
32o	3.23±0.25	36.7±7.84
33a	2.29±0.09	30.8±8.89
33b	НТ	НТ
33c	5.04±0.11	39.4±4.65
33d	2.65±0.20	33.1±1.41
33e	НТ	НТ
34a	2.85±0.13	36.1±7.64
34b	4.17±0.25	26.7±6.47
34c	4.25±0.34	21.1±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
НТ- тест не проводился		

*B. Jafari and et. al. *ChemistrySelect*. 2018, V. 3, pp. 12213-12218.

Было выявлено, что полученные производные демонстрируют значительное ингибирование роста линий раковых клеток. Среди всех производных соединения **34d**, **32k** и **32b** были идентифицированы, как самые активные, приводящие к ингибированию роста клеток HeLa более чем на 70%. Цитостатические эффекты этих производных в отношении нормальных были менее выражены (менее 30% ингибирования).

2.1.4.2. Взаимосвязь «структура-активность»

Данные МТТ теста показали, что соединение **34d** является самым активным ингибитором среди трех серий наших синтетических производных с IC₅₀ 0.93±0.01 μM в отношении клеточной линии HeLa. Также это производное показало ингибирование роста клеточной линии ВНК-2 с IC₅₀ 25.5±8.82%, эти клетки были использованы в качестве нормального контроля в испытании, чтобы проверить неспецифическую цитотоксичность синтезированных соединений. Среди 8-арил-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиримидин-4-онов **32a-o** самым активным соединением является 2-метокси-5-фторфенил-производное **32k** с концентрацией полуингибирования 1,55±0,08 μM в отношении клеточной линии HeLa. Другими производными, обладающими выраженными ингибирующими свойствами, являются **32b** (4-

толил) и **32e** (3,5-диметилфенил) с концентрациями полуингибирования 1.84 ± 0.06 и 2.09 ± 0.13 μM соответственно. Все другие соединения имеют IC_{50} в пределах 3.23-20.7 μM . Однако соединение **32j** (4-метоксифенильный заместитель) проявляет самый низкий ингибирующий потенциал со значением IC_{50} 43.3 ± 0.16 μM . Соединения **32b** и **32e**, содержащие метильные заместители, показывают более высокую активность, чем производное, имеющее метокси-заместитель **32j**. Было замечено, что присутствие фтора наряду с метокси-заместителем, как в случае соединения **32k**, приводит к значительному увеличению активности. Среди производных с аминоксидными заместителями (**33a-e**), лучшее ингибирование наблюдалось у соединения **33d**, содержащего 3-трифторметилфениламино-группу (IC_{50} 2.65 ± 0.20 μM). Соединения **33a** (морфолин в качестве заместителя) и **33c** (4-фторфениламиногруппа) также показали хорошие значения IC_{50} 2.99 ± 0.09 и 5.04 ± 0.11 μM , соответственно. В этом ряду введение фтора в качестве заместителя привело к уменьшению активности, в то время как присутствие 3-трифторметилфениламиногруппы приводит к сильному ингибированию роста клеточной линии HeLa. Незначительное ослабление ингибирования было отмечено в присутствии морфолина как заместителя. Среди алкильных производных в соединениях **34a-e** лучшая активность наблюдалась у соединения **34a**, имеющего фенилэтильный заместитель (полуингибирующая концентрация равна 2.95 ± 0.13 μM). Снижение ингибирования было замечено для соединения **34b** (с 4-толилэтильным производным) и **34c** (4-трет-бутил-фенилэтильное производное) с IC_{50} 4.17 ± 0.25 и 4.25 ± 0.34 μM , соответственно. Соединение **34e** (4-фторфенилэтильное производное), имеющее величину IC_{50} 49.7 ± 1.67 μM , было наименее активным производным среди этого ряда. Эти результаты указывают, что введение галогена может быть причиной уменьшения потенциала ингибирования этих производных. Однако при введении 4-метокси-заместителя (соединение **34d**) наблюдалась высокая активность. Данные наблюдения использовались для дальнейших исследований механизма ингибирования наряду с позитивным контролем (карбоплатин) в отношении клеточных линий HeLa.

Также была оценена связующая способность наиболее активного ингибитора (**34d**) к ДНК и его способность взаимодействовать с бороздками ДНК. Для этого был выполнен докинг с белком E2 вируса папилломы человека (HPV-18). Результаты докинга представлены в приложении 3 (рисунок П5 (a и b)).

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

2.1.5.1. Синтез

Исходное вещество **31a** синтезировалось, по адаптированным литературным методикам, циклоконденсацией 2-аминозамещенного-6-хлоробензотиазола с 2-фторацетоуксусным эфиром **21a** (схема 21).

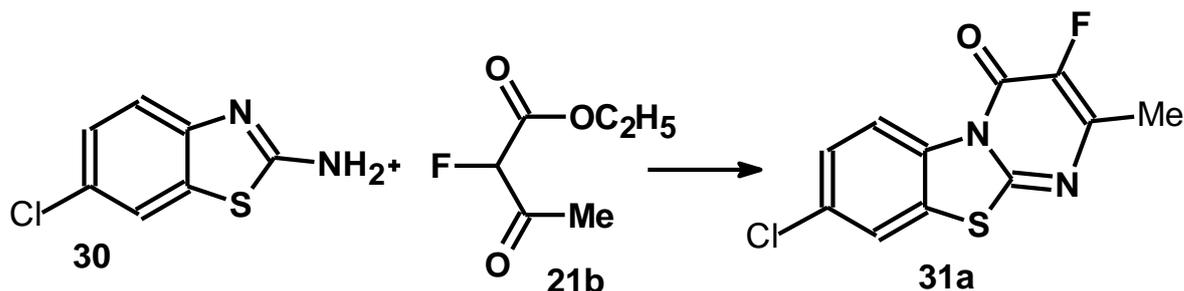


Схема 21 - Синтез соединения **31a** циклоконденсацией **30** и **21b**.

Имея на руках исходное соединение **31a**, с целью оптимизации дальнейшего синтеза мы изучили различные условия проведения реакции Сузуки-Мияуры 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 применению $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ с K_3PO_4 в смеси 1,4-диоксана и воды, а также лиганда XPhos был получен арилзамещенный продукт **35a** с высоким выходом (схема 22, таблица 7).

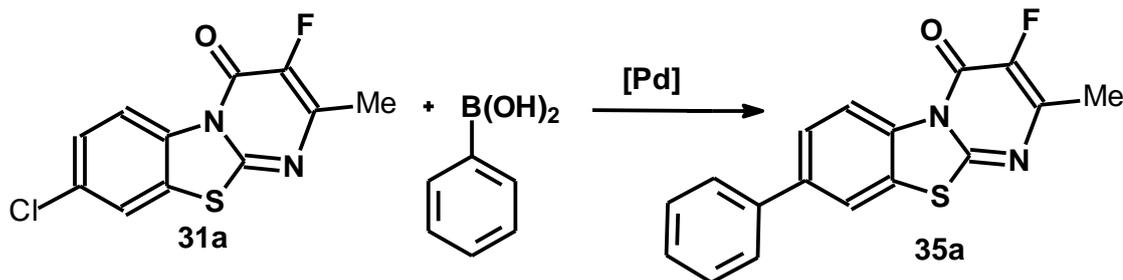


Схема 22 - Синтез соединения **35a** по реакции Сузуки-Мияуры.

Таблица 7 - Оптимизация 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	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	XPhos	Na_2CO_3	диоксан: H_2O	36
2	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	DavePhos	Na_2CO_3	диоксан: H_2O	24
3	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	XPhos	K_3PO_4	диоксан: H_2O	57
4	$\text{Pd}_2(\text{OAc})_2$	XPhos	Na_2CO_3	диоксан: H_2O	42
5	$\text{Pd}_2(\text{OAc})_2$	XPhos	K_3PO_4	диоксан: H_2O	82
6	$\text{Pd}_2(\text{OAc})_2$	XPhos	K_3PO_4	ДМФ	0
7	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	XPhos	K_3PO_4	ДМФ	12
8	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	XantPhos	K_3PO_4	диоксан: H_2O	0
9	$\text{Pd}_2(\text{OAc})_2$	PtBu_3xHBF	Cs_2CO_3	ДМФ	0

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

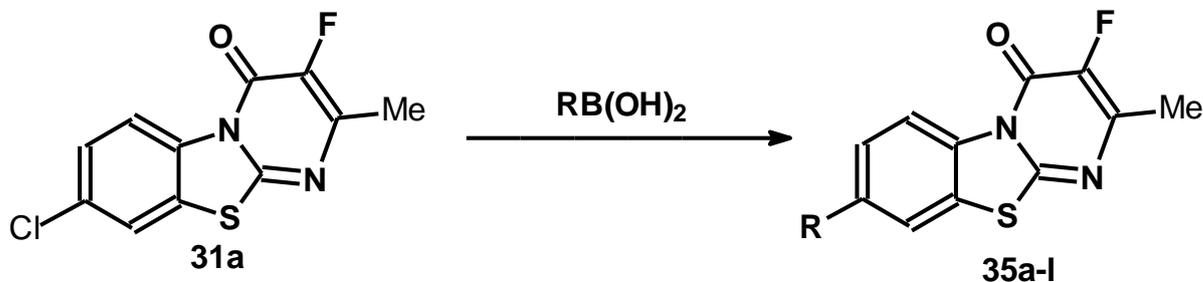


Схема 23 - Синтез соединения **35a-l** из **31a** при использовании условий реакции кросс-сочетания Сузуки (выход в %). R = **a**) C₆H₅ (82%), **b**) 4-MeC₆H₄ (80%); **c**) 3-MeC₆H₄ (71%); **d**) 3,3-(Me)₂C₆H₃ (68%); **e**) 4-EtC₆H₄ (78%); **f**) 4-MeOC₆H₄ (63%); **g**) 3,3-(MeO)₂C₆H₃ (71%); **h**) 2-MeO,3-FC₆H₃ (55%); **i**) 4-FC₆H₄(71%); **j**) 4-F₃CC₆H₄(60%); **k**) 4-F₃COC₆H₄(67%); **l**) CH₃(65%).

2.1.5.2. Реакция Бухвальд-Хартвига для производных **31a**

Следующая часть нашего исследования была связана с аминированием по Бухвальд-Хартвигу соединения **31a**, для синтеза соответствующих аминов и оценки их биологической активности. Как отправную точку нашего исследования мы использовали условия: Pd₂(dba)₃ - как катализатор, XPhos - лиганд, толуол - растворитель и NaOtBu - основание, поскольку эти параметры оказались эффективными для синтеза нефторированных бензотиазолопиримидинов (схема 18, соединения **33a-e**). К сожалению, в этих условиях продукт **36c** был получен только с 10% выходом (схема 24). Поэтому мы варьировали условия для выявления влияния типа катализаторов, оснований и растворителей на выход конечного продукта (таблица 8).

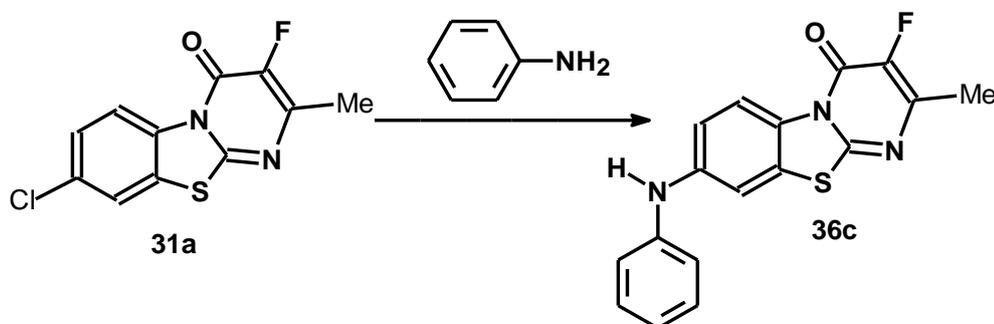


Схема 24 - Синтез соединения **36c** из **31a** по реакции Бухвальда-Хартвига.

Таблица 8 - Оптимизация синтеза соединения **36c**. Условия: анилина (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 - ((CH₃)₃Si)₂NK; t=100°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 (dba) ₃	XPhos	NaOtBu	толуол	10
2	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	NaOtBu	ксилол	41
3	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	KHMDS	ксилол	57
4	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	KHMDS	ДМФ	0
5 ^b	Pd ₂ (dba) ₃	<i>Pt</i> Bu ₃ xHBF ₄	Cs ₂ CO ₃	ДМФ	22
6	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	KHMDS	ксилол	0
7	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	K ₂ CO ₃	<i>t</i> -бутанол	55
8 ^c	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	K ₂ CO ₃	диоксан	81
9	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	KHMDS	диоксан	0
10	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	NaOtBu	диоксан	0
11 ^c	Pd ₂ (dba) ₃	XPhos	Et ₃ N	диоксан	2
12 ^d	-	-	-	метанол	0

Применение Pd(OAc)₂/XPhos в присутствии более слабого основания K₂CO₃ в 1,4-диоксане и каталитического количества PhB(OH)₂, значительно повышающего эффективность преобразования Pd(II) в Pd(0), привело к получению **36a** с максимальным выходом (81%). Более сильные основания, такие, как *t*-BuONa или KHMDS были абсолютно неэффективны. В отсутствие катализатора, лиганда и основания, реакция нуклеофильного замещения не протекала (таблица 8, строка 12). Далее была изучена применимость реакции Бухвальда-Хартвига в данных условиях. Анилины с донорными заместителями и незамещенные анилины проявили высокую реакционную способность в этих условиях, в то время как электроноакцепторный фторзамещенный анилин даёт низкий выход целевого продукта (**36g**, 60%), по-видимому, из-за низкой нуклеофильности анилина. Лучший выход (89%) был получен для соединения **36d**, синтезированного из *N*-метиланилина и соединения **31a**. В дополнение к анилинам нами также успешно вводились в реакцию морфолин и *N*-метил-бензиламин, соответствующие продукты **36a** и **36b** были получены с выходами 65 и 42%, соответственно (схема 25).

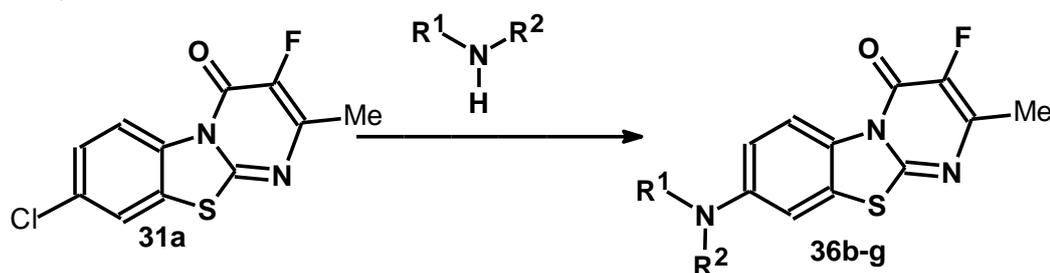


Схема 25 Получение целевых продуктов **36a-g** из **31a** в условиях реакции кросс-сочетания Бухвальда-Хартвига. **36a-g** (выход): **a**) $R^1=R^2=(C_2H_4)_2O$ (65%); **b**) $R^1=Me$, $R^2=CH_2C_6H_5$ (42%); **c**) $R^1=H$, $R^2=C_6H_5$ (81%); **d**) $R^1=Me$, $R^2=C_6H_5$ (89%); **e**) $R^1=H$, $R^2=4-MeC_6H_4$ (85%); **f**) $R^1=H$, $R^2=4-FC_6H_4$ (60%); **g**) $R^1=H$, $R^2=3,4,5-(OCH_3)_3C_6H_2$ (80%).

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

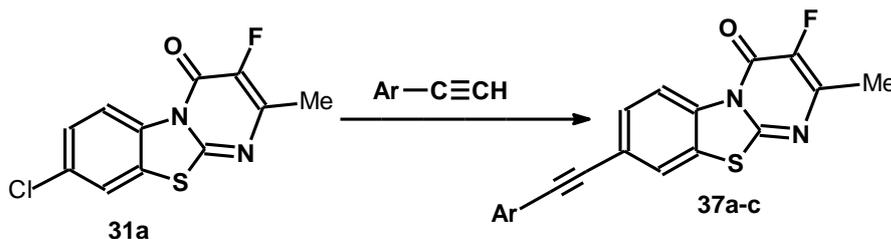


Схема 26 Получение целевых продуктов **37a-c**(выход). Ar = **a**) C_6H_5 (65%); **b**) $4-MeC_6H_4$ (41%); **c**) $4-tBuC_6H_4$ (68%). Условия: Алкинарил (1.5 эквивалент), $Pd(OAc)_2$ (4.0 моль%), XPhos (8.0 моль%), K_2CO_3 (2.1 эквивалент), ДМФА (растворитель), $t=100^\circ C$, 16 ч.

2.1.5.3. Биологическая активность

Для 3-фторозамещенных бензо[4,5]тиадиоло[3,2-а]примидин-4-онов были оценены их ингибирующие свойства в отношении моноаминоксидазы с использованием набора для анализа перекиси водорода (H_2O_2), (Amplex Red), производного *p*-тирамина. Позитивным контролем в отношении моноаминоксидазы А был клоргилин, обладающий концентрацией полуингибирования $0.0045 \pm 0.0003 \mu M$, в то время как контролем в отношении моноаминоксидазы В был выбран селегилин с величиной $IC_{50} 0.0196 \pm 0.001 \mu M$. Результаты испытаний *in vitro* показали, что большинство соединений проявляют ингибирующие свойства в умеренной и высокой степени в отношении моноаминоксидазы А (таблица 9). Самыми активными ингибиторами моноаминоксидазы А показали себя соединения **35j**, **35i** и **36h** с концентрацией полуингибирования 1.95 ± 0.08 , 1.66 ± 0.01 и $1.69 \pm 0.05 \mu M$, соответственно. Интересно, что производные соединения **35i**, содержащие метильную группу, расположенную в 8-ом положении, показали лучший ингибирующий результат по сравнению со всеми исследованными производными. Соединения **35i** и **36h** являются селективными ингибиторами MAO-A, в то время как **35j** является хорошим ингибитором обеих изоформ. Другие протестированные производные бензотиазолопиримидинов показали только умеренно-низкие величины IC_{50} в отношении MAO-A.

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

Соединение	MAO-A	MAO-B
------------	-------	-------

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
<p>IC₅₀ - концентрация, при которой ингибируется 50% фермента. Если процент ингибирования составляет меньше, чем 50%, приводится процент ингибирования. IC₅₀ ± SEM (μM)/% ингибирования</p>		

*B.Jafari and et. al. *ChemistrySelect*. 2019, 4, pp. 7284 –7291.

Производные **35a**, **35f**, **35i**, **35j**, **36d**, **36g** и **37a** показали хорошее ингибирование моноаминоксидазы В (таблица 9). В частности, соединения **35i** и **35j** являются самыми активными ингибиторами моноаминоксидазы В с показателями IC₅₀ 1.06±0.05 и 1.02±0.01 μM, соответственно. Другие соединения - **35f**, **36g**, **37a**, **35a** и **36d** показали высокую ингибирующую активность в отношении MAO-B с показателем IC₅₀ в диапазоне 1.21–1.80 μM. В случае **35i** и **36g** наблюдалась хорошая селективность ингибирования MAO-B по сравнению с MAO-A. Присутствие фтор-содержащих функциональных групп приводит к увеличению ингибирующей активности к MAO-B. Результаты показывают, что введение метил- или метокси-групп приводит к улучшению ингибирующей активности по отношению к MAO-A, в то время как замена их фтором приводит к улучшению ингибирующей активности и повышению селективности в пользу MAO-B. Полученные результаты показывают, что эти соединения могут служить соединениями-лидерами для дальнейших исследований.

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

Были оценены потенциальная способность соединений проникать через гематоэнцефалический барьер (BBB) и их лекарствовподобные свойства. Вычисление данных для прогноза физико-химического и ADME профиля серии соединений из числа 8-функционализированных-3-фторзамещенных-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиримидин-4-онов было проведено с использованием калькулятора Molinspiration (таблица 10).

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

Соединение	LogP	TPSA (Å ²)	MM (Da)	nOH	nOHNH (м/моль)	nвр.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 коэффициента распределения октан/вода; TPSA - площадь топологической полярной поверхности; MM - молекулярная масса; nOH - количество акцепторных связей; nOHNH - количество донорных связей; nвр.с - количество вращающихся связей; молекулярный объем (см³/моль).

*B.Jafari and et. al. *ChemistrySelect*. 2019, 4, pp. 7284 –7291.

Полученные данные показывают, что только 2 соединения нарушают первое правило Липински со значением LogP немного выше 5. Это означает, что соединения могут обладать способностью преодолеть мембрану и легко проникнуть в ЦНС. Изученные соединения показывают топологическую полярную площадь поверхности в диапазоне 34.38-74.11 Å² и, следовательно, являются подходящими для проникания гематоэнцефалического барьера. Дополнительно было проведено молекулярное моделирование соединений с моноаминоксидазами (**35l** и **36h** для MAO A и **35i** и **35j** для MAO-B), что позволило исследовать связывающие взаимодействия соединений с MAO-A и MAO-B при использовании рентгеноструктурных данных кристаллической структуры человеческой моноаминоксидазы A (2Z5Y) и моноаминоксидазы B (2V5Z) (приложение 4b 5, рисунки П6-П10).

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

Исходное соединение, бромированный бензотиазолохиназолинон (**40**), был синтезирован конденсацией коммерчески доступного 2-хлорбензотиадиазола (**38**) с 3-бром-5-антраниловой кислотой (**39**) с выходом 90% (схема 27).

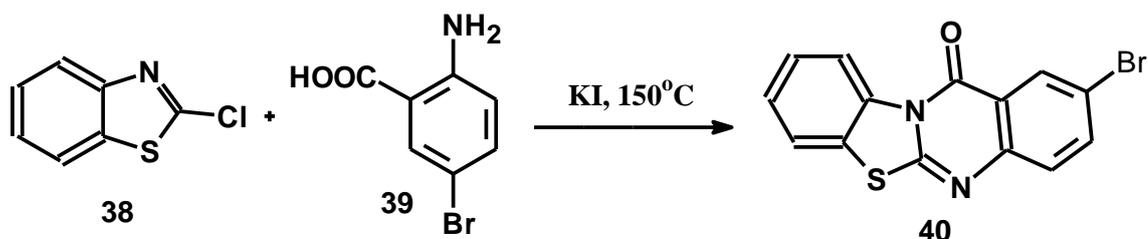


Схема 27 - Синтез 2-бromo-12H-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она.

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

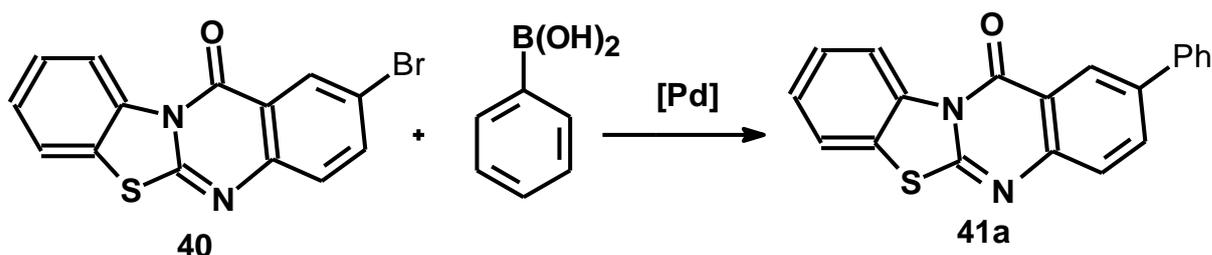


Схема 28 - Реакция кросс-сочетания Сузуки-Мияуры для соединения **40**.

Чтобы оптимизировать реакцию, мы варьировали компоненты реакции – тип палладиевого катализатора, лиганды, основания и растворители. Было показано, что выбор палладиевого катализатора очень важен для результата реакции. Применение Pd(OAc)_2 не привело к образованию целевого продукта, при использовании $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ желаемый арилированный продукт образовывался с низким выходом. Наконец, продукт **41a** был получен с высоким выходом при применении $\text{Pd(PPh}_3)_4$, 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	Pd(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	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ 4	XPhos 8	Na_2CO_3 2.4	Диоксан: H_2O	85

После разработки соответствующих условий для реакции Сузуки-Мияуры была изучена применимость этой реакции для различных арилборонированных кислот (схема 29).

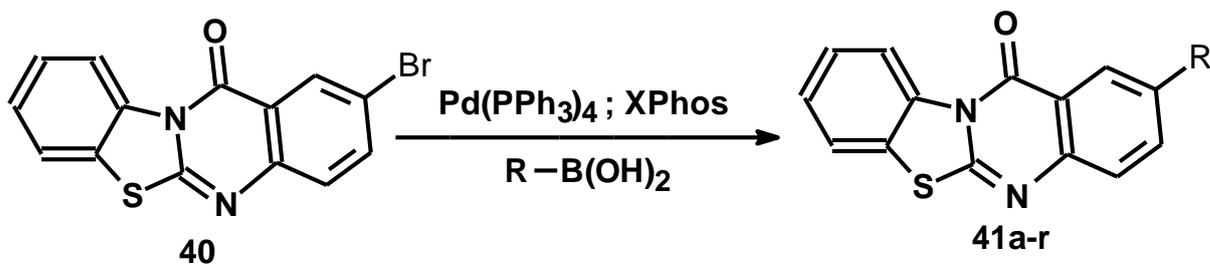


Схема 29 - Получение целевых продуктов **41a-f** из **40** в условиях реакции кросс-сочетания Сузуки. R=C₆H₅: **41a** (выход 85%); R=4-CH₃C₆H₄: **41b** (80%); R=2-CH₃C₆H₄: **41c** (73%); R=3-CH₃C₆H₄: **41d** (70%); R=3,3-(CH₃)₂C₆H₃: **41e** (69%); R=4-CH₃OC₆H₄: **41f** (76%); R=2-CH₃OC₆H₄: **41g** (73%); R=3-CH₃OC₆H₄: **41h** (68%); R=2,2-(CH₃O)₂C₆H₃: **41i** (68%); R=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%); R=4-H₅C₆C₆H₄: **41o** (43%); R=2-НОСС₆H₄: **41p** (51%); R=2-EtOOCС₆H₄: **41q** (53%); R=CH₃: **41r** (61%).

Все продукты были получены с умеренными и хорошими выходами. Разработанные условия реакции показали широкую применимость к бороновым кислотам, содержащим различные функциональные группы, включая фтор-, метокси-, сложноэфирные или формильные группы. Кроме того, 2- и 3-тиенил- и даже метилбороновая кислота успешно использовались в этой реакции. Обычно наличие электронно-донорных групп в арильном фрагменте, таких как алкил- или метокси-группы, приводило к более высоким выходам желаемого продукта, чем наличие групп электронно-акцепторных заместителей. Стерические эффекты также оказывают незначительное влияние на выход продуктов реакции. В частности, введение в реакцию *орто*-, *мета*- и *пара*-замещенных арилбороновых кислот приводило к одинаково хорошему выходу целевых продуктов (см. **41b-d** и **41f-h**).

2.1.6.1. Изучение *in vitro* ингибирования моноаминоксидазы соединениями **41**

Арилированные бензотиазолохинозазолины были исследованы в тесте *in vitro* в отношении моноаминоксидазы А и изозима В. Первоначально соединения были проверены в концентрации 100 мкМ. Производные с показателем ингибирования меньше, чем 50%, были исключены из дальнейших тестов, соединения с показателем ингибирования >50% далее были разбавлены серийно на 8-9 последовательных концентраций, IC₅₀ этих производных приведены в таблице 12.

Таблица 12 - Ингибирующая активность избранных серий соединения **41**

Соединение	MAO-A	MAO-B
	IC ₅₀ ± SEM (μM)/% ингибирование	
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

Тесты *in vitro* с клоргилином и депренилом использовались в качестве положительного контроля (IC_{50} 0,0045±0,0003 μ М и 0,0196±0,001 μ М в отношении MAO-A и MAO-B, соответственно). Кроме того, IC_{50} обратимых ингибиторов MAO-A (гармин) и MAO-B (сафинамид) также приведены в таблице 12. Данные о связывании этих ингибиторов внутри активного кармана отобранных белков использовались для сравнения с данными связывания наших выбранных соединений.

Результаты исследований показывают, что большинство бензотиазолохиназолинов проявляют значительные ингибирующие эффекты в отношении фермента MAO в протестированных концентрациях. Изученные производные показали значительные ингибирующие активности с показателями IC_{50} в диапазоне 2.82±0.02 – 39.9±2.53 μ М для моноамин-оксидазы А и 2.96±0.13 – 25.7±0.48 μ М для моноаминоксидазы В. Среди проанализированной серии веществ соединение **41a**, являющееся фенилзамещенным 12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-оном, показало значение IC_{50} 6.14±0.19 μ М в отношении MAO-A и 17,6±1,02 μ М для MAO-B. Бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-оны с толил- и диметилфенильными заместителями в любом положении не проявляли ингибирующей активности к MAO А и MAO В. Однако 2-метил-12Н-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-он **41r** показал умеренное ингибирование MAO-A и MAO-B со значениями IC_{50} 39.9±1.53 μ М и 22.1±1.56 μ М, соответственно. Кроме того, значительные ингибирующие активности против изоформ А и В с ингибирующими концентрациями 8.02±1.92 μ М и 24.8±1.53 μ М были выявлены для соединения **41p**, содержащего 2-формилфенильный заместитель. Замена формильной группы на COOEt (соединение **41q**) привела к сильному снижению ингибирования (14% для MAO-A и 21% для MAO-B). Соединение **41k**, имеющее 4-фторфенильный заместитель, было определено как селективный ингибитор для MAO-A со значением IC_{50} 2.82±0.12 μ М, в то время как соединение **41o**, имеющее бифенил в качестве заместителя, показало более селективный эффект в отношении MAO-B с ингибирующей концентрацией 9.23±1.91 μ М. Соединение **41f** проявило двойное ингибирование в отношении обоих изоформ со значениями IC_{50} 2.86±0.11 μ М и 2.95±0.13 μ М для MAO-A и MAO-B, соответственно.

Аналогично, введение *para*-метоксифенильного заместителя приводило к дуальному ингибированию MAO-A и MAO-B. Был проведен анализ связывания с ферментом селективных и двойных ингибиторов, соединений **41**, **41f** и **41o**, с использованием кристаллических структур человеческой моноаминоксидазы (hMAO-A: 2Z5Y) и моноаминоксидазы B (hMAO-B: 2V5Z), Результаты исследования приведены в приложениях 6 и 7 (рисунки П11 и П12).

2.1.7. Синтез 2-алкинил- и 2-аминозамещенных-12H-бензотиазол[2,3-b]хиназолин-12-онов и их ингибирующие свойства в отношении моноаминоксидазы A и B

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

Как следующий шаг стратегии синтеза новых производных соединения **40**, было изучено введение различных функциональных групп в соединение **40** с использованием палладий-катализируемой реакции Бухвальда-Хартвига. В качестве начальной точки нашего исследования мы использовали Pd₂(dba)₃ - как катализатор, XPhos – как лиганд, ДМФА – как растворитель, и t-BuONa - как основание в присутствии морфолина. Следов целевого продукта при этих условиях не было обнаружено. 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).

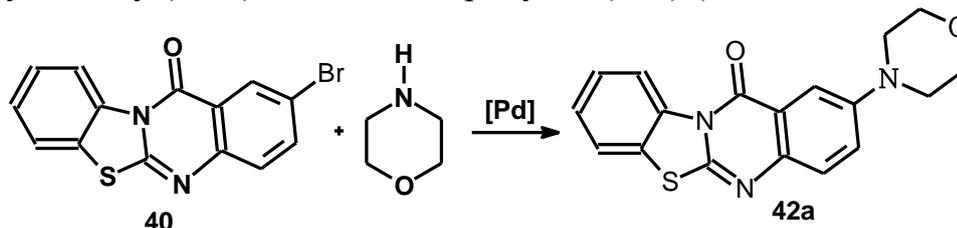


Схема 30 - Реакция кросс-сочетания Бухвальд-Хартвига для соединения **40**.

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 применимость этой реакции, используя различные амины, такие, как анилины, алифатические амины и бензиламины. Результаты приведены на схеме 31. Введение в реакцию алифатических аминов и анилинов привело к самым высоким выходам целевых продуктов (в пределах 74-86%). Бензиламины и другие амины дают более низкие выходы.

Интересно, что даже менее нуклеофильный пентафторанилин (**42h**) привел к целевому продукту со средним выходом 54%.

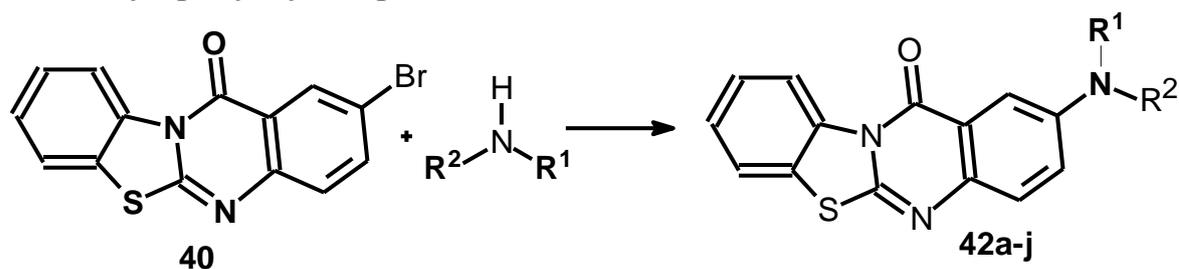


Схема 31 - Получение целевых продуктов **42a-j** из **40** по Бухвальду-Хартвигу. Условия: амин (1.2 эквивалент), Pd₂dba₃ (4 моль%), XPhos (8 моль%), NaOtBu (1.4 эквивалент), растворитель толуол, t=105°C, продолжительность 16 ч. **42a**: R¹=R²= -(CH₂)₂-O-(CH₂)₂- (выход 86%); **42b**: R¹=H, R²=CH₂CH₂CH₃ (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 с использованием субстрата **40**. Во время оптимизации мы проверили несколько условий реакции. Комбинация Pd(OAc)₂ и XPhos была снова лучшей каталитической системой для этой реакции (схема 32 и таблица 14). Кроме того, мы нашли, что использование ДМФА, как растворителя, и Et₃N, как основания, в присутствии CuI, как сокатализатора, является необходимым условием для получения продукта реакции с высоким выходом.

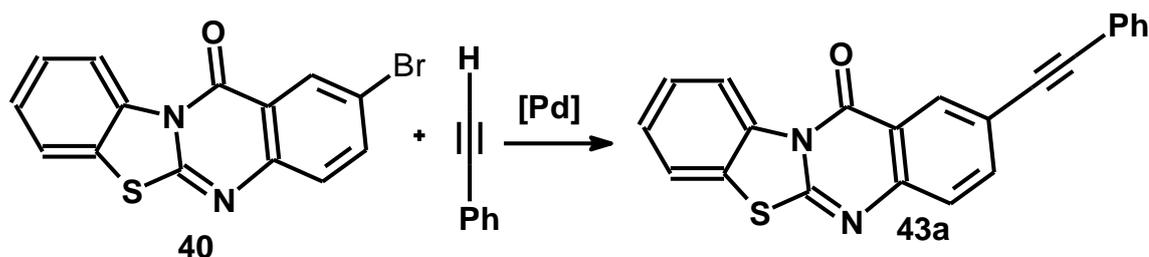


Схема 32 - Получение соединения **43a** из **40** по реакции Соногаширы.

Таблица 14 - Оптимизация реакции Соногаширы для соединения **40**

Реакция	Катализатор, моль%	Лиганд, моль%	Основа	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	PtBu 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	PtBu 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 алкинилбензотиазолохиназолинонов с умеренными и хорошими выходами (схема 33). Было найдено, что реакция соединения **40** и электронно-дефицитного *para*-фторфенилацетилена проходила с немного более низким выходом желаемого продукта **43c** (53%), в то время как реакции **40** с электронно-богатыми арилацетиленами привели к образованию **43b** и **43d** с 75 и 65% выходами, соответственно.

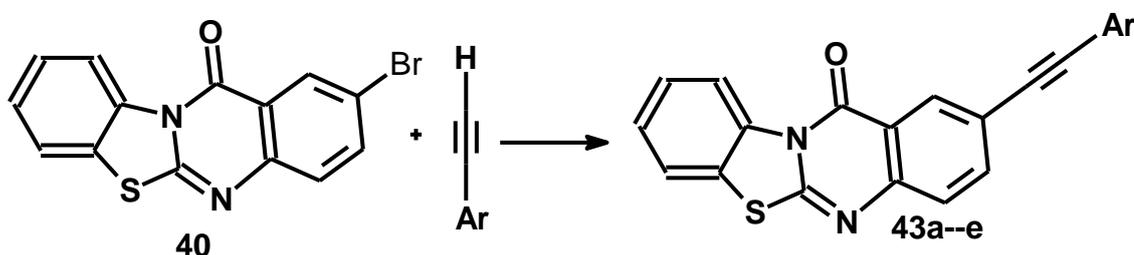


Схема 33 Синтез алкинилбензотиазолохиназолинонов. Условия: арилацетилен (1.5 эквивалент), Pd(OAc)₂ (4 моль%), XPhos (8 моль%), NEt₃ (2.1 эквивалент), растворитель - ДМФА, температура - 150°C, продолжительность - 16 ч. **43a**: Ar=C₆H₅ (выход 78%); **43b**: Ar=4-CH₃OC₆H₄ (75%); **43c**: Ar=4-FC₆H₄ (53%); **43d**: Ar=4-*t*-BuC₆H₄ (65%); **43e**: Ar=4-нафтил (45%).

2.1.7.3. . Изучение *in vitro* ингибирования MAO-A и -B и взаимосвязь «структура-активность» для 2-амино- и 2-арилалкинил-12H-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов

Синтезированные 2-амино- и 2-арилалкинил-12H-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-оны были проанализированы в тестах *in vitro* в качестве ингибиторов MAO-A и -B, используя ферменты митохондрий печени крысы. Во время проведения экспериментов были использованы в качестве положительного контроля клоргилин - ингибитор MAO-A, и селегилин (deprenyl) - ингибитор MAO-B. Ингибирующий потенциал был измерен в дозах 100 μM. Большинство соединений проявляет ингибирующие свойства в отношении изоэнзимов MAO-A и -B больше, чем на 50%, кроме некоторых соединений (таблица 15). Аминозамещенный 12H-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-он, соединение **42e**, как оказалось, является эффективным ингибитором MAO-B со значением IC₅₀ 1.01±0.05 μM. Близкие, но несколько более высокие, значения имеют соединения **42g**, **42f** и **42h** (IC₅₀ 4.54±0.12; 8.65±0.05 и 14.8±1.41 μM, соответственно) (таблица 15). Среди всех изученных соединений **42a** и **42b** оказались сравнительно более слабыми ингибиторами. Соединение **42e** оказалось более активным ингибитором для

МАО-В, чем производные серии арилзамещенных-12Н-бензотиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов **41f** со значением 2.96 μM .

Таблица 15 - Ингибирование МАО-А и МАО-В соединениями **42-43** и известными референсными соединениями*

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

*B. Jafari and et. al. *ChemistrySelect* 2019, V. 4, Issue 47, pp. 13760-13767

В отношении МАО-А среди всех протестированных соединений соединение **42h** было определено как потенциальный селективный ингибитор МАО-А со значением IC₅₀ 0.42±0.01 μM , за ним следуют **42g** и **42i**, показав высокие значения IC₅₀ 1.04±0.06 и 4.01±0.22 μM , соответственно. Соединение **42h** проявило значительно более 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 в отношении МАО-А со значениями IC₅₀ 9.22±0.77 и 18.7±1.09 μM , соответственно. Остальные соединения не показали значительного ингибирования в отношении МАО-А. Соединение **43b** было идентифицировано как двойной ингибитор с IC₅₀ 1.45±0.11 для МАО-А и 3.31±0.41 μM для МАО-В.

Изучение взаимосвязи «структура-активность» показало, что замещение анилинами приводит к более высокой активности по сравнению с алкиламинами. Фторированные анилины **42g** и **42h** проявляют особенно перспективную ингибирующую активность в отношении МАО-А. Соединение **42h** показало селективную ингибирующую активность в наномолярном диапазоне концентраций в отношении МАО-А. Напротив, соединение **42f** с незамещенным анилиновым заместителем проявляет очень

слабую ингибирующую активность в отношении MAO-A и определенную активность к MAO-B. Производное **42e** с 3-трифторметилбензиламином идентифицировано как ингибитор в отношении обеих изоформ с немного более низкой ингибирующей активностью к MAO-A. Арильная замена у алкинилпроизводных оказывает аналогично высокое влияние на ингибирующую активность **43a-c**. Например, соединение **43a** показывает очень слабую ингибирующую активность по отношению к обоим MAO, соединение **43b**, имеющее *para*-метокси-группу, является активным ингибитором для обоих изоформ. Замена электронно-донорной группы фтором в том же положении привела к более низкой активности в отношении MAO-A и B по сравнению с **43b**.

Проведенный молекулярный докинг соединений **42h** и **42b** в активном центре MAO-A и соединений **42e** и **42b** в активном центре MAO-B позволили лучше понимать режимы связывания предполагаемого комплекса, образующегося из лиганда **42h** или **42b** и MAO-A, также **42e** или **42b** и MAO-B (приложение 7, рисунки П13-П15).

2.1.8. Синтез 5-арил-тиадиазолоимидазоиндолов

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

Как следующий шаг, было начато исследование замыкания цикла в соединении **46** двойной реакцией Бухвальда-Хартвига, используя *p*-толуидин (схема 35, таблица 16). Сначала мы проанализировали воздействие различных фосфин-лигандов на результат этой реакции в присутствии Pd₂dba₃ в ксилоле. Стало очевидно, что реакция очень чувствительна к выбору используемого лиганда. Применение лиганда Xanthphos привело к очень хорошему выходу (84%) желаемого продукта, в то время как использование монодентатного XPhos и бидентатных dppf или DPEPhos не привело к обнаружению даже следов продукта (ТСХ). Наконец, были использованы в качестве катализаторов Pd(0) и Pd(PPh₃)₄ вместо Pd₂dba₃, что привело только к умеренному выходу продукта циклизации.

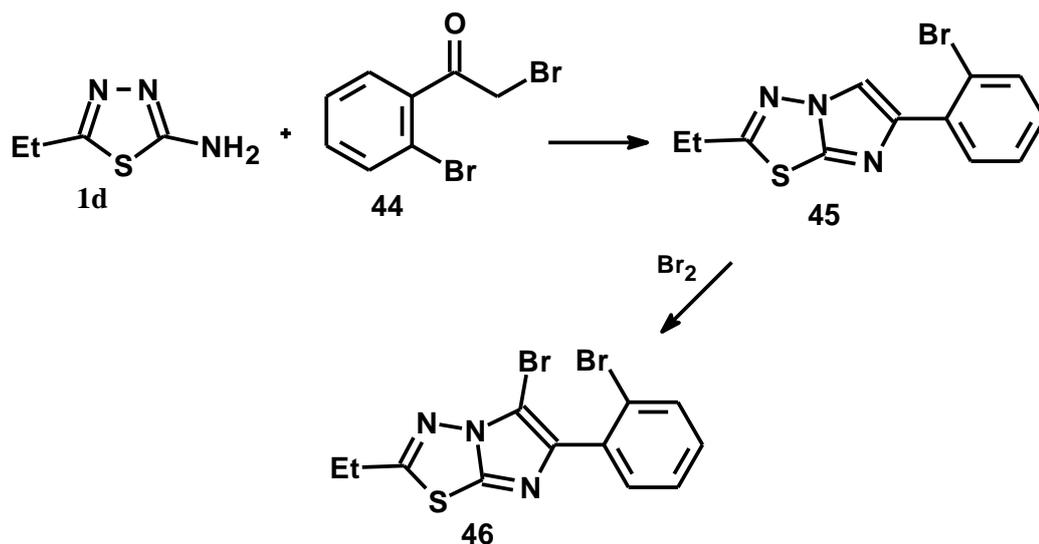


Схема 34 - Получение исходного соединения **46**.

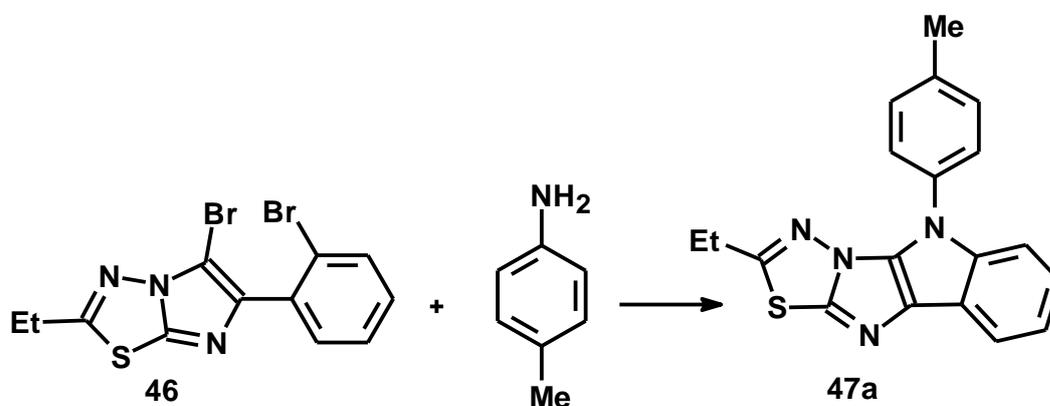


Схема 35 - Синтез соединения **47a** из реакции **46** по Бухвальд-Хартвигу.

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 границы применимости этой реакции, используя различные анилины (схема 36, таблица 17). Все проверенные анилины вступали в реакцию, давая продукты циклизации с выходами от хороших до очень хороших. Использование метил- и *трет*-бутилзамещенных анилинов приводило к выходу целевых продуктов более 80%, в то время как введение в реакцию 4-метилтиоанилина привело к самому низкому выходу (61%). Кроме того, можно отметить, что пара-замещенные анилины дают продукт с более высоким выходом по сравнению со своими мета-замещенными аналогами (**47a** и **47b** или **47f** и **47g**).

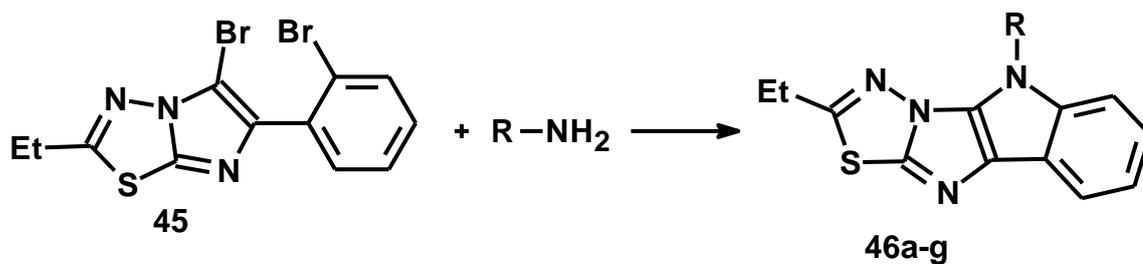
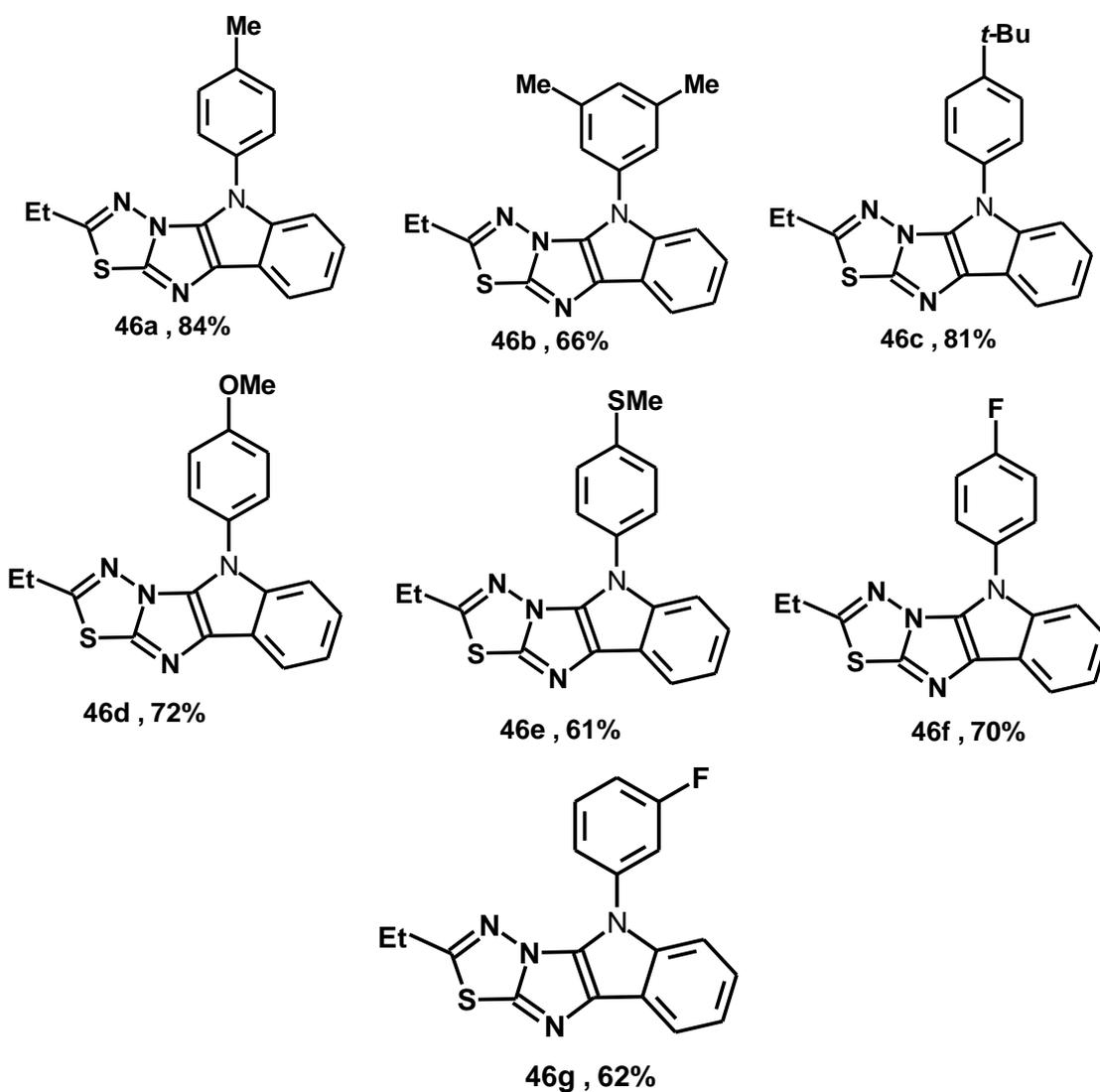


Схема 36 - Получение 5-арил-5H-[1,3,4]-тиадиазоло[2',3':2,3]имидазо[4,5-b]индолов. Условия: анилины (1.5 эквивалент), Pd₂dба₃ (9 моль%), XPhos (27 моль%), основание - NaOtBu, растворитель - толуол, температура 150°C, продолжительность 24 ч.

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-7*H*-7-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин **4a-c**, где *R* = Br, H, C₂H₅S. Первичные и вторичные амины, а также ароматические и гетероциклические тиолы замещают бром в положении 2 и образуют соответствующие амины и тиоляты. Замещение хлора и брома может протекать по углероду 6-С **4a,c**, при его взаимодействии с NBC, NCS (**9a-c**). Аминирование соединения **9b** диметиламином протекало хемоселективно с образованием соединения **10**. Окисление соединения **4c** *мета*-хлорнадбензойной кислотой приводит к селективному образованию сульфона - соединения **12**.

Разработана новая стратегия конструирования стандартного блока для синтеза 2-арилзамещенных тиадиазолпиримидинов с использованием реакции кросс-сочетания Сузуки-Мияуры. Подобранные условия реакции позволяют получить целевые продукты - тиадиазолпиримидины с очень хорошими выходами. Все синтезированные в работе соединения являются селективными ингибиторами *h*-NPPs, проявляя существенно меньший ингибирующий эффект в отношении *h*-NTPDase1, *h*-NTPDase2, *h*-NTPDase3 и *h*-NTPDase8. Показано, что большинство соединений, представленных в работе, являются более эффективными ингибиторами *h*-NPP1, чем *h*-NPP3.

Показано, что 2-бром-7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин может быть использован в качестве стартовой молекулы в реакции S_NAg и реакции Сузуки-Мияуры, и дальнейшая модификация полученных продуктов приводит к соответствующим 2-замещенными-7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидина. Почти все производные серии 2-бром-7-трифторметил-5*H*-5-оксо-1,3,4-тиадиазоло [3,2-*a*]пиримидина, описанные в данной работе, являются мощными, но неселективными ингибиторами обоих изозимов щелочной фосфатазы (*h*-TNAP, *h*-IAP) со значением IC₅₀ в микромолярном диапазоне. Выявлены наиболее перспективные для фармацевтической химии ингибиторы AP: 2-*n*-пропиламино-7-трифторметил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-он и 2-(4-метилфенил)-7-трифторметил-5*H*-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-5-он. Проведение докинга способствовало пониманию возможного типа связывания соединений в активных сайтах фермента.

Предложена функционализация легко доступных 8-хлор-2-метилбензотиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-онов с применением палладий-каталитических реакций кросс-сочетания Сузуки, Бухвальд-Хартвига и Соногаширы. Эти реакции позволяют синтезировать разнообразные производные бензотиазолопиримидин-4-она. Три из испытанных производных - **34d**, **32k** и **32b**, показали многообещающий

антипролиферативный потенциал на линии клеток HeLa, с относительно меньшим ингибированием нормальных фибробластов (индекс селективности >3). Анализ гибели клеток подтвердил индукцию апоптоза S-фазы в клетках HeLa.

Предложены различные палладий-каталитические реакции кросс-сочетаний (Сузуки-Мияуры, Соногаширы и Бухвальд-Хартвига) арилов, аминов и фенилацетиленов с 8-хлоро-3-фторозамещенными-2-метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-оном. Все реакции были полностью оптимизированы и привели к соответствующим продуктам с хорошими и выходами. Для серии синтезированных производных 8-хлоро-3-фторозамещенных-2-метилбензо[4,5]тиазоло[3,2-*a*]пиримидин-4-она изучена взаимосвязь «структура-ингибирующая активность» в отношении моноаминоксидаз А и В. Большинство соединений проявили ингибирующие свойства в низких микромолярных концентрациях к изозимам MAO-A и MAO-B. Результаты *in vitro* теста были подтверждены данными молекулярного моделирования.

Широко изучена возможность применения палладий-катализируемой реакции Сузуки-Мияуры для синтеза 2-бромзамещенного-12H-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она **40**. При оптимизированных условиях реакция соединения **40** показала широкую функциональную толерантность группы, в результате были получены соответствующие продукты кросс-сочетания с выходами от умеренных до высоких. В серии синтезированных производных 2-арилзамещенного-12H-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-она были выявлены селективные ингибиторы как моноаминоксидазы А, так и моноаминоксидазы В.

Разработаны методики синтеза 2-амино- и 2-алкинилпроизводных-12-бромзамещенных-12H-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов с применением палладиевых катализаторов в условиях реакции Бухвальд-Хартвига и Соногаширы. Исследования *in vitro* и *in silico* полученных производных также выявили потенциал 2-амино- и 2-алкинилпроизводных-12H-бензо[4,5]тиазоло[2,3-*b*]хиназолин-12-онов в качестве ингибиторов моноаминоксидаз А и В.

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 заключительного шага циклизации. При оптимизации условий реакции все продукты реакции были получены с хорошими и очень хорошими выходами.

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

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Synthesis 2-arylated thiadiazolopyrimidones by Syzuki-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.
8. 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.

9. 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.
10. 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.
11. Kukaniev, M.A. The synthesis of 2-amino-5-methyl-7-oxo-7-H-1,3,4-triadiazol[3,2-a]pyrimidine / M.A. Kukaniev, **S. Safarov** // Bulletin of Astrophysical Institute. -2006. -V. 49(2). -P. 158-161.
12. 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:

13. Получение 8-арил-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиримидин-4-она через реакцию кросс-сочетания Сузуки-Мияуры/М. Ш. Холов, Б. Джафари, М. Дж. Халикова, Ш. Р. Самихов, П. Лангер, **С. Ш. Сафаров**//Международная научно-практическая конференция ”Современные проблемы химии, применение и их перспективы”, Душанбе, **2021**, С. 104-109.
14. Синтез и ингибирующие свойства, новых производных бензотиазоло[3,2-а]пиримидин-4-онов/ М. Ш.Холов, Б. Джафари, М. Дж. Халикова, Х. З. Карамбахшов, А. А. Саидов, Ш. Р. Самихов, П. Лангер, **С.Ш. Сафаров**// Мамериалы научной конференции «Наука, техника и развитие инновационных технологий», посвященной 30-летнему юбилею независимости Туркменистана, Ашгабад, **2021**, -С. 485-487.
15. Получение 8-арил-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиримидин-4-она через реакцию кросс-сочетания Сузуки-Мияуры/М. Ш. Холов, Б. Джафари, М. Дж. Халикова, Ш. Р. Самихов, П. Лангер, **С. Ш. Сафаров**// Международная научно-практическая конференция ”Современные проблемы химии, применение и их перспективы”, Душанбе, 2021, -С. 104-109.

16. 7-Трифторметил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидины как селективные ингибиторы щелочных фосфатаз (APs) TNAP, IAP, эктонуклеосид-трифосфат-дигидрофосфогидролаз (ENTPDase1, 2, 3 и 8), дипептидилпептидазы-4 (DPP-4) / Б. Джафари, С.С.Мамадшоева, М.Дж. Халикова, А.А. Саидов, Ш.Р. Самихов, П. Лангер, **С.Ш. Сафаров** // Республиканская научно-практическая конференция «Роль лекарственных средств в охране здоровья населения». – Спецвыпуск журнала «Наука и инновации». - Душанбе, 2020. - №4. - С. 222-230.
17. Ингибирующие свойства 7-трифторметил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидинов / Б. Джафари, 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.
18. Синтез 2-аминозамещенных-7-трифторметил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / С. Мамадшоева, Б. Джафари, И. Наимов, М. Халикова, А. Саидов, Ш. Самихов, П. Лангер, **С. Сафаров** // Международная научно-практическая конференция «Роль женщин-ученых в развитии науки, инноваций и технологий». - Душанбе, 2020. - С. 26-28.
19. Синтез ингибиторов h-NPP1, h-NPP3 и исследование влияния закономерности их структуры на ингибирующую активность / Б. Джафари, М. Халикова, П. Лангер, А. Саидов, **С. Сафаров** // Республиканская конференция «Фармация – неотъемлемая часть социальной политики государства». Спецвыпуск журнала «Наука и инновации» - Душанбе, 2019. -№3. -С. 144-154.
20. 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.

Статьи, опубликованные в научных журналах, не входящих в список журналов, рекомендованных ВАК Российской Федерации:

21. Синтез и ингибирующие свойства, новых производных бензотиазоло[3,2-а]пиримидин-4-она/ М. Ш. Холов, Б. Джафари, М. Дж. Халикова, Х. З. Карамбахшов, Ш. Р. Самихов, П. Лангер, **С. Ш. Сафаров** // Вестник филиала МГУ в г. Душанбе. Серия естественных наук, 2020, №3(13) с. 46-55.
22. Получение 8-арил-2-метил-бензо[4,5]тиазоло[3,2-а]пиримидин-4-она через реакцию кросс-сочетания Сузуки – Мияуры/ М. Ш. Холов, Б.

- Джафари, М. Дж. Халикова, Ш. Р. Самихов, П. Лангер, **С. Ш. Сафаров**
// Вестник Таджикского национального университета, 2021, 1, -С. 180-192.
23. Получение 2-арил -7-трифторметил-5- оксо-5Н -1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина/ С. С. Мамадшоева, Б. Джафари, М. Дж. Халикова, И. З. Наимов, Ш. Р. Самихов, П. Лангер, **С. Ш. Сафаров**// Вестник Таджикского национального университета, 2020, 4, -С. 242-252.
24. 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. Джафари, С. Мамадшоева, М. Халикова, А. Саидов, Ш. Самихов, И. Рахимов, П. Лангер, **С. Сафаров** // Вестник Таджикского национального университета. -2020. -№2. - С. 177-186.
25. Куканиев, М.А. Синтез 2-амино-5-метил-7-оксо-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / М.А. Куканиев, **С. Сафаров** // Доклады АН Республики Таджикистан. -2006. -Т. 49. -№2. -С. 158-160.