

Синтез и противовирусная активность неаннелированных тетразолилпиримидинов

Владимир А. Островский^{1*}, Геворг Г. Данагулян^{2,3}, Ольга М. Нестерова¹,
Юлия Н. Павлюкова¹, Владимир В. Толстяков¹, Ольга С. Зарубина¹,
Павел А. Слепухин⁴, Яна Л. Есаулкова⁵, Анна А. Мурылева⁵,
Владимир В. Зарубаев⁵, Ростислав Е. Трифонов¹

¹ Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
Московский пр., 26, Санкт-Петербург 190013, Россия; e-mail: va_ostrovskii@mail.ru

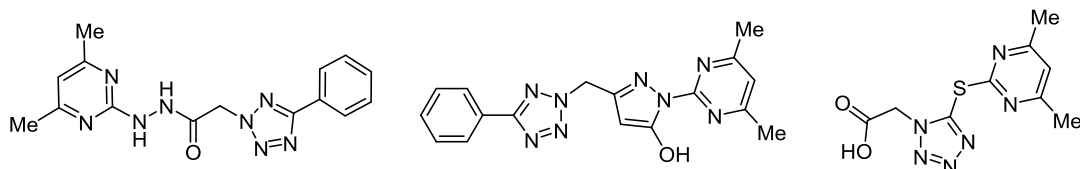
² Российско-Армянский (Славянский) университет,
ул. Овсепя Эмина, 123, Ереван 0051, Армения; e-mail: gevorg.danagulyan@rau.am

³ Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии
Национальной академии наук Республики Армения,
пр. Азатутян, 26, Ереван 0014, Армения; e-mail: gdanag@email.com

⁴ Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН,
ул. Софьи Ковалевской, д. 22/20, Екатеринбург 620108, Россия; e-mail: slepukhin@ios.uran.ru

⁵ Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
ул. Мира, 14, Санкт-Петербург 197101, Россия; e-mail: zarubaev@gmail.com

Поступило 25.02.2021
Принято 8.03.2021



Синтезированы неаннелированные тетразолилпиримидины, в структуре которых гетероциклические фрагменты разделены гидразинокарбонилметильной, метилпиразолилльной группами или атомом серы. Некоторые из данных соединений проявили умеренную активность *in vitro* в отношении вируса гриппа А H1N1. Индекс селективности противогриппозного действия {5-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)сульфанил]-1H-тетразол-1-ил}уксусной кислоты, обладающей очень низкой цитотоксичностью, оказался в два раза выше индекса селективности препарата сравнения – римантадина.

Ключевые слова: пиримидины, тетразолы, биологическая активность, линкеры, свойства, синтез, строение.

Актуальность разработки новых противовирусных препаратов, как правило, определяется наличием или отсутствием профилактических вакцин против вновь возникающих инфекций, а также способностью вирусов ускользать от иммунного ответа организма и вырабатывать лекарственно-устойчивые штаммы.¹ Современная ситуация резко обострила проблему доступности лекарственных средств против опасных разновидностей вируса гриппа и коронавируса SARS-CoV-2, вызывающего COVID-19. Решение этой проблемы определяется эффективностью поиска новых лекарственных средств для лечения гриппа и ассоциированных с ним инфекционных заболеваний. В терапии данного вирусного заболевания используются соединения различной структуры (рис. 1). Особенный интерес в этом контексте вызывают препараты, в состав

активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) которых входят фрагменты гетероциклических соединений – азолов и азинов.

В 2014 г. в качестве лекарственного средства для лечения гриппа в Российской Федерации зарегистрирован риамилловир (Триазавирин).² Недавно показано, что Триазавирин эффективен для лечения новой коронавирусной инфекции и при этом хорошо переносится больными с COVID-19.³ АФИ Триазавирин, 7-(метилсульфанил)-3-нитро[1,2,4]триазоло[5,1-с]триазин-4(1H)-он, принадлежит к ряду аннелированных азолазинов, что косвенно указывает на перспективу поиска новых средств для химиотерапии гриппа в рядах биядерных ("гибридных") гетероциклических соединений на основе азолов и азинов. Производные тетразола и пиримидина входят в число наиболее востребованных скаффолдов

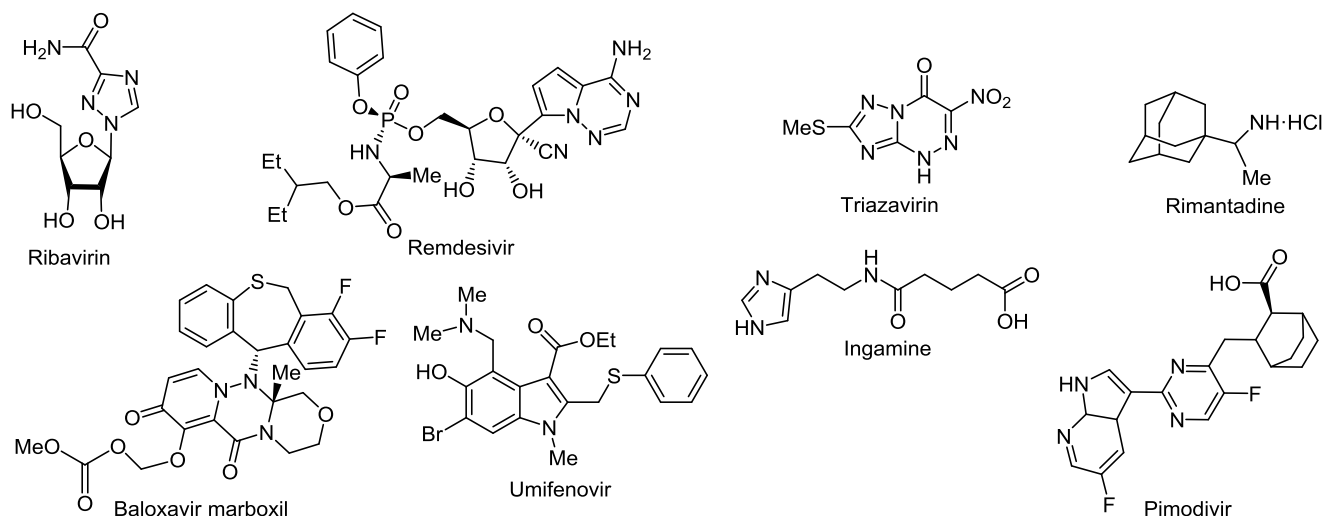


Рисунок 1. Активные фармацевтические ингредиенты лекарственных препаратов, применяемых в химиотерапии гриппа.

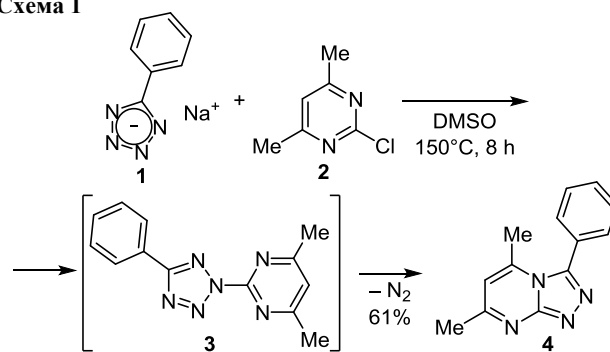
в современной медицинской химии.^{4,5} В частности, было показано, что некоторые производные тетразола проявляют выраженную активность против риновирусов^{6a} и разных штаммов вируса гриппа А.^{6b} В связи с этим представляет интерес синтез и исследование биологической активности биядерных гетероциклических соединений, содержащих в своей структуре как тетразолилный, так и пиримидильный фрагменты. В случае аннелированных тетразолилпиримидинов следует учитывать возможность азидазотетразольной изомерии.^{7,8} Для некоторых представителей данного ряда это равновесие может быть сдвинуто в сторону открытоцепочечной азидной формы, обладающей значительной цитотоксичностью.

В настоящей работе синтезирована серия неаннелированных тетразолилпиримидинов, а также исследованы их структура и противогриппозная активность. В качестве линкерных групп, соединяющих тетразолилный и пиримидиновый гетероциклы, были выбраны фрагменты различной природы: метиленовой, гидразинилкарбонилметильной, пиразолилной, а также атом серы. Данный набор линкеров позволит оценить перспективность тех или иных структурных типов с точки зрения их биологической активности.

На первом этапе работы мы попытались синтезировать 4,6-диметил-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)пиримидин (**3**) прямым гетарилрованием натриевой соли 5-фенилтетразола (**1**) 4,6-диметил-2-хлорпиримидином (**2**). Однако выделить из реакционной смеси целевой тетразолилпиримидин **3** не удалось. Вместо неаннелированного тетразолилпиримидина **3** образовалось соединение, свойства которого оказались идентичными свойствам 5,7-диметил-3-фенил[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидина (**4**), описанного ранее.⁹ Возможной причиной обнаруженного феномена является термолитическая рециклизация интермедиата **3**, сопровождаемая элиминированием молекулы N₂ и образованием аннелированного триазолилпиримидина **4** (схема 1).

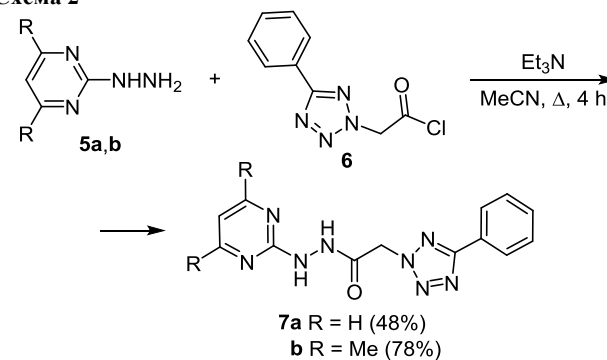
С учетом приобретенного опыта мы сосредоточили усилия на синтезе неаннелированных тетразолил-

Схема 1



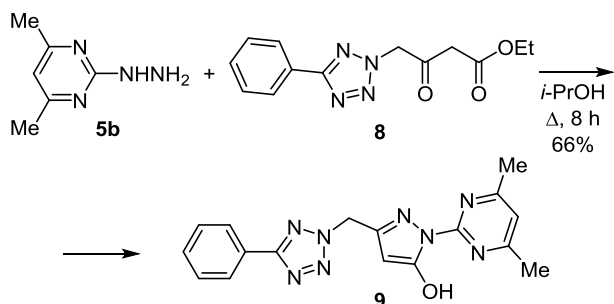
пиримидинов, в структуре которых гетероциклические фрагменты соединены линкерными группами – гидразинокрбонилметильной, пиразолилной, а также атомом серы. Для формирования связующего мостика в целевых соединениях применяли классические методы, такие как ацилирование галогенангидридами карбоновых кислот терминального атома азота группы NHNH₂, гидразинолиз сложных эфиров и замещение атома хлора в соответствующих гетарилах на атом серы под действием гетарилтионов.¹⁰ Гидразиды **7a,b** получали ацилированием 2-гидразинилпиримидина (**5a**) или 2-гидразинил-4,6-диметилпиримидина (**5b**) хлорангидридом 5-фенилтетразол-2-илуксусной кислоты (**6**) (схема 2).

Схема 2



1-(4,6-Диметилпиримидин-2-ил)-3-[(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)метил]-1*H*-пиразол-5-ол (**9**) был получен гидразинолизом этил-3-оксо-4-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)бутаноата (**8**) 2-гидразинил-4,6-диметилпиримидином (**5b**) (схема 3). Согласно данным РСА, пиразольный фрагмент соединения **9** существует в ароматической форме – в положении 5 присутствует гидроксильная группа. Общий вид молекул соединений **7b** и **9**, по данным РСА, приведен на рис. 2.

Схема 3



По результатам РСА, соединения **7b** и **9** представляют собой неплоские системы. Торсионный угол $\text{HN}(5)\text{N}(4)\text{H}$ гидразинового фрагмента составляет 110° . Атом азота при пиримидиновом цикле имеет конфигурацию тригональной пирамиды. Фенильный заместитель лежит практически в плоскости азольного фрагмента, в то время как плоскости гетероциклов развернуты под значительным (81°) углом друг к другу. Особенности упаковки молекул в кристалле определяются наличием межмолекулярных водородных связей с участием протонов гидразинового фрагмента. Особенностью структуры соединения **9** является ее существование в форме 5-гидрокси-пиразола, а не 2,3-дигидропиразол-3-она. При этом конформация соединения оказывается фиксированной внутримолекулярной водородной связью $\text{O}(1)\cdots\text{N}(6)$ с расстоянием $\text{O}(1)\cdots\text{N}(6)$ 2.599 Å. Вместе с тем тетразольный и пиразольный фрагменты молекулы при тетраэдрическом атоме углерода оказываются развернуты друг к другу под углом 88.4° , что делает конформацию данного соединения пропеллерообразной. Структурной особенностью кристалла является упаковка молекул в виде стопок вдоль оси $0a$ таким образом, что пиримидиновые фрагменты соседних молекул формируют межмолекулярные π - π -контакты с расстоянием на 0.05 Å меньше, чем сумма ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов данных фрагментов.

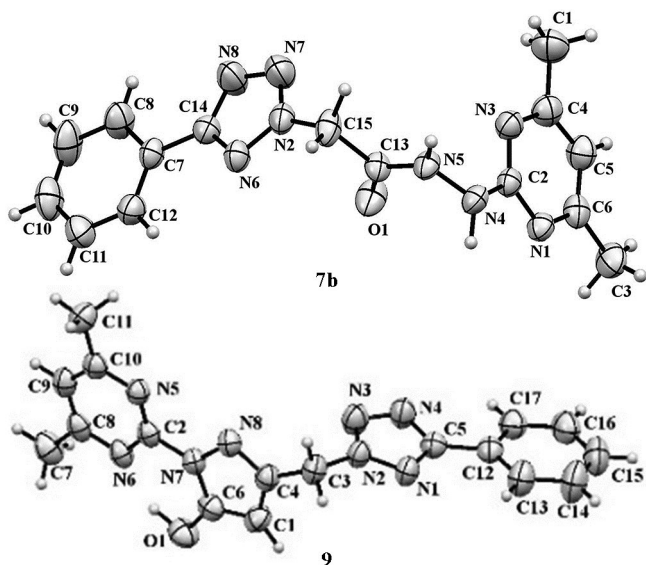
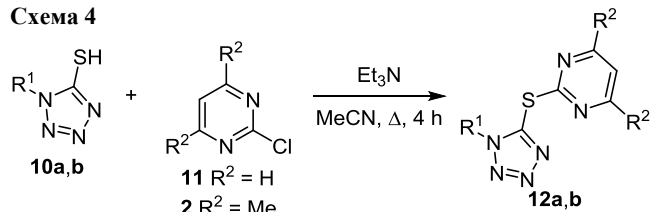


Рисунок 2. Молекулярные структуры соединений **7b** и **9** в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью.

кулярной водородной связью $\text{O}(1)\cdots\text{N}(6)$ с расстоянием $\text{O}(1)\cdots\text{N}(6)$ 2.599 Å. Вместе с тем тетразольный и пиразольный фрагменты молекулы при тетраэдрическом атоме углерода оказываются развернуты друг к другу под углом 88.4° , что делает конформацию данного соединения пропеллерообразной. Структурной особенностью кристалла является упаковка молекул в виде стопок вдоль оси $0a$ таким образом, что пиримидиновые фрагменты соседних молекул формируют межмолекулярные π - π -контакты с расстоянием на 0.05 Å меньше, чем сумма ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов данных фрагментов.

2-[(1-Фенил-1*H*-тетразол-5-ил)сульфанил]пиримидин (**12a**) получали гетарилированием 1-фенил-5-сульфанилтетразола (**10a**) 2-хлорпиримидином (**11**). Соответственно {5-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)сульфанил]-1*H*-тетразол-1-ил}уксусную кислоту (**12b**) синтезировали из 1-карбоксиметил-5-сульфанилтетразола (**10b**) и 2-хлор-4,6-диметилпиримидина (**2**) (схема 4).

Схема 4



12 a $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{H}$ (46%), **b** $R^1 = \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $R^2 = \text{Me}$ (66%)

Прогноз активности неаннелированных тетразолилпиримидинов **7a,b**, **9** и **12a,b**, выполненный с помощью компьютерной системы PASS,¹¹ указывает на невысокую (Pa 0.28–0.33) вероятность проявления противовирусной активности соединениями данной выборки. Однако низкие значения фактора Pa не всегда являются приговором, так как могут косвенно указывать на новизну изучаемого объекта.¹² В настоящей работе мы провели исследование противовирусной активности *in vitro* неаннелированных тетразолилпиримидинов **7a,b**, **9** и **12a,b** в лаборатории экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Исследование выполняли с использованием культуры клеток MDCK (ATCC CCL-34) в отношении вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). В табл. 1 представлены значения 50% цитотоксической концентрации (CC_{50}), 50% ингибирующей концентрации (IC_{50}) и индекс селективности SI – отношение CC_{50} к IC_{50} . В качестве препарата сравнения использовали римантадин. Перспективными считали соединения, индекс селективности которых составлял 10 и выше.

По табл. 1 видно, что соединения **7a,b**, **9** и **12a** не проявили активности против вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). Лучшие результаты получены для соединения **12b**, SI которого вдвое больше, чем у препарата сравнения (римантадин), но, в отличие от него, соединение **12b** обладает существенно более низкой цитотоксичностью. Этот результат косвенно указывает на перспективу дальнейшего изучения соединений этой

Таблица 1. Противовирусные свойства неаннелированных тетразолилпиримидинов **7a,b**, **9** и **12a,b** в отношении вируса гриппа А Н1N1 в культурах клеток MDCK

Соединение	CC ₅₀ , мкг/мл	IC ₅₀ , мкг/мл	SI
7a	>300	>300	1
7b	>300	>300	1
9	53.9	>30	2
12a	>300	170	2
12b	>300	31	10
Римантадин	60	12	5

группы и расширенного поиска веществ с выраженной противовирусной активностью в ряду неаннелированных тетразолилпиримидинов, гетероциклические фрагменты которых разделены атомом серы. Дальнейшей разработки заслуживают синтез и исследование противовирусной активности аналогов соединения **12b**, содержащих различные функциональные группы у атома азота в положении 1 тетразольного цикла. Важно, что вирус гриппа, использованный в исследовании, является устойчивым к римантадину (SI 5). Результаты исследования тетразолилпиримидина **12b** свидетельствуют о том, что данное соединение может обладать иным, по сравнению с производными адамантана, механизмом взаимодействия с мишенью. Это делает изучаемую группу соединений перспективной в качестве прототипов противогриппозных препаратов с альтернативным механизмом действия по сравнению с существующими средствами терапии гриппа.

Таким образом, неаннелированные тетразолилпиримидины могут быть рекомендованы к исследованиям *in vivo* противовирусной активности.

Экспериментальная часть

ИК спектры записаны на приборе Shimadzu 8400-FTIR в таблетках KBr. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на спектрометре Bruker Avance III (400 и 100 МГц соответственно) в ДМСО-*d*₆ (соединения **5a,b**, **6**, **7a,b**, **8**, **9**, **12a,b**) и CDCl₃ (соединение **4**) при 25°C, внутренний стандарт ТМС. Элементный анализ выполнен на элементном анализаторе Leco CHNS-932. Масс-спектры записаны на квадрупольном времяпролетном масс-спектрометре сверхвысокого разрешения Bruker maXis impact (ионизация электрораспылением, растворитель MeOH). Температуры плавления определены на приборе Büchi M-560 со скоростью нагрева 1°C/мин в интервале плавления. Контроль за индивидуальностью полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Macherey-Nagel Alugram Xtra SIL G, проявление в УФ свете (254 нм).

Физико-химические свойства 1-фенил-5-сульфанилтетразола (**10a**) и других коммерческих реагентов, растворителей и материалов соответствуют данным, приведенным в каталогах Sigma-Aldrich, Merck, Fluka. Натриевая соль 5-фенилтетразола (**1**),¹³ 4,6-диметил-2-хлорпиримидин (**2**),¹⁴ 1-карбоксиметил-5-сульфанилтетразол (**10b**)¹⁵ и 2-хлорпиримидин (**11**)¹⁶ получены по известным или модифицированным методам.

Свойства соединений **1**, **2**, **10b** и **11** соответствуют приведенным ранее.^{13–16}

5,7-Диметил-3-фенил[1,2,4]триазоло[4,3-*a*]пиримидин (4). К суспензии 1.0 г (6.0 ммоль) натриевой соли 5-фенилтетразола (**1**) в 20 мл ДМСО при перемешивании добавляют 0.86 г (6.0 ммоль) 2-хлор-4,6-диметилпиримидина (**2**). Реакционную смесь нагревают до 150°C и выдерживают в течение 8 ч. Охлаждают и отфильтровывают выпавший осадок, сушат в токе воздуха. Выход 0.81 г (61%), бесцветные кристаллы, т. пл. 259°C (с разл., PhMe–EtOH, 1:1) (т. разл. 258°C (PhMe–EtOH, 1:1)⁹). *R*_f 0.47 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3048 (C–H), 1630 (C₆H₅), 1518 (C₄N₂H), 1448(CN₄), 764 (C₄N₂H). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 2.17 (3H, с, 5-CH₃); 2.56 (3H, с, 7-CH₃); 6.83 (1H, с, H пиримидин); 7.51–7.65 (5H, м, H Ph). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 19.9 (C-5 CH₃); 24.8 (C-7 CH₃); 111.7 (C-6); 128.3 (C Ph); 129.7 (C Ph); 130.5 (C Ph); 131.5 (C Ph); 144.9 (C-3); 145.8 (C-9); 154.8 (C-7); 164.6 (C-5). Найдено, *m/z*: 225.1135 [M+H]⁺. C₁₃H₁₃N₄. Вычислено, *m/z*: 225.1135. Найдено, %: C 69.22; H 5.28; N 24.80. C₁₃H₁₂N₄. Вычислено, %: C 69.62; H 5.39; N 24.98.

2-Гидразинилпиримидин (5a). К раствору 1.6 г (14.0 ммоль) 2-хлорпиримидина (**11**) в 15 мл EtOH при 10°C и при перемешивании добавляют 1.1 мл (23 ммоль) N₂H₄·H₂O. Выпавший через несколько часов осадок отфильтровывают и сушат в токе воздуха. Выход 1.23 г (80%), бесцветные кристаллы, т. пл. 112–113°C (EtOH–H₂O, 1:1) (т. пл. 112–113°C (EtOH–H₂O, 1:1)¹⁷). *R*_f 0.11 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3255 (N–H вал), 1602, 1577, 798 (C₄N₂H деф). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 3.52 (1H, уш. с, NH); 6.58–6.60 (1H, м, H Ar); 6.97 (2H, уш. с, NH₂); 8.27–8.29 (2H, м, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 110.9 (C-5); 158.3 (C-2); 164.8 (C-4,6). Найдено, *m/z*: 111.0665 [M+H]⁺. C₄H₇N₄. Вычислено, *m/z*: 111.0665. Найдено, %: C 44.28; H 5.12; N 51.02. C₄H₆N₄. Вычислено, %: C 44.63; H 5.49; N 50.88.

2-Гидразинил-4,6-диметилпиримидин (5b). К раствору 3.6 г (25 ммоль) 4,6-диметил-2-хлорпиримидина (**2**) в 40 мл EtOH при 10°C и при перемешивании добавляют 6 мл (124 ммоль) N₂H₄·H₂O. Выпавший через несколько часов осадок отфильтровывают и сушат в токе воздуха. Выход 2.4 г (70%), бесцветные кристаллы, т. пл. 164–165°C (EtOH–H₂O, 1:1) (т. пл. 165°C (EtOH–H₂O, 1:1)¹⁸). *R*_f 0.54 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3307 (N–H, вал), 1371 (C–CH₃), 1596, 1467, 794 (C₄N₂H деф). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 2.22 (6H, с, 2CH₃); 3.36 (1H, уш. с, NH); 6.38 (1H, с, H Ar); 7.88 (2H, уш. с, NH₂). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 23.9 (2CH₃); 109.7 (C-5); 164.8 (C-2); 167.2 (C-4,6). Найдено, %: C 52.33; H 7.80; N 40.54. C₆H₁₀N₄. Вычислено, %: C 52.16; H 7.30; N 40.55.

Хлорангидрид 5-фенилтетразол-2-илуксусной кислоты (6). К 6.0 г (29 ммоль) предварительно измельченной 5-фенилтетразол-2-илуксусной кислоты добавляют 6.75 г (32 ммоль) измельченного PCl₅. Реакционную смесь нагревают на кипящей водяной бане (аллонж с хлоркальциевой трубкой) до гомогени-

зации среды и прекращения выделения газа. По окончании реакции к горячей реакционной смеси добавляют 75 мл кипящего гексана и охлаждают содержимое колбы до 10°C. Хлорангидрид **6** отфильтровывают, промывают на фильтре охлажденным гексаном, сушат в течение 1 ч при пониженном давлении над P₂O₅ в pistolетной сушилке, обогрев парами CHCl₃. Выход 6.43 г (96%), бесцветные кристаллы, т. пл. 103–104°C (т. пл. 103–104°C (гексан)¹⁹). ИК спектр, ν , см⁻¹: 2985, 2945 (C–H), 1777 (C=O), 1450, 1278, 1148, 1073, 1039, 1022, 923 (CN₄), 729, 688 (C₆H₅). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 5.84 (2H, с, CH₂); 7.53–7.49 (3H, м, H Ph); 8.17–8.14 (2H, м, H Ph). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 60.7 (CH₂); 126.6 (C Ph); 127.2 (C Ph); 129.2 (C Ph); 131.0 (C Ph); 166.2 (C тетразол); 166.5 (C=O). Найдено, %: C 48.31; H 3.20; N 25.60. C₉H₇ClN₄O. Вычислено, %: C 48.55; H 3.17; N 25.17.

N'-(Пиримидин-2-ил)-2-(5-фенил-2H-тетразол-2-ил)-ацетогидразид (**7a**), смесь изомеров *E/Z* в соотношении 3.6:1. К раствору 1.0 г (9.08 ммоль) 2-гидразинилпиримидина (**5a**) в 20 мл MeCN при перемешивании добавляют 0.97 г (9.60 ммоль) Et₃N. Реакционную смесь охлаждают до 0–5°C и при перемешивании добавляют 2.0 г (8.98 ммоль) хлорангидрида 5-фенилтетразол-2-илуксусной кислоты (**6**). Реакционную смесь кипятят в течение 4 ч. По окончании растворитель удаляют при пониженном давлении. Остаток промывают дистиллированной H₂O (2 × 20 мл) и сушат в токе воздуха. Выход 1.3 г (48%), бесцветные кристаллы, т. пл. 235–236°C (DMF–H₂O, 1:1). R_f 0.52 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3278 (NH вал), 3033 (C–H вал), 1689 (C=O вал), 1448, 1043 (CN₄), 819, 788 (C₄N₂H деф). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 5.64* (2H, с, CH₂); 5.66** (2H, с, CH₂); 6.80–6.82** (1H, м, H пиримидин); 6.95–6.97* (1H, H пиримидин); 7.55–7.60** (5H, м, H Ar); 8.02–8.09* (5H, м, H Ar); 8.40–8.42** (2H, м, H Ar); 8.53–8.54* (2H, м, H Ph); 9.17** (1H, с, NHC₄N₂H₄); 9.32* (1H, с, NHC₄N₂H₄); 9.84* (1H, с, NHC(O)); 10.45** (1H, с, NHC(O)). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 53.9* (CH₂); 54.1** (CH₂); 113.3** (C-5 пиримидин); 114.4* (C-5 пиримидин); 126.8 (C Ph); 127.2 (C Ph); 129.8 (C Ph); 131.1 (C Ph); 158.6 (C-2 пиримидин); 163.0** (C=O); 163.2* (C=O); 164.6** (C-4,6 пиримидин); 164.7* (C-4,6 пиримидин); 169.4 (C тетразол). Найдено, *m/z*: 297.1219 [M+H]⁺. C₁₃H₁₃N₈O. Вычислено, *m/z*: 297.1207. Найдено, %: C 52.77; H 4.12; N 37.49. C₁₃H₁₂N₈O. Вычислено, %: C 52.70; H 4.08; N 37.82.

N'-(4,6-Диметилпиримидин-2-ил)-2-(5-фенил-2H-тетразол-2-ил)ацетогидразид (**7b**), смесь изомеров *E/Z* в соотношении 2.9:1. К раствору 0.96 г (4.31 ммоль) хлорангидрида 5-фенилтетразол-2-илуксусной кислоты (**6**) в 20 мл MeCN добавляют при перемешивании 0.44 г (4.31 ммоль) Et₃N и 0.6 г (4.35 ммоль) 2-гидразинил-4,6-диметилпиримидина (**5b**) в 20 мл MeCN. Реакционную смесь кипятят в течение 4 ч. При пониженном давлении удаляют половину объема растворителя, остав-

шую смесь охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают, промывают на фильтре дистиллированной H₂O (2 × 20 мл) и сушат в токе воздуха. Выход 1.1 г (78%), бесцветные кристаллы, т. пл. 228°C (DMF–H₂O, 1:1). R_f 0.54 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3307 (N–H вал), 3033 (C–H вал), 1683 (C=O вал), 1450, 1041 (CN₄), 819, 788 (C₄N₂H деф). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 2.26** (6H, с, 2CH₃); 2.33* (6H, с, 2CH₃); 5.61* (2H, с, CH₂); 5.62** (2H, с, CH₂); 6.57** (1H, с, H пиримидин); 6.71* (1H, с, H пиримидин); 7.57–7.60 (3H, м, H Ph); 8.06–8.09 (2H, м, H Ph); 8.90** (1H, с, NHC₄N₂H₄); 9.09* (1H, с, NHC₄N₂H₄); 9.79* (1H, с, NHC(O)); 10.40** (1H, с, NHC(O)). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 23.9** (2CH₃); 24.0* (2CH₃); 53.9* (CH₂); 54.1** (CH₂); 111.9** (C-5 пиримидин); 112.9* (C-5 пиримидин); 126.8 (C Ph); 127.3 (C Ph); 129.8 (C Ph); 131.1 (C Ph); 162.9 (C-2 пиримидин); 164.5** (C=O); 164.7 (C тетразол); 167.6** (C-4,6 пиримидин); 168.1 (C-4,6 пиримидин); 169.2* (C=O). Найдено, *m/z*: 325.1530 [M+H]⁺. C₁₅H₁₇N₈O. Вычислено, *m/z*: 325.1520. Найдено, %: C 55.43; H 4.82; N 34.25. C₁₅H₁₆N₈O. Вычислено, %: C 55.55; H 4.97; N 34.55.

Этил-3-оксо-4-(5-фенил-2H-тетразол-2-ил)бутаноат (8). К суспензии 10.2 г (61 ммоль) натриевой соли 5-фенилтетразола (**1**) в 150 мл MeCN при 80°C и перемешивании добавляют 10.0 г (61 ммоль) этил-4-хлор-3-оксобутаноата и 0.01 г (0.044 ммоль) триэтилбензил-аммония хлористого. Реакционную смесь выдерживают при той же температуре и перемешивании в течение 3 ч и охлаждают до комнатной температуры. Выпавший осадок отфильтровывают, сушат в токе воздуха. Выход 10.65 г (56%), бежевые кристаллы, т. пл. 75–76°C (PhMe–EtOH, 1:1). R_f 0.8 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1715, 1749 (C=O), 1530 (C₆H₅), 1452, 1044 (CN₄). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д. (*J*, Гц): 1.22 (3H, т, *J* = 6.9, CH₃); 3.92 (2H, с, 2-CH₂); 4.15 (2H, к, *J* = 6.9, CH₂); 6.10 (2H, с, 4-CH₂); 7.56–7.59 (2H, м, H Ph); 8.06–8.10 (3H, м, H Ph). Спектр ЯМР ¹³C, δ , м. д.: 14.4 (CH₃); 46.6 (C-2); 61.2 (CH₂); 61.3 (C-4); 126.8 (C Ph); 127.1 (C Ph); 129.8 (C Ph); 131.1 (C Ph); 164.7 (C тетразол); 166.8 (C(1)=O); 195.9 (C(3)=O). Найдено, *m/z*: 297.0958 [M+Na]⁺. C₁₃H₁₄N₄NaO₃. Вычислено, *m/z*: 297.0958. Найдено, %: C 56.89; H 5.01; N 20.27. C₁₃H₁₄N₄O₃. Вычислено, %: C 56.93; H 5.15; N 20.43.

1-(4,6-Диметилпиримидин-2-ил)-3-[(5-фенил-2H-тетразол-2-ил)метил]-1H-пирозол-5-ол (9). К раствору 0.58 г (4.23 ммоль) 2-гидразинил-4,6-диметилпиримидина (**5b**) в 50 мл *i*-PrOH добавляют 1.16 г (4.23 ммоль) этил-3-оксо-4-(5-фенил-2H-тетразол-2-ил)бутаноата (**8**). Реакционную смесь кипятят в течение 8 ч. При пониженном давлении удаляют половину объема растворителя, оставшуюся смесь охлаждают до комнатной температуры и добавляют 20 мл 10% водного NaOH. Выпавший осадок отфильтровывают, фильтрат подкисляют HCl до pH 2–3. Выпавший осадок отфильтровывают, сушат в токе воздуха. Выход 0.97 г (66%), бежевые кристаллы, т. пл. 175–176°C (PhMe). R_f 0.58 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1448, 1040

* Здесь и далее в экспериментальной части одной звездочкой (*) обозначены сигналы *Z*-изомера, двумя звездочками (**) обозначены сигналы *E*-изомера.

(CN₄), 784 (C₄N₂H деф). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.50 (6H, с, 2CH₃); 5.71 (1H, с, H Ar); 5.93 (2H, с, CH₂); 7.28 (1H, с, H Ar); 7.56–7.58 (3H, м, H Ph); 8.06–8.08 (2H, м, H Ph); 12.27 (1H, с, OH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 23.8 (2CH₃); 51.8 (CH₂); 87.0 (C-4 пиразол); 118.2 (C-5 пиримидин); 126.8 (C Ph), 127.3 (C Ph); 129.8 (C Ph); 131.1 (C Ph); 147.4 (C-3 пиразол); 156.6 (C-2 пиримидин); 158.1 (C-5 пиразол); 164.7 (C тетразол); 168.8 (C-4,6 пиримидин). Найдено, *m/z*: 349.1527 [M+H]⁺. C₁₇H₁₇N₈O. Вычислено, *m/z*: 349.1520. Найдено, %: C 58.35; H 4.71; N 32.36. C₁₇H₁₆N₈O. Вычислено, %: C 58.61; H 4.63; N 32.17.

2-[(1-Фенил-1*H*-тетразол-5-ил)сульфанил]пиримидин (12a). К раствору 1.5 г (8.42 ммоль) 1-фенил-1*H*-тетразол-5-тиола (**10a**) в 10 мл MeCN при перемешивании добавляют 0.85 г (8.42 ммоль) Et₃N и 1.1 г (9.60 ммоль) 2-хлорпиримидина (**11**). Реакционную смесь кипятят в течение 4 ч. При пониженном давлении удаляют половину объема растворителя, остаток реакционной смеси охлаждают и добавляют 50 мл H₂O. Осадок отфильтровывают, сушат в токе воздуха. Выход 1.0 г (46%), бежевые кристаллы, т. пл. 76°C (PhMe–EtOH, 1:1). R_f 0.17 (CCl₄–*i*-PrOH, 4:1, 25°C). ИК спектр, ν, см⁻¹: 1554 (C₆H₅), 1444, 1045 (CN₄), 765 (C₄N₂H деф). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 7.30–7.32 (1H, м, H пиримидин); 7.56–7.57 (3H, м, H Ph); 7.69–7.71 (2H, м, H пиримидин); 8.58–8.59 (2H, м, H Ph). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 119.8 (C-5); 125.7 (C Ph); 130.0 (C Ph); 131.2 (C Ph); 133.9 (C Ph); 148.3 (C-4,6); 159.3 (C-2); 167.1 (C тетразол). Найдено, *m/z*: 257.0616 [M+H]⁺. C₁₁H₉N₆S. Вычислено, *m/z*: 257.0604. Найдено, %: C 51.59; H 3.28; N 32.44; S 12.62. C₁₁H₈N₆S. Вычислено, %: C 51.55; H 3.15; N 32.79; S 12.51.

{5-[(4,6-Диметилпиримидин-2-ил)сульфанил]-1*H*-тетразол-1-ил}уксусная кислота (12b). К раствору 1.0 г (6.25 ммоль) 2-(5-сульфанил-1*H*-тетразол-1-ил)уксусной кислоты (**10b**) в 25 мл MeCN при перемешивании добавляют 1.27 г (12.57 ммоль) Et₃N и 0.89 г (6.24 ммоль) 2-хлор-4,6-диметилпиримидина (**2**). Реакционную смесь кипятят в колбе с обратным холодильником при перемешивании в течение 4 ч. Растворитель удаляют при пониженном давлении. Маслянистый остаток растворяют в 20 мл H₂O, подкисляют HCl до pH 2–3. Экстрагируют EtOAc (3 × 20 мл). Объединенный экстракт промывают H₂O, сушат над MgSO₄. EtOAc удаляют при пониженном давлении. Выход 1.1 г (66%), бежевые кристаллы, т. пл. 92°C (PhMe). R_f 0.2 (CCl₄–*i*-PrOH 4:1, 25°C). ИК спектр, ν, см⁻¹: 2995 (O–H), 1743 (CH₂–COOH), 1423, 1037 (CN₄ вал), 883 (C₄N₂H деф). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 2.31 (6H, с, 2CH₃); 5.38 (2H, с, CH₂); 7.15 (1H, с, H пиримидин); 13.72 (1H, уш. с, OH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 23.7 (2CH₃); 49.2 (CH₂); 118.8 (C-5); 148.5 (C-2); 165.3 (C тетразол); 167.5 (C-4,6); 169.1 (C=O). Найдено, *m/z*: 267.0681 [M+H]⁺. C₉H₁₁N₆O₂S. Вычислено, *m/z*: 267.0659. Найдено, %: C 40.97; H 4.03; N 31.35; S 12.05. C₉H₁₀N₆O₂S. Вычислено, %: C 40.60; H 3.79; N 31.56; S 12.04.

Исследование биологической активности соединений 7a,b, 9, 12a,b. Из исследуемых соединений

готовят серию трехкратных разведений (300–3.7 мкг/мл), после чего вносят их в лунки планшетов с монослоем клеток MDCK. Планшеты инкубируют в течение 72 ч при 36°C в атмосфере 5% CO₂. Анализ выживаемости клеток проводят при помощи метилтетразолиевого теста: в лунки вносят раствор МТТ, который под действием митохондриальных ферментов переходит в нерастворимое фиолетовое производное формазана.²⁰ Планшеты с клетками выдерживают при 36°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 2 ч. Осадок растворяют в 0.1 мл на лунку ДМСО. Оптическую плотность в лунках измеряют на фотометре Thermo Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны 540 нм. На основании полученных данных рассчитывают значение CC₅₀, то есть концентрацию соединения, приводящую к снижению оптической плотности вдвое по сравнению с лунками без добавления соединений.

Исследование противовирусной активности соединений 7a,b, 9, 12a,b проводят при помощи теста на снижение степени цитопатического действия. В опытах используют вирусы гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) и B/Florida/4/2006. Изучаемые соединения в различных концентрациях вносят к клеткам в лунках планшета, инкубируют в течение 1 ч при 36°C в атмосфере 5% CO₂, затем клетки заражают вирусом в дозе 0.01 TCID₅₀ на клетку. Клетки инкубируют в течение 72 ч при 36°C в атмосфере 5% CO₂, после чего проводят анализ выживаемости клеток при помощи метилтетразолиевого теста, как описано выше. На основании полученных данных рассчитывают 50% ингибирующую концентрацию для каждого соединения, то есть концентрацию, которая на 50% снижает степень вирусной деструкции клеток.

Рентгеноструктурное исследование соединений 7b и 9 проведено на автоматическом 4-кружном дифрактометре с CCD-детектором Xcalibur 3. Все расчеты осуществлены в программной оболочке Olex с использованием программного пакета SHELX.²¹ Полный набор рентгеноструктурных данных соединений **7b** и **9** депонирован в Кембриджском банке структурных данных (депоненты CCDC 1818619 и CCDC 2047135 соответственно).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 20-53-00039-Bel_a и 20-53-05010 Arm_a, 20RF-138).

Рентгеноструктурное исследование соединений 7b и 9 проведено на оборудовании Центра коллективного пользования "Спектроскопия и анализ органических соединений" Института органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН.

Список литературы

1. Киселев, О. И. *Химиопрепараты и химиотерапия гриппа*; Ростов: Санкт-Петербург, 2011, с. 9.
2. Rusinov, V. L.; Charushin, V. N.; Chupakhin, O. N. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **2018**, *67*, 573. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2018**, 573.]
3. Сабитов, А. У.; Белоусов, В. В.; Един, А. С.; Олейниченко, Е. В.; Гладунова, Е. П.; Тихонова, Е. П.;

- Кузьмина, Т. Ю.; Калинина, Ю. С.; Сорокин, П. В. *Антибиотики и химиотерапия* **2020**, 65(7–8), 27.
4. Popova, E. A.; Trifonov, R. E.; Ostrovskii, V. A. *Russ. Chem. Rev.* **2019**, 88, 644. [*Успехи химии* **2019**, 88, 644.]
 5. Rewcastle, G. W. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*; Elsevier: Oxford, 2008, vol. 8, p. 120.
 6. (a) Egorova, A. P.; Makarov, V. A. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **2020**, 69, 635. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2020**, 635.]
(b) Zarubaev, V. V.; Golod, E. L.; Anfimov, P. M.; Shtro, A. A.; Saraev, V. V.; Gavrilov, A. S.; Logvinov, A. V.; Kiselev, O. I. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 839.
 7. Pochinok, V. Ya.; Avramenko L. F.; Grigorenko, P. S.; Skopenko, V. N. *Russ. Chem. Rev.* **1975**, 44, 481. [*Успехи химии* **1975**, 44, 1028.]
 8. Scapin, E.; Salbego, P. R. S.; Bender, C. R.; Meyer, A. R.; Pagliari, A. B.; Orlando, T.; Zimmer, G. C.; Frizzo, C. P.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, 13, 2396.
 9. Bower, J. D.; Doyle, F. P. *J. Chem. Soc.* **1957**, 727.
 10. Ostrovskii, V. A.; Popova, E. A.; Trifonov R. E. *Adv. Heterocycl. Chem.* **2017**, 123, 1.
 11. Poroikov, V. V. *Biomed. Chem.* **2020**, 14, 3, 216. [*Биомедицинская химия* **2020**, 66, 30].
 12. Filimonov, D. A.; Druzhilovskiy, D. S.; Lagunin, A. A.; Glorizova, T. A.; Rudik, A. V.; Dmitriev, A. V.; Pogodin, P. V.; Poroikov, V. V. *Biomedical Chemistry: Research and Methods* **2018**, 1(1), 1.
 13. Tsentovskii, V. M.; Bashkirtseva, V. E.; Evgen'ev, M. I.; Ivanova, Z. P.; Poplavskii, V. S.; Ostrovskii, V. A.; Koldobskii, G. I. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1983**, 19, 1238. [*Химия гетероцикл. соединений* **1983**, 1556.]
 14. Kosolapoff, G. M.; Roy, C. H. *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 1895.
 15. DeSelms, R. Ch.; Kapecki, J. A. EP Patent 0299725.
 16. Singh, J. N.; Lal, A. B. *J. Indian Chem. Soc.* **1966**, 43, 308.
 17. Brown, D. J.; Ford, P. W. *J. Chem Soc. C* **1967**, 568.
 18. Brady, L. E.; Herbst, R. M. *J. Org. Chem.* **1959**, 24, 922.
 19. Putis, S. M.; Zubarev, V. Yu.; Poplavskii, V. S.; Ostrovskii, V. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2004**, 40, 854. [*Химия гетероцикл. соединений* **2004**, 997.]
 20. Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 16, 55.
 21. Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. *J. Appl. Crystallogr.* **2009**, 42, 339.