

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ЭНЕРГЕТИКИ

(наименование института полностью)

Центр медицинской химии

(наименование)

04.03.01 Химия

(код и наименование направления подготовки, специальности)

Медицинская и фармацевтическая химия

(направленность (профиль)/специализация)

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)**

на тему Молекулярный дизайн и биологическая активность производных
5-цианопиримидина

Студент

А.А. Карпеева

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

А.С. Бунев

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

Тольятти 2020

Аннотация

Выпускная квалификационная работа изложена на 54 страницах, содержит 2 рисунка, 1 таблицу, 27 схем, использовано 44 литературных источника.

Целью данной работы являлся анализ современных методов синтеза биологически активных производных 5-цианопиримидинов.

Был проведен анализ различных способов синтеза производных пиримидин-5-карбонитрилов, которые проявляли такие активности, как: противоопухолевая, противовоспалительная, противосудорожная, антимикробная, антидиабетическая, антитрипаносомная и антиплазмодальная.

ABSTRACT

This graduation work is about molecular design and biological activity of 5-cyanopyrimidine derivatives.

The graduation project consists of an introduction 3 chapters, a conclusion, an explanatory note on 54 pages, including 2 figures, 1 table, 27 schemes, the list of 44 references including 40 foreign sources.

The aim of the work is to give some information about research and analysis of methods for the synthesis of biologically active derivatives of 5-cyanopyrimidines.

The first chapter is devoted to the study of pyrimidine derivatives as promising scaffolds in medical chemistry. The most striking examples were given of pyrimidine-5-carbonitrile derivatives, which proved to be promising medicinal substances.

The second part describes two main approaches to the drug design of 5-cyanopyrimidines: one-stage three-component and multi-stage syntheses.

The third chapter describes the synthesis of various derivatives of pyrimidine-5-carbonitriles and the study of their activity using various biological tests.

It can be concluded that an analysis was made of various methods for the synthesis of pyrimidine-5-carbonitrile derivatives, which showed such activities as antitumor, anti-inflammatory, anticonvulsant, antimicrobial, antidiabetic, antitripanosomal and antiplasmoid.

Содержание

Принятые сокращения	5
Введение	7
1 Производные пиримидина в качестве перспективных скаффолдов в медицинской химии	9
2 Общий подход к синтезу производных 5-цианопиримидина	15
2.1 Одностадийный трехкомпонентный синтез	15
2.2 Многостадийный синтез	20
3 Синтез биологически-активных производных 5-цианопиримидина	23
3.1 Противоопухолевая активность	23
3.2 Противовоспалительная активность	30
3.3 Противосудорожная активность	38
3.4 Антимикробная активность	40
3.5 Антидиабетическая активность	43
3.6 Антитрипаносомная активность	45
3.7 Антиплазмодальная активность	46
Заключение	48
Список используемой литературы	49

Принятые сокращения

EGFR	Рецептор эпидермального фактора роста
pAKT	Семейство протеинкиназ B
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
MTT	3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2-5-дифенилтетразолий бромид
АТФ	Аденозинтрифосфат
SAR	Зависимость «строение — биологическая активность»
MAP-киназа	Митоген-активируемая протеинкиназа
DMF	Диметилсульфоксид
THF	Тетрагидрофуран
EAT	Клетки асцитной опухоли Эрлиха
MTX	Метотрексат
PASS	Прогнозирование спектров активности веществ
BZN	Бензнидазол
GPb	Гликогенфосфоорилаза b
CDK	Циклинзависимая киназа
TNFR	Рецепторы фактора некроза опухоли
HTS	Высокопроизводительный скрининг
TBAB	Бромид тетрабутиламмония
MW	Микроволновое облучение
ИК	Инфракрасная спектроскопия
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс
HCT-116	Клеточная линия рака толстой кишки человека
MCF-7	Линия клеток аденокарциномы молочной железы человека
NCI-H460	Линия клеток карциномы легких человека
SF-268	Линии клеток глиомы человека
IGROV-1	Клеточная линия рака яичников человека
SK-MEL-5	Клеточная линия меланомы человека

A498	Линия клеток карциномы почек человека
MDA-MB-435	Линия клеток рака молочной железы человека
CHO	Клеточная линия яичника китайского хомяка
IL-1	Интерлейкин 1
CPA	N ⁶ -циклопентиладенозин
DMAP	4-диметиламинопиридин
LDA	Диизопропиламид лития
Mcl-1	Клетки миелоидной лейкемии 1
NF-κB	Ядерный фактор «каппа-би»
IκB kinase, ИКК	Ферментный комплекс, участвующий в распространении клеточного ответа на воспаление
CXCR2	β-рецептор интерлейкина 8
MES	Максимальный электрошок
scPTZ	Подкожный пентилентетразол
DMSO	Диметилсульфоксид
ХОБЛ	Хроническая обструктивная болезнь легких
Met	Метионин
Asp	Аспарагиновая кислота
Glu	Глицин
Lys	Лизин
Arg	Аргинин
His	Гистидин
Ala	Аланин

Введение

Молекулярный дизайн – это метод создания новых химических соединений с заданными свойствами с привлечением компьютерных, теоретических и экспериментальных практик. Одной из сфер пользования данного метода является медицинская химия. Создание лекарств основывается на имеющихся сведениях о механизме действия химических веществ и/или эмпирического соотношения «структура – свойство» [1].

Одним из важных критериев при создании лекарственных средств в медицинской химии является оценка биологической активности соединения. В фармакологии биологическая активность описывает положительное или отрицательное воздействие лекарственного средства на организм [2].

Производные 5-цианопиримидинов очень важны в медицинской химии, т.к. являются лекарственными веществами, например производные 4-амино-5-цианопиримидина обладают снижающим внутриглазное давление свойствами и могут найти применение при лечении глазной гипертензии и глаукомы [3], также пиримидин-5-карбонитрилы являются противоопухлевыми соединениями, а именно ингибиторами pEGFR, pAKT, pERK1/2 [4]. Поэтому разработка новых биологически активных производных 5-цианопиримидина очень важна в настоящее время.

Цель работы: анализ современных методов синтеза биологически активных производных 5-цианопиримидина.

Задачи работы:

- Проанализировать научную литературу о различных способах получения биологически активных производных 5-цианопиримидина за последние 15 лет;
- Обобщить полученные результаты и дать им критическую оценку;

- Выявить основные подходы к молекулярному дизайну производных 5-цианопиримидина и основные активности, которыми могут обладать данные соединения.

1 Производные пиримидина в качестве перспективных скаффолдов в медицинской химии

Изобретение новых эффективных лекарственных препаратов является одним из приоритетных направлений в современной фармацевтической индустрии. Разработка инновационного лекарственного препарата всегда начинается с поиска нового биологически активного соединения с последующим подтверждением его эффективности и безопасности. Одним из перспективных и развивающихся направлений в данной области является поиск средств, близких по структуре к «естественным» пиримидинам [5]. Как известно, пиримидиновые основания являются составной частью нуклеиновых кислот, в связи с чем их производные сочетают в себе несколько видов фармакологической активности: анаболической, противовирусной, противовоспалительной, противоопухолевой и др [6]. В ряде экспериментов установлено, что соединения этой группы обладают вышеперечисленными свойствами, также ускоряют процессы репаративной регенерации, стимулируют клеточные и гуморальные факторы иммунитета [7].

Пиримидин (1) представляет собой шестичленное гетероциклическое соединение, содержащее два атома азота в 1-м и 3-м положениях (схема 1). Название пиримидина было впервые применено Пиннером из сочетания двух слов: пиридин и амидин.

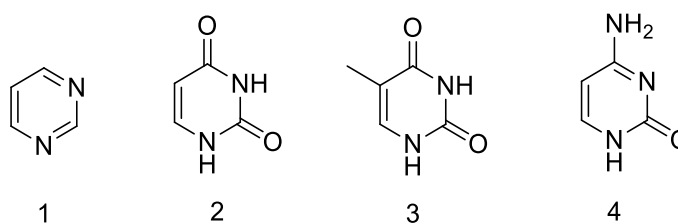


Схема 1 – Пиримидин и его природные аналоги

Пиримидины (1,3-диазины) и их конденсированные аналоги образуют большую группу гетероциклических соединений. К природным пиримидиновым основаниям относятся пиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион – урацил (2), 5-метилпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион – тимин (3), 4-аминопиримидин-2-(1*H*)-он – цитозин (4), входящие в состав нуклеиновых кислот (Схема 1).

Пиримидин-5-карбонитрил и его производные были описаны в качестве агентов с различным биологическим потенциалом: противораковым [8], противовирусным [9], противовоспалительным, анальгетическим [10] и т. д. Примеры производных с соответствующей активностью рассмотрены ниже.

Противоопухолевая активность

Рак – это многогранное заболевание, которое представляет собой одну из ведущих причин смертности в развитых странах. Во всем мире одна из восьми смертей связана с раком, и это вторая самая распространенная причина смерти в США, превышаемая только по болезни сердца. Химиотерапия является основным методом лечения рака, использование доступных химиотерапевтических средств часто ограничено из-за нежелательных побочных эффектов. В настоящее время важно идентифицировать новые молекулы и новые мишени для лечения рака [11].

В работе Shao [12] были синтезированы новые производные 2,4,5-тризамещенных пиримидина в качестве ингибиторов CDK, потенциальных противоопухолевых агентов. Синтезированные производные были оценены на противоопухолевую активность в отношении группы раковых клеток, включая раковые клетки прямой кишки, молочной железы, легкого, яичника, шейки матки и поджелудочной железы. Среди синтезированных производных соединение **5**, обладающее заметной селективностью в отношении CDK9 по сравнению с другими CDK, способно активировать каспазу 3, снижая уровень антиапоптотического белка Mcl-1 и индуцируя апоптоз раковых клеток (схема 2).

В работе [8] авторы синтезировали новый класс производных 6-тиоксопиримидина и его молекулярные структуры были подтверждены данными ИК, ЯМР. Синтезированные производные оценивали на противоопухолевую активность *in vitro* в отношении 60 линий раковых клеток человека с помощью анализа сульфородамина В. Производные 6-тиоксопиримидина показали хороший противоопухолевый потенциал, особенно соединение с циано-группой **6** продемонстрировало лучшую цитотоксичность (схема 2).

Заболееваемость раком непрерывно растёт, смертность от этой болезни занимает одно из лидирующих мест в мире, поэтому разработка препаратов с противоопухолевой активностью является одной из важнейших задач для медицинских химиков.

Противовирусная активность

Противовирусные нуклеозидные соединения ингибируют репликацию вирусного генома, действуя как миметики природных нуклеозидов. Аналоги нуклеозидов могут запускать фазу терминации цепи после включения в растущие цепи ДНК/РНК и/или ингибировать функцию вирусной полимеразы за счет конкуренции с природным нуклеозидным 50-трифосфатным субстратом [13].

Авторы статьи [14] синтезировали новую серию производных 2,4-диамино-5-циано-6[2-(фосфонометокси)этокси]пиримидина и оценили на противовирусную активность. Производное **7** продемонстрировало выраженную антиретровирусную активность, сравнимую с активностью эталонных препаратов адефовира и тенофовира (схема 2).

На данном уровне развития медицины противовирусные препараты не обладают высоким уровнем эффективности, поэтому медицинские химики заинтересованы в разработке новых, более эффективных соединений. С большой вероятностью, такими препаратами станут производные пиримидин-5-карбонитрила, обладающие высокой противовирусной активностью с отсутствием побочных эффектов.

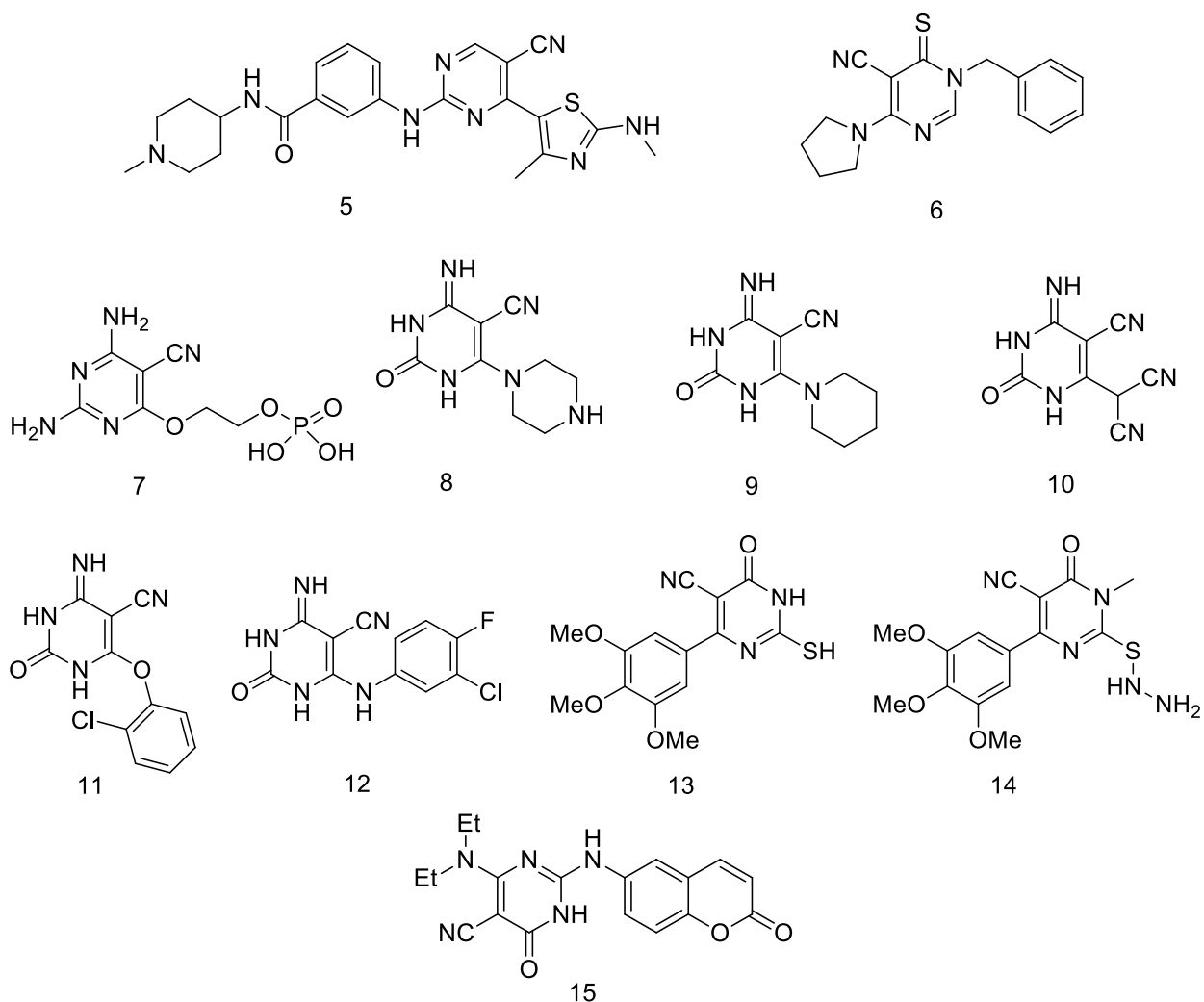


Схема 2 – Примеры синтезированных соединений с различной активностью

Противовоспалительная активность

Нестероидные противовоспалительные препараты являются одними из наиболее широко используемых терапевтических средств для лечения боли, ревматического артрита и различных типов воспалительных состояний. Однако их использование в основном ограничено серьезными побочными эффектами со стороны желудочно-кишечного тракта, такими как гастродуоденальные эрозии, язвы и нефротоксичность [10].

В работе Гондкара и его коллег [15] был разработан новый класс замещенного 1,2,3,4-тетрагидропиримидина. Все производные были протестированы на наличие противовоспалительной активности *in vitro* с

использованием метода ингибирования денатурации альбумина по сравнению со стандартным диклофенаком. Производные **8, 9, 10, 11** и **12** показали значительную противовоспалительную активность *in vitro* с процентом ингибирования денатурации белка 98, 97, 90, 94 и 96% соответственно (схема 2).

Не смотря на то, что в медицине существует ряд противовоспалительных препаратов, они обладают большим количеством побочных явлений. Следовательно, разработка лекарственных средств на основе 5-цианопиримидинов является актуальной проблемой, в виду отсутствия побочных эффектов и высокой противовоспалительной активности.

Антиоксидантная активность

Окислительный стресс, по-видимому, играет важную роль при различных заболеваниях человека, включая рак. Антиоксидантные соединения представляют собой агенты, которые нейтрализуют свободные радикалы, удаляющие активные формы кислорода, и могут иметь большое значение в предотвращении возникновения и распространения окислительных заболеваний, таких как сосуристо-нервные, сердечнососудистые заболевания. Пиримидин и его производные недавно привлекли внимание медицинских химиков к изучению их потенциала в качестве антиоксидантов [16].

В работе [17] Бхалгат и его соавторы разработали новый класс 5-цианопиримидинов и их триазольных конденсированных производных. Была исследована их антиоксидантная активность *in vitro* различными методами, такими как очистка от перекиси водорода, очистка от радикала оксида азота и липидной активности на окислительное ингибирование. Соединение **13** показало хорошую активность по сравнению со стандартом при очистке от радикала оксида азота и перекиси водорода, в то время как **14** продемонстрировал наиболее сильную антиоксидантную активность при очистке от оксида азота (схема 2).

Учитывая малоисследованность данной сферы, а также высокую потребность в поиске наиболее эффективных антиоксидантов, создание и исследование антиоксидантных препаратов на основе 5-цианопиримидина является актуальным.

Вазорелаксантная активность

В статье [18] была получена новая серия гибридов кумарин-пиримидин-5-карбонитрилов и проведена оценка вазорелаксантной активности в отношении спазма, вызванного норадреналином, на кольцах аорты грудного отдела крысы, по сравнению с празозином (контрольным лекарственным средством). Было обнаружено, что соединение **15** является наиболее перспективным вазорелаксантом с $IC_{50} = 0.421$ мМ по сравнению с эталонным препаратом празозином ($IC_{50} = 0.487$ мМ). Химическая структура **15** изображена на схеме 2.

В заключение можно отметить, что пиримидин является важным гетероциклическим соединением, поскольку он является компонентом клеток и большого количества продаваемых лекарств. Биологическая активность производных 5-цианопиримидина свидетельствовала о его маневренности и универсальности, что обуславливает заинтересованность медицинского химика в скафолде пиримидин-5-карбонитрила.

2. Общий подход к синтезу производных 5-цианопиримидина

2.1. Одностадийный трехкомпонентный синтез

Простой и эффективный метод получения 5-цианопиримидинов основан на трехкомпонентной реакции ароматических альдегидов **16**, метилцианоацетата **17** и карбоната гуанидина **18** в синтезе 2-амино-4-арил-1,6-дигидро-6-оксопиримидин-5-карбонитрилов **19** сообщалось в статье [19] (схема 3). Также была предпринята попытка 4-компонентной реакции конденсации ароматических альдегидов **20**, метилцианоацетата **17**, гуанидинхлорида **21** и пиперидина **22**, в которой пиперидин действует как основание и реагент (схема 3).

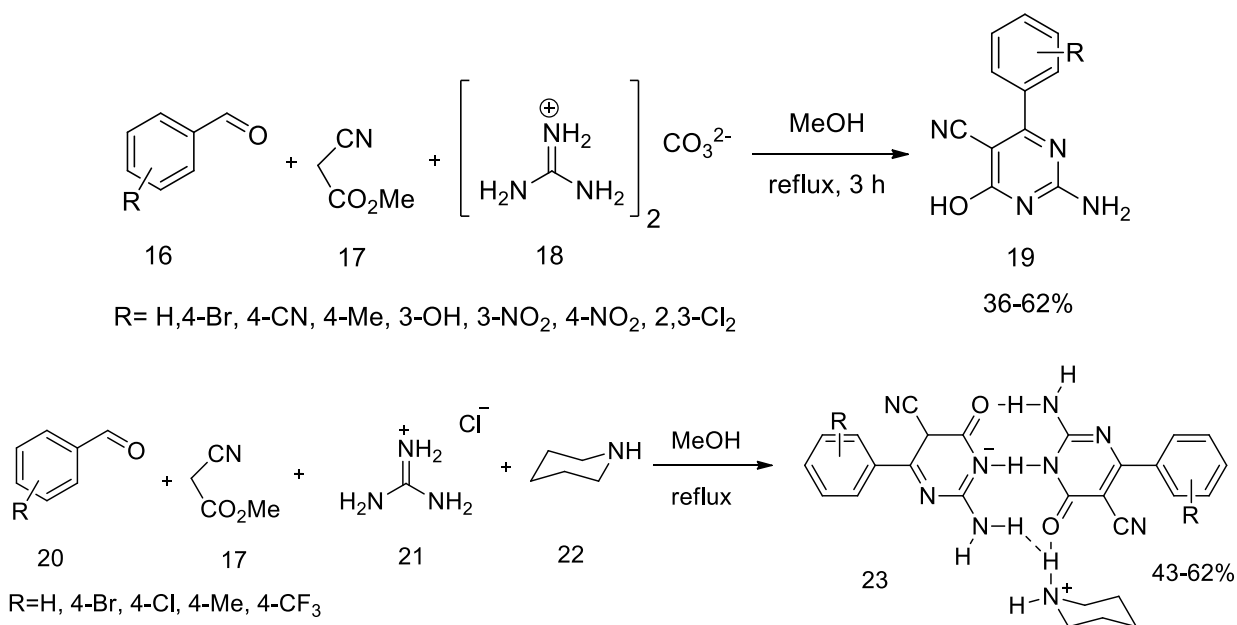


Схема 3 – Пример трехкомпонентного синтеза производных 5-цианопиримидина

В работе [20] Ронг и соавторы сообщили об эффективном и легком синтезе карбонитрилов **19** реакцией ароматических альдегидов **16**, этилцианоацетата **24** и карбоната гуанидиния **18** в присутствии гидроксида

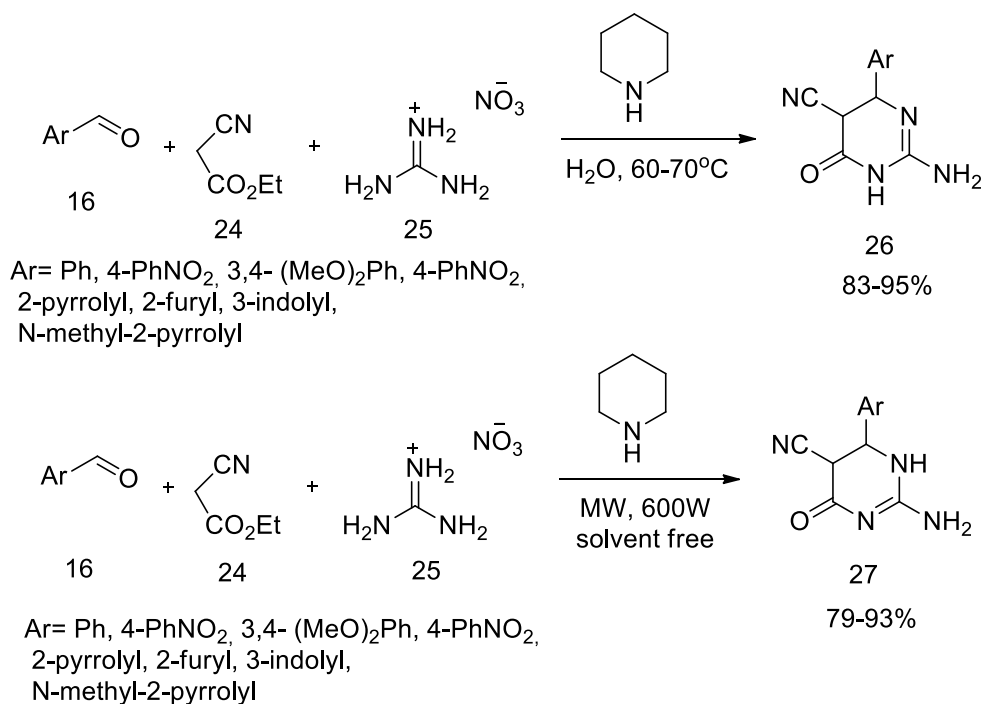


Схема 5 – Пример трехкомпонентного синтеза производных 5-цианопириимидина

В статье [23] был разработан эффективный подход к одностадийному синтезу пириимидинов **28** конденсацией ароматических альдегидов **16**, этилцианоацетата **24** и гуанидинхлорида **21** в щелочном этаноле (схема б). Антибактериальное исследование синтезированных соединений показало хорошую или превосходную активность в отношении протестированных грамположительных и грамотрицательных бактерий.

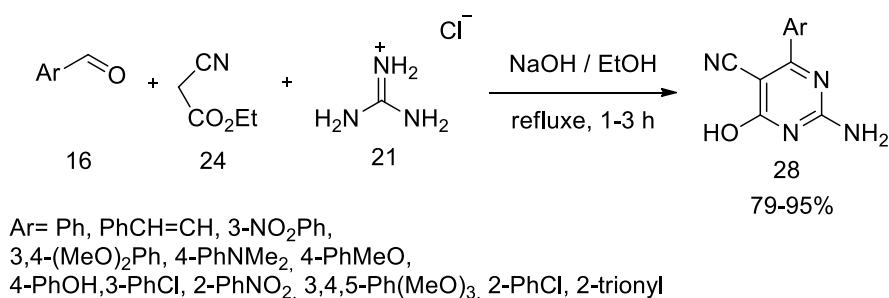


Схема 6 – Пример трехкомпонентного синтеза производных 5-цианопириимидина

В статье [24] было рассказано о надежном подходе к синтезу 2-аминопириимидин-5-карбонитрилов **32** путем 3-компонентной конденсации

N-замещенных гуанидинов **31**, α -цианокетонов **30** и соответствующих альдегидов **16** (или диметилацеталей **29**) в присутствии ДМФА при 120°C и микроволновом излучении (схема 7).

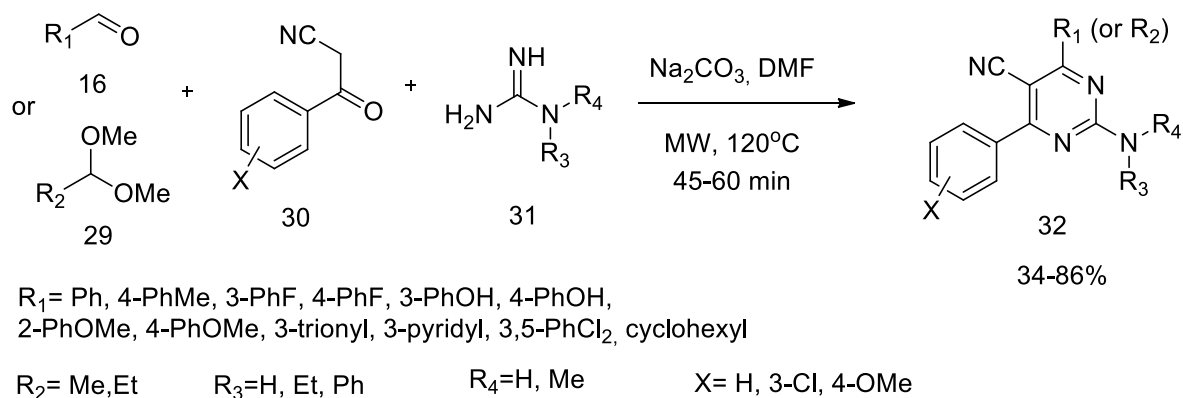


Схема 7 – Пример трехкомпонентного синтеза производных 5-цианопиримидина

Работа [25] Ронга и его коллег представила экологически чистый и мягкий способ синтеза производных 2,6-диамино-4-арилпиримидин-5-карбонитрила **34** с помощью реакции циклоконденсации ароматических альдегидов **16**, малононитрила **33** и карбоната гуанидиния **18** с использованием гидроксида натрия в качестве катализатора при 70°C без растворителя (схема 8).

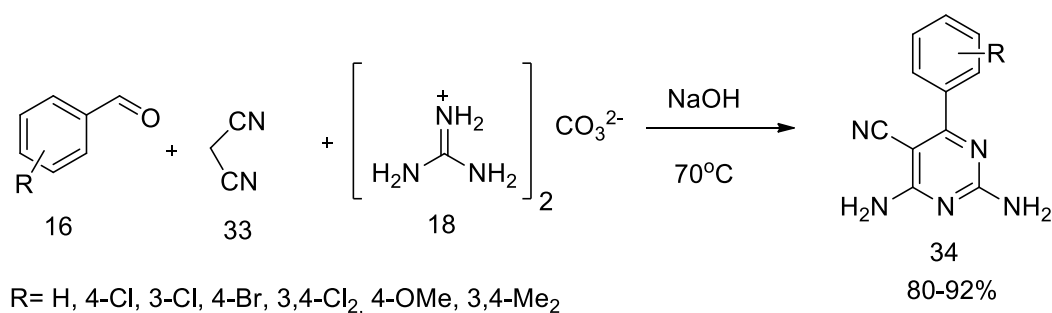


Схема 8 – Пример трехкомпонентного синтеза производных 5-цианопиримидина

В статье [26] было рассказано о другом синтезе 2,4-диамино-6-арилпиримидин-5-карбонитрилов **34** путем конденсации ароматических

альдегидов **16**, малононитрила **33** и хлорида гуанидина **21** в водной среде с использованием ТВАВ и карбоната калия (схема 9).

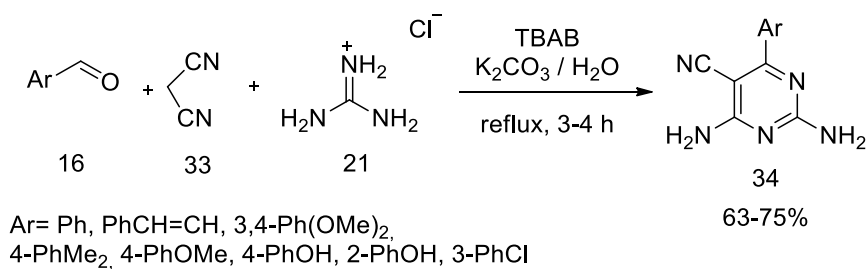


Схема 9 – Пример трехкомпонентного синтеза производных 5-цианоимидина

Многокомпонентные реакции приобретают все большее значение в органическом синтезе, поскольку такого рода реакции эффективны для синтеза соединений разной степени сложности в одном сосуде. Учитывая всё вышесказанное можно отметить, что производные 5-цианоимидина, полученные в ходе трехкомпонентной реакции, чаще всего имели удовлетворительные выходы. Было отмечено, что при смене условий реакции, а именно при микроволновом облучении, в отсутствие растворителя, повышается выход продукта. Реакции, в которых отсутствовали основания, такие как пиперидин, гидроксид натрия, ТВАВ, в качестве катализатора, сопровождались низким выходом.

2.2 Многостадийный синтез

В статье [27] был рассмотрен эффективный синтез производных 5-цианопиримидина **36** из 5-галогенпиримидина **35** введением гексацианоферрата калия в качестве цианирующего агента при участии комплекса палладия как катализатора (схема 10).

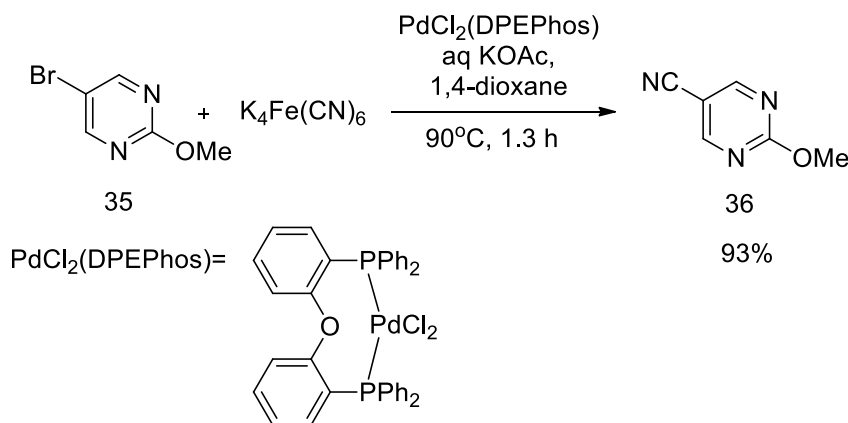


Схема 10 – Синтез пиримидин-5-карбонитрила из галогенпроизводного пиримидина с использованием $\text{PdCl}_2(\text{DPEPhos})$ в качестве катализатора

Использование комплекса $\text{PdCl}_2(\text{DPEPhos})$ значительно расширяет возможности цианирования арилбромидов, позволяет цианировать очень широкий спектр субстратов в простых в практическом отношении условиях. Превосходная комплементарность с катализаторами повышает практичность этого метода для синтеза низкомолекулярных фармацевтических препаратов и агрохимикатов. Этот метод становится еще эффективен благодаря тому, что тест-полоски для цианидов не показывают свободный цианид, образующийся в любой точке в ходе реакции или ее обработки в различных условиях.

В работе [28] рассматривается синтез из 5-бромпиримидина **37** под воздействием экологически чистого источника цианида $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, но изменены условия и катализатор (схема 11). При использовании биомиметических $\text{Cu}/\text{imidazole}$ катализаторов возможен простой и

практичный синтез, который протекает с высоким выходом и селективностью, нет необходимости исключать воздух или влагу.

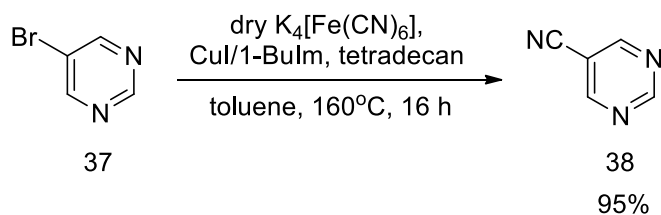


Схема 11 – Синтез пиримидин-5-карбонитрила из галогенпроизводного пиримидина с использованием биомиметических Cu/imidazole катализаторов

Авторы работы [29] синтезировали 5-цианопиримидин **38** из металлорганических пиримидинов **39** под действием комплекса меди в качестве катализатора и соли цианистого калия как цианирующего реагента (схема 12). Данный метод совместим с широким спектром субстратов, включая те, которые содержат карбоновые кислоты, фенолы, альдегиды, также метод используется в клинических испытаниях.

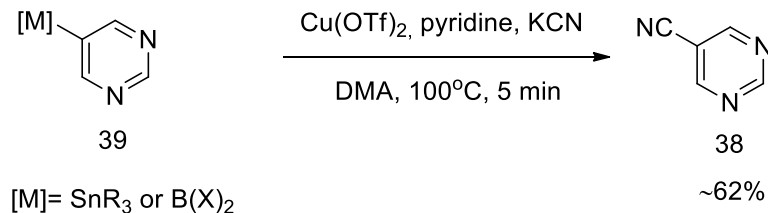


Схема 12 - Синтез пиримидин-5-карбонитрила из металлорганического пиримидина с использованием комплекса меди в качестве катализатора

В статье [30] авторы сообщили о катализируемом медью цианировании 5-бромпиримидинов **37** с использованием надмолекулярного лиганда пер-6-амино-β-циклодекстрина (per-6-NH₂-β-CD) (схема 13). Пиримидин-5-карбонитрил был получен из бромида, который превратили *in situ* в соответствующий иодид, путем катализа медью с использованием каталитических количеств йодида калия.

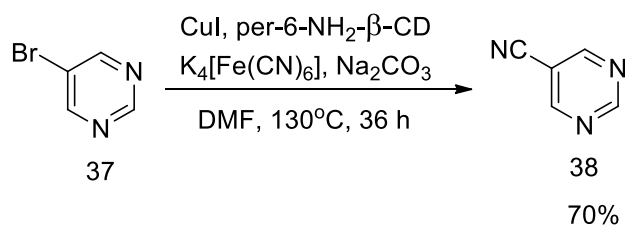


Схема 13 – Синтез пиримидин-5-карбонитрила из галогенпроизводного пиримидина с использованием per-6-NH₂-β-CD в качестве лиганда

Существенные преимущества использования per-6-NH₂-β-CD в качестве лиганда заключаются в том, что после завершения реакции лиганд может быть легко удален простой фильтрацией. Также, реакция более благоприятна для окружающей среды и менее опасна с использованием менее токсичного гексацианоферрата калия (II) в качестве цианирующего агента. Этот метод позволяет избежать инертной атмосферы, которая является общей необходимостью для других работ. И наконец, данная реакция совместима с широким набором функциональных групп.

Публикация [31] содержит данные о разработке эффективного и общее катализируемого никелем цианирование с использованием менее токсичного Zn(CN)₂ в качестве источника цианида. Использование 5-хлорпиримидина **40** в качестве стабильного на воздухе субстрата, недорогих солей никеля в качестве прекатализатора, фосфина (dppf) в качестве лиганда – всё это в сочетании с мягкими условиями реакции делает этот подход одним из наиболее привлекательных.

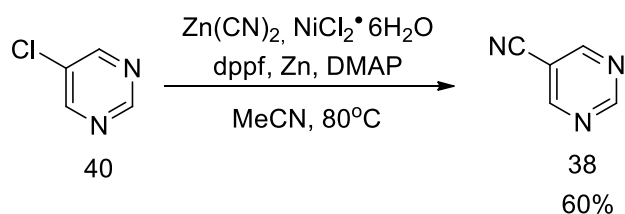


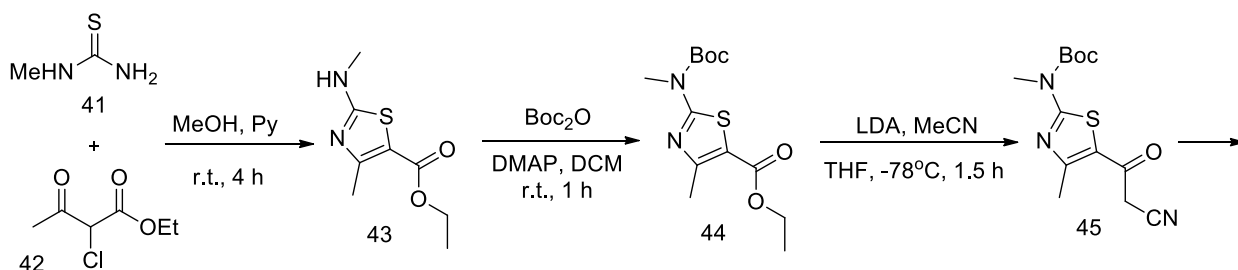
Схема 14 – Синтез пиримидин-5-карбонитрила из галогенпроизводного пиримидина с использованием солей никеля в качестве прекатализатора

3 Синтез биологически-активных производных 5-цианопиримидина

3.1 Противоопухолевая активность

Авторы работы [12] использовали CDK в качестве мишеней для выявления противоопухолевой активности производных 5-цианопиримидина. Ингибиторы *ran*-CDK первого поколения, такие как флавопиридол, также являются мощными ингибиторами CDK9, их противоопухолевая активность объясняется подавлением CDK9-опосредованных антиапоптотических белков, особенно Mcl-1 [32].

На схеме 15 указан синтез наиболее эффективного соединения данной статьи. Синтез начинался с циклизации этил-2-хлор-3-оксобутаноата **42** и 1-метилтиомочевины **41** в метаноле при комнатной температуре в течение 4 часов с пиридином в качестве основания. Затем, на полученный этил-4-метил-2-(метиламино)тиазол-5-карбоксилат **43** воздействовали Boc_2O и DMAP в дихлорметане. После защиты соединения **44**, его обрабатывали ацетонитрилом в присутствии LDA получали 5-(2-цианоацетил)тиазол **45** с высоким выходом. Затем соединение нагревали в ДМФА-ДМА с получением соединения **46**. Конечное соединение **48** было получено путем обработки **46** и соответствующего гуанидина **47** в 2-метоксиэтанол при микроволновом излучении.



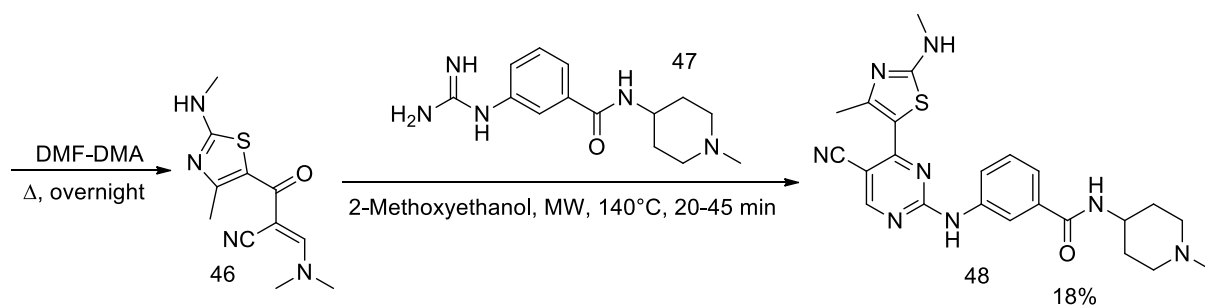


Схема 15 – Синтез производного 5-цианопиримидина **48**

Все соединения были протестированы против CDK1, 2, 7 и 9, а также двух линий опухолевых клеток человека, соединение **48** показало лучший профиль селективности в отношении CDK9 по сравнению с CDK1 и CDK2.

Соединение **48** было отобрано для детальных клеточных исследований. Панель клеточных линий, представляющих различные типы опухолей, включая рак прямой кишки, рак молочной железы, легких, яичников, шейки матки и поджелудочной железы, обрабатывали соединением **48** в течение 48 часов. Как было отмечено, **48** проявляло широкий спектр антипролиферативной активности с GI_{50} в диапазоне от 0.64 до 2.01 мкМ. HCT-116 и MCF-7 оказались наиболее чувствительными с $GI_{50} = 0.79$ и 0.64 мкМ соответственно. Затем было исследовано, является ли антипролиферативный эффект соединения **48** следствием активации клеточного апоптоза. Активность каспазы-3 измеряли в раковых клетках HCT-116 после обработки **48** в течение 24 ч, показывая значительную активацию каспазы-3 при концентрациях $5 \times$ и $10 \times GI_{50}$ мкМ. Затем проводили двойное окрашивание аннексина V/PI, чтобы подтвердить способность **48** индуцировать апоптоз. Как указано в таблице 1, соединение **48** эффективно индуцировало клеточный апоптоз с усиленным эффектом при более высоких концентрациях.

Таблица 1 – Результаты обработки клеток НСТ-116 соединением **48** в течение 24 часов

Концентрация (мкМ)	GI ₅₀	5 × GI ₅₀	10 × GI ₅₀
Живые клетки	95.3%	88.8%	83.2%
Ранний апоптоз	4.1%	6.9%	9.6%
Поздний апоптоз	0.4%	2.4%	6.2%
Мертвые клетки	0.2%	0.5%	1.1%

Можно отметить, что синтезированное соединение **48** показало более 20-кратную селективность в отношении CDK9 по сравнению с CDK1 и CDK2 и 10-кратную селективность по отношению к CDK7. Исследование клеточного механизма действия подтвердило, что соединение **48** способно индуцировать апоптоз с помощью опосредованной CDK9 подавления антиапоптотического белка Mcl-1 и активации каспазы-3.

В публикации [8] сообщалось о разработке различных противоопухолевых препаратов для лечения ряда заболеваний, таких как лейкемия или рак яичка. Т.к. влияние ранее созданных противоопухолевых препаратов на солидные опухоли слабо, желательны новые препараты с улучшенной эффективностью.

Синтетический подход к получению производных пиримидин-5-карбонитрила **53a,b-54a,b** следовал согласно реакциям, показанным на схеме 17. Требуемые 5-цианопиримидины **51a,b** были получены обработкой соединений **49a,b** *N*- [бис(метилтио)метиле]нцианамидом **50** в присутствии ДМСО и K₂CO₃ при комнатной температуре. Соединения **52a,b** были получены при кипячении **51a,b** и гидразингидрата с обратным холодильником в течение 3 часов в этаноле. Эти условия реакции позволяют селективно вытеснить тиометильную группу гидразином. Конечные соединения были получены из 6-гидразинопиримидинов **52a,b** с соответствующими альдегидами в этаноле с использованием уксусной

кислоты в качестве катализатора. Все синтезированные соединения были очищены перекристаллизацией.

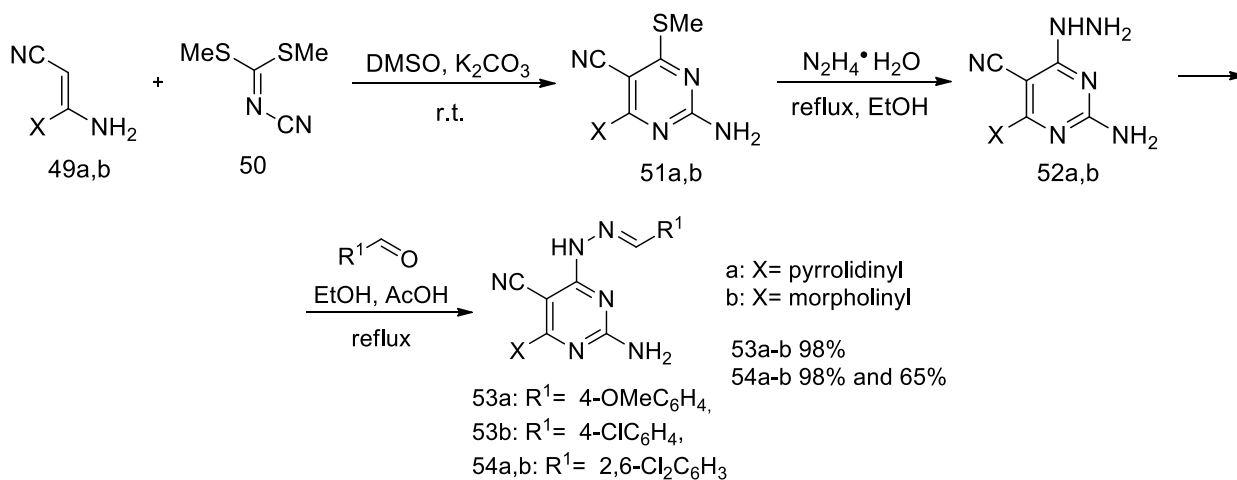


Схема 16 – Синтез производных 5-цианопиримидина **53a,b-54a,b**

Оценка противораковой активности полученных гидразонов проводилась в Национальном институте рака (NCI). Сначала все гидразоны оценивали в первичном противоопухолевом анализе при концентрации 10⁻⁴ М на клеточных линиях NCI-H460, MCF7 и SF-268 с помощью красителя alamarBlue.

Для дальнейших критериев NCI были выбраны соединения, которые снижают рост любой из клеточных линий примерно до 32% или менее, передаются для оценки на полную панель клеточных линий в диапазоне 5-log. Гидразоны **53a,b-54a,b**, которые соответствуют этим критериям, были оценены на противораковую активность с помощью противоопухолевого скрининга *in vitro*, основанным на использовании панелей из 60 линий опухолевых клеток человека с сульфородамино В в качестве красителя.

Данные GI₅₀ показали что выбранные соединения показали хороший уровень цитостатической активности при 10⁻⁵ М и в некоторых случаях при 10⁻⁷ М концентрациях по отношению ко всем субпанельным клеточным линиям. Соединение **54a** было наиболее активным, показавшим высокую цитостатическую активность на клетках рака толстой кишки НСТ-15, рака

яичников IGROV1, меланомы SK-MEL-5, рака почек A498 и рака молочной железы MDA-MB-435 (значения GI_{50} между $3.15 \cdot 10^{-7}$ и $8.78 \cdot 10^{-7}$ М). Данный гидразон полностью ингибировал рост 20 клеточных линий при концентрациях $0.318-9.73 \cdot 10^{-5}$ М, демонстрируя хорошую селективность на панели клеток лейкемии. Пиримидин **54b** вызвал 50% ингибирование роста 26 клеточных линий при микромолярных концентрациях, полностью ингибировал рост 24 клеточных линий при концентрациях 10^{-5} М и являлся цитотоксичным в отношении только клеточной линии НСС-298 рака толстой кишки (значение LC_{50} $6.48 \cdot 10^{-5}$ М). Пиримидин **53a** проявлял значительную ингибирующую активность на всех 60 клеточных линиях, показывая значения GI_{50} между 5.89 и $34.7 \cdot 10^{-6}$ М. Также данное соединение показало цитотоксическую активность против 31 клеточной линии с особой селективностью в отношении всех клеточных линий рака почки. Соединение **53b** проявило ингибирующую активность на 52 клеточных линиях при концентрации 10^{-5} М, также полностью ингибировал рост клеточных линий НСТ-15, IGROV1, A498, а также все клеточные линии лейкемии. Кроме того, данное соединение показало цитотоксическую активность на четырех клеточных линиях лейкемии со значениями LC_{50} между 7.15 и $8.68 \cdot 10^{-5}$ М.

Можно отметить, что в данной статье было разработано как минимум четыре потенциальных агента с противоопухолевой активностью на основе 5-цианопиримидина, которые могут быть подвергнуты дальнейшим улучшениям и модификациям.

В работе [33] была разработана и синтезирована новая серия производных 5-цианопиримидина посредством многокомпонентных реакций типа Биджинелли. Синтезированные соединения оценивали на антипролиферативную активность в отношении клеток асцитной опухоли Эрлиха. Соединение **61** проявляло более сильную цитотоксическую активность в отношении клеток ЕАТ со значением IC_{50} 5.2 мкМ, которое было самой близкой цитотоксической активностью по сравнению со стандартным лекарственным средством метотрексатом.

Синтез данного производного 5-цианопиримидина описан на схеме 17. Начинаясь синтез с многокомпонентной реакции типа Биджинелли: 4-фторбензальдегид **55** реагировал с тиомочевинной **56** и этилцианоацетатом **57** в присутствии карбоната калия в этаноле с получением пиримидин-5-карбонитрила **58**. Селективное *S*-алкилирование соединения **58** проводилось в ДМСО при комнатной температуре в течение 8 ч. Затем соединение **59** хлорировали путем обработки оксихлоридом фосфора при 70°C в течение 5 часов. Далее соединение **60** кипятили с обратным холодильником в течение 4 ч с соответствующим амином в присутствии триэтиламина в сухом ТГФ в атмосфере азота. В результате чего получили соединение **61**.

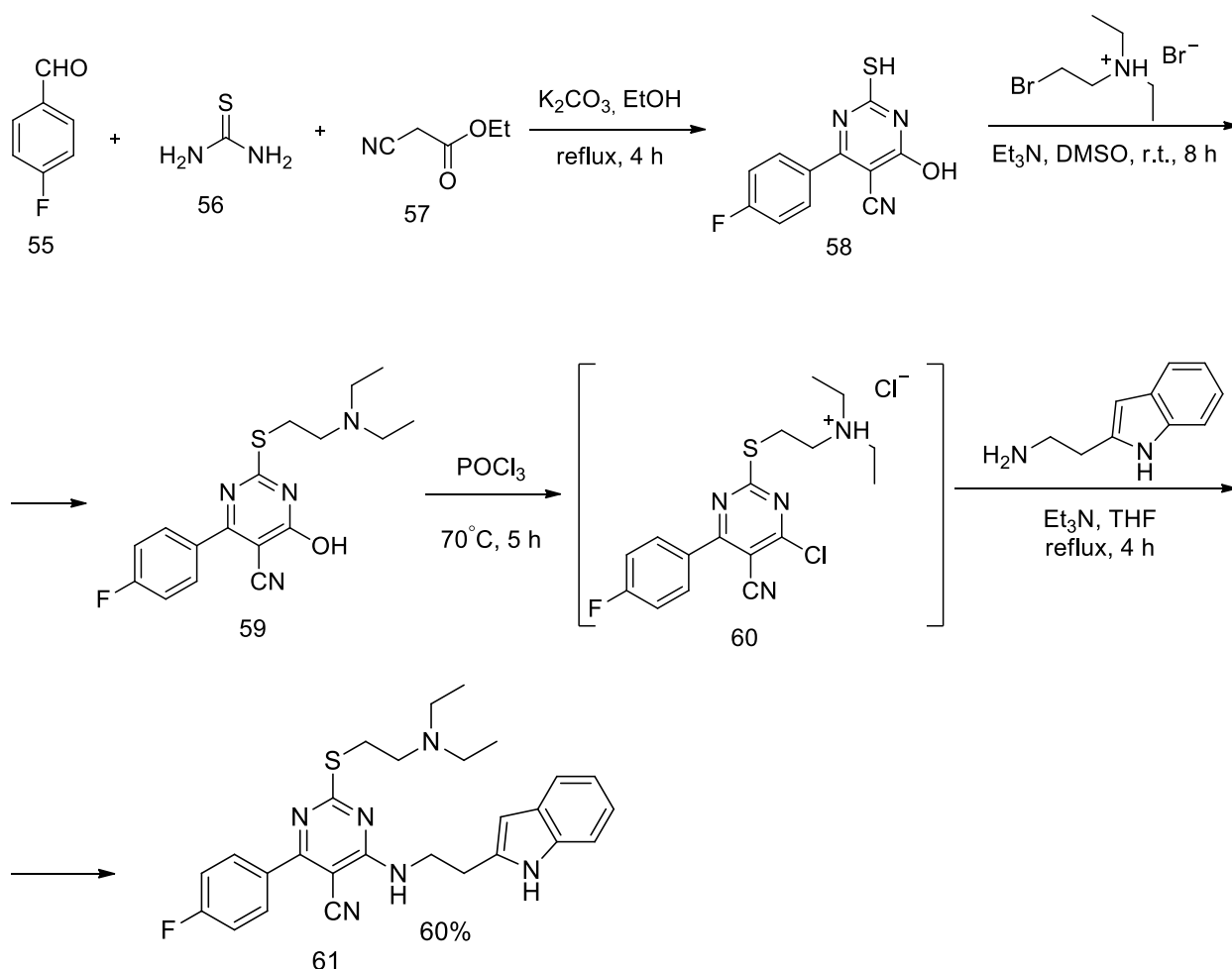


Схема 17 – Синтез производного 5-цианопиримидина **61**

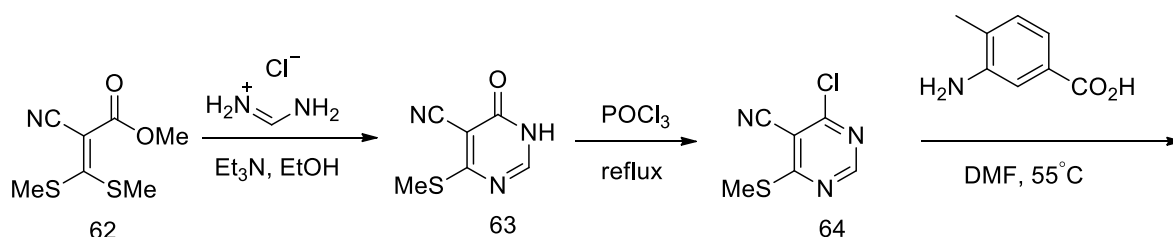
В данной статье была синтезирована новая серия производных 5-цианопиримидина и проведена оценка их цитотоксической активности, основываясь на методе исключения красителя трипанового синего. Соединение **61** обладало максимальной цитотоксичностью в отношении клеток ЕАТ. Результаты *in vitro* и связывание в исследованиях молекулярного докинга показали хорошую корреляцию, которая, в свою очередь, указала, что соединение **61** является потенциальным кандидатом с хорошей антипролиферативной активностью.

Учитывая всё вышеизложенное, можно отметить, что производные пиримидин-5-карбонитрила показывают многообещающие результаты тестирования *in vitro* и в дальнейшем могут использоваться как потенциальные противоопухолевые препараты.

3.2 Противовоспалительная активность

В работе [34] был исследован новый класс соединений на основе 5-цианопиримидина в качестве ингибиторов p38 MAP-киназы. MAP-киназа p38 играет ключевую роль в регуляции биосинтеза многих воспалительных цитокинов, включая рецепторы фактора некроза опухоли альфа и интерлейкин-1. Чрезмерное продуцирование TNFR и IL-1 связано со многими воспалительными процессами. Эффективность этого класса ингибиторов p38 *in vivo* была продемонстрирована на соединении **67**, которое продемонстрировало 100% пероральную биодоступность у мышей.

Синтез производного **67** представлен на схеме 18. 5-цианопиримидин **63** был получен из коммерчески доступного цианоакрилата **62**, гидрохлорида формамидина и триэтиламина в кипящем этаноле. Соединение **63** хлорировали оксихлоридом фосфора в присутствии триэтиламина при кипячении. Далее соединение **64** нагрели с 3-амино-4-метилбензойной кислотой в ДМФА с получением соединения **65**. Затем получили хлорангидрид кислоты под действием тионилхлорида, обработали 3-аминоизоксазолом в присутствии пиридина и получили **66**. Превращение в соответствующий сульфон осуществляли обработкой **66** *m*-хлорпербензойной кислотой в ТГФ. Последующая реакция с изопропиламином в 1,4-диоксане при 150°C в условиях микроволнового облучения завершила синтез соединения **67**.



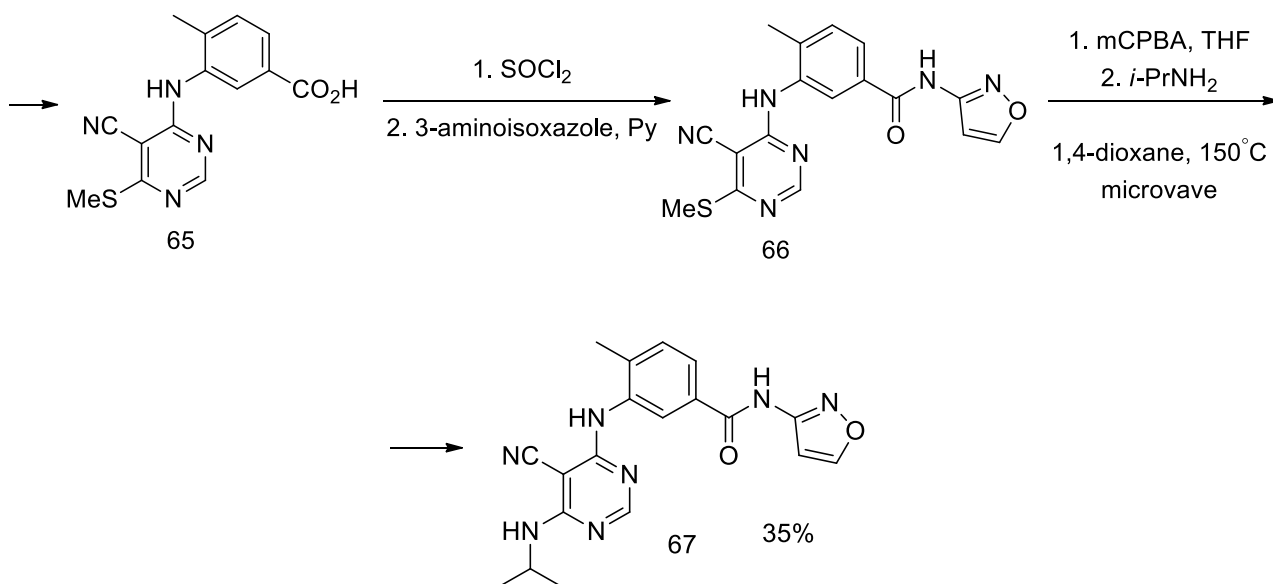


Схема 18 – Синтез производного 5-цианопиримидина **67**

Активность *in vivo* ингибиторов р38 на основе 5-цианопиримидина была продемонстрирована оценкой соединения **67** на острой мышинной модели ингибирования TNFR. Мышам перорально вводили препарат в дозе 5 мг/кг за 5 ч до введения лекарственного препарата сравнения. Уровни TNFR измеряли через 90 минут. Как было указано в данном источнике [32], соединение **67** перорально активно, ингибирует продукцию TNFR на 60%.

На рисунке 1 представлен рентгеноструктурный анализ комплекса соединения **67** и нефосфорилированного р38R. Азот, входящий в цианогруппу соединения **67**, образовывал водородную связь с остатком Met109 р38. Также наблюдалась вторичная водородная связь между азотом, входящим в изопропиламино-группу, и карбонильным кислородом аминокислоты Met109. Боковая амидогруппа обеспечивает еще две водородные связи с Asp168 и Glu71.

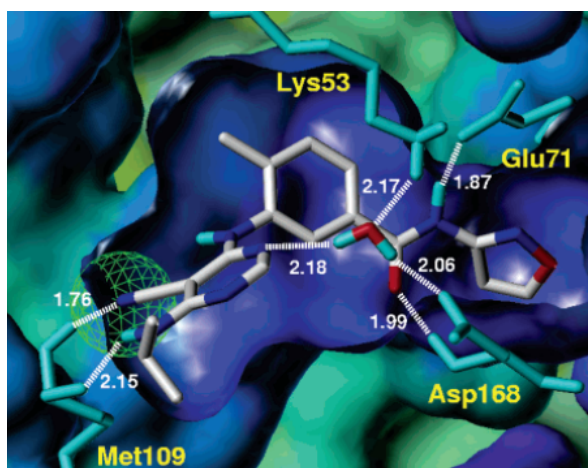


Рисунок 1 – Рентгеноструктурный анализ взаимодействия между соединением **67** и нефосфорилированным p38R.

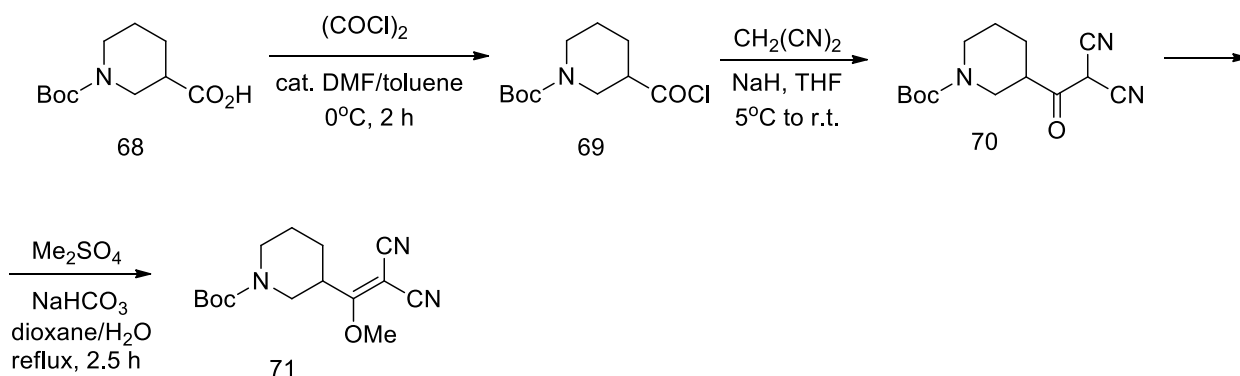
Можно отметить, что разработанное соединение **67** из серии производных 5-циано-4,6-диаминопиримидина впоследствии использоваться в качестве нового ингибитора p38R MAP киназы. Также данное соединение обладало мощной активностью *in vitro* и *in vivo*, продемонстрировало соответствующие метаболические и фармакокинетические профили для перорально активного лекарственного средства. Наконец, рентгеноструктурный анализ соединения **67** и нефосфорилированным p38R подтвердил связывание этих новых ингибиторов с мишенью.

В патенте [35] были разработаны потенциальные противовоспалительные агенты для лечения артрита, в частности, соединения в качестве ингибиторов ИКК-2, киназы IκB. Данные соединения могут также использоваться для лечения воспаления легких, некоторых расстройств центральной нервной системы, таких как корковые деменции, включая болезнь Альцгеймера, и повреждение центральной нервной системы, вызванное инсультом, ишемией и травмой.

Распространенным методом лечения ревматоидного артрита являются противовоспалительные стероиды. Одним из механизмов, посредством которых стероиды проявляют свое противовоспалительное действие, является ингибирование активации транскрипционного фактора NF-κB.

Хроническая активация NF-κB была продемонстрирована в клетках эндотелия сосудов и синовиальной оболочки у пациентов с ревматоидным артритом. Киназы IκB (IKK-1 и IKK-2) представляют собой критический, общий знаменатель в активации NF-κB, поскольку доминантно-негативные конструкции IKK блокируют ядерную транслокацию NF-κB и ингибируют сообщенные гены, связанные с NF-κB. Таким образом, IKK-1 и / или IKK-2 представляют собой новые цели для разработки лекарств. Сообщалось, что селективные ингибиторы IKK-2 могут быть полезны для лечения воспалительных заболеваний.

Синтез активного соединения представлен на схеме 19. Сначала был синтезирован реагент **71** путем последовательных реакций. К 0°C раствору Boc-пиперидинкарбоновой кислоты **68** в толуоле добавляли оксалилхлорид и несколько капель ДМФА и перемешивали в течение 2 часов. Далее добавляли CH₂Cl₂ и смесь фильтровали. Затем фильтрат концентрировали при пониженном давлении, получая хлорангидрид **69**. После этого NaN помещали к 0°C раствору малонитрила в ТГФ и добавляли хлорангидрид **69**. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа. Затем к соединению **70** добавляли диметилсульфат и смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2,5 часов. После этого реакционную смесь просушивали над MgSO₄ и концентрировали в вакууме.



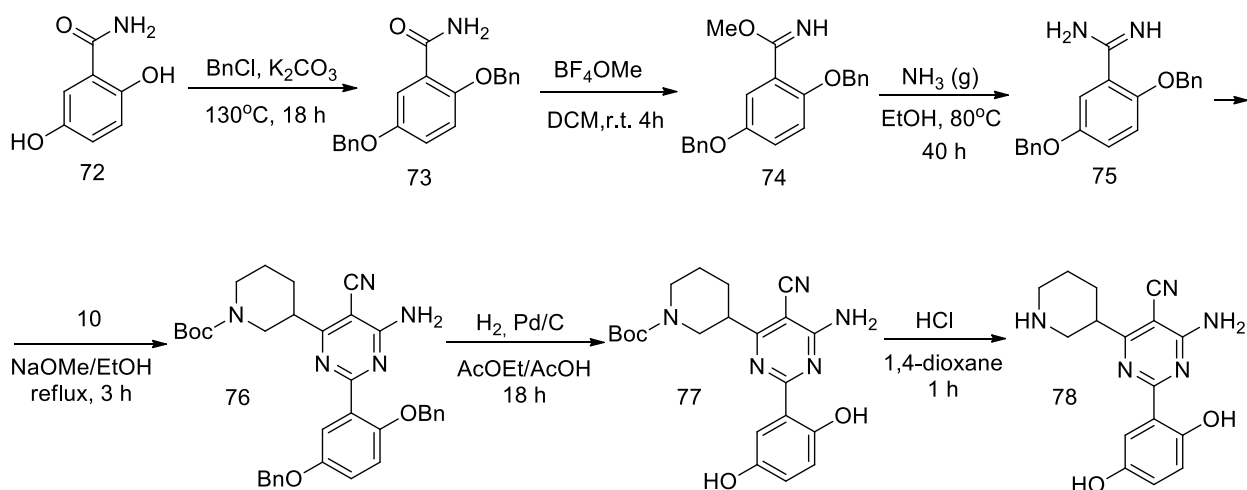


Схема 19 – Синтез производного 5-цианопиримидина **78**

Второй этап синтеза это получение конечного производного. К раствору 2,5-дibenзилоксибензонитрила **72** в бензиловом спирте при комнатной температуре добавляют KOH и H₂O. Полученную суспензию помещали в масляную баню при 130°C на 18 часов. Далее к раствору 2,5-бис(бензилокси)бензамида **73** в метиленхлориде при комнатной температуре добавляли тетрафторборат триметилксония и полученную суспензию перемешивали в течение 4 ч. После этого к раствору метил 2,5-бис(бензилокси)бензолкарбоксимидоата **74** в этаноле добавляли конденсированный аммиак, раствор герметизировали и нагревали до 80°C. Через 40 ч реакционную смесь охлаждали, фильтровали и затем концентрировали, получая соединение **75**. Далее, к раствору *трет*-бутил-3-(2,2-дициано-1-метоксивинил)пиперидин-1-карбоксилата **71** и 2,5-бис(бензилокси)бензолкарбоксимидамида **75** в абсолютном этаноле добавляли метоксид натрия и кипятили с обратным холодильником в течение 3 часов. Далее к полученному *трет*-бутил-3-(6-амино-2-[2,5-бис(бензилокси)фенил]-5-цианопиримидин-4-ил)пиперидин-1-карбоксилату **76** в этилацетате и ледяной уксусной кислоте добавляли 10% палладий на угле. Затем реакционную смесь заглушали водородным баллоном и перемешивали в течение 18 часов. Конечную реакцию снятия защитной группы с *трет*-

бутил-3-[6-амино-5-циано-2-(2,5-дигидроксифенил)пиримидин-4-ил] пиперидин-1-карбоксилата **77** проводили при перемешивали в 4Н НСl с 1,4-диоксане в течение часа. В итоге получали продукт **78**, выход не указан.

Активность ингибирования киназы ИКК-2 измеряли с использованием биотинилированного пептида IкВа. Полученное из анализа значение IC₅₀ для данного соединения **78** было самым лучшим 0.316 мкМ.

В работе [36] было обнаружено, что некоторые соединения из новой синтезированной серии производных 5-цианопиримидинов являлись селективными в отношении рецепторов аденозина А1. Активация рецепторов такого типа вызывает широкий спектр ответов, которые можно классифицировать как противовоспалительные [37]. Среди более активных по рецептору А1 соединений было **85** со значением K_i 1.2 нМ.

Соединение **85** синтезировали в соответствии со схемой 20.

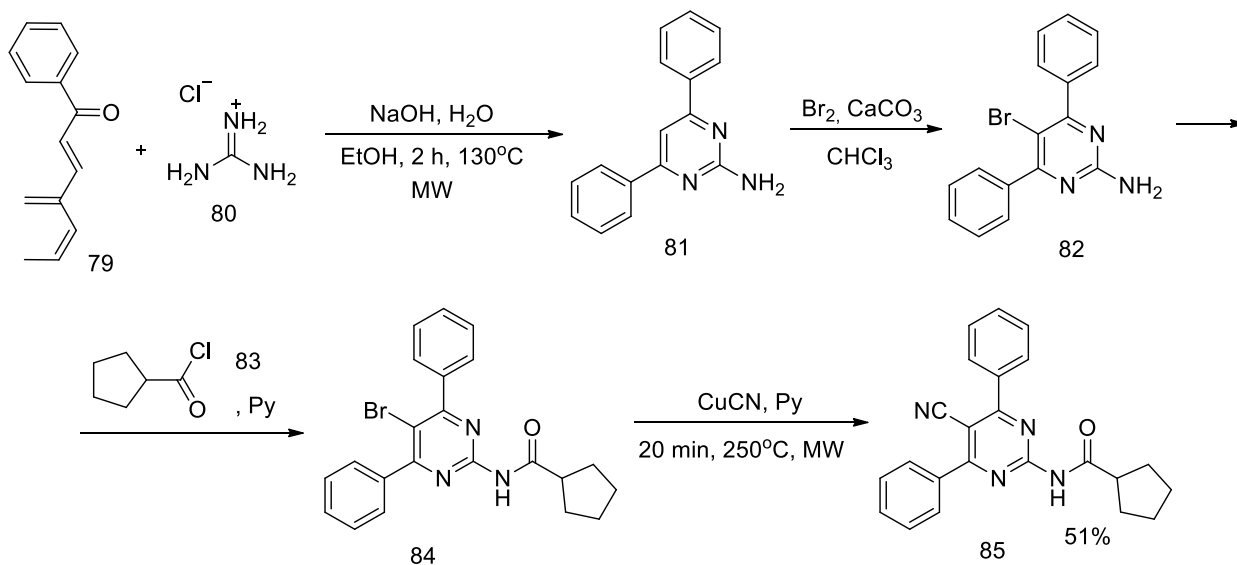


Схема 20 – Синтез производного 5-цианопиримидина **85**

Гуанидин **80** освобождался от гидрохлоридной формы с водным NaOH и реагировал с коммерчески доступным хальконом **79** в этаноле при нагреве и микроволновом облучении. Бромирование проводили в 5 положение 2-

аминопиримидина **81** с Br₂ в присутствии CaCO₃ в CHCl₃, получая соединение **82**. Далее полученное соединение взаимодействовало с хлорангидридом **83** в пиридине при комнатной температуре. Карбонитрил был введен путем замещения брома CuCN в пиридине в запаянной пробирке при температуре 250°C в условиях микроволнового излучения.

Активность продуктов была оценена на клеточной линии СНО, в этих клетках эталонный агонист N⁶-циклопентиладенозин ингибировал (стимулированную форсколином) выработку цАМФ почти на 50%. Результаты свидетельствовали о том, что соединение **85** со значением K_i 1.2 нМ являлось более эффективным антагонистом рецептора A1.

В работе [38] была синтезирована серия соединений в качестве антагонистов рецепторов хемокинов, активируемых IL-8, CXCR1 и/или CXCR2. Хемокины действуют через рецепторы, связанные с G-белком, для регуляции различных эффектов, включая миграцию клеток и воспалительные явления. Хроническая обструктивная болезнь легких является одной из основных причин заболеваемости и смертности во всем мире и представляет собой хроническое воспалительное заболевание. Учитывая нехватку препаратов в данной области, это вызвало интерес к разработке антагонистов.

Синтез самого эффективного антагониста **90** показан на схеме 21.

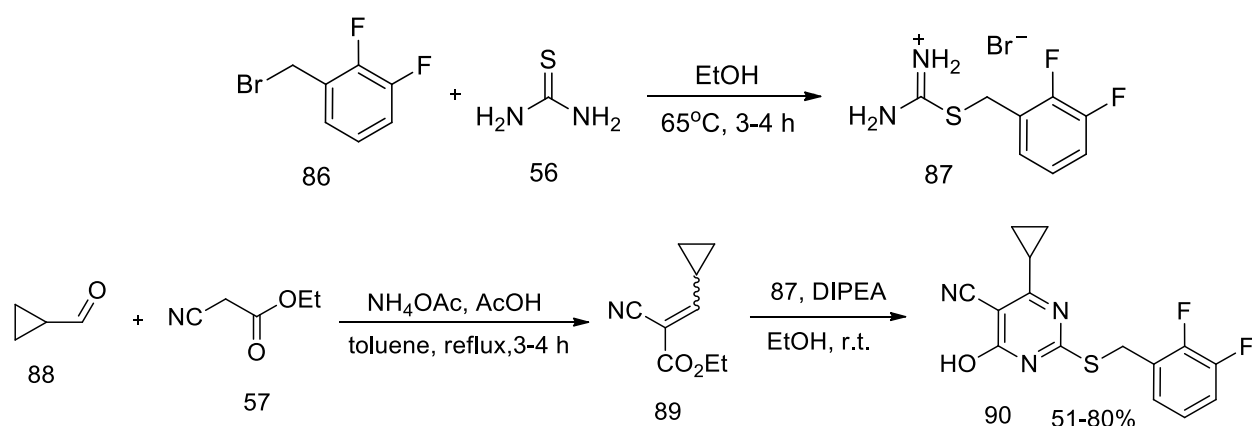


Схема 21 – Синтез производного 5-цианопиримидина **90**

Тиурониевая соль **87** была получена обработкой 2,3-дифторбензилбромида **86** тиомочевинной **56** в этаноле при 65°C. Синтез пиримидинола **90** был осуществлен в два этапа: путем конденсации Кновенагеля альдегида **88** с этил-2-цианоацетатом **57** и реакцией образующегося акрилата **89** с солью тиурония **87**.

Был проведен высокопроизводительный скрининг для выявления функциональных антагонистов, которые блокировали связывание GRO- α с человеческим рекомбинантным CXCR2 (hrCXCR2), экспрессируемым в мембранах клеток CHO, с использованием анализа [³⁵S]-GTP γ S. В этом анализе количество накопленного [³⁵S]-GTP γ S прямо пропорционально степени активации рецептора. Соединение **90** имело значение IC₅₀ [³⁵S]-GTP γ S 0.14 мкМ, затем активность была повторно подтверждена в качестве ингибиторов hrCXCR2 [¹²⁵I]-GRO- α и показало наибольшее значение IC₅₀ 0.04 мкМ.

Можно отметить, что HTS выявил новый хемотип пиримидин-5-карбонитрила как селективный антагонист CXCR2. Было исследовано SAR каркаса, в результате чего был идентифицирован пиримидин-5-карбонитрил-6-циклопропил **90**, который являлся функциональным антагонистом человеческого рецептора CXCR2 и продемонстрировал хорошую пероральную биодоступность у крысы.

Многообещающие результаты тестирования *in vitro* и *in vivo* производных 5-цианопиримидина говорят о том, что данные соединения могут использоваться в качестве потенциальных препаратов для лечения воспалительных процессов.

3.3 Противосудорожная активность

В работе [39] обсуждалась разработка новой серии производных 5-цианопиримидинов, одно из которых проявляло сопоставимую или даже более высокую противосудорожную активность, чем стандартный препарат фенитоин (противоэпилептическое лекарственное средство, оказывает противосудорожное действие без выраженного снотворного эффекта).

Синтез самого эффективного производного представлен на схеме 22. Соединение **92** синтезировали с использованием модифицированной конденсации Биджинелли – реакция ароматического альдегида **91**, этилцианоацетата **57** и тиомочевины **56** в присутствии карбоната калия. Требуемое промежуточное соединение **93** было получено при нуклеофильной атаке предыдущего соединения **92** гидразингидратом. Далее 6-оксо-4-фенил-1,6-дигидропиримидин-5-карбонитрил **95** получали путем кипячения с обратным холодильником соединения **93** с ацетофеноном **94** в течение 2-3 часов в смеси уксусной кислоты и абсолютного этанола (2:8).

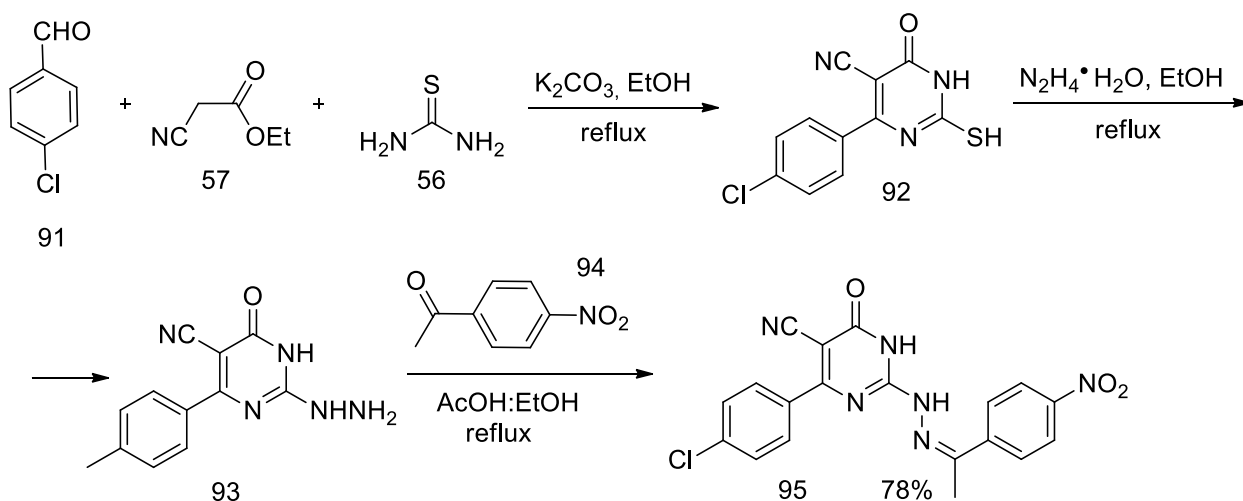


Схема 22 – Синтез производного 5-цианопиримидина **95**

Это соединение было оценено на противосудорожную активность с использованием методов MES и scPTZ. После введения соединения в дозах

30, 100 и 300 мг/кг противосудорожная активность регистрировалась с интервалами времени 0,5 и 4 ч с использованием фенитоина и карбамазепина в качестве контрольных препаратов. Соединение **95** проявляло активность в моделях MES и scPTZ при более низкой дозе 30 мг/кг через 0.5 и 4 часа. Было обнаружено, что активность соединения сопоставима с эталонным фенитоином и выше, чем у карбамазепина. Скрининг нейротоксичности соединения **95** проводили с использованием метода испытания в ротароде. Во время скрининга было обнаружено, что соединение не проявляло каких-либо признаков двигательного нарушения даже при более высоких дозах. Лучшие результаты соединения **95** с точки зрения противосудорожной активности и нейротоксичности являются следствием повышенной липофильности.

Дальнейшие тестирования данного соединения могут привести к тому, что этот препарат можно будет использовать в качестве потенциального противосудорожного агента.

3.4 Антимикробная активность

В работе [40] рассмотрена новая серия производных пиримидин-5-карбонитрилов в качестве потенциальных антимикробных агентов. Соединения были протестированы на активность *in vitro* против группы грамположительных и грамотрицательных бактерий и дрожжеподобного патогенного гриба *Candida albicans*. Соединение **101** проявило выраженную антибактериальную активность, особенно в отношении грамположительных бактерий, соединение не являлось активным в отношении *C. albicans*.

Синтез эффективного соединения **101** представлен на схеме 23.

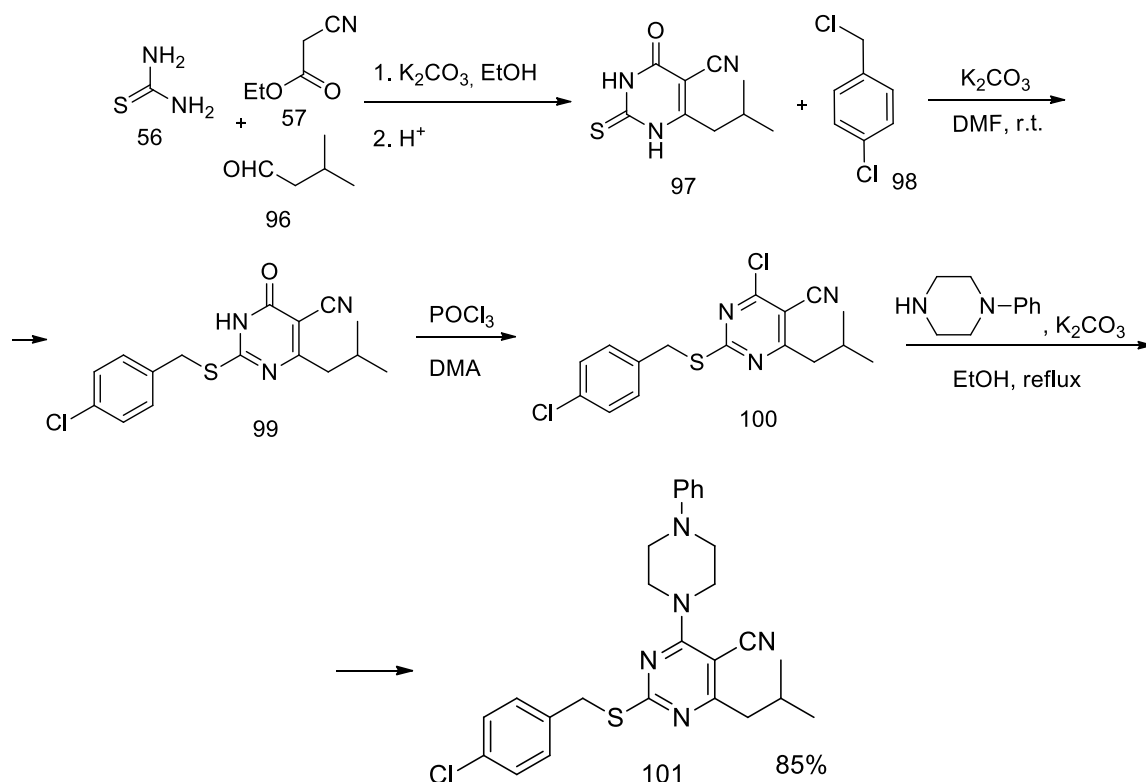


Схема 23 – Синтез производного 5-цианопиримидина **101**

Реакция *tert*-бутаналя **96** с этилцианоацетатом **57** и тиомочевинной **56** в этаноле в присутствии карбоната калия дает соединение **97**. Соединение **97** реагировало с соединением **98** в присутствии карбоната калия в ДМФА при

комнатной температуре в течение 12 часов. Далее соединение **99** хлорировали с помощью оксихлорида фосфора в *N,N*-диметилацетамиде. Соединение **100** плавно реагировало с 1-фенилпиперазином в кипящем этаноле в присутствии карбоната калия с образованием **101**.

Соединение **101** было протестировано на ингибирующую активность *in vitro* в отношении стандартных штаммов Института ферментации Осаки, а именно *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (грамположительные бактерии), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (грамотрицательные бактерии), а также дрожжеподобный патогенный гриб *Candida albicans*. Первичный скрининг проводили методом дисковой диффузии в агаре, используя среду Мюллера-Хинтона. Результат показал сильную антибактериальную активность соединения **101**, который давал зону задержки роста более 18 мм против одного или нескольких из протестированных микроорганизмов.

В статье [41] была разработана новая серия замещенных 5-цианопиримидинов, соединения были подвергнуты скринингу в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и грибов. Среди полученных производных было выявлено наиболее активное, которое дало многообещающие результаты.

Синтез соединения **104**, которое впоследствии проявило наибольшую антимикробную активность, представлен на схеме 24. Взаимодействие соединения **102** с тиомочевинной **56**, катализируемое пиперидином в кипящем этаноле, а затем добавление карбоната калия дало соединение **103**. Далее, конденсация **103** с этилхлорацетатом дала соответствующий этил 2-(4-амино-5-циано-6-(4-метоксифенил) пиримидин-2-ил)тиоацетат **104**.

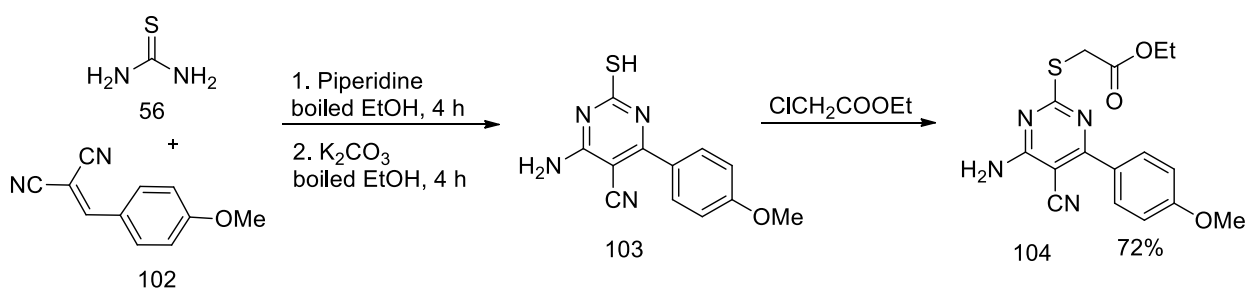


Схема 24 – Синтез производного 5-цианопиримидина **104**

Полученное соединение подвергали скринингу на наличие антимикробной активности с использованием *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (грамположительные бактерии), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (грамотрицательные бактерии), *Candida albican* и *Aspergillus niger* (грибки). Активность соединения была проверена с использованием метода диффузии на диске. Испытуемое соединение растворяли в *N,N*-диметилформамиде, чтобы получить раствор в мл/мл. Зоны ингибирования измеряли в миллиметрах в конце периода инкубации 48 ч при 28°C. *N,N*-диметилформамид не показал зон ингибирования. Площадь зоны ингибирования измеряли с использованием неомидина (30 мг) в качестве стандартного антибиотика. Соединение **104** продемонстрировало наибольшую антибактериальную активность (зона ингибирования составляла 12-15 мм) в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Также, данное соединение показало умеренное ингибирование (зона ингибирования ≈ 8–12 мм) против двух грибков.

Антимикробные препараты в настоящее время пользуются большим спросом, но большинство из них имеют побочные эффекты, поэтому разработка препаратов с антимикробной активностью очень актуальна. Многообещающие результаты тестирования *in vitro* производных пиримидин-5-карбонитрила говорят о том, что в дальнейшем данные

соединения можно будет использовать в качестве потенциальных противомикробных агентов.

3.5. Антидиабетическая активность

Соединение **105**, синтез которого описан в статье [40], было рассмотрено на антидиабетическую активность в работе [42].

Синтез эффективного соединения **105** представлен на схеме 25 и идентичен синтезу на схеме 23 за исключением последней реакции. Соединение **100** реагировало с тиофенолом в пиридине с нагреванием в течение 3 ч и давало целевое производное **105**.

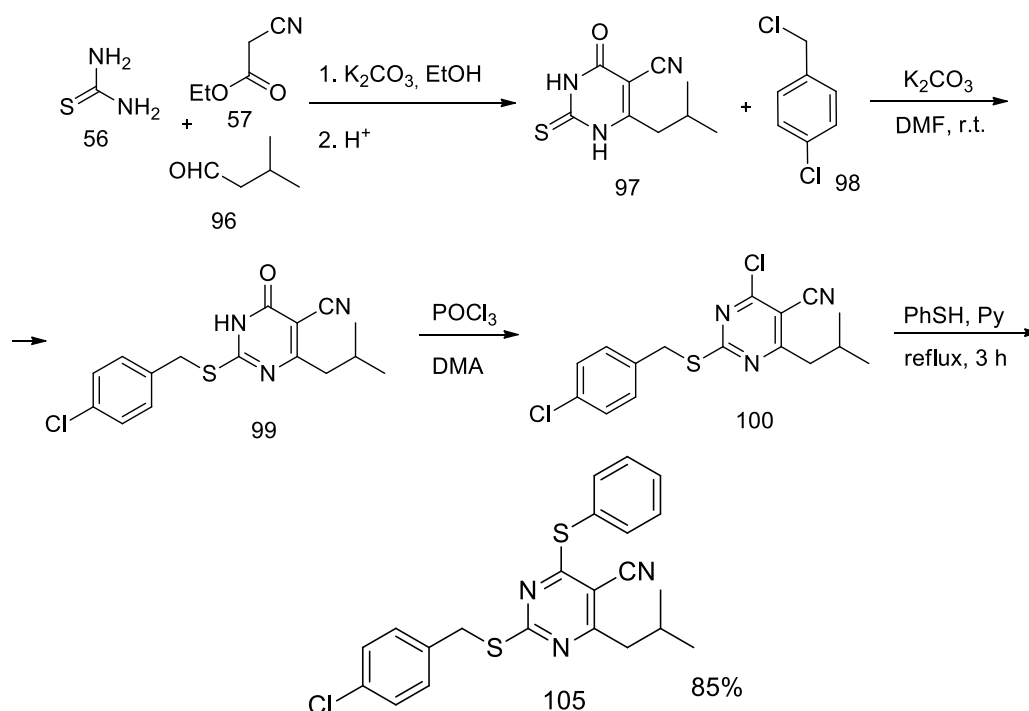


Схема 25 – Синтез производного 5-цианопиримидина **105**

Полученное соединение **105** было анализировано с помощью PASS – онлайн-инструмента, который предсказал антидиабетическую активность со значением P_a (вероятность быть активным) 0.320. Также, ингибирующая природа соединения **105** была исследована с помощью молекулярного докинга, где гликогенфосфорилаза β была взята в качестве мишени для антидиабетического препарата. Аллостерический сайт, характеризующийся кристаллической структурой $GP\beta$, был использован в качестве сайта-мишени.

Лиганд связывался в аллостерическом сайте субстрата слабыми нековалентными связями, наиболее заметными из которых были Н-связи и алкил- π -связи. Аминокислоты Arg60 образовывали две Н-связи, как это видно на рисунке 2. His57 и Ala192 также образуют Н-связи с лигандом. Наличие четырех Н-связей подтверждало, что ингибитор может быть специфичным для этого сайта. Алкил- π -связи дополнительно стабилизировали комплекс субстрата ингибитора.

Эти результаты означают, что соединение **105** проявляет ингибирующую активность в отношении GPb и в дальнейшем может использоваться как потенциальное антидиабетическое соединение.

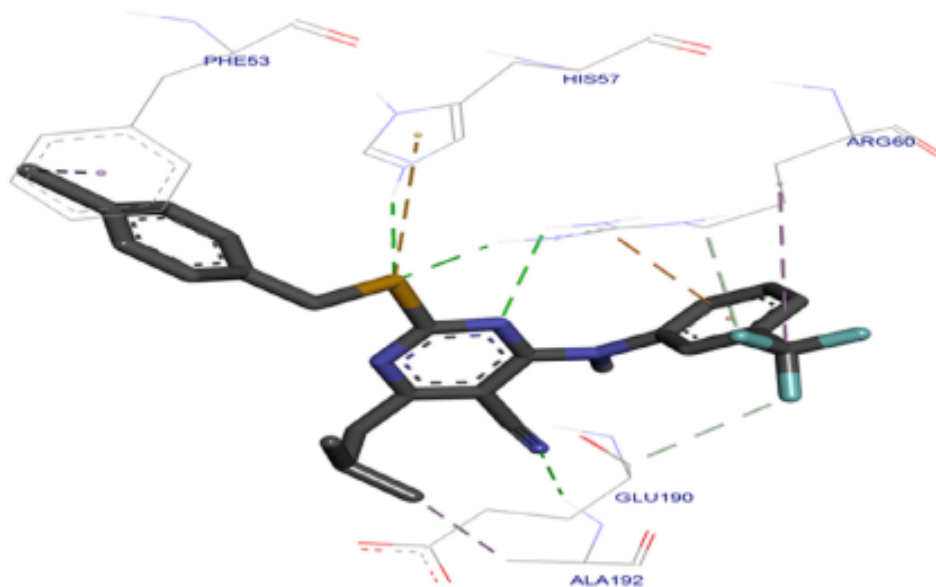


Рисунок 2 – Молекулярный докинг соединения **105** с GPb.

3.6. Антитрипаносомная активность

В работе [43] был описан синтез производных 5-цианопиримидина и соединения были оценены *in vitro* в отношении двух разных стадий *Trypanosoma cruzi*: эпимастигот и трипомастигот, которые вызывают болезнь Шагаса. Соединение **108** проявило большую активность в отношении трипомастигот, чем бензнидазол, который был взят в качестве контрольного соединения.

Соединение **108** было получено с хорошим выходом (в диапазоне от 57 до 98%). Синтез соединения был осуществлен циклизацией ариламида **106** и биснитрила **107** в метаноле при нагревании, в присутствии пиперидина в качестве основания.

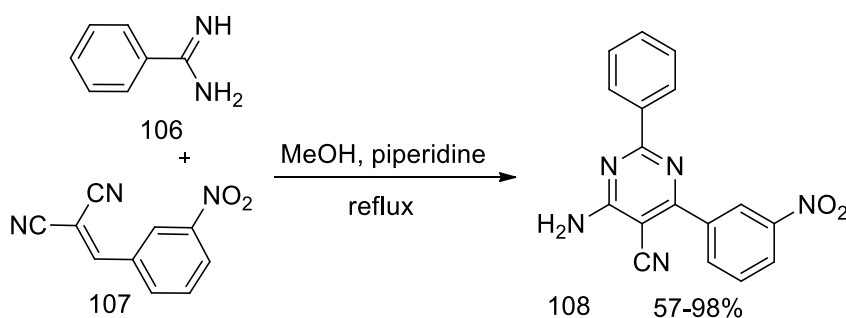


Схема 26 – Синтез производного 5-цианопиримидина **108**

Соединение **108** показало удовлетворительный результат (анти-трипомастигот IC_{50} 10.28 мкМ и CC_{50} 112.1 мкМ) против трипомастигот и лучшую дозировку, чем стандартное лекарственное средство BZN (анти-трипомастигот IC_{50} 40.49 мкМ и CC_{50} 459.2 мкМ). Следовательно, этот препарат может выступать в качестве потенциального антагониста *T. cruzi*.

Болезнь Шагаса малоисследована и лекарственное средство BZN, которое направлено на лечение болезни, эффективно только на ранней стадии заболевания. Следовательно, имеет место разработка новых эффективных препаратов, которыми могут быть 5-цианопиримидины.

3.7. Антиплазмодальная активность

В работе [44] был описан синтез серии гибридов, включающих 5-цианопиримидиновый и хинолиновый фрагменты. Данные соединения были протестированы на антиплазмодальную активность *in vitro* против штаммов NF54 и Dd2 *Plasmodium falciparum*. Концентрации, ингибирующие 50% роста паразитов (IC_{50}), были получены с использованием нелинейного анализа аппроксимации кривой доза-ответ с помощью программного обеспечения Graph Pad Prism v.4.0. Производное **114** продемонстрировало самую высокую антиплазмодальную активность ($IC_{50} = 56$ нМ) против штамма Dd2.

Получение наиболее активного производного 5-цианопиримидина **114** описано на схеме 27.

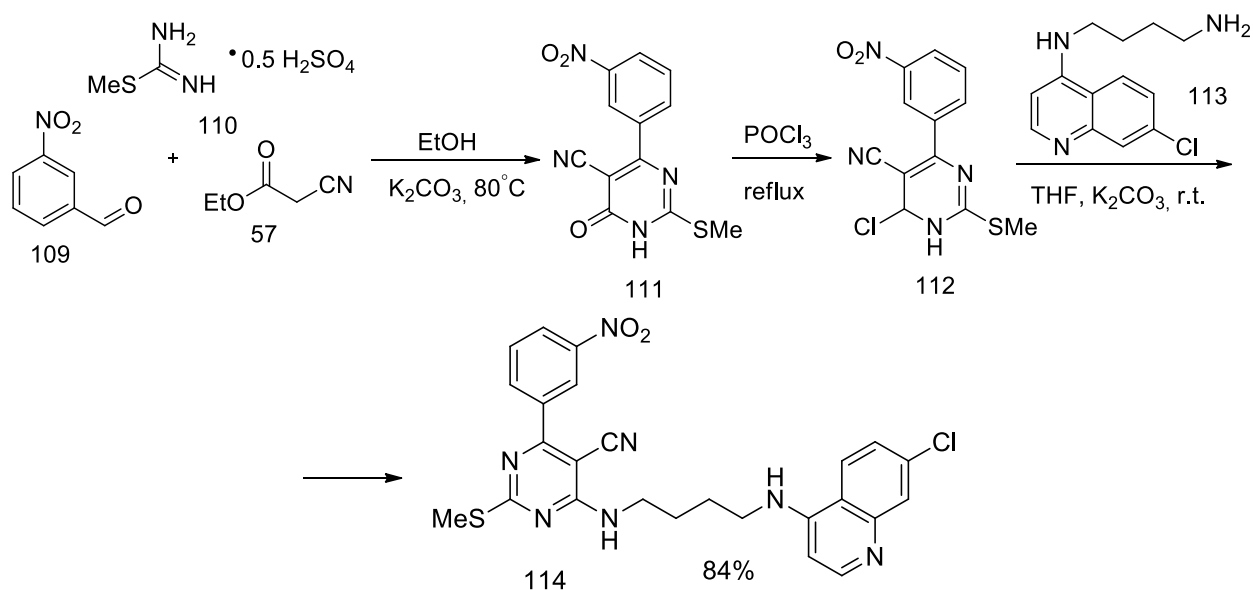


Схема 27 – Синтез производного 5-цианопиримидина **114**

Замещенный пиримидин-6(1H)-он **111** был синтезирован в результате модифицированной реакции конденсации Биджинелли этилцианоацетата **57**, м-нитробензальдегида **109** и гемисульфата S-метилизотиомочевины **110** в

этаноле в присутствии K_2CO_3 . Обработка соединений **111** избытком $POCl_3$ дала соответствующее производное 6-хлорпиримидина **112**. Реакция нуклеофильного замещения соединения **112** с 7-хлор-4-аминохинолином **113** в сухом ТГФ дала целевой продукт **114** с выходом 84%.

В дальнейшем, при получении удовлетворительных результатов тестирования *in vivo*, это соединение может рассматриваться в качестве противомалярийного агента, т.к. простейшие паразиты *Plasmodium falciparum* вызывают тропическую малярию.

Заключение

В ходе исследования было установлено, что природное происхождение класса пиримидинов объясняет широкий спектр их использования и высокую биологическую активность их производных. Были рассмотрены два наиболее приоритетных способа получения 5-цианопиримидинов: трехкомпонентный одностадийный и многостадийный синтезы. Также был проведен анализ различных способов синтеза биологически активных производных пиримидин-5-карбонитрилов, которые проявляли следующие виды активности: противоопухолевая, противовоспалительная, противосудорожная, антимикробная, антидиабетическая, анти трипаносомная и антиплазмодальная.

Широкий спектр высокой биологической активности, простой синтез, не требующий больших затрат и низкая токсичность позволяют говорить о 5-цианопиримиданах как о перспективных скаффолдах, на основе которых будут разрабатываться новые лекарственные средства. В заключение стоит отметить, что основным приоритетом в данной области медицинской химии является совершенствование уже полученных соединений, а также разработка новых производных пиримидин-5-карбонитрилов в качестве препаратов от актуальных на данный момент заболеваний.

Список используемой литературы

1. Schneider, G. Molecular design: concepts and applications / G. Schneider, K.H. Baringhaus // Wiley-VCH: Weinheim, 2008.
2. Etymology: Gk, bios, life; L, activus, with energy. Mosby's Medical Dictionary. 8th edition. 2009.
3. 4-amino-5-cyanopyrimidine derivatives / Kato M., Sato N., Okada M. et al. // Patent Japan № WO/2005/105778, 2005.
4. Бунев А.С. Структурно-ориентированный дизайн противоопухолевых соединений на основе 5-цианопиримидина / А.С. Бунев, Д.А. Хоченков, Ю.А. Хоченкова, Е.В. Степанова // *Материалы IV всероссийской конференции по молекулярной онкологии* (Москва, 17-19 декабря 2018 г.). – Москва, 2018. – №5. – С. 79-80.
5. Борисова, Н. С. Исследование взаимодействия янтарной и фумаровой кислот с урацилом и его производными / Н. С. Борисова, Г. И. Ишмуратова, О. И. Валиева, И. М. Борисов, Ю. С. Зимин, А. Г. Мустафин // *Вестник Башкирского университета*. – 2012. – №17(4). – С. 1687-1690.
6. Осипов, А.О. Фармакологическая активность производных пиримидина / П.П. Пурыгин, А.В. Дубищев, А.А. Осипова // *Вестник СамГУ* — Естественнонаучная серия. – 2011. – № 8(89). – С. 167-172.
7. Гимадиева, А. Р. Синтез и биологическая активность производных пиримидина / А. Р. Гимадиева, Ю. Н. Чернышенко, А. Г. Мустафин, И. Б. Абдрахманов // *Башкирский химический журнал*. – 2007. – №14(3). – С. 5-21.
8. Cocco, M.T. Synthesis and antitumor evaluation of 6-thioxo-, 6-oxo- and 2,4-dioxopyrimidine derivatives / M.T. Cocco, C. Congiu, V. Onnis, R. Piras // *Farmaco*. – 2001. – Vol. 56. – P. 741-748.
9. Synthesis and biological evaluation of pyrimidine nucleoside monophosphate prodrugs targeted against influenza virus / S. Meneghesso, E. Vanderlinden, A. Stevaert et al. // *Antivir Res*. –2012. – Vol. 94. – P. 35-43.

10. Ashour H.M. Synthesis and biological evaluation of thieno [2',3':4,5]pyrimido[1,2-*b*][1,2,4]triazines and thieno[2,3-*d*] [1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyrimidines as anti-inflammatory and analgesic agents / H.M. Ashour, O.G. Shaaban, O.H. Rizk, I.M. El-Ashmawy // *Eur. J. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 62. – P. 341-351.
11. Synthesis, cytotoxicity, antimicrobial and anti-biofilm activities of novel pyrazolo[3,4-*b*] pyridine and pyrimidine functionalized 1,2,3-triazole derivatives / P. Nagender, G.M. Reddy, R.N. Kumar et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2014. – Vol. 24. – P. 2905-2908.
12. Synthesis, structure-activity relationship and biological evaluation of 2,4,5-trisubstituted pyrimidine CDK inhibitors as potential anti-tumour agents / H. Shao, S. Shi, D.W. Foley D.W. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 70. – P. 447-455.
13. Synthesis and biological evaluation of pyrimidine nucleoside monophosphate prodrugs targeted against influenza virus / S. Meneghesso, E. Vanderlinden, A. Stevaert et al. // *Antivir. Res.* – 2012. – Vol. 94. – P. 35-43.
14. Synthesis and antiviral activity of 2,4-diamino-5-cyano-6-[2-(phosphonomethoxy) ethoxy]pyrimidine and related compounds / D. Hockov, A. Holy, M. Masojidkov et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2004. – Vol.12. – P. 3197-3202.
15. Gondkar, A.S. Synthesis, characterization and in vitro anti-inflammatory activity of some substituted 1,2,3,4-tetrahydropyrimidine derivatives / A.S. Gondkar, V.K. Deshmukh, S.R. Chaudhari // *Drug. Invent. Today.* – 2013. – Vol. 5. – P. 175-181.
16. Biological potential of pyrimidine derivatives in a new era / J. Rani, S. Kumar, M. Saini et al. // *Res. Chem. Intermed.* – 2016. – Vol. 42. – P. 6777-6804.
17. Bhalgat, C.M. Novel pyrimidine and its triazole fused derivatives: synthesis and investigation of antioxidant and anti-inflammatory activity /

C.M. Bhalgat, M.I. Ali, B. Ramesh, G. Ramu / *Arab. J. Chem.* – 2014. – Vol. 7. – P. 986-993.

18. Design, synthesis and vasorelaxant evaluation of novel coumarin–pyrimidine hybrids / K.M. Amin, F.M. Awadalla, A.M Eissa et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 19. – P. 6087-6097.

19. Bararjanian, M. A Novel and Efficient One-Pot Synthesis of 2-Aminopyrimidinones and Their Self-Assembly / M. Bararjanian, S. Balalaie, F. Rominger, S. Barouti / *Helv. Chim. Acta.* – 2010. – Vol. 93. – P. 777-784.

20. A Facile and Efficient Synthesis of 1,6-Dihydro-6-oxo-pyrimidine Derivatives under Solvent-Free Conditions/. L. Liu, S. Yin, S. Xia et al. // *Chin. J. Org. Chem.* – 2012. – Vol. 32. – P. 612-615.

21. An efficient one-pot multi component synthesis of pyrimidine derivatives in aqueous media / A. Bhatewara, S. R. Jetti, T. Kadre et al. // *Arch. Appl. Sci. Res.* – 2012. – Vol. 4. – P. 1274-1278.

22. Microwave assisted synthesis and biological evaluation of dihydropyrimidin one derivatives as anti-inflammatory, antibacterial and antifungal agents/ A. Bhatewara, S.R. Jetti, T. Kadre et al. // *Int. J. Med. Chem.* – 2013. – P. 1-5.

23. Deshmukh, M.B. A novel and efficient one step synthesis of 2-amino-5-cyano-6-hydroxy-4-aryl pyrimidines and their anti-bacterial activity/ M.B. Deshmukh, S.M. Salunkhe, D.R. Patil, P.V. Anbhule // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44. – P. 2651-2654.

24. Other strategies to the targets using three-component reaction with aldehydes, B-ketonitriles, and substituted guanidines lack the efficient supply of the desired substituted guanidines / C. Val, A. Crespo, V. Yaziji et al. // *ACS Comb. Sci.* – 2013. – Vol. 15. – P. 370-378.

25. Efficient and Facile Synthesis of 2,4-Diamino-6-arylpyrimidine-5-carbonitrile Under Solvent-Free Conditions / L. Rong, H. Han, L. Gao et al. // *Synth. Commun.* – 2010. – Vol. 40. – P. 504-509.

26. A novel and environmental friendly, one-step synthesis of 2,6-Diamino-4-phenyl pyrimidine-5-carbonitrile using potassium carbonate in water / M.B. Deshmukh, P.V. Anbhule, S.D. Jadhav et al. // *Indian. J. Chem.* – 2008. – Vol. 47B. – P. 792-795.
27. Richardson, J. Improved Substrate Scope in the Potassium Hexacyanoferrate (II) based Cyanation for the Synthesis of Benzonitriles and their Heterocyclic / J. Richardson, S.P. Mutton // *Analogs. J. Org. Chem.* – 2018. – Vol. 83. № 9. – P. 4922-4931.
28. State-of-the-Art Cyanation of Aryl Bromides: A Novel and Versatile Copper Catalyst System Inspired by Nature / T. Schareina, A. Zapf, W. Mägerlein et al. // *Chemistry.* – 2007. – Vol. 13. №21. – P. 6249-6254.
29. Copper(II)-Mediated [¹¹C]Cyanation of Arylboronic Acids and Arylstannanes / K.J. Makaravage, X. Shao, A.F. Brooks et al. // *Org. Lett.* – 2018. – Vol. 20. №6. – P. 1530-1533.
30. Azath, I.A. Per-6-amino-β-cyclodextrin/CuI catalysed cyanation of aryl halides with K₄[Fe(CN)₆]. / I.A. Azath, P. Suresh, K. Pitchumani // *New. J. Chem.* – 2012. – Vol. 36. – P. 2334-2339.
31. Zhang, X. General and Mild Nickel-Catalyzed Cyanation of Aryl/Heteroaryl Chlorides with Zn(CN)₂: Key Roles of DMAP / X. Zhang, A. Xia, H. Chen, Y. Liu // *Org. Lett.* – 2017. – Vol. 19. №8. – P. 2118-2121.
32. Chen, R. Transcription inhibition by flavopiridol: mechanism of chronic lymphocytic leukemia cell death / R. Chen, M.J. Keating, V. Gandhi, W. Plunkett // *Blood.* – 2005. – Vol. 106. – P. 2513-2519.
33. Senthilkumar, N. Synthesis of a new series of pyrimidine derivatives: exploration of anti-proliferative activity on EAT cells and molecular docking / N. Senthilkumar, D.Y. Ravichandran, K.M. Kumar, S. Ramaiah // *Res. Chem. Int.* – 2016. – Vol. 42. №2. – P. 1295-1313.

34. 5-Cyanopyrimidine Derivatives as a Novel Class of Potent, Selective, and Orally Active Inhibitors of p38r MAP Kinase / S.T. Wroblewski, J. Lin, A. Gulzar et al. // *J. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 48. – P. 6261-6270.

35. Pyrimidine compounds for the treatment of inflammation. 2005. WO 2005/040133 A1.

36. A new generation of adenosine receptor antagonists: From di- to trisubstituted aminopyrimidines / J.P.D. Veldhoven, L.C.W. Chang, J. K. Frijtag Drabbe Kunzel et al. // *Bio. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 16. – P. 2741-2752.

37. Huang, Z.L. Roles of adenosine and its receptors in sleep-wake regulation / Z.L. Huang, Z. Zhang, W.M. Qu // *Int. rev. neurobiol.* – 2014. – Vol. 119. – P. 349-371.

38. The discovery of potent, orally bioavailable pyrimidine-5-carbonitrile-6-alkyl CXCR2 receptor antagonists / D.W. Porter, M. Bradley, Z. Brown et al. // *Bio. Med. Chem. Let.* – 2014. – Vol. 24. – P. 3285-3290.

39. Synthesis and anticonvulsant activity of some newer dihydro-pyrimidine-5-carbonitrile derivatives: Part II. / M.R. Ali, G. Verma, M. Shaquiquzzaman et al. // *J. Tai. Un. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 10. №4. – P. 437-443.

40. Pyrimidine-5-carbonitriles – part III: synthesis and antimicrobial activity of novel 6-(2-substituted propyl)-2,4-disubstituted pyrimidine-5-carbonitrile / O.A. Al-Deeb, A.A. Al-Turkistani, E.S. Al-Abdullah et al. // *Heterocycl. Commun.* – 2013. – Vol. 19. №6. – P. 411-419.

41. El-Agrody, A.M. A. Synthesis and Antimicrobial Activity of Thioxopyrimidines and Related Derivatives / A.M. El-Agrody, F.M. Ali, F.A. Eid, M.A. El-Nassag / *Phosf. Sulf. Sil. Rel. Elem.* – 2006. – Vol. 181. №4. – P. 839-864.

42. Spectroscopic investigation (FT-IR and FT-Raman), vibrational assignments, HOMO–LUMO, NBO, MEP analysis and molecular docking study of 2-[(4-chlorobenzyl)sulfanyl]-4-(2-methylpropyl)-6-(phenylsulfanyl)-pyrimidine-5-carbonitrile, a potential chemotherapeutic agent / N. Z. Alzoman,

Y. Sheena Mary, C.Y. Panicker et al. // *Spectr. Act. Part A: Mol. and Bio. Spectr.* – 2015. – Vol. 139. – P. 413-424.

43. Synthesis, antitrypanosomal activity and molecular docking studies of pyrimidine derivatives / S.J. Melo, Z.S. Monte, A.C.S. Santos et al. // *Med. Chem. Res.* – 2018. – Vol. 27. – P. 2512-2522.

44. Synthesis antiplasmodial activity and mechanistic studies of pyrimidine-5-carbonitrile and quinoline hybrids / H. Kaur, J. Balzarini, C. Kock et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 101. – P. 52-62.