

Синтез новых 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов и исследование их химических и цитотоксических свойств

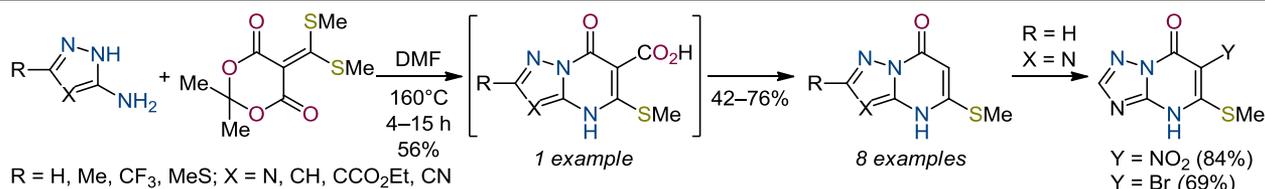
Даниил Н. Ляпустин^{1*}, Диля Ф. Файзуллина¹, Ирина В. Марусич¹, Светлана К. Котовская¹, Всеволод В. Мелехин^{1,2}, Мария Д. Тохтуева¹, Евгений Н. Уломский¹, Владимир Л. Русинов¹

¹ Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, ул. Мира, 19, Екатеринбург 620002, Россия; e-mail: lyapustin.danil@yandex.ru

² Уральский государственный медицинский университет, ул. Ретина, 3, Екатеринбург 620028, Россия

Поступило 24.11.2023

Принято 10.01.2024



Разработан метод синтеза новых 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов путем гетероциклизации 3-аминоазолов и 5-[бис(метилсульфанил)метилен]-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-диона. При оптимизации процесса была выделена 5-метилсульфанил-7-оксо-4,7-дигидроазоло[1,5-*a*]пиримидин-6-карбоновая кислота, позволяющая сделать вывод о последовательности превращений реакции гетероциклизации. Исследована реакционная способность полученного ряда 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов в классических реакциях электрофильного замещения. Проведена оценка цитотоксического действия этих соединений в отношении опухолевых клеточных линий A549, HepG2 и RD и нормальных клеток HEK-293.

Ключевые слова: азоло[1,5-*a*]пиримидины, кислота Мельдрума, гетероциклизация, противоопухолевая активность, электрофильное замещение.

Полизамещенные азоло[1,5-*a*]пиримидины нередко являются объектом исследований химиков-органиков на стыке различных научных областей. Среди этих соединений можно выделить как перспективные фотоактивные материалы,^{1,2} так и биологически активные вещества, проявляющие антитромбоцитарное,^{3,4} противовирусное,⁵⁻⁷ антидиабетическое действия,^{8,9} а также активность в отношении нейродегенеративных заболеваний.⁹⁻¹¹

Методы синтеза азоло[1,5-*a*]пиримидинов регулярно отражаются в соответствующих обзорных публикациях.¹²⁻¹⁷ Изучая эти работы, можно сделать несколько выводов. Во-первых, синтетический потенциал таких азагетероциклов до сих пор не исчерпан, а во-вторых, с годами все больше наблюдается тенденция к поиску противоопухолевых препаратов на основе азоло[1,5-*a*]пиримидинов. Известны азолопиримидины, обладающие алкилирующей антинеопластической активностью, цитотоксичностью в отношении различных клеточных линий, эффективностью против таксолрезистентных клеток, а лекарственные препараты, содержащие в своей структуре азоло[1,5-*a*]пиримидиновый остов, применяются для терапии саркомы мягких тканей, мантийноклеточной лимфомы и пр. (рис. 1).¹⁸⁻²²

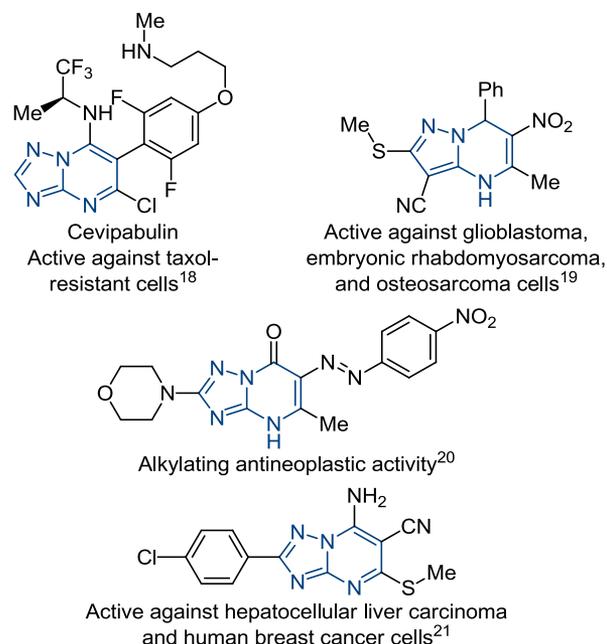


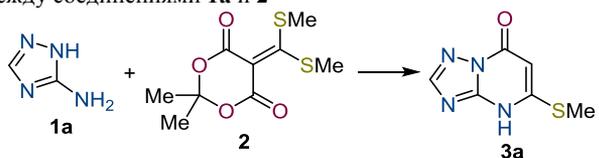
Рисунок 1. Биологически активные полизамещенные азоло[1,5-*a*]пиримидины.

Традиционным способом гетероциклизации с получением азоло[1,5-*a*]пиримидинов является использование аминоазолов и различных β -дизлектрофилов, таких как малоновый эфир, циануксусный эфир, дитиоацетали кетена и др. в качестве С-3 углеродных единиц. Отмеченные тиоацетали для этой реакции являются наименее исследованными, но наиболее интересными, поскольку вводимая с их помощью метилсульфанильная группа может рассматриваться и как фармакофорная,²¹ и как уходящая для дальнейших актуальных модификаций гетероциклической матрицы.²³

В данной работе был реализован подход, заключающийся в гетероциклизации аминоазолов и кетендитиоацетала на основе кислоты Мельдрума. Для полученных соединений нами были исследованы некоторые классические реакции электрофильного замещения с целью получения представления о реакционной способности рассматриваемых соединений, а также была проведена оценка цитотоксического действия ряда 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов в отношении опухолевых клеточных линий A549, HepG2 и RD и нормальных клеток НЕК-293. Для исследования возможности гетероциклизации 3-амино-1,2,4-триазола (**1a**) и 5-[бис(метилсульфанил)метиленден]-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-диона (**2**) мы провели оптимизацию реакционных условий, частично вдохновляясь более давней работой.²⁴ Данные по проведенным экспериментам представлены в табл. 1.

Было установлено, что низкокипящие растворители в этой реакции не способствовали инициации процесса (табл. 1, опыты 2–4), в то время как сплавление реагентов и проведение реакции в ДМСО приводили к осмолению реакционной смеси (опыты 1, 6). Применение оснований показало неоднозначные результаты: использование неорганического основания K_2CO_3

Таблица 1. Оптимизация реакции гетероциклизации между соединениями **1a** и **2***



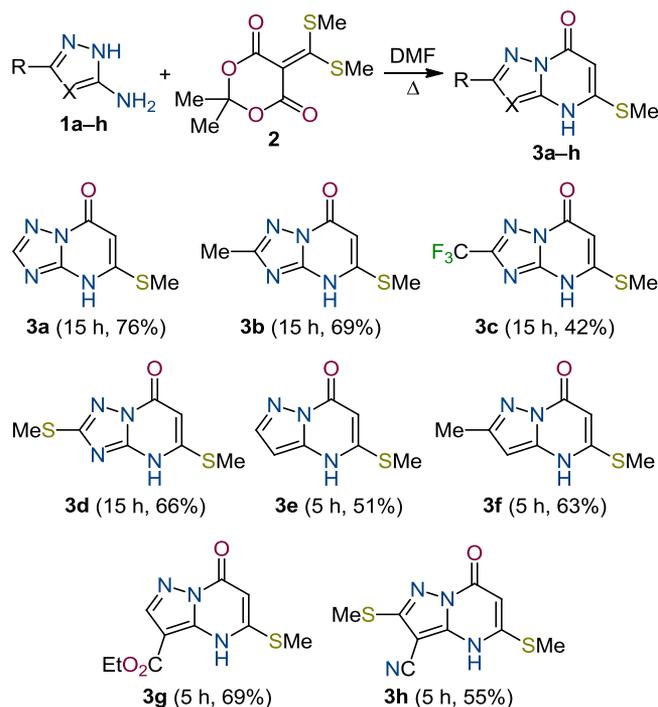
Опыт	Основание	Растворитель	Температура, °С	Время, ч	Выход, ** %
1	–	–	150	3	–
2	–	EtOH	Кипячение	5	н. р.
3	–	<i>n</i> -BuOH	Кипячение	5	н. р.
4	–	MeCN	Кипячение	5	н. р.
5	–	AcOH, Py	160	15	57
6	–	ДМСО	160	5	–
7	–	ДМФА	Кипячение	8	58
8	–	ДМФА	Кипячение	15	76
9	K_2CO_3	ДМФА	Кипячение	15	45
10	Et_3N	ДМФА	Кипячение	10	–

* Условия реакции: 0.168 г (2 ммоль) соединения **1a**, 0.496 г (2 ммоль) соединения **2**, 7 мл растворителя.

** н. р. – нет реакции.

приводило к образованию продукта, но с невысоким выходом (опыт 9), а использование органического основания Et_3N приводило к образованию смеси неидентифицируемых продуктов (опыт 10). Установлено, что для получения продукта **3a** необходимо использование полярного высококипящего растворителя, такого как ДМФА (опыты 7, 8), а также длительное выдерживание реакционной смеси при кипячении (опыт 8). Неплохо в этой реакции проявила себя эквимоллярная смесь AcOH и пиридина (опыт 5), однако выход в этом случае оказывался меньше, а для продукта требовалась дополнительная очистка. Таким образом, при кипячении различных аминоазолов **1a–h** и 5-[бис(метилсульфанил)метиленден]-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-диона (**2**) в ДМФА нами был получен ряд новых 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов **3a–h** с выходами от 42 до 76% (схема 1).

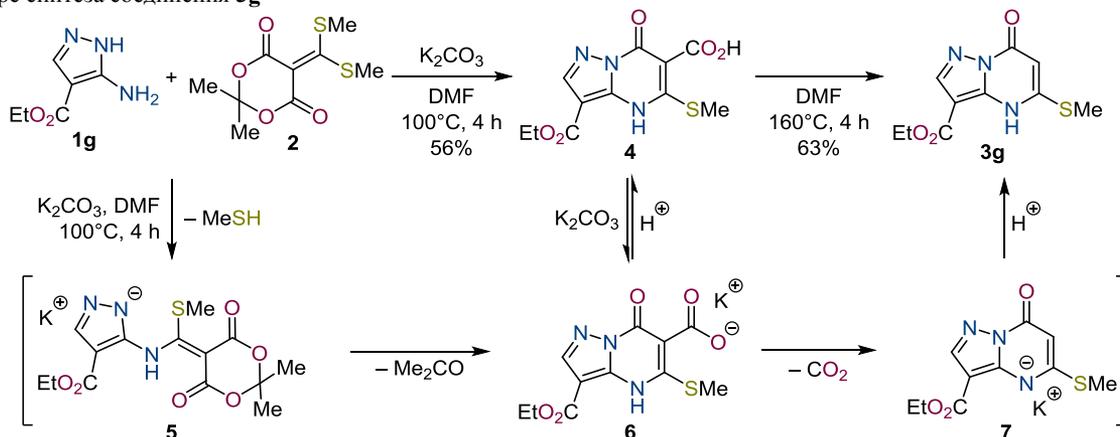
Схема 1. Синтез 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов **3a–h** (приведено время реакции для достижения указанного выхода)



Проведение реакции с 3-аминопиразолами **1e–h** требует менее длительного кипячения в сравнении с 3-амино-1,2,4-триазолами **1a–d**, поскольку они являются более реакционноспособными субстратами в подобных реакциях. При длительном кипячении выходы соответствующих гетероциклов **3e–h** уменьшаются, а сами продукты оказываются грязнее и их труднее выделять. В спектрах ЯМР 1H соединений **3a–h** наблюдаются характерные²⁵ сигналы протона Н-6 в области 5.77–5.86 м. д. и сигналы метилсульфанильной группы в области 2.50–2.58 м. д.

Дополнительными экспериментами было установлено, что реакция гетероциклизации протекает через образование 5-метилсульфанил-7-оксо-3-этоксикарбонил-

Схема 2. Предполагаемый путь формирования 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов на примере синтеза соединения **3g**

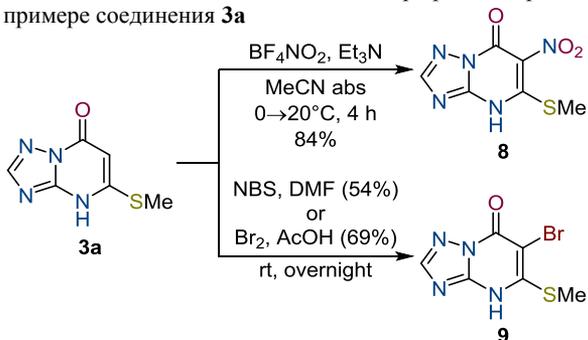


4,7-дигидропирозоло[1,5-*a*]пиримидин-6-карбоновой кислоты (**4**). Это подтверждается тем, что при проведении реакции гетероциклизации 3-аминопирозола **1g** в присутствии K_2CO_3 при температуре $100^\circ C$ образуется именно карбоновая кислота **4**, которая была выделена в чистом виде (схема 2).

Мы предполагаем, что в этом процессе первоначально происходит замена метилсульфанильной группы в дитиоацетале **2** на аминоазол **1g** с образованием *N,S*-ацетала **5**, который далее гетероциклизуется с образованием соли карбоновой кислоты **6** (схема 2). Это подтверждается тем, что дальнейшее нагревание соединения **4** при температуре $160^\circ C$ как без K_2CO_3 , так и в присутствии 1 экв. этого основания приводит к декарбоксилированию с образованием этил-5-метилсульфанил-7-оксодигидропирозоло[1,5-*a*]пиримидин-3-карбоксилата (**3g**) либо его калиевой соли **7** соответственно.

Следует отметить, что получение 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов, содержащих карбоксильную группу в положении 6, представляет самостоятельный интерес, поскольку наличие такой функциональной группы открывает доступ к различным структурным модификациям. Поэтому в данной работе исследована возможность введения и других функциональных групп в положение 6, а именно – реализованы некоторые классические реакции электрофильного замещения, такие как нитрование и бромирование (схема 3).

Схема 3. Исследование возможных электрофильных реакций на примере соединения **3a**



Было установлено, что нитрование 5-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-она (**3a**) с использованием стандартной нитрующей смеси приводит к нестехиометрическому окислению метилсульфанильной группы до сульфона и сульфоксида. При использовании апротонного нитрующего агента тетрафторбората нитрония в сухом MeCN в присутствии 1 экв. Et_3N при пониженной температуре образуется 5-метилсульфанил-6-нитро[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он **8** с выходом 84%. В результате реакции бромирования *N*-бромсукцинимидом в ДМФА при комнатной температуре образуется продукт замещения – 6-бром-5-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он **9** с выходом 54%. Аналогичным образом можно провести реакцию бромирования с использованием молекулярного брома в уксусной кислоте с выходом 69%, что позволяет отдать предпочтение второму способу. В целом можно отметить, что проведенные реакции протекают в достаточно мягких условиях для подобных процессов. Это свидетельствует о хорошей реакционной способности положения 6 в 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-(4*H*)-онах в реакциях с электрофилами, что открывает доступ ко множеству различных структурных модификаций.

Ранее было отмечено, что азоло[1,5-*a*]пиримидины нередко проявляют различные виды противоопухолевой активности.^{18–22} Поэтому мы провели оценку влияния синтезированных соединений **3a–h** на жизнеспособность культивируемых клеток человека различного происхождения посредством МТТ-теста, по результатам которого определили индексы цитотоксичности IC_{50} (табл. 2).

Как следует из таблицы, наиболее выраженной токсичностью в отношении как опухолевых (A549, HepG2 и RD), так и нормальных клеток (HEK-293) обладают соединения **3f,h**, тогда как остальные соединения в основном не продемонстрировали значимого снижения жизнеспособности в культурах клеток. Таким образом, мы предполагаем, что исследуемый ряд 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов **3a–h**, обладая низкими токсическими свойствами,

Таблица 2. Индекс цитотоксичности ($IC_{50} \pm SE$, мкМ) соединений **3a–f, h** на клетках аденокарциномы легкого (A549), гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2), эмбриональной рабдомиосаркомы (Rd) и почки эмбриона человека (HEK-293)*

Соединение	Клеточная линия			
	A549	HepG2	Rd	HEK-293
3a	>1024.00	>1024.00	469.08 ± 76.24	>1024.00
3b	>512.00	>512.00	452.75 ± 63.99	>512.00
3c	>1024.00	>1024.00	584.56 ± 109.61	>1024.00
3d	>1024.00	>1024.00	>1024.00	>1024.00
3e	>1024.00	959.32 ± 92.18	>1024.00	941.04 ± 161.36
3f	751.48 ± 85.51	226.85 ± 21.69	210.59 ± 14.40	598.69 ± 43.57
3h	336.10 ± 38.73	308.68 ± 32.25	173.96 ± 13.60	309.09 ± 39.31

* Оценка цитотоксичности соединения **3g** оказалась невозможной из-за его недостаточной растворимости.

может быть перспективен для дальнейшего изучения биологической активности при варьировании заместителей азольного компонента. С другой стороны, полученный ряд гетероциклов предполагает модификацию положений 5, 6 и 7 в пиримидиновом цикле, что также может способствовать получению новых перспективных производных азоло[1,5-*a*]пиримидинов.

В настоящей работе мы реализовали гетероциклизацию 3-аминоазолов с редко встречающимся в литературе диметилсульфанилацеталем на основе кислоты Мельдрума. Найденный эффективный метод открывает широкие возможности для структурной модификации азоло[1,5-*a*]пиримидинов – перспективной с точки зрения биологических свойств гетероциклической системы. Показана возможность введения в положение 6 трех различных функциональных групп, что является залогом получения новых ранее недоступных азотсодержащих гетероциклов азоло[1,5-*a*]пиримидинового ряда.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР 1H и ^{13}C записаны на спектрометре Bruker Avance II (400 и 100 МГц соответственно) при 25°C в $DMCO-d_6$, внутренний стандарт – сигналы растворителя (2.50 и 39.5 м. д. для ядер 1H и ^{13}C соответственно). Элементный анализ выполнен на анализаторе PerkinElmer 2400 CHN. Температуры плавления определены на аппарате Stuart SMP3 при скорости нагрева 7°C/мин. Контроль за ходом реакций осуществлен методом ТСХ на пластинах Silufol UV-254, элюент EtOAc.

Все растворители и коммерчески доступные реагенты использованы в том виде, в котором получены, если не указано другое. Некоммерческие исходные вещества приготовлены, как написано ниже, или в соответствии с литературными процедурами. 5-[Бис(метилсульфанил)метилен]-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-дион (**2**) синтезирован по литературной методике.²⁶

Получение 5-метилсульфанилазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов 3a–h (общая методика). Смесь 2 ммоль соответствующего азоло **1a–h** и 496 мг (2 ммоль) 5-[бис-

(метилсульфанил)метилен]-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-диона (**2**) в 7 мл ДМФА кипятят в колбе с дефлегматором и щелочной ловушкой на масляной бане в течение необходимого времени. Реакционную смесь упаривают при пониженном давлении, добавляют 15 мл *i*-PrOH и фильтруют. Осадок промывают *i*-PrOH (2 × 10 мл).

5-(Метилсульфанил)[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он (3a).²⁷ Реакционную смесь кипятят в течение 15 ч. Выход 277 мг (76%), желтый порошок, т. пл. 300–301°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 2.50 (3H, с, SCH₃); 5.84 (1H, с, H-6); 8.58 (1H, с, H-2). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 13.5; 95.4; 144.4 (уш. с.); 149.6; 154.3; 163.6 (уш. с.). Найдено, %: С 39.66; Н 3.20; N 30.91. C₆H₆N₄OS. Вычислено, %: С 39.55; Н 3.32; N 30.75.

2-Метил-5-(метилсульфанил)[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он (3b).²⁷ Реакционную смесь кипятят в течение 15 ч. Выход 271 мг (69%), оранжевый порошок, т. пл. 303–304°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 2.42 (3H, с, 2-CH₃); 2.50 (3H, с, SCH₃); 5.82 (1H, с, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 11.7; 13.1; 95.7; 149.7; 151.5; 153.8; 164.3. Найдено, %: С 42.89; Н 4.20; N 28.69. C₇H₈N₄OS. Вычислено, %: С 42.85; Н 4.11; N 28.55.

5-(Метилсульфанил)-2-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он (3c). Реакционную смесь кипятят в течение 15 ч, упаривают при пониженном давлении, добавляют 25 мл *i*-PrOH и фильтруют. Полученный осадок растворяют в 7 мл ДМФА и кипятят с 276 мг (2 ммоль) измельченного K₂CO₃ в течение 10 ч. Реакционную смесь упаривают, добавляют 10 мл дистиллированной H₂O и подкисляют разбавленной HCl до кислой среды. Выпавший осадок фильтруют и промывают малым количеством H₂O. Выход 210 мг (42%), светло-желтый порошок, т. пл. 267°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 2.61 (3H, с, SCH₃); 5.92 (1H, с, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д. (*J*, Гц): 14.1; 94.9; 119.2 (к, *J* = 270.4); 151.9; 151.9 (к, *J* = 38.4); 153.9; 157.2. Найдено, %: С 33.71; Н 2.05; N 22.24. C₇H₅F₃N₄OS. Вычислено, %: С 33.60; Н 2.01; N 22.39.

2,5-Ди(метилсульфанил)[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он (3d).²⁷ Реакционную смесь кипятят в течение 15 ч. Выход 301 мг (66%), желтый порошок, т. пл. 250–251°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 2.55 (3H, с, 5-SCH₃); 2.58 (3H, с, 2-SCH₃); 5.75 (1H, с, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 13.4; 14.0; 94.7; 151.1; 153.5; 156.4 (уш. с.); 161.4 (уш. с.). Найдено, %: С 36.89; Н 3.60; N 24.45. C₇H₈N₄OS₂. Вычислено, %: С 36.83; Н 3.53; N 24.54.

5-(Метилсульфанил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он (3e). Реакционную смесь кипятят в течение 5 ч. Выход 185 мг (51%), светло-розовый порошок, т. пл. >300°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 2.59 (3H, с, SCH₃); 5.55 (1H, с, H-6); 5.98 (1H, с, H-3); 7.70 (1H, с, H-2); 12.43 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.0; 88.3; 91.3; 141.7; 142.7; 153.5; 154.9. Найдено, %: С 46.53; Н 3.78; N 23.21. C₇H₇N₃OS. Вычислено, %: С 46.40; Н 3.89; N 23.19.

2-Метил-5-(метилсульфанил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-он (3f). Реакционную смесь кипятят в течение 5 ч. Выход 246 мг (63%), светло-розовый порошок,

т. пл. 290–291°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.25 (3H, с, SCH_3); 2.56 (3H, с, SCH_3); 5.53 (1H, с, H-3); 5.86 (1H, с, H-6); 12.43 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.0; 25.5; 88.0; 91.4; 142.1; 151.7; 152.7; 154.6. Найдено, %: C 49.35; H 4.60; N 21.49. $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_3\text{OS}$. Вычислено, %: C 49.22; H 4.65; N 21.52.

Этил-5-метилсульфанил-7-оксо-4,7-дигидропиразоло[1,5-*a*]пиримидин-3-карбоксилат (3g). Реакционную смесь кипятят в течение 5 ч. Выход 213 мг (69%), светлорычинный порошок, т. пл. 214–215°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 1.28–1.32 (3H, м, CH_2CH_3); 2.56 (3H, с, SCH_3); 4.28–4.30 (2H, м, CH_2CH_3); 5.77 (1H, с, H-6); 8.14 (1H, с, H-2); 12.34 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.4; 39.9; 59.8; 93.9; 96.5; 142.9; 143.1; 153.9; 156.2; 161.5. Найдено, %: C 47.55; H 4.42; N 16.70. $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$. Вычислено, %: C 47.42; H 4.38; N 16.59.

2,5-Бис(метилсульфанил)-7-оксо-4,7-дигидропиразоло[1,5-*a*]пиримидин-3-карбонитрил (3h). Реакционную смесь кипятят в течение 5 ч. Выход 197 мг (55%), красно-коричневый порошок, т. пл. 297–298°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.56 (3H, с, 5- SCH_3); 2.60 (3H, с, 2- SCH_3); 5.75 (1H, с, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 13.1; 14.0; 73.7; 94.1; 112.1; 146.6; 153.0; 154.1; 155.6. Найдено, %: C 42.75; H 3.31; N 22.26. $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_4\text{OS}_2$. Вычислено, %: C 42.84; H 3.20; N 22.21.

5-Метилсульфанил-7-оксо-3-этоксикарбонил-4,7-дигидропиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-карбоновая кислота (4). Смесь 310 мг (2 ммоль) 3-амино-4-этоксикарбонилпиразола **1g**, 496 мг (2 ммоль) 5-[бис(метилсульфанил)метилен]-2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-диона (**2**) и 276 мг (2 ммоль) тонкоизмельченного K_2CO_3 в 7 мл ДМФА кипятят в колбе с дефлегматором и щелочной ловушкой при температуре 100°C в течение 4 ч. Осадок отфильтровывают, промывают ДМФА, затем EtOAc . Осадок растворяют в 5 мл H_2O и подкисляют разбавленной HCl . Выпавший осадок отфильтровывают и промывают H_2O . Выход 333 мг (56%), белый порошок, т. пл. 250–252°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.28 (3H, т, $J = 7.1$, CH_2CH_3); 2.67 (3H, с, SCH_3); 4.28 (2H, к, $J = 7.1$, CH_2CH_3); 8.23 (1H, с, H-2); 12.15 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.4; 16.1; 59.9; 96.7; 116.4; 141.0; 143.8; 146.6; 156.7; 161.1; 164.1. Найдено, %: C 44.51; H 3.79; N 14.08. $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: C 44.44; H 3.73; N 14.13.

5-Метилсульфанил-6-нитро[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4H)-он (8). К суспензии 364 мг (2 ммоль) 5-(метилсульфанил)[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4H)-она (**3a**) в 10 мл сухого MeCN при перемешивании добавляют 0.31 мл (2.2 ммоль) Et_3N . Реакционную смесь охлаждают до 0°C и добавляют 293 мг (2.2 ммоль) тетрафторбората нитрония. Реакционную смесь выдерживают при охлаждении в течение 30 мин и перемешивают при комнатной температуре еще в течение 3.5 ч. Полученную суспензию фильтруют, промывают 5 мл MeCN , затем 25 мл H_2O и снова 5 мл MeCN . Выход 382 мг (84%), желто-зеленый порошок, т. пл. 296–298°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.46 (3H, с, SCH_3); 8.84 (1H, с, H-2). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 15.2; 125.5; 144.6; 149.3; 149.5; 169.3. Найдено, %: C 31.77;

H 2.28; N 30.71. $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$. Вычислено, %: C 31.72; H 2.22; N 30.83.

6-Бром-5-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4H)-он (9). Метод I. К суспензии 364 мг (2 ммоль) соединения **3a** в 5 мл ДМФА добавляют 392 мг (2.2 ммоль) *N*-бромсукцинимид. Реакционную смесь оставляют при перемешивании на ночь. Полученную суспензию выливают в 200 мл H_2O , фильтруют и промывают H_2O . Осадок сушат и перекристаллизовывают из смеси ДМФА– H_2O , 1:2. Выход 282 мг (54%), бледно-желтый порошок, т. пл. >300°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.50 (3H, с, SCH_3); 8.82 (1H, с, H-2). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 14.1; 93.2; 141.8; 148.0; 150.6; 164.6. Найдено, %: C 27.69; H 1.90; N 21.42. $\text{C}_6\text{H}_5\text{BrN}_4\text{OS}$. Вычислено, %: C 27.60; H 1.93; N 21.46.

Метод II. К суспензии 364 мг (2 ммоль) соединения **3a** в 5 мл уксусной кислоты по каплям добавляют раствор 0.062 мл (2.4 ммоль) брома в 5 мл уксусной кислоты. Реакционную смесь оставляют при перемешивании на ночь. Полученную суспензию фильтруют и дважды промывают 20 мл CHCl_3 . Осадок сушат и перекристаллизовывают из смеси ДМФА– H_2O , 1:2. Выход 360 мг (69%), бледно-желтый порошок.

Исследования цитотоксичности полученных соединений 3a–f,h проведены на культивируемых клетках аденокарциномы легкого человека (A549, ATCC CCL 185), гепатоцеллюлярной карциномы человека (HepG2, ATCC HB 8065), эмбриональной рабдомиосаркомы человека (Rd, ATCC CRL 136) и почки эмбриона человека (Hek293, ATCC CRL 1573), полученных из ЦКП "Коллекция культур клеток позвоночных" (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия). Клетки культивируют в питательной среде DMEM/F-12 с содержанием 10% фетальной бычьей сыворотки при 37°C, 5% CO_2 и 98% влажности. Субкультивирование с применением раствора трипсина 0.25% проводят при достижении культурой $\geq 90\%$ конfluence.

Соединения, растворенные в ДМСО, разводят культуральной средой DMEM/F-12 с 10% фетальной бычьей сывороткой до исследуемых концентраций: 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 мкМ (кроме соединения **3b**, исследованного в диапазоне 4–512 мкМ из-за ограничений растворимости). Во всех случаях в итоговом растворе концентрация ДМСО не превышает 1%. Опухолевые клетки предварительно высаживают в 96-луночные планшеты в посевной концентрации 4×10^3 клеток на лунку. Через 24 ч в лунки планшета вносят исследуемые соединения в заданном диапазоне концентраций. Затем клетки инкубируют в течение 72 ч, после чего в культуры вносят раствор бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2H-тетразолия (МТТ) по 20 мкл (5 мг/мл на лунку). Через 2 ч из лунок удаляют среду и добавляют по 200 мкл смеси ДМСО–*i*-PrOH, 1:1. Оптическую плотность измеряют на планшетном спектрофотометре при длине волны 570 нм.

Статистический анализ. Статистическая обработка данных проведена в программе RStudio (версия 1.4.1106) с использованием пакета R (версия 4.2.3). Индекс цитотоксичности (IC_{50}) рассчитан с построением кривых доза–эффект с помощью пакета *drm*.²⁷

Файл сопроводительных материалов, содержащий спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединений **3a–h**, **8** и **9**, доступен на сайте журнала <http://hgs.osi.lv>.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Программы развития Уральского федерального университета им. первого Президента России Б. Н. Ельцина в соответствии с программой стратегического академического лидерства "Приоритет-2030".

Список литературы

1. Zhang, M.; Cheng, R.; Lan, J.; Zhang, H.; Yan, L.; Pu, X.; Huang, Z.; Wu, D.; You, J. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 4058.
2. Castillo, J. C.; Tigreros, A.; Portilla, J. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 10887.
3. Ohnishi, H.; Ito, C.; Suzuki, K.; Niho, T.; Imaizumi, Y.; Yamazaki, Y.; Morishita, S. I.; Shimora, M.; Ito, R. *Folia Pharmacol. Jpn.* **1980**, *76*, 469.
4. Markwardt, F.; Nilius, B. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1988**, *337*, 454.
5. Rusinov, V. L.; Charushin, V. N.; Chupakhin, O. N. *Russ. Chem. Bull.* **2018**, *67*, 573.
6. Pismataro, M. C.; Felicetti, T.; Bertagnin, C.; Nizi, M. G.; Bonomini, A.; Barreca, M. L.; Cecchetti, V.; Jochmans, D.; De Jonghe, S.; Neyts, J.; Loregian, A.; Tabarrini, O.; Massari, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *221*, 113494.
7. Massari, S.; Nannetti, G.; Desantis, J.; Muratore, G.; Sabatini, S.; Manfroni, G.; Mercorelli, B.; Cecchetti, V.; Palù, G.; Cruciani, G.; Loregian, A.; Goracci, L.; Tabarrini, O. A. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3830.
8. Shen, J.; Deng, X.; Sun, R.; Tavallaie, M. S.; Wang, J.; Cai, Q.; Lam, C.; Lei, S.; Fu, L.; Jiang, F. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *208*, 112850.
9. Kato, N.; Oka, M.; Murase, T.; Yoshida, M.; Sakairi, M.; Yamashita, S.; Yasuda, Y.; Yoshikawa, A.; Hayashi, Y.; Makino, M.; Takeda, M.; Mirenska, Y.; Kakigami, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7221.
10. Sullivan, S. K.; Petroski, R. E.; Verge, G.; Gross, R. S.; Foster, A. C.; Grigoriadis, D. E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *311*, 537.
11. Ding, J.; Cao, F. De; Geng, Y. R.; Tian, Y.; Li, P.; Li, X. F.; Huang, L. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2019**, *21*, 1190.
12. Fischer, G. *Adv. Heterocycl. Chem.* **2019**, *128*, 1.
13. Oukoloff, K.; Lucero, B.; Francisco, K. R.; Brunden, K. R.; Ballatore, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *165*, 332.
14. Pinheiro, S.; Pinheiro, E. M. C.; Muri, E. M. F.; Pessôa, J. C.; Cadorini, M. A.; Greco, S. J. *Med. Chem. Res.* **2020**, *29*, 1751.
15. Desenko, S. M.; Gorobets, M. Y.; Lipson, V. V.; Sakhno, Y. I.; Chebanov, V. A. *Chem. Rec.* DOI: 10.1002/tcr.202300244.
16. Fischer, G. *Adv. Heterocycl. Chem.* **2007**, *95*, 143.
17. Lyapustin, D. N.; Fedotov, V. V.; Ulomsky, E. N.; Rusinov, V. L.; Chupakhin, O. N. *Russ. Chem. Rev.* **2023**, *92*, RCR5077.
18. Zhang, N.; Ayrat-Kaloustian, S.; Nguyen, T.; Afragola, J.; Hernandez, R.; Lucas, J.; Gibbons, J.; Beyer, C. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 319.
19. Lyapustin, D. N.; Kotovskaya, S. K.; Butorin, I. I.; Ulomsky, E. N.; Rusinov, V. L.; Babkov, D. A.; Pokhlebin, A. A.; Spasov, A. A.; Melekhin, V. V.; Tokhtueva, M. D.; Shcheglova, A. V.; Makeev, O. G. *Molecules* **2022**, *27*(16), 5239.
20. Hassan, G. S.; El-Sherbeny, M. A.; El-Ashmawy, M. B.; Bayomi, S. M.; Maarouf, A. R.; Badria, F. A. *Arabian J. Chem.* **2017**, *10*, S1345.
21. Hassan, A. Y.; Sarg, M. T.; Bayoumi, A. H.; El-Deeb, M. A. *J. Heterocycl. Chem.* **2018**, *55*, 1450.
22. Brown, D. G.; Wobst, H. J. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2312.
23. Yamada, K.; Yanagi, T.; Yorimitsu, H. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 9712.
24. Tominaga, Y.; Sakai, S.; Kohra, S.; Tsuka, J.; Matsuda, Y.; Kobayashi, G. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1985**, *33*, 962.
25. Lyapustin, D. N.; Marusich, I. V.; Fayzullina, D. F.; Ulomsky, E. N.; Matern, A. I.; Rusinov, V. L. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2023**, *59*, 63.
26. Pirali, T.; Ciralo, E.; Aprile, S.; Massarotti, A.; Berndt, A.; Griglio, A.; Serafini, M.; Mercalli, V.; Landoni, C.; Campa, C. C.; Margaria, J. P.; Silva, R. L.; Grosa, G.; Sorba, G.; Williams, R.; Hirsch, E.; Tron, G. C. *ChemMedChem* **2017**, *12*, 1542.
27. NL Patent 6501053.
28. Ritz, C.; Baty, F.; Streibig, J. C.; Gerhard, D. *PLoS One* **2015**, *10*, e0146021.