

На правах рукописи



Кошелева Евгения Андреевна

**НЕКОТОРЫЕ РЕАКЦИИ ЦИКЛИЗАЦИИ НА ОСНОВЕ ОРТО-
ЗАМЕЩЕННЫХ 5-АМИНО-1-АРИЛ-1*H*-ПИРАЗОЛОВ И ИХ
ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ**

02.00.03 – органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени кандидата химических наук

Воронеж 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный университет».

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Шихалиев Хидмет Сафарович

Официальные оппоненты: Абрамов Игорь Геннадьевич,
доктор химических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Ярославский государственный
технический университет», химико-
технологический факультет, кафедра общей и
физической химии, заведующий

Тырков Алексей Георгиевич,
доктор химических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Астраханский государственный
университет», химический факультет, кафедра
органической, неорганической и
фармацевтической химии, профессор

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки «Институт органической
химии им. Н.Д. Зелинского Российской
академии наук»

Защита состоится «14» декабря 2016 г. в 14 часов 00 мин. на заседании диссертационного совета Д 212.038.19 при Воронежском государственном университете по адресу: 394018, Воронеж, Университетская площадь, 1, ауд. № 439.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Воронежского государственного университета и на сайте <http://www.science.vsu.ru>.

Автореферат разослан «20» октября 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
к.х.н., доцент

 Столповская Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Среди функционально замещенных пятичленных азаетероциклов особого внимания заслуживают производные орто-замещенных 5-аминопиразолов. Данные соединения являются хорошими исходными реагентами для синтеза физиологически активных пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов, пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов, пиразоло[3,4-*b*]пиридинов и конденсированных систем с их фрагментами. Выявлено, что структуры пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов аналогичны пуринам, обладающим потенциальной противоопухолевой активностью. Кроме того, они являются фармакологически значимыми в качестве гепатопротекторных, бронхолитических, спазмолитических, противовоспалительных, антигипергликемических, сосудорасширяющих, противоаллергических и антигипертензивных веществ, а также применяются в качестве пестицидов и красителей. Производные пиразолопиримидинов, пиразолопиридинов, содержащие функциональные группы, представляют интерес также как синтоны для синтеза других конденсированных и линейно связанных полигетероциклических систем. В связи с практической значимостью вышеупомянутых гетероциклических систем, разработка высокоселективных методов синтеза их производных, исследование механизмов реакций, строения продуктов является актуальной задачей.

Настоящая работа является частью плановых научных исследований, проводимых на кафедре органической химии Воронежского государственного университета при поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2014-2016 годы по проекту № 4.2100.2014/К.

Цель настоящего исследования заключалась в исследовании возможности построения новых гетероциклических систем на основе производных орто-замещенных 5-амино-1-арил-1*H*-пиразолов, а именно пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов, пиразоло[3,4-*b*]пиридинов, пиразоло[3,4-*b*]хинолинов, пиразолил-1,2,4-триазолов и конденсированных систем с их фрагментом; выявлении особенностей протекания изучаемых превращений.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- исследовать особенности взаимодействия орто-замещенных 5-амино-1-арил-1*H*-пиразолов с *N*-замещенными изатинами;
- предложить вероятные маршруты реакций *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамидина с гидразидами карбоновых кислот и замещенными анилинами;
- разработать новые методы синтеза пиразоло[3,4-*b*]пиридинов и пиразоло[3,4-*b*]хинолинов;
- изучить строение продуктов реакций [1-(арил)-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил]-гидразинов с одноатомными циклизующими агентами.

Научная новизна. В результате проведенных исследований разработан новый тип каскадной реакции 5-амино-1-арил-пиразол-4-карбонитрилов с *N*-замещенными изатинами и с пирролохинолиндионами, предложен возможный маршрут реакций такого типа. Показано, что взаимодействие 5-аминопиразол-4-карбонитрила и 5-

аминопиразол-4-карбоксамид с *N*-замещенными изатинами происходит с образованием продуктов различного строения.

Изучена возможность применения *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамина в реакциях с гидразидами карбоновых кислот для one-pot синтеза пиразоло[4,3-*e*]1,2,4-триазоло[1,5-*c*]пиримидинов, предложено использование микроволнового инициирования для оптимизирования условий данных реакций, а также доказан их вероятный маршрут с помощью LCMS-анализа.

Найдено, что синтез пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов в результате циклизации *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамина с замещенными анилинами, происходит через перегруппировку Димрота, доказан предполагаемый маршрут данной реакции с помощью LCMS-анализа. Кроме того, впервые применены условия микроволнового инициирования для изучаемой реакции.

Разработан новый способ получения пиразоло[3,4-*b*]пиридинов и пиразоло[3,4-*b*]хинолинов взаимодействием 5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов с алифатическими и циклическими 1,3-дикарбонильными соединениями в присутствии хлорида олова (IV).

Получены новые пиразолил-1,2,4-триазолы в результате реакций [1-(арил)-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил]-гидразинов с одноатомными циклизующими агентами, найдены предполагаемые маршруты синтезов и доказаны методом LCMS-анализа.

Практическая значимость работы. Разработан ряд новых препаративно доступных способов получения пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов, пиразоло[3,4-*b*]пиридинов, пиразоло[3,4-*b*]хинолинов, пиразолил-1,2,4-триазолов с потенциальной фармакологической активностью. Проведен первичный скрининг *in vitro* синтезированных спироиндол-3,6'-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов и *N*-R-2-[4-(метокси)-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил]анилинов на ингибирование серин-треониновых киназ, выявлено, что последние селективно ингибируют киназы JAK2 и JAK3 с коэффициентом ингибирования 42-49%.

Положения, выносимые на защиту:

-взаимодействие 5-аминопиразол-4-карбонитрила с *N*-замещенными изатинами происходит по типу каскадной реакции через образование и раскрытие спиропродуктов и приводит к *N*-R-2-[4-(метокси)-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил]анилинам;

-LCMS-анализ является удобным методом исследования вероятных маршрутов каскадных реакций 5-аминопиразол-4-карбонитрилов.

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались на V Всероссийской научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ» (Воронеж, 2013); III Всероссийской научной конференции (с международным участием): «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, 2014); VIII Всероссийской конференции с международным участием молодых ученых по химии «Менделеев 2014» (Санкт-Петербург, 2014); Всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2015); VI Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ» (Воронеж, 2016); X

Международной научно-практической конференции для молодых учёных «Фундаментальные и прикладные проблемы получения новых материалов: исследования, инновации и технологии» (Астрахань, 2016).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ: 4 статьи в российских и международных журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования научных результатов, 6 материалов и тезисов докладов симпозиумов и конференций различных уровней.

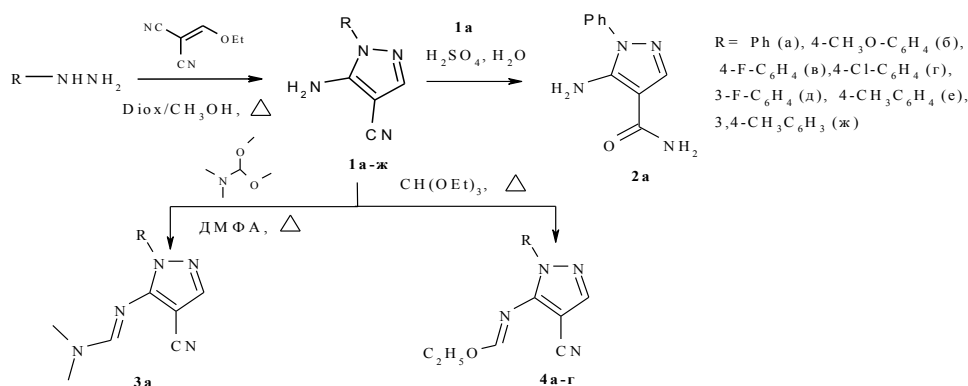
Объем и структура работы. Диссертация изложена на 175 страницах машинописного текста, включая введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы, список цитируемой литературы, содержит 41 рисунков, 23 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез исходных соединений

Для синтеза 5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов **1а-ж** использовались и усовершенствовались известные литературные методики. В качестве исходных реагентов использовались коммерчески доступные замещенные фенилгидразины и этоксиметиленмалонитрил, в качестве растворителя – абсолютный диоксан и метанол (схема 1). Амид 5-амино-1-фенил-1*H*-пиразоло-4-карбоновой кислоты **2а** синтезировали кислотным гидролизом орто-аминонитрила **1а**. Для получения *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамидина **3а** проводили реакцию аминопиразола **1а** с диметилацеталем *N,N*-диметилформамида при кипячении в ДМФА. Взаимодействием аминопиразолов **1а-г** с триэтилортоформиатом синтезированы этоксиметиленаминопроизводные **4а-г**.

Схема 1.

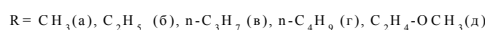
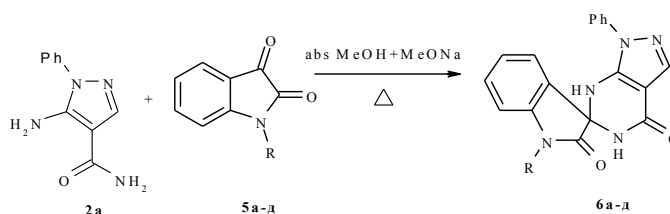


2. Взаимодействие производных 5-амино-1-фенил-1*H*-пиразола с *N*-замещенными изатинами и их гетероциклическими аналогами

Один из наиболее оптимальных подходов к синтезу производных пиримидинов основан на циклоконденсации ароматических и гетероциклических орто-амино-карбоксамидов с карбонильными соединениями. С целью получения новых производных пиразолопиримидинов, содержащих спиросочлененный изатиновый фрагмент в нашей работе исследовалась реакция 5-амино-1-фенил-1*H*-

пиразол-4-карбоксоамида **2a** с *N*-замещенными изатинами **5a-д**. Установлено, что при кипячении эквимольных количеств реагентов в метаноле в присутствии двукратного мольного избытка метилата натрия в течение 3-5 ч. протекает циклоконденсация, приводящая к образованию ранее неописанных 1-*R*-1'-фенил-1',7'-дигидроспиро[индол-3,6'-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин]-2,4'(1*H*,5'*H*)-дионов **6a-д** (схема 2). При этом важно отметить, что раскрытия пиррольного цикла, возможного для производных спироциклических оксиндолов в основной среде, не происходит даже при продолжительном (до 100 ч.) кипячении в этих условиях спиропродуктов **6a-д**.

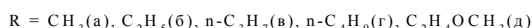
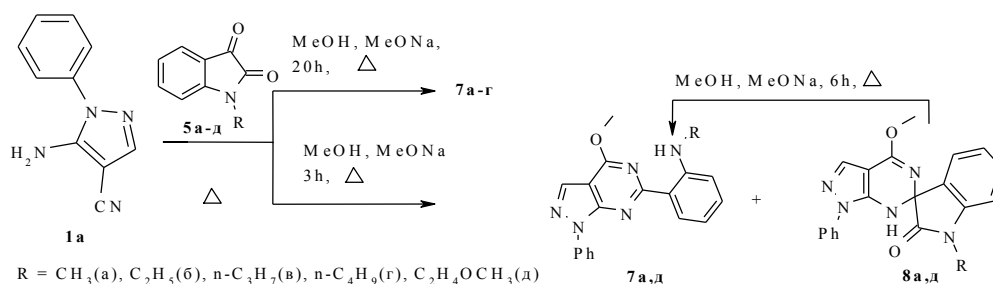
Схема 2.



Имеются сведения о том, что циклоконденсация различных *o*-аминонитрилов с циклогексаноном, приводящая к образованию спиропиримидинов, легко протекает при кипячении реагентов в спиртовой среде в присутствии алкоголята натрия, процесс протекает через образование соответствующих промежуточных амидов¹. Нами в подобное взаимодействие с изатинами **5a-д** был вовлечен 5-амино-1-фенил-1*H*-пиразол-4-карбонитрил **1a** в аналогичных условиях. Найдено, что в нашем случае вместо ожидаемых спиропродуктов **6a-г** с выходами достигающими до 75% образуются

N-*R*-2-[4-(метокси)-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил]анилины **7a-г** (схема 3). Причем, при проведении реакции в течении 3 ч, а не 20 ч, требуемых для полной конверсии реагентов, методом колоночной хроматографии из реакционной массы наряду с анилопиразоло[3,4-*d*]пиримидином **7a** (выход 37%) был выделен 1-метил-4'-(метокси)-1'-фенил-1',7'-дигидроспиро[индол-3,6'-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин]-2(1*H*)-он **8a** (выход 38%). Было установлено, что полученный спироиндолопиразоло[3,4-*d*]пиримидин **8a** при кипячении в течение 6 ч в системе MeOH / MeONa с выходом 78 % превращается в анилопиразоло[3,4-*d*]пиримидин **7a**.

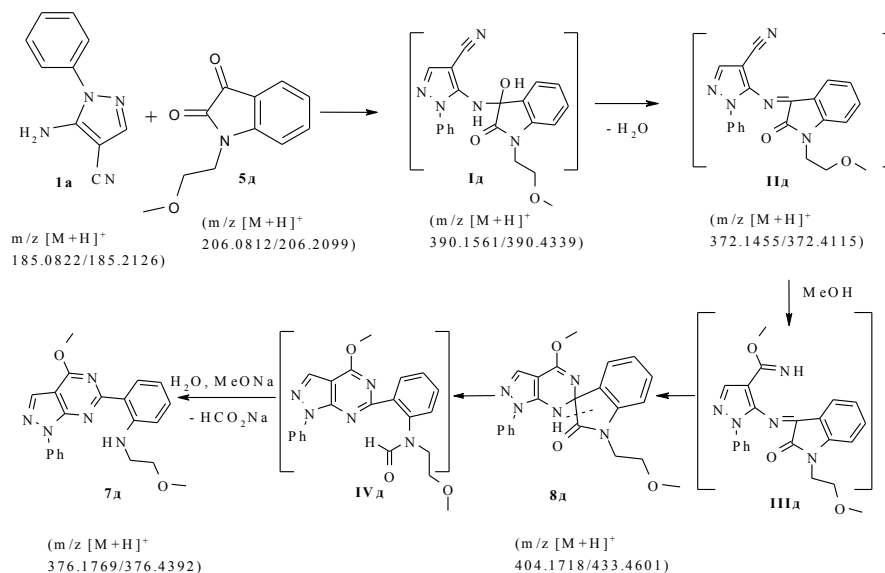
Схема 3.



¹ *Guanosine analogs. Synthesis of nucleosides of certain 3-substituted 6-aminopyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4(5*H*)-ones as potential immunotherapeutic agents / R.J. Bontems [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. – 1990. – V. 33, N.8. – P. 2174–2178.*

С целью установления маршрута каскадной реакции изатинов **5а-д** и пиразола **1а** был проведен LC-ESI-MS-анализ в комбинации с УФ-детектированием состава реакционной массы. Исходя из полученных данных (методом детектирования молекулярных масс интермедиатов и конечных продуктов), можно предложить следующий предполагаемый маршрут этой каскадной реакции (здесь и далее: m/z для $[M+H]^+$, вычислено / найдено) (схема 4).

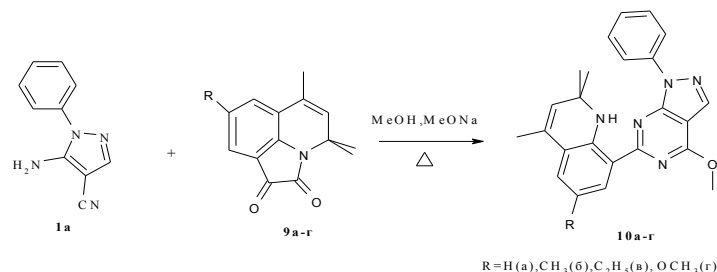
Схема 4.



Очевидно, что на первом этапе происходит атака β -карбонильной группы изатина **5** аминогруппой пиразола **1а**, с последовательным образованием промежуточных соединений **I** и **II**, алкоголиз нитрильной группы последнего дает структуру **III**, которая циклизуется в спиро[индол-3,6'-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин **8**. Полученный спиропродукт **8** в присутствии основания претерпевает раскрытие пиррольного цикла, что приводит к неустойчивому интермедиату **IV**, при гидролизе которого образуется соединение **7**.

В связи с полученными выше результатами было интересно изучить реакцию 5-амино-1-фенил-1*H*-пиразол-4-карбонитрила **1а** с пирролохинолиндионами **9а-г**. В этом случае в ходе реакции возможно образование пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов с фармакофорным гидрохинолиновым фрагментом в пиримидиновом кольце.

Схема 5.



Взаимодействие проводили в аналогичных условиях при кипячении эквимольных количеств реагентов в системе MeOH / MeONa. Установлено, что и в этом случае протекает вышеописанная каскадная реакция и образуются 6-замещенные-8-(4-метокси-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил)-2,2,4,6-триметил-1,2-дигидрохинолины **10а-г**. Очевидно, что реакция происходит по β -

карбонильной группе пирролохинолиндииона **9**, что соответствует литературным данным и нашим полученным результатам.

Точным доказательством структуры полученного 6-метокси-8-(4-метокси-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил)-2,2,4,6-триметил-1,2-дигидрохинолина **10г** является применение рентгеноструктурного анализа, который в том числе показал наличие внутримолекулярной водородной связи между атомом азота 3 пиримидинового цикла и атомом водорода NH-группы гидрохинолинового фрагмента (рис.1.).

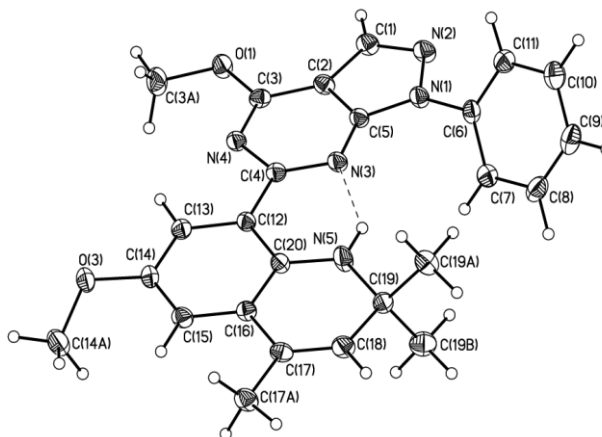


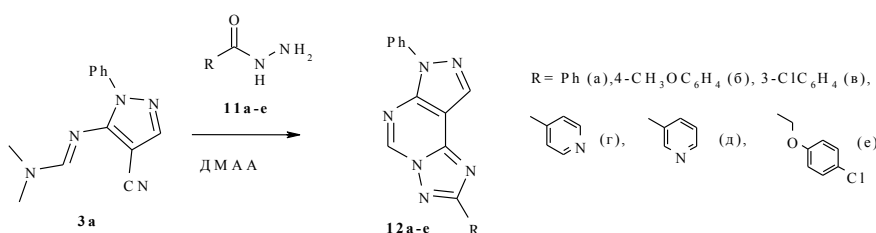
Рис.1. Общий вид молекулы **10г** в представлении неводородных атомов вероятностными эллипсоидами атомных смещений ($\rho=0.5$). Внутримолекулярная водородная связь показана пунктиром.

Возможно эта внутримолекулярная водородная связь обуславливает большую термодинамическую устойчивость соединений **10** по сравнению с их спиропредшественниками **6а-д**.

3. Взаимодействие *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамида с гидразидами карбоновых кислот

Общим ранее описанным синтетическим подходом к гетероциклической системе пиразоло[4,3-*e*]1,2,4-триазоло[1,5-*c*]пиримидина является последовательное аннелирование пиримидинового и триазольного фрагментов к пиразольному циклу посредством взаимодействия имидоформиатов **4** с гидразидами карбоновых кислот. Нами изучена возможность применения *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамида **3а** (синтетического аналога имидоформиатов, в отличие от которых являющегося устойчивым при хранении и не требующем при получении дополнительной хроматографической очистки) в реакциях с гидразидами карбоновых кислот **11а-е** для *one-pot* синтеза пиразоло[4,3-*e*]1,2,4-триазоло[1,5-*c*]пиримидинов **12а-е**.

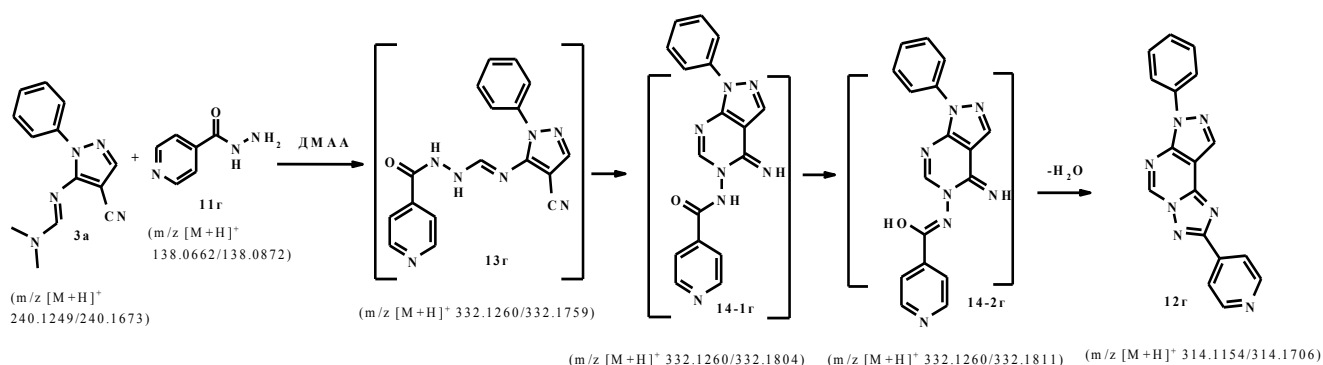
Схема 6.



На примере гидразида бензойной кислоты **11a** был проведен мониторинг условий проведения реакции гидразидов (ароматических, гетероциклических карбоновых и ароилксиуксусной) кислот **11a-e** с *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамидом **3a**. Установлено, что из всех изученных растворителей (диоксан / *p*-TSA (катализатор), CH₃COOH, ДМФА, ДМАА) наиболее оптимальным оказалось применение ДМАА, что позволяет существенно сократить время протекания реакций по сравнению с литературными данными для имидоформиатов при сравнимых (или выше) выходах целевых веществ. Нами также установлено, что ускорение времени конденсации до 0,5 часов возможно с помощью микроволнового инициирования реакции.

Синтетический маршрут каскадной реакции пиразола **1a** с гидразидами кислот **11a-e** подтвержден методом LC-ESI-MS-анализа и представлен на схеме 7. На первой стадии происходит отщепление диметиламина и образование *N'*-[(4-циано-1-фенил-1*H*-пиразол-5-ил)имино]метилгидразидов карбоновых кислот **13**, которые далее претерпевают спонтанную гетероциклизацию, приводящую к *N'*-(4-имино-1-фенил-1,4-дигидро-5*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-5-ил)амидам **14-1**. Последние через таутомерное превращение в **14-2** и отщепление воды образуют аннелированный триазольный цикл пиразоло[4,3-*e*][1,2,4]триазоло[1,5-*c*]пиримидинов **12a-e**.

Схема 7.

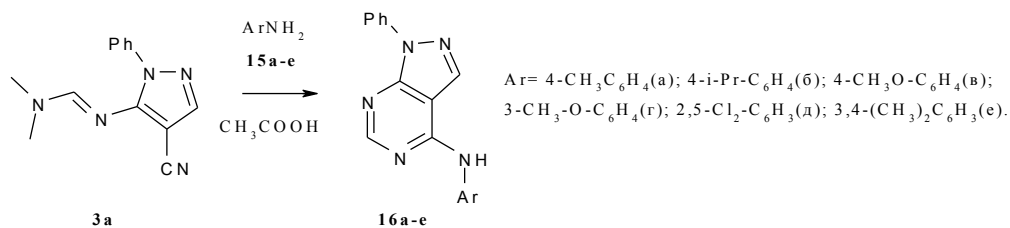


4. Взаимодействие *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамидина с замещенными анилинами

В литературе приведены противоречивые данные о строении продуктов реакции имидоформиатов **4** с алифатическими и ароматическими аминами. Кроме этого механизм реакции, включающий перегруппировку Димрота, который упоминают некоторые авторы, является предположительным.

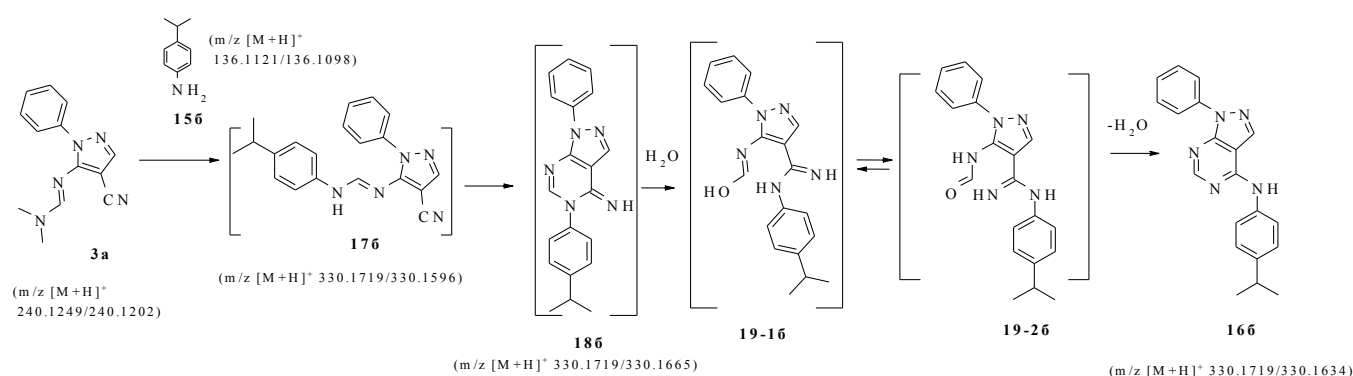
Нами в настоящем исследовании разработан новый подход к синтезу *R*-(1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)-аминов **16a-e**, основанный на использовании в реакции с анилинами **15a-e** вместо имидоформиатов **4** более доступного и устойчивого *N,N*-диметилформамидина **3a** (схема 8).

Схема 8.



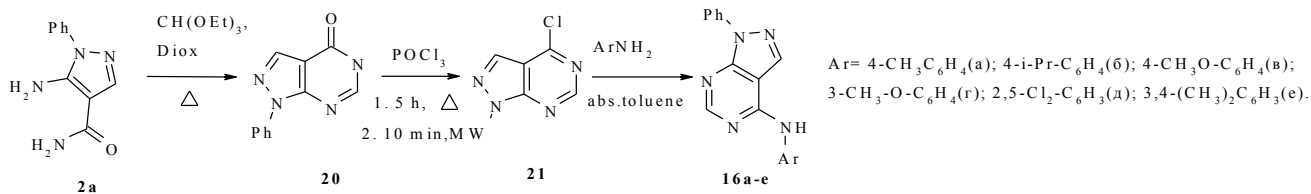
Для исследуемой реакции на примере **3a** с *p*-изопропиланилином **15b** проводился мониторинг условий: кипячение в уксусной кислоте, перемешивание в уксусной кислоте при комнатной температуре, нагревание в уксусной кислоте при MW иницировании. При нагревании в уксусной кислоте по данным ТСХ уже через 3 минуты после начала реакции появлялись пятна продуктов, и в конечном результате через 2 часа кипячения образовывалась неразделимая смесь соединений. Для изучаемого процесса проводился LC-ESI-MS-анализ состава реакционной массы. По данным проведенного анализа установлено, что спустя 3 минуты после начала реакции в пробе присутствуют побочные продукты, которые образуются в результате ацилирования уксусной кислотой *4*-изопропил-анилина **15b** и *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамина **3a**. Установлено, что исследуемое взаимодействие *N'*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамина **3a** с замещенными анилинами **15a-e** оптимально проводить в условиях перемешивания в уксусной кислоте при комнатной температуре в течение 15-25 часов, при этом целевые продукты **16a-e** с хорошими выходами и с незначительным содержанием побочных примесей выпадают в осадок после завершения реакции. На основании данных LC-ESI-MS-анализа был предложен вероятный каскадный маршрут реакции **3a** с замещенными анилинами **15a-e**, который включает пять стадий (схема 9).

Схема 9.



На первой стадии при атаке анилином диметиламиногруппы пиразола **3a** образуется интермедиат **17**, который за счет внутримолекулярной нуклеофильной атаки ариламиногруппы по нитрильной группе циклизуется до 1-фенил-3-арил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-иминов **18**. Далее происходит раскрытие пиримидинового цикла при нуклеофильной атаке гидроксила по второму атому углерода с образованием интермедиатов **19-1** и **19-2** и амидиновая перегруппировка (перегруппировка Димрота). В конечном итоге образуются целевые продукты **16a-e**. Данный маршрут однозначно подтверждается наличием в хроматограммах 3-х пиков веществ с одинаковыми молекулярными массами: интермедиатов **17,18** и целевого продукта **16**.

Также мы впервые применили использование микроволнового иницирования для данного процесса, которое сокращает время реакции до 0,5 часов и на 10-15 процентов повышает выходы продуктов реакции. Структуры соединений **16a-e** подтверждены нами, помимо спектральных методов, встречным синтезом на основе литературных и собственных подходов по схеме 10.



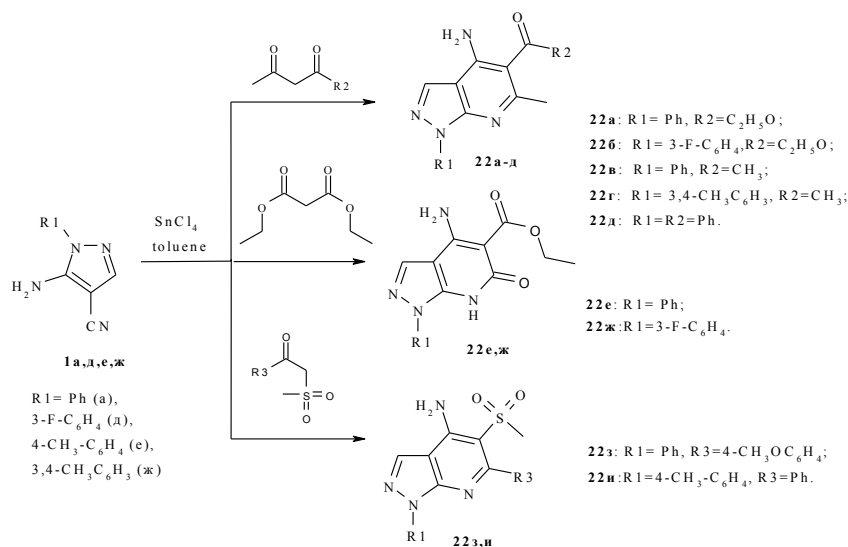
В нашей работе разработан более удобный способ получения 1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-она **20** в результате взаимодействия вицинального аминоконида **2a** и триэтилортоформиата при кипячении в диоксане в течение 2,5 часов. Такой способ имеет преимущество в том, что значительно сокращается время реакции и упрощается выделение продукта из реакционной массы. Хлорирование **20** осуществлялось и при конвекционном нагревании, и при микроволновой активации. В результате установлено, что в последнем случае время полной конверсии реагентов сокращалось до 10 минут, и выход продукта увеличивался на 10%. Последняя стадия проводилась в условиях, аналогичных литературным данным, взаимодействием хлорпиримидина **21** с ариламинами в абсолютном толуоле. По данным ТСХ, температуре плавления и спектральным данным полученные пиразоло[3,4-*d*]пиримидинамины **16a-e** идентичны синтезированным из *N*'-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамида **3a** с замещенными анилинами **15a-e**.

5. Взаимодействие 5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов с метиленактивными карбонильными соединениями

Одним из синтетических подходов к построению пиразоло[3,4-*b*]пиридинов посредством аннелирования пиридинового кольца к замещенным пиразолам является реакция *N*1-замещенных 5-аминопиразолов с 1,3-диэлектрофилами, как бифункциональными реагентами, например с 1,3-кетозэфирами, а также симметричными 1,3-дикетонами. Реакции обычно проводят с использованием кислотного катализа: уксусной кислоты, соляной кислоты, хлорида цинка и других кислот Льюиса. В нашей работе проведено исследование реакций 5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов **1a, д, е, ж** в присутствии кислот Льюиса с метиленактивными карбонильными соединениями, а именно, с ацетоуксусным эфиром, ацетилацетоном, бензоилацетоном, малоновым эфиром, 2-метилсульфонил-1-фенилэтаном и 1-(4-метоксифенил)-2-(метилдиметиленсульфонил)этаном (схема 11). Установлено, что из всех использованных кислот Льюиса (AlCl₃, ZnCl₂, SnCl₄), а также *p*-толуолсульфокислоты оптимальным является применение SnCl₄. В присутствии остальных катализаторов наблюдалось либо чрезмерное осмоление реакционной смеси, либо низкая конверсия исходных реагентов. В результате нами были получены при использовании в качестве реагентов ацетоуксусного эфира, ацетилацетона и бензоилацетона - 4-амино-6-метил-1-*R*1-1*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридины **22a-д**, при использовании малонового эфира - 4-амино-6-оксо-1-*R*1-6,7-дигидро-1*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридины **22e, ж** и при использовании сульфонилацетонов - 5-метансульфонил-6-*R*3-1-*R*1-1*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-иламины **22з, и**. Следует отметить, что при взаимодействии аминитрила **1a** с

несимметричным β -дикетоном - бензоилацетоном теоретически возможно образование двух региоизомеров - 1-(4-амино-1,6-дифенил-1*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-5-ил)-этанона или (4-амино-6-метил-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-5-ил)-фенилметанона за счет циклизации по карбонилу бензоильной группы или метильной группы, соответственно. На основании данных ЯМР¹H спектроскопии мы установили, что продуктом является именно последний изомер **22д**, так как в спектре сигналы протонов метильной группы в виде синглета наблюдаются именно в области 2,21 м.д., характерной для метилпиридинов, а не ацетилпиридинов.

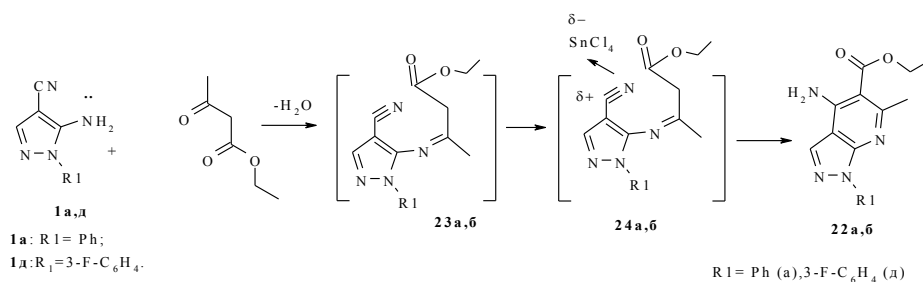
Схема 11.



Механизм взаимодействия орто-аминонитрилов с метленактивными карбонильными соединениями в присутствии кислот Льюиса, в том числе хлорида олова, является до сих пор дискуссионным. Из литературных данных известно, что хлорид олова (IV), как катализатор, активирует нитрильную группу орто-аминонитрила и карбонильную группу 1,3-дикарбонильного соединения. Происходит комплексообразование, увеличивается электрофильность атома углерода, что способствует дальнейшей атаке нуклеофильным реагентом.

Возможный маршрут реакции на примере взаимодействия аминонитрилов **1а,д** с ацетоуксусным эфиром начинается с формирования связи углерод-азот и образования соединения Шиффа **23**, которое далее циклизуется по нитрильной группе до целевого продукта **22а,б** (схема 12.).

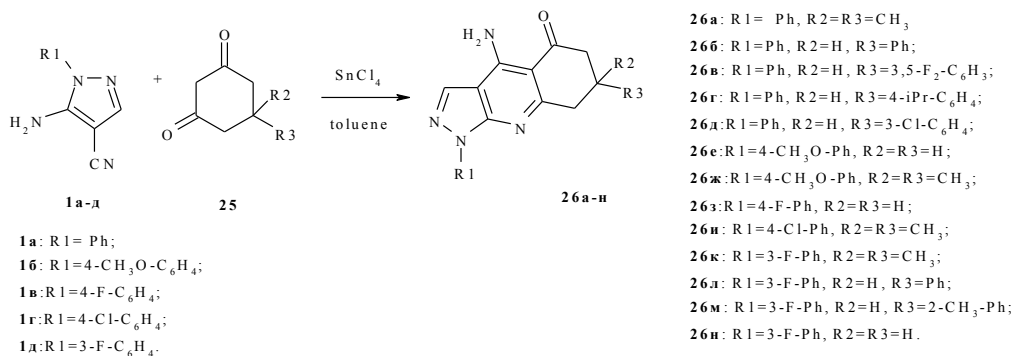
Схема 12.



Хотя в нашей работе выделить промежуточное соединение Шиффа **23** нам не удалось, мы предполагаем, что при кипячении эквимольных количеств реагентов в абсолютном толуоле с насадкой Дина-Старка в отсутствие катализаторов первой стадией каскадного процесса является конденсация карбонильной и аминогрупп.

Нами также изучена реакция 5-амино-1-арил-1*H*-пиразоло-4-карбонитрилов **1а-д** с циклическими дикетонами - 5-*R*²-5-*R*³-циклогексан-1,3-дикетонами **25**. Синтезы осуществлялись в аналогичных условиях и в результате с высокими выходами (71-83%) были получены потенциально физиологически активные 1,6,7,8-тетрагидро-5*H*-пиразоло[3,4-*b*]хинолиноны **26а-н** (схема 13.).

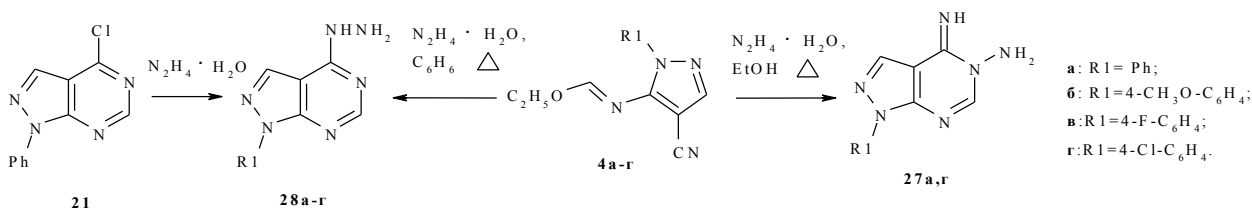
Схема 13.



6. Синтез и некоторые превращения [1-(арил)-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил]-гидразинов

Известно, что реакция имидоформиатов **4а-г** с гидразин-гидратом в зависимости от условий может приводить к образованию 4-имино-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов **27а,г** или пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил-гидразинов **28а-г** (схема 14.). По данным ЯМР¹H спектроскопии однозначно судить о строении структур **27а,г** и **28а,г**, являющихся изомерными, не возможно, и убедительного доказательства этому в литературе не приводится. В нашей работе были синтезированы 4-имино-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин **27а** и пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил-гидразины **28а-г** по литературным методикам, чтобы провести их дальнейшую функционализацию с помощью реакций циклизации и получить новые гетероциклические системы, обладающие потенциальной физиологической активностью.

Схема 14.

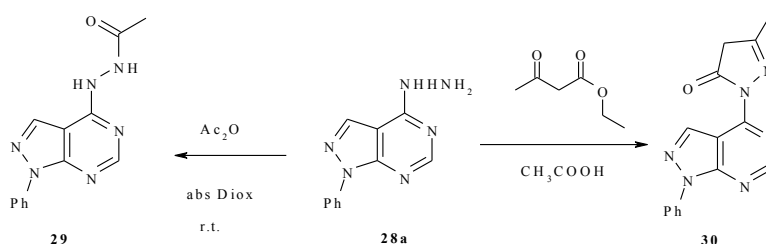


Структуры полученных продуктов были подтверждены помимо спектральных методов встречным синтезом: гидразин **28а** был получен из 4-хлор-1-фенил-1*H*-

пиразоло[3-4-*d*]пиримидина **21** его взаимодействием с избытком гидразин-гидрата при комнатной температуре.

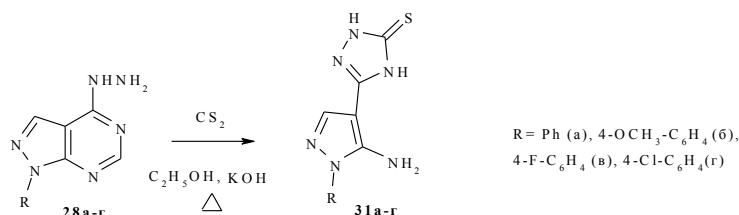
Строение гидразина **28a** нами также подтверждено химическим путем: реакцией ацилирования по гидразиновой группе ацетилацетатом с образованием *N*¹-(1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)ацетогидразида **29** и реакцией циклизации с ацетоуксусным эфиром при кипячении в уксусной кислоте с выделением 5-метил-2-(1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)-2,4-дигидропиразол-3-она **30** (схема 15.).

Схема 15.



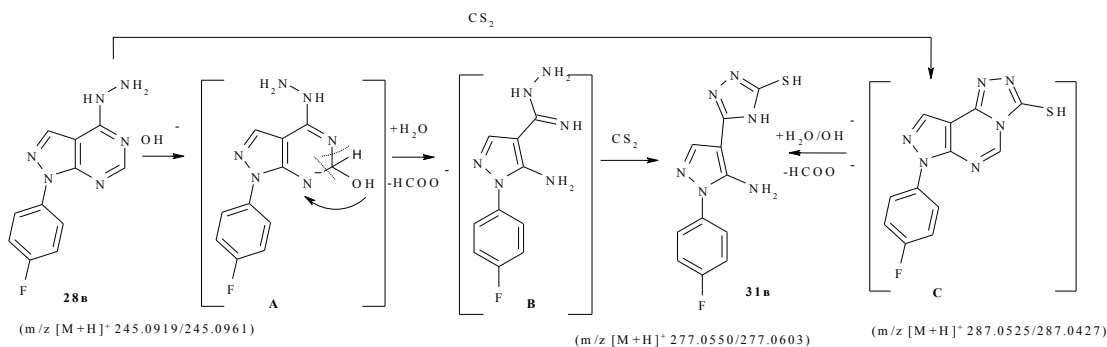
При исследовании реакции гидразинов **28a-г** с CS₂ установлено, что проведение процесса при кипячении в этаноле в присутствии гидроксида калия, вместо ожидаемых [1,2,4]триазоло[1,5-*c*]пиримидин-2-тионов, образуются 5-(5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-ил)-2,4-дигидро-[1,2,4]триазоло-3-тионы **31a-г** (схема 16).

Схема 16.



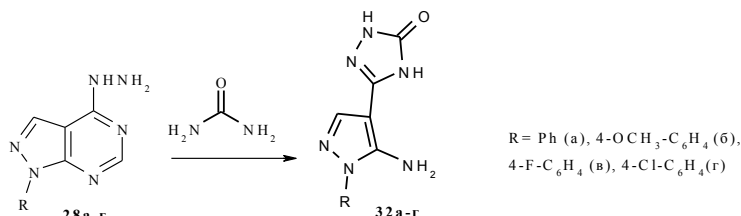
По результатам проведенного LC-ESI-MS-анализа состава реакционной массы, мы предложили 2 возможных маршрута изучаемой реакции (схема 17.). Согласно первому, сначала происходит атака гидроксильной группы по СН-группе шестичленного цикла гидразина **28в** с образованием интермедиата **A**, который с раскрытием пиримидинового цикла превращается в аминогуанидин **B**. Далее **B** взаимодействует с сероуглеродом, и замыкается триазольный цикл с образованием конечного продукта **31в**. По второму предложенному нами маршруту, при действии сероуглерода на исходный гидразин **28в** формируется интермедиат **C**, раскрывается пиримидиновый цикл, и выделяется конечный продукт **31в**.

Схема 17.



В продолжение нашего исследования мы исследовали взаимодействие [1-(арил)-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил]-гидразинов **28а-г** с мочевиной при сплавлении реагентов и установили, что в ходе этой реакции образуются ранее не описанные в литературе 5-(5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-ил)-2,4-дигидро-3*H*-1,2,4-триазол-3-оны **32а-г** (схема 18.).

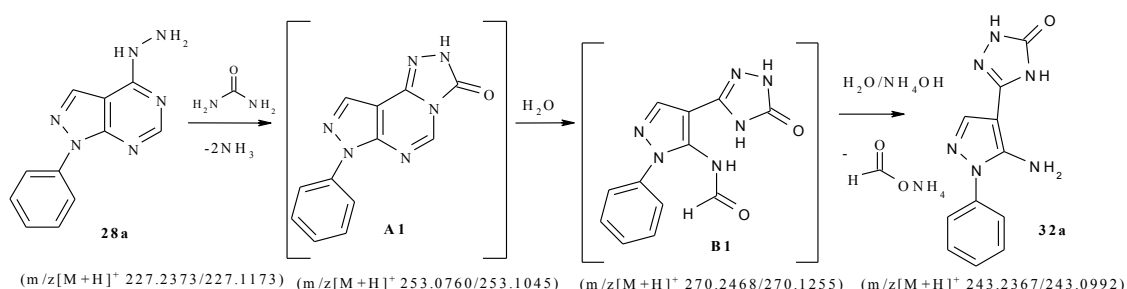
Схема 18.



По данным ТСХ, ЯМР¹H-спектроскопии и LCMS-анализа пиразолил-1,2,4-триазолонны **32б-г**, кроме **32а**, содержат около 40-50% примесей. В связи с тем, что продукты нерастворимы практически ни в чем, частично растворимы в ДМФА, их не удалось очистить ни перекристаллизацией, ни колоночной хроматографией.

На схеме 19 приведен вероятный маршрут изучаемой реакции, который был подтвержден методом LC-ESI-MS-анализа. Вначале происходит циклоконденсация **28а** с карбамидом, замыкается триазольный цикл с формированием интермедиата **A1**, далее в результате гидролиза имеет место разрыв связи углерод-азот в пиримидиновом цикле с образованием формилпроизводного **B1**, и, наконец, в присутствии гидроксид-ионов образуется пиразолотриазолон **32а**.

Схема 19.



Строение всех синтезированных соединений подтверждено методами ИК-, ЯМР-спектроскопии и хроматомасс-спектрометрии².

7. Исследование биологической активности синтезированных соединений

Чтобы найти возможность практического применения синтезированных гетероциклов, мы провели их виртуальный скрининг с помощью программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), разработанной в ИБМХ РАМН (г. Москва <http://www.way2drug.com/PASSOnline/>). Была рассчитана вероятная биологическая активность из более, чем 4000 ее видов, для всех полученных соединений. В результате выявлено, что высокую биологическую активность, рассчитанную с вероятностью >70%, проявляют 33 соединения.

² Результаты исследований получены на оборудовании ЦКП НО ВГУ

Помимо этого был проведен первичный скрининг *in vitro* спироиндол-3,6'-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов **6а,г,д**, *N*-пропил-2-[4-(метокси)-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил]анилина **7в** и 1-[2-(метокси)этил]-4'-(метокси)-1'-фенил-1',7'-дигидроспиро[индол-3,6'-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин]-2(1*H*)-она **8д** на ингибирование серин-треониновых киназ методом иммуноферментного (ELISA) и гомогенного флуоресцентного анализа (HTRF). В результате проведенного эксперимента установлено, что из исследуемой панели серин-треониновых киназ соединения **7в** и **8д** селективно ингибируют киназы JAK2 и JAK3 с коэффициентом ингибирования 42-49%

ВЫВОДЫ

1. Показано, что производные 5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов являются идеальными исходными реагентами для синтеза новых функциональных производных пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов, пиразоло[3,4-*b*]пиримидинов, пиразоло[3,4-*b*]хинолинов, пиразолил-1,2,4-триазолов и конденсированных систем с их фрагментами.
2. Установлено, что взаимодействие 5-аминопиразол-4-карбонитрила и 5-аминопиразол-4-карбоксамидов с *N*-замещенными изатинами происходит с образованием *N*-R-2-[4-(метокси)-1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил]анилинов и 1-R-1'-фенил-1',7'-дигидроспиро[индол-3,6'-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин]-2,4'(1*H*,5'*H*)-дион, соответственно. Предложен вероятный маршрут такого типа реакций.
3. Предложено применение микроволнового иницирования для *one-pot* синтеза пиразоло[4,3-*e*]1,2,4-триазоло[1,5-*c*]пиримидинов. Исследован возможный маршрут изучаемой реакции методом LCMS-анализа.
4. Доказано, что взаимодействие *N*-(4-циано-2-фенил-2*H*-пиразол-3-ил)-*N,N*-диметилформамидина с замещенными анилинами происходит через перегруппировку Димрота.
5. Взаимодействием 5-амино-1-арил-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов с алифатическими и циклическими 1,3-дикарбонильными соединениями в присутствии хлорида олова (IV) возможно построение гетероциклических систем пиразоло[3,4-*b*]пиримидина и пиразоло[3,4-*b*]хинолина.
6. Впервые осуществлен синтез ранее не описанных пиразолил-1,2,4-триазолов реакцией [1-(арил)-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил]-гидразинов с сероуглеродом и мочевиной. Установлены предполагаемые маршруты данного взаимодействия.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. Вознюк (Кошелева) Е.А. Получение производных пиразоло[3,4-*c*]пиразола и пиразоло[3,4-*d*]пиримидина на основе орто-замещенных 5-аминопиразолов / Е.А. Вознюк (Кошелева), Х.С. Шихалиев, Л.Ф. Пономарева, М.А. Презент // Вестник ВГУ, Серия: Химия Биология Фармация. – 2013. – №1. – С. 69–71.
2. A new reagent for the synthesis of pyrazolo[4,3-*e*][1,2,4]triazolo[1,5-*c*]pyrimidines / K.S. Shikhaliev, E.A. Kosheleva, L.F. Ponomaryeva, M. Yu. Krysin // European chemical bulletin. – 2015. – V.4, N.10. – P.460–462.

3. Кошелева Е.А. Синтез *N*-замещенных 1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-аминов / Е.А. Кошелева, Х.С. Шихалиев, Л.Ф. Пономарева // Вестник ВГУ, Серия: Химия Биология Фармация. – 2016. – №2. – С. 7–9.
4. Кошелева Е.А. Синтез замещенных пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов взаимодействием производных 5-амино-1-фенил-1*H*-пиразола с *N*-замещенными изатинами / Е.А. Кошелева, С.М. Медведева, Х.С. Шихалиев, Ф.И. Зубков, Е.А. Рыжкова, М.А. Презент // Химия гетероциклических соединений. – 2016. – Т.52, №8.– С.578–582.
5. Вознюк (Кошелева) Е.А. Синтез потенциально биологически активных гетероциклических систем на основе нитрила и амида 5-амино-1-фенил-1*H*-пиразол-4-карбоновой кислоты / Е.А. Вознюк (Кошелева), Х.С. Шихалиев, Л.Ф. Пономарева // V Всероссийская научно-методическая конференция «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ», Воронеж, 2013: материалы конференции – Воронеж, 2013. – С.233–235.
6. Вознюк (Кошелева) Е.А. Новые каскадные реакции в синтезе производных 2,7-дифенил-7*H*-пиразоло[4,3-*e*][1,2,4]триазоло[1,5-*c*]пиримидинов / Е.А. Вознюк (Кошелева), Х.С. Шихалиев, Л.Ф. Пономарева // III Всероссийская научная конференция (с международным участием): «Успехи синтеза и комплексообразования», Москва, 2014: тезисы докладов – Москва, 2014. – С.134.
7. Вознюк (Кошелева) Е.А. Новые производные 2,7-дифенил-7*H*-пиразоло[4,3-*e*][1,2,4]триазоло[1,5-*c*]пиримидинов / Е.А. Вознюк (Кошелева), Х.С. Шихалиев, Л.Ф. Пономарева // VIII Всероссийская конференция с международным участием молодых ученых по химии «Менделеев 2014», Санкт-Петербург, 2014: тезисы докладов – Санкт-Петербург, 2014. – С. 35–36.
8. Синтез *N*-замещенных 1-фенил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-аминов / Х.С. Шихалиев, Е.А. Кошелева, Л.Ф. Пономарева, М.В. Пополитова // Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки», Уфа, 2015: тезисы докладов – Уфа, 2015. – С. 93–94.
9. Взаимодействие производных 5-амино-1-фенил-1*H*-пиразола с замещенными изатинами / Е.А. Кошелева, Х.С. Шихалиев, Л.Ф. Пономарева, С.М. Медведева // VI Международная научно-методическая конференция «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ», Воронеж, 2016: материалы конференции – Воронеж, 2016. – С.341–344.
10. Взаимодействие пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов с одноатомными циклизующими агентами / Е.А. Кошелева, Х.С. Шихалиев, Л.Ф. Пономарева, Ю.А. Иванова // X Международная научно-практическая конференция для молодых учёных «Фундаментальные и прикладные проблемы получения новых материалов: исследования, инновации и технологии», Астрахань, 2016: тезисы докладов – Астрахань, 2016. – С. 49–51.

В изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования научных результатов, представлены работы №№ 1 - 4.