

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря
Національна академія наук України
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря
Національна академія наук України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Велігіна Євгенія Сергіївна

УДК 547.787.39+547.89+547.779.1+547.874.8

ДИСЕРТАЦІЯ

**Синтез та властивості нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та
піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів**

102 – Хімія

10 – Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання чужих ідей,
результатів і текстів мають посилання на відповідне джерело

_____ Є.С. Велігіна

Науковий керівник

Качковський Олексій Дмитрович

доктор хімічних наук, старший науковий співробітник

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Велігіна Є.С. Синтез та властивості нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» (10 – Природничі науки). – Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря Національної Академії наук України, Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена синтезу нових біоактивних похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, які є цікавими з точки зору фармакологічної ефективності та подальших хімічних перетворень. Тема дисертаційного проєкту є актуальною з огляду на відомі дані щодо значного біологічного потенціалу подібних сполук з біоізостерним щодо пурину скафолдом, які можуть впливати на функціонування терапевтично важливих білкових молекул, насамперед ферментів.

Під час виконання синтетичних робіт з метою отримання нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину був використаний підхід, розроблений у відділі хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ та заснований на рециклізації імідазолонів, отриманих кількома стадіями з ациклічних поліфункціональних реагентів. Варто зазначити, що таким методом раніше було синтезовано всього три представники цього класу сполук. Для введення замісників різної природи проведено функціоналізацію оксазолопіримідинових каркасів по положеннях 5 та 7 системи з використанням реакцій амінування, Судзукі-Міяура та ін. Таким чином було отримано серію нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів (35 сполук) з арильними та різноманітними амінними фрагментами в положенні 7, зокрема, заміщеними піперазинами, 1,4-діазепанами, піперидинами, амінами Штрекера і цитізином та (бі)арильними замісниками в положеннях 2 і 5 гетероциклічної

системи, що важливо для встановлення закономірності «структура-активність». Окрім того, синтезовано ряд оксазоло[5,4-*d*]піримідинів, які функціонально ідентичні їх ізомерним похідним, з метою порівняння їх біологічних властивостей.

При проведенні *in silico* аналізу взаємодії між молекулами фармакофорів на основі біциклічних азотистих гетероциклів та біомолекулами встановлено, що крім гідрофобної взаємодії стабілізацію комплексів [Фарм_БіоМ] забезпечують стекова взаємодія π -системи молекул біциклічних азотистих гетероциклів з π -системою ароматичних залишків амінокислот в поліпептидних ланцюгах та водневі зв'язки між неподіленими парами двохкоординованого атома нітрогену та функціональними $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ групами амінокислот.

Для більшості синтезованих нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів була вивчена протипухлинна активність *in vitro* в Національному інституті раку США і встановлені закономірності «структура-активність». Результати протиракового скринінгу на 60 ліній ракових клітин показали, що оксазолопіримідини з NH-незаміщеним піперазиновим або 1,4-діазепановим замісником при C(7) проявляють значну рістінгібуючу активність клітин пухлин. Заміщення атома гідрогену в NH фрагменті цих груп на інші угруповання (алкільні або сульфонільні); введення в положення 7 оксазолопіримідинів фрагменту піперидину або арильних замісників веде до суттєвого зниження або втрати протипухлинної здатності цих сполук. Оксазоло[4,5-*d*]піримідини та їх функціонально ідентичні ізомерні похідні, оксазоло[5,4-*d*]піримідини, володіють близькою рістінгібуючою, цитостатичною і цитотоксичною дією.

Під час вивчення механізмів протиракової дії похідних оксазолопіримідину винайдено новий інгібітор аденозинкінази (АДК), який селективно діє на довгу ізоформу даного ферменту. Первинні дослідження аденозинкіназної активності двох оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та одного оксазоло[5,4-*d*]піримідину проводилися на лініях клітин нирок хом'яків (ВНК) з різною експресією ізоформ

АДК в дослідницькому інституті *Legacy Research Institute* в Портленді, штат Орегон, США. Встановлено, що 2,5-дифеніл-7-піперазин-1-іл-оксазоло[5,4-*d*]піримідин невибірково інгібує ріст усіх клітинних ліній при концентрації 3 мкМ. 7-(1,4-Діазепан-1-іл)-2-(4-Метилфеніл)-5-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин був ефективним лише при високій дозі (100 мкМ), тоді як 2,5-дифеніл-7-піперазин-1-іл-оксазоло[4,5-*d*]піримідин проявив селективну дію щодо лінії клітин з довгою ізоформою АДК. Вторинні дослідження на лініях клітин гліобластоми GMB (раку головного мозку людини) підтвердили селективність останньої сполуки щодо довгої форми аденозинкінази (ADK-L), що вказує на перспективність створення на основі оксазоло[4,5-*d*]піримідинів селективних інгібіторів даного ферменту, відповідального за різні патологічні стани, включаючи травми головного мозку, епілепсію, судинні захворювання, рак та діабет.

Активність 19 похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину щодо вірусів, які викликають опортуністичні інфекції, зокрема цитомегаловірусу людини (HCMV), вірусу вітряної віспи (VZV), вірусу простого герпесу (HSV), вірусу папіломи людини (HPV) та ВК-вірусу (BKV), вивчали за допомогою противірусного скринінгу *in vitro* в університеті Алабами в Бірмінгемі. При проведенні первинного противірусного аналізу знайдено, що *N*-(2-морфоліно-2-(тіофен-2-іл)етил)-5-(4-метоксифенетил)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-амін володіє селективною дією щодо ВК-вірусу із значенням $EC_{50} = 0,22$ мкМ та $SI_{50} = 85$ мкМ, що свідчить про перспективність пошуку сполук з противірусним потенціалом серед даних гетероциклів. Використовуючи підхід молекулярного докінгу, похідні оксазоло[4,5-*d*]піримідину оцінювали як потенційні АТФ-конкурентні ліганди PI3K γ , AKT1 та mTOR. Дослідження проводилися за допомогою програмного забезпечення AutoDock Vina. Отримані енергії зв'язування свідчили про хорошу спорідненість сполук до

АТФ-зв'язуючих ділянок цих ферментів. Однак в *in silico* експериментах не виявлено відповідності між енергією зв'язування та противірусною активністю щодо ВК вірусу для деяких протестованих оксазоло[4,5-*d*]піримідинів. Це спостереження, а також виявлення того, що всі сполуки цієї групи можуть бути легко розміщені в сайтах зв'язування АТФ, вказує на те, що інші протеїнкінази також можуть розглядатися як їх можливі мішені.

Крім того, під час виконання дисертаційного проєкту було розроблено зручний та оригінальний метод синтезу нових невідомих раніше похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину з дихлорометильною групою в положенні 2 гетероциклічної системи, заснований на циклоконденсації 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами. В результаті синтезовано 40 нових піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів з алкільними, арильними або гетерильними замісниками в положенні 4 та алкільними або арильними групами в положенні 7 гетероциклічної системи. Просторову будову та фізико-хімічні властивості вивчено методами ядерного магнітного резонансу, рентгенівської кристалографії, мас-спектрометрії, ІЧ-спектроскопії та елементного аналізу. Рентгеноструктурний аналіз підтвердив протікання циклоконденсації з отриманням 2-дихлорометилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину. Їх утворення передбачає першочергову атаку екзоциклічним атомом азоту піразолу по α -положенню енамиду. Гетероциклічна система 7-(4-метилфеніл)-4-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину має плоску будову. Фенільні замісники також розташовані в тій самій площині. Розподілення довжин зв'язків в центральній біциклічній системі свідчать про делокалізацію електронної густини в ній, а в цілому вони характерні для системи, що містять піразольні та триазинові гетероцикли. На відміну від останнього,

в

структурі

2-дихлорометил-4-(2-метилфеніл)-7-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

2-метилфенільна група в положенні 4 та гетероциклічна платформа знаходяться

в різних площинах, про що свідчить рентгеноструктурне дослідження даної сполуки.

Серед синтезованих 2-дихлорометилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину знайдено ефективні протипухлинні агенти. Встановлено наступні критичні чинники для прояву протиракової активності похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину: наявність в положенні 2 дихлорометильного фрагменту, а також арильного замісника при С(4), який знаходиться в одній площині з гетероциклічною платформою.

Для визначення можливих механізмів протиракової активності піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів використовували COMPARE аналіз, який полягає в порівнянні результатів протипухлинної активності досліджуваних сполук із існуючими протираковими препаратами, для яких механізм дії вже відомий. COMPARE аналіз не виявив жодних відомих протипухлинних препаратів з подібною дією, що вимагає більш детального вивчення механізму протиракової дії отриманих піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів.

Дослідження їх протівірусної активності показали, що вони не володіють достатнім протівірусним ефектом через високий рівень їх цитотоксичності. Активність сполук досить низька, за винятком 2-дихлорметил-4,7-дифеніл-піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, який порівняно з ганцикловіром володіє високою токсичністю ($EC_{50} > 1.20 \mu M$) щодо цитомегаловірусу людини. З точки зору селективності, заслуговує на увагу 2-дихлорметил-4,7-біс(4-метилфеніл)-піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин зі значенням $SI_{50} > 6$ проти HCMV.

Крім того, серед похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину знайдено представники з вазодилаторною активністю – 2-дихлорометил-4-(фуран-2-іл)-7-метил-піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин та 2-дихлорометил-7-метил-4-(піридин-3-іл)-піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин з максимальною амплітудою розслаблення (10^{-5} моль/л) $61,0 \pm 3,5\%$ та $52,2 \pm 3,7\%$,

відповідно, що свідчить про перспективність пошуку серед них судинорозширюючих агентів.

Новизна роботи полягає в наступному. Розширено коло нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину до 35 сполук та встановлено зв'язок «структура-активність» в ряду цих речовин. Вперше для функціоналізації даних речовин був використаний підхід Судзукі-Міяура. Вперше проведено дослідження можливого механізму протиракової дії похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину і знайдено новий селективний інгібітор довгої ізоформи аденозинкінази.

Крім того, вперше досліджена взаємодія 2-ациламіно-3,3-дихлоро-акрилонітрилів з 5-амінопіразолами та синтезовано раніше невідомі похідні 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину. Вперше вивчено їх протиракова, противірусна та вазодилататорна активність і знайдено закономірності «структура-активність».

Практичне значення одержаних результатів полягає у синтезі нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину з арильними та різноманітними амінними фрагментами в положенні 7 і (бі)арильними замісниками в положеннях 2 та 5 гетероциклічної системи, що важливо для встановлення зв'язків між структурою та протипухлинною активністю. Серед них знайдено низку протиракових агентів та речовину з противірусним потенціалом щодо ВК-вірусу. Також на основі похідного оксазоло[4,5-*d*]піримідину винайдено новий селективний інгібітор довгої ізоформи аденозинкінази, яка є перспективною мішенню при лікуванні таких патологічних станів як травми головного мозку, епілепсії, судинні захворювання, рак та діабет.

Крім того, розроблено новий препаративний метод синтезу раніше не відомих 2-дихлорометилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину з алкільними, арильними або гетерильними замісниками в положенні 4 та 7

гетероциклічної системи, серед яких знайдено речовини з протираковим та судинорозширюючим потенціалом.

Ключові слова: оксазоло[4,5-*d*]піримідини, оксазоло[5,4-*d*]піримідини, піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини, біоізостери пурину, циклоконденсація, донорно-акцепторні властивості, квантово-хімічні розрахунки, фронтальні рівні, параметр ϕ_0 , протиракова активність, селективність, кореляційний аналіз COMPARE, інгібітор аденозинкінази, протівірусна активність, молекулярний докінг, вазодилататорна активність.

SUMMARY

Velihina Ye.S. Synthesis and properties of new oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines and pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. – Qualification scientific work as a manuscript.

Thesis for a scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 102 "Chemistry" (10 - Natural sciences). – V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The thesis is devoted to the synthesis of new biologically active oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine and pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine derivatives, which are interesting in terms of biological properties and subsequent chemical transformations. The topic of thesis project is relevant given the known data on the significant biological potential of such compounds with purine bioisostere scaffold, which are able to affect the functioning of therapeutically important protein molecules, especially enzymes.

During synthetic work to obtain new active oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives, an approach developed in the Department of chemistry of bioactive nitrogen-containing heterocyclic bases based on the recyclization of imidazolones obtained in several stages from acyclic polyfunctional reagents was used. It should be noted that only three derivatives of this class of compounds have been previously synthesized using this method. For the introduction of structurally different

substituents, the functionalization of oxazolopyrimidine frameworks at positions 5 and 7 of the system was performed using the reactions of amination, Suzuki-Miaura and others. A series of novel oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines (35 compounds) with aryl and various amine moieties at position 7, in particular substituted piperazines, 1,4-diazepanes, piperidines, Strecker amines and cytosine, and (bi)aryl substituents at positions 2 and 5 of the heterocyclic system was thus obtained, which is important for establishing the pattern of structure-activity. In addition, a number of oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines with identical substitutes to their isomeric derivatives have been synthesized to compare their biological properties.

During the *in silico* analysis of the interaction of bicyclic nitrogen-containing heterocyclic pharmacophore molecules with biomolecules, it was found that in addition to the hydrophobic interaction, the stabilization of the [**Pharm-BioM**] complexes is provided by stack interaction of π -system of bicyclic nitrogen heterocyclic molecules with π -system of peptide bond or aromatic residues of peptide chains, and bonds between the unshared pairs of a two-coordinated nitrogen atom and –OH, –NH₂, –SH functional groups of amino acids or a (di)peptide bond.

For the most of newly synthesized oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines their antitumor activity *in vitro* was studied at the United States National Cancer Institute and established patterns of "structure-activity". The results of anticancer screening on 60 cancer cell lines showed that oxazolopyrimidines with NH-unsubstituted piperazine or 1,4-diazepane substituent at C(7) show significant growth inhibitory activity of tumor cells. Substitution of a hydrogen atom in the NH fragment of these substituents by other groups (alkyl or sulfonyl) or the introduction in position 7 of oxazolopyrimidines piperidine fragment and aryl substituents leads to a significant reduction or loss of antitumor ability of these compounds. Oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines and their functionally identical isomeric derivatives, oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines, have close growth inhibitory, cytostatic and cytotoxic effects.

During the study of the mechanisms of anticancer action of oxazolopyrimidine derivatives, a new adenosine kinase inhibitor (ADK) was invented, which selectively acts on a long isoform of this enzyme. Primary studies of the adenosine kinase activity of two oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines and one oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine were performed on hamster kidney (BHK) cell lines with different expression of ADK isoforms at the Legacy Research Institute in Portland, Oregon, USA. 2,5-Diphenyl-7-piperazin-1-yl-oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine was found to non-selectively inhibit the growth of all cell lines at a concentration of 3 μ M. 2-(4-Methylphenyl)-5-phenyl-7-(1,4-diazepan-1-yl)-oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine was effective only at high doses (100 μ M), whereas 2,5-diphenyl-7-piperazin-1-yl-oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine had a selective effect on a cell line with a long isoform of ADK. Secondary studies on glioblastoma cell lines GMB (human brain cancer) have confirmed the selectivity of the last one to the long form of adenosine kinase (ADK-L), indicating the prospect of creating oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine-based selective inhibitors of this enzyme responsible for various pathological conditions, including brain injury, epilepsy, vascular disease, cancer and diabetes.

Activity of 19 oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives against viruses that cause opportunistic infections, in particular Human cytomegalovirus (HCMV), Varicella Zoster Virus (VZV), Herpes Simplex Virus (HSV), Human Papilloma Virus (HPV) and BK-virus (BKV) was studied by *in vitro* antiviral screening at the University of Alabama at Birmingham. Primary antiviral analysis revealed that *N*-(2-morpholino-2-(thiophen-2-yl)ethyl)-5-(4-methoxyphenethyl)-2-phenyloxazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-amine has a selective effect on BK-virus with a value of $EC_{50} = 0.22 \mu$ M and $SI_{50} = 85 \mu$ M, which indicates the prospects for the search for compounds with antiviral potential among these heterocycles. Using the molecular docking approach, oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives were evaluated as potential ATP-competitive ligands of PI3K γ , AKT1 and mTOR. The research was conducted using AutoDock

Vina software. The obtained binding energies suggested good affinities of the compounds to ATP-binding sites of these enzymes. However, *in silico* experiments did not show correlation between docking energy and antiviral activity against BK virus for some of the tested oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. This observation as well as finding that all compounds of this group can easily be accommodated at the ATP-binding sites indicates that another protein kinases may also be considered as their possible targets.

In addition, during the thesis project a convenient and original method for the synthesis of new previously unknown pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine derivatives with a dichloromethyl group at position 2 of the heterocyclic system was developed based on the cyclocondensation of 2-acylamino-3,3-dichloroacrylonitriles with 5-amino-pyrazoles. Thus, 40 new pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines with alkyl, aryl or heteroaryl substituents at position 4 and alkyl or aryl groups at position 7 of the heterocyclic system were synthesized. The spatial structure and physicochemical properties were studied by methods of nuclear magnetic resonance, X-ray crystallography, mass spectrometry, IR spectroscopy and elemental analysis. X-ray diffraction analysis confirmed the course of cyclocondensation to obtain 2-dichloromethyl-substituted pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine derivatives. Their formation presupposes the primary attack by the exocyclic nitrogen atom of the pyrazole α -position of enamide. The heterocyclic system of 7-(4-methylphenyl)-4-phenylpyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine has a flat structure. Phenyl substituents are actually also located in the same plane. The distribution of bond lengths in the central bicyclic system indicates the delocalization of the electron density, and in general they are characteristic for the system containing pyrazole and triazine heterocycles. In contrast to the last one, in the structure of 2-dichloromethyl-4-(2-methylphenyl)-7-phenylpyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine, the 2-methylphenyl group at position 4 and the heterocyclic platform are in different planes, as evidenced by X-ray structural examination of this compound.

Among the synthesized 2-dichloromethyl-substituted pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine derivatives, effective antitumor agents have been found. The following critical factors for the exhibition of anticancer activity of pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine derivatives have been identified: the presence of a dichloromethyl moiety at position 2, as well as an aryl substituent at C(4) in the same plane as the heterocyclic platform.

To determine the possible mechanisms of anticancer activity of pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines, we used the COMPARE analysis, which consists in comparing the results of antitumor activity of the studied compounds with existing anticancer drugs for which the mechanism of action is already known. COMPARE analysis did not reveal any known antitumor drugs with similar action, which requires a more detailed study of the mechanism of anticancer action of the obtained pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines.

Studies of their antiviral activity have shown that they do not have a sufficient antiviral effect due to their high level of cytotoxicity. The activity of the compounds is quite low, with the exception of 2-dichloromethyl-4,7-diphenyl-pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine, which has a high toxicity ($EC_{50} > 1.20 \mu M$) against Human cytomegalovirus compared to ganciclovir. From the point of view of selectivity, 2-dichloromethyl-4,7-bis(4-methylphenyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine with a value of $SI_{50} > 6$ against HCMV deserves attention.

The novelty of the work is as follows. The range of new oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives has been expanded to 35 compounds and a structure-activity relationship has been established in a number of these substances. For the first time, the Suzuki-Miyaura approach was used to functionalize these substances. The possible mechanism of anticancer action of oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives was studied for the first time and a new selective inhibitor of the long adenosine kinase isoform was found.

In addition, the interaction of 2-acylamino-3,3-dichloro-acrylonitriles with 5-aminopyrazoles was studied for the first time and previously unknown derivatives of 2-dichloromethylpyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine were synthesized. For the first time their anticancer, antiviral and vasodilatory activity was studied and the regularities of "structure-activity" were found.

The practical significance of the obtained results lies in the synthesis of new oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivatives with aryl and various amine moieties at position 7 and (bi) aryl substituents at positions 2 and 5 of the heterocyclic system, which is important for establishing relationship between the structure and antitumor activity. Among them were found a number of anticancer agents and a substance with antiviral potential against BK virus. Also based on the oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine derivative, a new selective inhibitor of the long adenosine kinase isoform has been developed, which is a promising target in the treatment of pathological conditions such as brain injury, epilepsy, vascular disease, cancer and diabetes.

In addition, a new preparative method for the synthesis of previously unknown 2-dichloromethyl-substituted pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine derivatives with alkyl, aryl or hetaryl substituents at position 4 and 7 of the heterocyclic system has been developed, among which substances with anticancer and vasodilatory potential have been found.

Keywords: oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines, oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines, pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines, purine bioisosteres, cyclocondensation, donor/acceptor properties, quantum-chemical calculations, frontier levels, parameter ϕ_0 , anticancer activity, selectivity, COMPARE correlation analysis, adenosine kinase inhibitor, antiviral activity, molecular docking, vasodilatory activity.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Ye.S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pilyo, O.P. Mitiukhin, V.V. Zhirnov, V.S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and In Vitro Anticancer Evaluation of 7-(1,4-Diazepan)-substituted [1,3]oxazolo[4,5-d]pyrimidines. *Chemistry Research Journal* **2018**, 3(5), 81-93 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, планування експерименту, аналіз результатів та підготовка статті).
2. Ye.S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pilyo, V.V. Zhirnov, V.S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and In Vitro Anticancer Evaluation of 7-Piperazin-Substituted [1,3]Oxazolo[4,5-D]Pyrimidines. *Der Pharma Chemica* **2018**, 10(9), 1-10 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті).
3. M.V. Kachaeva, N.V. Obernikhina, E.S. Veligina, M.Yu. Zhuravlova, Ya. O. Prostota, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. Estimation of Biological Affinity of Nitrogen-Containing Conjugated Heterocyclic Pharmacophores. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2019**, 55(4/5), 448–454 (Особистий внесок здобувача: комп'ютерні розрахунки, аналіз розрахункових даних та підготовка статті).
4. Ye.S. Velihina, S.G. Pil'o, V.S. Zybrev, V.S. Brovarets. Synthesis and Evaluation of the Antiviral Activity of 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, **2019**, 7, 75-80 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті).
5. Ye. S. Velihina, S. G. Pil'o, V. S. Zybrev, V. S. Moskvina, O. V. Shablykina, V. S. Brovarets. 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines: synthesis and anticancer activity. *Biopolymers and Cell* **2020**, 36(1), 61–74 (Особистий

- внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті).
6. Ye. S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pil'o, V.S. Moskvina, O.V. Shablykina, V.S. Brovarets. Synthesis of 4-Hetaryl-2-(dichloromethyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. *Ukranian Chemistry Journal* **2020**, 86(5), 53-62 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті).
 7. Ye. Velihina, T. Scattolin, D. Bondar, S. Pil'o, N. Obernikhina, O. Kachkovskyi, I. Semenyuta, I. Caligiuri, F. Rizzolio, V. Brovarets, Y. Karpichev, S. P. Nolan. Synthesis, *In silico* and *In vitro* Evaluation of Novel Oxazolopyrimidines as Promising Anticancer Agents. *Helvetica Chimica Acta* **2020**, 103(12), e2000169 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та результатів біологічних випробувань і підготовка статті).
 8. Ye.S. Velihina, N.V. Obernikhina, S.G. Pilyo, M.V. Kachaeva, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. *In silico* study of binding affinity of nitrogenous bicyclic heterocycles: fragment-to-fragment approach. *Ukrainica Bioorganica Acta* **2020**, 15(2), 49-59 (Особистий внесок здобувача: комп'ютерні розрахунки, аналіз розрахункових даних та підготовка статті).
 9. V. V. Zhirnov, Ye. S. Velihina, O. P. Mitiukhin, V. S. Brovarets. Intrinsic drug potential of oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines and oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. *Chemical Biology & Drug Design* **2021**, 98, 561–581 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук та написання розділів огляду).
 10. E. S. Velihina, N. V. Obernikhina, S. G. Pilyo, O. D. Kachkovsky, V. S. Brovarets. Synthesis, Electronic Structure and Anti-Cancer Activity of the Phenyl Substituted Pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. *Current Organic Chemistry*

- 2021, 25(12), 1441-1454, DOI: 10.2174/1385272825666210607004536
(*Особистий внесок здобувача: хімічний синтез, аналіз спектральних даних і біологічних результатів та підготовка статті*).
11. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В.М. Прокопенко, О.П. Мітюхін, В.С. Броварець. Застосування 7-піперазин-1-іл[1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідинів як антиракових препаратів., 2021, пат. на винахід № 122925 Україна (*Особистий внесок здобувача: патентний пошук, проведення експериментальних досліджень та оформлення патенту*).
 12. Є. С. Велігіна, Е. Р. Абдурахманова, М. В. Качаєва, С. Г. Пільо. Взаємодія 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами. І Міжнародна (ХІ Українська) наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення», 27-29 березня 2018 року, Вінниця, 2018. С. 135.
 13. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, Н.В. Оберніхіна, С.Г. Пільо, В.М. О.Д. Качковський, В.С. Броварець. Квантово-хімічна оцінка донорно-акцепторних властивостей азотовмісних спряжених гетероциклів. V Міжнародна заочна науково-практична конференція молодих вчених, 12 квітня 2018 року, Ніжин, 2018. С. 35-38.
 14. N. Obernikhina, M. Kachaeva, E. Veligina, O. Kachkovsky, V. Brovarets. π -Electron Affinity of Nitrogenous Conjugated Heterocycles. 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov, November 12-16, Kharkiv, 2018. P. 117.
 15. Ye. S. Velihina, M. V. Kachaeva, S. G. Pilyo, O. D. Kachkovsky, V. S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and *in vitro* Anticancer Evaluation of 7-Piperazin-Substituted Oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov, November 12-16, Kharkiv, 2018. P. 149.

16. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, О. П. Мітюхін, А. О. Гуренко, В.С. Броварець. 7-(1,4-Діазепан)-заміщені [1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідини: синтез та *in vitro* скринінг протиракової активності. III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи», 17 квітня 2019 року, Житомир, 2019. С. 257-259.
17. Е.Р. Абдурахманова, Є.С. Велігіна, С.Г. Пільо, В.С. Броварець. 7-Піперазин-1-іл[1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідини як нові антиракові агенти. III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи», 17 квітня 2019 року, Житомир, 2019. С. 316-318.
18. Ye. Velihina, D. Bondar, M. Kachaeva, S. Pil'o, Y. Karpichev, V. Brovarets. Scaffold Hopping Approach for Designing New 7-Piperazin and 7-(1,4-Diazepan)-substituted [1,3]Oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines as Prospective Anticancer Agents. 10th International Conference Kiev-Toulouse, June 3-5, Toulouse, France 2019. P. 27.
19. Ye. Velihina, M. Kachaeva, S. Pil'o, V. Zyabrev, Ye. Karpichev, V. Brovarets. Synthesis, Characterization, and *In vitro* Antiviral and Anticancer Evaluation of a Series of New 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. 10th International Conference Kiev-Toulouse, June 3-5, Toulouse, France, 2019. P. 25.
20. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В.С. Броварець. Синтез нових 7-заміщених [1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідинів, які містять фрагменти природнього походження». Ювілейна XXV Українська конференція з органічної та біоорганічної хімії, присвячена 80-річчю ІОХ НАН України та 30-річчю ІБОНХ ім. В.П. Кухаря НАН України, 16-20 вересня 2019 року, Луцьк, 2019. С. 113.
21. E.S. Veligina, N.V. Obernikhina, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. Energy of the Rotation Barriers Phenyl Substituents in Pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines as a Factor the Stabilization of [Pharmacofore-Biomolecule] Complex. 12th

- International Conference «Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials», June 1-5, Kamianets-Podilskyi, 2020. С. 26.
22. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В. В. Жирнов, В.С. Броварець. Розробка, синтез та *in vitro* протівірусний скринінг похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину. XXXV Наукова конференція з біоорганічної хімії та нафтохімії, 17-18 червня 2021 року, Київ, 2021.
23. Ye. Velihina, M. Kachaeva, S. Pilyo, V. Brovarets. Synthesis and anticancer activity of new 4-(2-(dichloromethyl)-pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-yl)-*N*-alkylbenzenesulfonamide. XVIII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021» присвячена 360-річчю Львівського Університету, 31 травня – 2 червня 2021 року, Львів, 2021. С. 368.
24. Є. Велігіна, В. Жирнов, В. Зябров, В. Броварець. Синтез та властивості нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. Всеукраїнська конференція наукових дослідників, 19 – 25 вересня 2021 року, Львів, 2021. С. 31.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	24
ВСТУП	26
РОЗДІЛ 1. ОДЕРЖАННЯ І ВЛАСТИВОСТІ ОКСАЗОЛО[4,5- <i>d</i>]ПІРИМІДИНІВ, ОКСАЗОЛО[5,4- <i>d</i>]ПІРИМІДИНІВ ТА ПІРАЗОЛО[1,5- <i>a</i>][1,3,5]ТРИАЗИНІВ (Огляд літератури)	33
1.1. Синтез та властивості похідних оксазоліпримідинів	33
1.1.1. Синтез та біологічні властивості оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинів	34
1.1.1.1. Анелювання оксазольного циклу до піримідинового	34
1.1.1.2. Анелювання піримідинового циклу до оксазольного	35
1.1.1.3. Створення оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинового каркасу шляхом рециклізацій	36
1.1.1.4. Біологічні властивості похідних оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідину	37
1.1.2. Синтез та біологічні властивості оксазоло[5,4- <i>d</i>]піримідинів	37
1.1.2.1. Анелювання оксазольного циклу до піримідинового	37
1.1.2.2. Анелювання піримідинового циклу до оксазольного	44
1.1.2.3. Біологічні властивості оксазоло[5,4- <i>d</i>]піримідинів	47
1.1.2.3.1. Модулятори рецепторів	47
1.1.2.3.2. Інгібітори кіназ	48
1.1.2.3.3. Різна біологічна активність	48
1.2. Синтез та біологічні властивості піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазинів	48
1.2.1. Синтез похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	49

1.2.1.1. Синтез шляхом анелювання 1,3,5-триазинового кільця до піразольного	49
1.2.1.1.1. Утворення чотирьох зв'язків (3+1+1+1) шляхом циклізації 3(5)-амінопіразолів з двома одноатомними <i>C</i> - та одним <i>N</i> -синтонами	49
1.2.1.1.2. Утворення трьох зв'язків (3+2+1) шляхом циклізації 3(5)-амінопіразолів з <i>C-N</i> - та <i>C</i> -синтонами	50
1.2.1.1.3. Утворення двох зв'язків (3+3) шляхом циклізації 3(5)-амінопіразолів з реагентами, що вводять фрагмент <i>C-N-C</i>	51
1.2.1.1.4. Утворення двох зв'язків (3+3) шляхом циклізації 1-ацилпіразолідиндіонів з <i>N-C-N</i> -синтонами	56
1.2.1.1.5. Утворення двох зв'язків (4+2) шляхом циклізації 1-функціоналізованих 5-амінопіразолів з <i>C-N</i> -синтонами	56
1.2.1.1.6. Утворення двох зв'язків (4+2) шляхом циклізації піразолів, що містять фрагмент <i>N-C</i> в положенні 3(5), з <i>C-N</i> -синтонами	56
1.2.1.1.7. Утворення двох зв'язків (5+1) шляхом циклізації 1-функціоналізованих 3(5)-амінопіразолів з одноатомним <i>C</i> -синтоном	57
1.2.1.1.8. Утворення двох зв'язків (5+1) шляхом циклізації піразолів, що містять фрагмент <i>N-C-N</i> при <i>C</i> (3(5)), з одноатомним <i>C</i> -синтоном	60
1.2.1.1.9. Утворення одного зв'язку шляхом внутрішньомолекулярної циклізації 5-амінопіразолів, що містять фрагмент <i>C-N-C</i> при <i>N</i> (1)	62
1.2.1.1.10. Утворення одного зв'язку шляхом внутрішньомолекулярної циклізації піразолів, що містять фрагмент <i>N-C-N-C</i> при <i>C</i> (3(5))	62
1.2.1.2. Синтез шляхом анелювання піразольного кільця до триазинового циклу	65

1.2.1.3. Синтез шляхом конкурентного утворення триазинового та піразольного циклів	66
1.2.1.4. Синтез на основі реакцій рециклізації	66
1.2.2. Біологічні властивості похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазины	67
1.2.2.1. Інгібітори ферментів	68
1.2.2.2. Рецепторні ліганди	68
1.2.2.3. Біологічна активність з невизначеною молекулярною мішенню	69
РОЗДІЛ 2. СИНТЕЗ, <i>IN SILICO</i> ТА <i>IN VITRO</i> ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ПОХІДНИХ ОКСАЗОЛОПІРИМІДИНУ	72
2.1. Одержання нових похідних оксазолопіримідину	72
2.1.1. Синтез нових 7-амінозаміщених оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинів	72
2.1.2. Модифікації в положеннях 5 і 7 оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинів	76
2.1.3. Синтез нових ізомерних оксазоло[5,4- <i>d</i>]піримідинів	80
2.2. Вивчення біологічної активності синтезованих оксазолопіримідинів	81
2.2.1. Вплив анелювання спряженої системи 1,3-оксазолу на стабільність комплексів з біомолекулами	81
2.2.1.1. Можливі взаємодії фармакофорів з фрагментами біомолекул	81
2.2.1.2. Об'єкти дослідження	87
2.2.1.3. Молекулярні характеристики анельованих оксазолів 2.66-2.68	88
2.2.1.3.1. Планарність молекул та їх геометричні розміри	88
2.2.1.3.2. Орбіталі неподілених пар: <i>n</i> -молекулярні рівні (МО)	89
2.2.1.3.3. Індекс ϕ_0 – кількісна характеристика донорно-акцепторних властивостей	90
2.2.1.4. Стекова π - π -взаємодія	93

2.2.1.5. Комплекси, стабілізовані водневими зв'язками	97
2.2.2. <i>In vitro</i> дослідження протипухлинної активності оксазоло-піримідинів	102
2.2.2.1. Результати скринінгу протиракової активності оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинів	103
2.2.2.2. Результати скринінгу протиракової активності оксазоло[5,4- <i>d</i>]піримідинів порівняно з їх ізомерами – оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинами	113
2.2.3. Дослідження оксазолопіримідинів як перспективних інгібіторів аденозинкінази	116
2.2.3.1. Супресорна дія оксазолопіримідинів як нових інгібіторів аденозинкінази на ріст ліній клітин нирок хом'яків (ВНК)	117
2.2.3.2. Дослідження дії оксазолопіримідинів на життєздатність ліній клітин гліобластоми (GBM) з різним рівнем експресії ізоформ аденозинкінази	120
2.2.3.3. Результати молекулярного докінгу оксазолопіримідинів з кристалами аденозинкінази	122
2.2.4. Дослідження протівірусної активності оксазоло[4,5- <i>d</i>]- піримідинів	124
2.2.4.1. Результати <i>in vitro</i> досліджень протівірусної активності оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинів	125
2.2.4.2. Дослідження механізму протівірусної активності оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідинів за допомогою молекулярного докінгу	131
РОЗДІЛ 3. СИНТЕЗ, <i>IN SILICO</i> ТА <i>IN VITRO</i> ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ПОХІДНИХ ПІРАЗОЛО[1,5- <i>A</i>][1,3,5]ТРИАЗИНУ	136

3.1. Одержання нових похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	136
3.2. <i>In vitro</i> дослідження нових похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	142
3.2.1. Протиракова активність похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	142
3.2.1.1. Результати односторових випробувань для похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	143
3.2.1.2. Результати п'ятидозових випробувань для похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	145
3.2.1.3. COMPARE аналіз та можливий механізм протипухлинної активності піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазинів	146
3.2.2. Протівірусна активність похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	147
3.2.3. Вивчення потенційних вазодилаторних властивостей похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину за їхньої дії на гладенькі м'язи судин	149
РОЗДІЛ 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	153
4.1. Матеріали та методи дослідження структури синтезованих речовин	153
4.1.1. Синтез нових похідних оксазоло[4,5- <i>d</i>]піримідину	153
4.1.2. Синтез нових похідних оксазоло[5,4- <i>d</i>]піримідину	170
4.1.3. Синтез нових похідних піразоло[1,5- <i>a</i>][1,3,5]триазину	173
4.2. Дослідження протиракової активності	187
4.3. Дослідження протівірусної активності	189
4.4. Дослідження вазодилаторної активності	190
ВИСНОВКИ	191
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	194
Додаток 1	222

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

Ac – ацетил

Ar – арил

BKV – BK virus (BK вірус)

Boc, Bop – *трет*-бутоксикарбоніл

Bn – бензил

i-Bu – ізобутил

t-Bu – *трет*-бутил

DENV – dengue virus (вірус денге)

Et – етил

Get – гетерил

HCMV – Human Cytomegalovirus (Цитомегаловірус людини)

c-Hex – циклогексил

HSV – Herpes Simplex Virus (вірус вітряної віспи)

Im – імідазол

Me – метил

MOI – multiplicity of infection (множинність інфекції)

Nu – нуклеофіл

Pr – пропіл

i-Pr – ізопропіл

c-Pr – циклопропіл

Pu – піридин

Ph – феніл

R – радикал

Ts – тозил

TCRV – Tacaribe virus (вірус Такарібе)

ZIKV – Zika virus (вірус Зіка)

δ – хімічний зсув
 Δ – нагрівання
АДК, ADK – аденозинкіназа
АДФ – аденозиндифосфат
АМФ – аденозинмонофосфат
АТФ – аденозинтрифосфат
ДМФА, DMF – диметилформамід
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ІЧ спектр – інфрачервоний спектр
кат., cat. – каталізатор
м. ч. – мільйонна частка
ПФК – поліфосфорна кислота
РНК – рибонуклеїнова кислота
РСД – рентгеноструктурне дослідження
ТГФ, THF – тетрагідрофуран
Т. пл. – температура плавлення
ТФК – трифтороцтова кислота
ТШХ – тонкошарова хроматографія
ушир. с – уширений синглет
с – синглет
д – дублет
дд – дублет дублетів
т – триплет
м – мультиплет
ЯМР – ядерний магнітний резонанс

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Азотовмісні гетероциклічні основи, такі як оксазолопіримідини та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини, характеризуються унікальними фізико-хімічними властивостями, які сприяють прогресу у створенні лікарських засобів. Тема дослідження актуальна з огляду на відомі дані щодо значного протиракового потенціалу подібних сполук з біоізостерним щодо пурину скафолдом, які можуть впливати на функціонування терапевтично важливих білкових молекул. Структурна різноманітність може забезпечувати всебічний аналіз взаємозв'язку між структурою та активністю шляхом введення різних замісників, критичних для біоактивності і селективності дії. Однак, введення функціональних груп в певні положення гетероциклічної системи є часто досить ускладненим. Проблема спрямованої функціоналізації та оптимізації будови гетероциклів, необхідних для очікуваного біологічного ефекту, може бути вирішена на основі наукової концепції використання ациклічних стартових реагентів, які містять декілька реакційних центрів, зокрема, таких як 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрили.

На сьогодні відомо багато синтетичних шляхів одержання різноманітних похідних оксазоло[5,4-*d*]піримідину та опубліковано значний обсяг результатів їх біологічних досліджень, наприклад, як інгібіторів аденозинкінази (ADK), нейтральних антагоністів канабіноїдного рецептора 2 (CB2), а також інгібіторів рецептора 2 ендотеліального фактора росту судин (VEGFR-2). При цьому їх ізомери – оксазоло[4,5-*d*]піримідини, навпаки, представляють недостатньо вивчений клас сполук. Обмежений доступ до цієї платформи призвів до браку біологічних випробувань. Не менш важливим є вивчення нових похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, адже на їх основі вже створено низку ефективних лікарських засобів та еталонних зразків. При цьому загалом сучасний стан цих

досліджень можна охарактеризувати як такий, що тільки розвивається.

Підсумовуючи, можна зазначити наступне: літературні дані про властивості оксазолопіримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів, а також інформація про їх потенційні мішені вказують на актуальність дизайну і вивчення нових біоактивних азолоазинів як потенційних лікарських засобів; багато не вирішених питань стосуються як синтезу структурно детермінованих азолоазинових лігандів по відношенню до ймовірної мішені, так і питань щодо селективності та механізмів їх впливу на клітинному рівні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконувалась в рамках бюджетних тем відділу хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України «Синтез нових біоактивних похідних азагетероциклів та дослідження їх властивостей» (тема 2.1.10.11-15, № держреєстрації 0115U002587) і «Синтези азотистих гетероциклів і фосфороорганічних сполук та дослідження їх біологічної активності» (тема: ЦПФД 1-17, № держреєстрації 0117U000096), а також частково за рахунок грантової підтримки Європейського співробітництва в галузі науки і технологій на здійснення короткострокових наукових місій «Каталітична функціоналізація 2- та 5-(4-хлорофеніл)-заміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів» (ECOST-STSM-CA15106-150220), програми Dora Plus (2014-2020.4.01.16-0025, діяльність 2.1 та 2.2), що фінансується Європейським фондом регіонального розвитку, та гранту Національного фонду досліджень України «Розробка та синтез нових електроннодефіцитних азолів, активних проти вірусів, що викликають опортуністичні інфекції» (№ 2020.01/0075).

Мета і завдання дослідження

Основна мета роботи полягала у синтезі нових біологічно активних похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину із різноманітними донорними та акцепторними замісниками, дослідження їх

електронних, хімічних і біологічних властивостей та вивчення взаємозв'язку «структура-активність».

Для досягнення цієї мети були покладені наступні завдання:

- здійснити синтез нових потенційно біологічно активних 2-арилзаміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів з різноманітними донорними та акцепторними замісниками в положеннях 5 і 7 системи, а також ряд нових оксазоло[5,4-*d*]піримідинів, функціонально ідентичних їхнім ізомерним похідним;
- вивчити протиракову активність і встановити залежність активності синтезованих речовин від структури (ізомерії, впливу природи замісників);
- за допомогою теоретичних та експериментальних методів дослідити можливий механізм дії біоактивних похідних оксазолопіримідину;
- вивчити *in silico* та *in vitro* протівірусну активність даних гетероциклів;
- розробити зручний метод синтезу нових похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину з алкільними, арильними або гетерильними замісниками в положеннях 4 і 7 гетероциклічної системи та дослідити їх структуру;
- вивчити протиракову та протівірусну активність і встановити залежність активності синтезованих речовин від структури (ізомерії, впливу природи аліфатичних, ароматичних та гетероароматичних замісників);
- дослідити судинорозширюючі властивості похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину.

Об'єкт дослідження – нові оксазоло[4,5-*d*]піримідини та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини.

Предмет дослідження – синтетичні підходи та властивості оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів.

Методи дослідження

Для реалізації дисертаційного дослідження використано наступні методи: органічний синтез, ІЧ- та ЯМР-спектроскопія і хромато-мас-спектрометрія (підтвердження будови нових сполук, визначення чистоти та молекулярної маси іонів нових речовин), рентгеноструктурний аналіз (однозначне встановлення будови сполук), молекулярний докінг, COMPARE аналіз, неемпіричний метод квантово-хімічних розрахунків, методи біологічного скринінгу (визначення протиракової, противірусної та вазодилаторної активності). Обробку деяких результатів досліджень здійснено за допомогою програми Microsoft Excel.

Наукова новизна отриманих результатів

Розширено коло нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину до 35 сполук та встановлено зв'язок «структура-активність» в ряду цих речовин. Вперше для функціоналізації даних речовин був використаний підхід Судзукі-Міяура і отримано нові 5-біарил- та 7-арилзаміщені похідні. Вперше проведено дослідження можливого механізму протиракової дії похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину і знайдено новий селективний інгібітор довгої ізоформи аденозинкінази – 2,5-дифенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин. Знайдено перший і поки що єдиний перспективний противірусний агент серед оксазоло[4,5-*d*]піримідинів – *N*-(2-морфоліно-2-(тіофен-2-іл)етил)-5-(4-метоксифенетил)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-амін зі значеннями $EC_{50} = 0,22$ мкМ та $SI_{50} = 85$ мкМ.

Крім того, вперше досліджена взаємодія 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами та синтезовано раніше невідомі похідні 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины. Вперше вивчено їх протиракова, противірусна та вазодилаторна активність; знайдено закономірності «структура-активність» й отримано «сполуки-лідери» серед 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів з протипухлинним потенціалом.

При *in silico* дослідженнях вперше використано пофрагментний підхід, який на основі неемпіричних квантово-хімічних розрахунків дозволяє кількісно

оцінювати вплив зміни хімічної будови фармакофора на стабільність комплексу фармакофора з біологічно активним центром.

Практичне значення отриманих результатів

Практичне значення одержаних результатів полягає в розробці препаративних методів синтезу нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину з арильними та різноманітними амініними фрагментами в положенні 7 і (бі)арильними замісниками в положеннях 2 та 5 гетероциклічної системи, що важливо для встановлення зв'язків між структурою та протипухлинною активністю. Серед них знайдено низку протиракових агентів та сполуку з противірусним ефектом щодо ВК-вірусу – *N*-(2-морфоліно-2-(тіофен-2-іл)етил)-5-(4-метоксифенетил)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-амін. Також на основі 2,5-дифеніл-7-піперазин-1-ілоксазоло[4,5-*d*]піримідину створено новий селективний інгібітор довгої ізоформи аденозинкінази, яка є перспективною мішенню при лікуванні таких патологічних станів як травми головного мозку, епілепсії, судинних захворювань, раку та діабету.

Крім того, розроблено новий препаративний метод синтезу раніше не відомих 2-дихлорометилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину з алкільними, арильними або гетерильними замісниками в положенні 4 та 7 гетероциклічної системи, серед яких знайдено речовини з протираковим та судинорозширюючим ефектом.

Таким чином, в результаті дисертаційної роботи було надано доступ до двох класів азотовмісних конденсованих гетероциклів, які моделюють структуру пурину і можуть надалі бути використані як сучасні будівельні блоки для створення лікарських препаратів.

Особистий внесок здобувача

Літературний пошук за темою дисертації, основний обсяг експериментальної частини роботи, аналіз спектральних досліджень та

встановлення будови більшості синтезованих сполук зроблено безпосередньо дисертантом. Постановку завдань, обговорення, інтерпретація та узагальнення результатів роботи проведено разом з науковим керівником, д.х.н., с.н.с. Качковським О.Д., д.х.н., проф. Броварцем В.С. і к.х.н., с.н.с. Пільо С.Г., на окремих етапах роботи – з д.б.н. Жирновим В.В., д.х.н., проф. Ноланом С.П. (Гентський університет, м. Гент, Бельгія), к.х.н. Карпічевим Є.А. (Таллінський технологічний університет, м. Таллінн, Естонія) та к.х.н. Зябровим В.С. Дослідження протипухлинної активності здійснено спільно з Національним інститутом раку США (National Cancer Institute of Heals, USA) в рамках Development Therapeutic Program. Вивчення аденозинкіназної активності проводилось в дослідницькому інституті *Legacy Research Institute* в Портленді, штат Орегон, США. Антивірусна активність досліджувалася в Університеті Алабами в Бірмінгемі та Інституті противірусних досліджень Університету штату Юта. Дослідження вазодилататорної активності виконано к.б.н. Івановою І.В. в Інституті фармакології та токсикології НАМН України, молекулярний докінг – к.б.н. І. В. Семенютою та к.х.н. Кобзарем О.Л., рентгеноструктурні дослідження – к.х.н. Е. Б. Русановим, а квантовохімічні розрахунки виконано разом з д.х.н. О. Д. Качковським.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: I Міжнародна (XI Українська) наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення» (Вінниця, 2018), V та VII Міжнародні заочні науково-практичні конференції молодих вчених (Ніжин, 2018 та 2020), 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov (Kharkiv, 2018), III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (Житомир, 2019), 10th International Conference Kiev-Toulouse (Toulouse, France 2019), Ювілейна XXV Українська

конференція з органічної та біоорганічної хімії, присвячена 80-річчю ІОХ НАН України та 30-річчю ІБОНХ ім. В.П. Кухаря НАН України (Луцьк, 2019), 12th International Conference «Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials» (Kamianets-Podilskyi, 2020), XXXV Наукова конференція з біоорганічної хімії та нафтохімії (Київ, 2021), XVIII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021» присвячена 360-річчю Львівського Університету (Львів, 2021).

Публікації за темою дисертації

За матеріалами роботи опубліковано 24 праць, з них 10 статей у провідних фахових журналах, 1 патент на винахід та 13 тез наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 226 сторінках машинописного тексту і складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 1 додатку. Обсяг основного тексту дисертації складає 193 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 19 таблицями, 28 рисунками та 71 схемою. Список використаних джерел містить 240 найменувань.

РОЗДІЛ 1

ОДЕРЖАННЯ І ВЛАСТИВОСТІ ОКСАЗОЛО[4,5-*d*]ПРИМІДИНІВ, ОКСАЗОЛО[5,4-*d*]ПРИМІДИНІВ ТА ПІРАЗОЛО[1,5-*a*][1,3,5]ТРИАЗИНІВ (Огляд літератури)

Пурини можна вважати найбільш розповсюдженими та функціональними азотистими гетероциклами в природі. З біологічної точки зору, увага до пуринів в основному зумовлена тим, що пуриновмісні нуклеотиди діють як ко-фактори, субстрати або медіатори у функціонуванні багатьох білків, котрі, за оцінками експертів, охоплюють половину лікарських мішеней, насамперед ферментів та рецепторів. Структурні модифікації природних пуринів, особливо з використанням ізостерних циклічних систем, є актуальним завданням в розробці лікарських засобів. Застосування концепції ізостеризму для розробки нових сполук з терапевтичним потенціалом в областях, що включають пуринергічну регуляцію або метаболізм пуринів, привело до значного прогресу в медичній хімії оксазолопіримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. Ці пуриноподібні каркаси значно підвищують рівень молекулярного різноманіття та дозволяють охоплювати хімічний простір у важливих галузях медичної хімії. Враховуючи вищесказане всебічний огляд синтетичних шляхів до різних класів оксазолопіримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів представляє великий інтерес в галузі органічної хімії. Ми узагальнили синтези цих класів сполук, опублікованих у первинній науковій літературі та патентах до кінця 2020 р. Синтетична частина доповнена оглядом біологічної активності відповідних структур у (до)клінічному розвитку.

1.1. Синтез та властивості похідних оксазолопіримідинів

Оксазолопіримідини – це ізостери пуринових основ, які часто зустрічаються в медичній хімії. Оксазолопіримідиновий каркас присутній у ряді рецепторних модуляторів, інгібіторів ферментів та аналогів нуклеозидів. Оксазолопіримідини є предметом значної кількості публікацій, включаючи

патенти фармацевтичних корпорацій і академічних груп, тому з'явилась потреба узагальнити їх методи отримання та біологічні властивості. Оксазоло[5,4-*d*]піримідини складають добре вивчену хімічну родину, тоді як структура оксазоло[4,5-*d*]піримідину була недостатньо досліджена. Загалом існує 3 підходи до побудови оксазолопіримідинового каркасу – анелювання оксазольного кільця до піримідинового, анелювання піримідинового циклу до оксазольного та одержання шляхом рециклізації.

1.1.1. Синтез та біологічні властивості оксазоло[4,5-*d*]піримідинів

1.1.1.1. Анелювання оксазольного циклу до піримідинового

Оксазоло[4,5-*d*]піримідини можна одержати виходячи з 4-аміно-5-гідрокси-піримідину шляхом анелювання оксазольного кільця. Джерелом вуглецю для C(2) гетероциклу може бути естер, ортоестер, тіоїмідат, карбонова кислота або формамід. Так, реакція піримідину **1.1** з фенільними естерами приводить до утворення стабільних за звичайних умов геміаміналів **1.2**, які під дією метил йодиду й наступного нагрівання дають оксазоло[4,5-*d*]піримідини **1.3** [1, 2]:

Схема 1

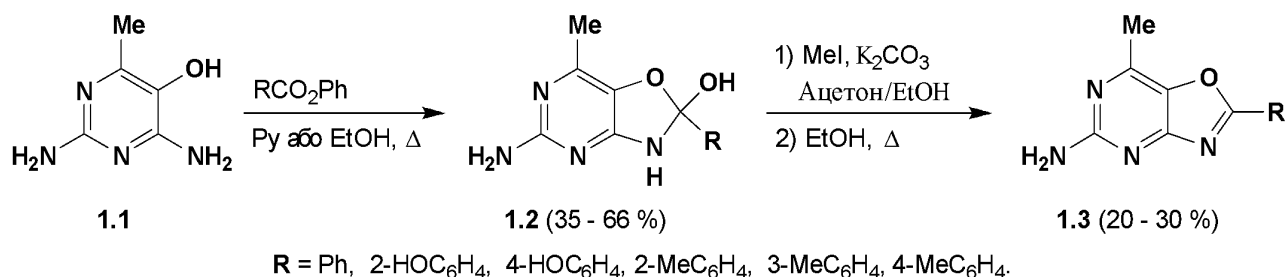
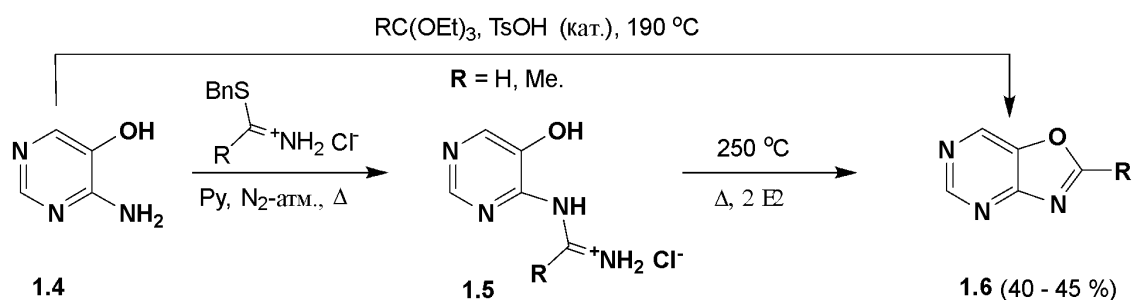


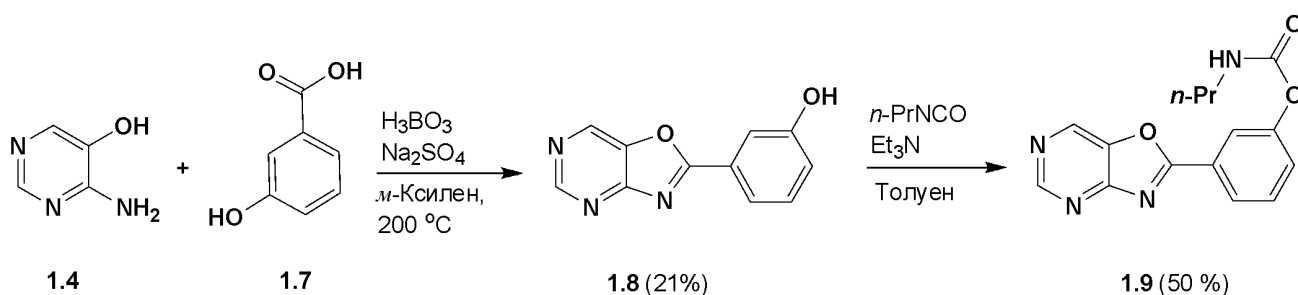
Схема 2



Більш простий підхід до синтезу оксазоло[4,5-*d*]піримідинів полягає у конденсації амінопіримідинолу **1.4** із надлишком ортоестеру при високій температурі (схема 2) [3]. Як альтернативу ортоестеру використовують тіобензилімідат, при цьому спочатку одержується інтермедіат **1.5**, нагрівання якого при 250 °С впродовж двох хвилин приводить до замикання циклу [4].

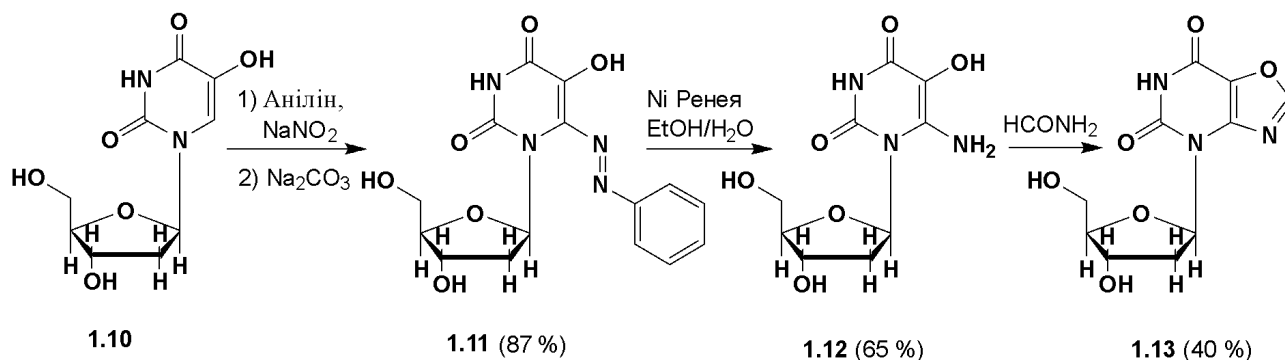
Окрім тіоімідатів та ортоестерів, карбонова кислота також може бути використана як джерело атома С(2). Обробкою 4-амінопіримідин-5-олу **1.4** 3-гідроксибензойною кислотою **1.7** в жорстких умовах одержується оксазолопіримідин **1.8**. Подальша реакція фенольної групи з *n*-пропілізоціанатом дає карбамат **1.9** [5]:

Схема 3



Реакція діазосполучення 5-гідроксиуридину **1.10** приводить до одержання похідного діазобензолу **1.11**. Каталізований нікелем Ренея гідрогеноліз з наступною циклізацією за участі формаміду у присутності поліфосфатного естеру дає нуклеозидний аналог **1.13** [6]:

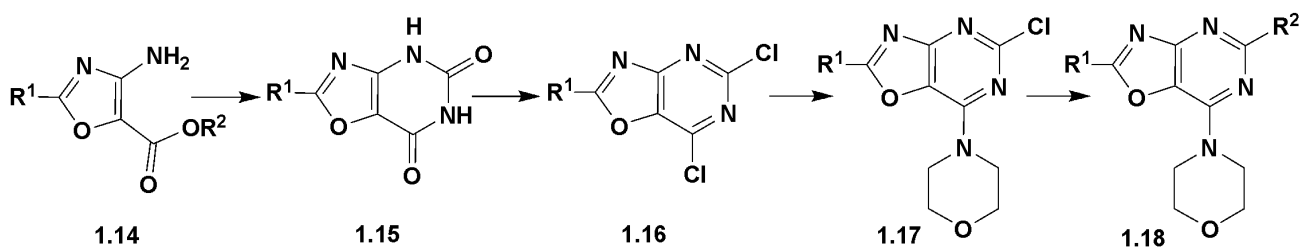
Схема 4



1.1.1.2. Анелювання піримідинового циклу до оксазольного

Оксазоло[4,5-*d*]піримідини були синтезовані також починаючи з функціоналізованого оксазолу шляхом анелювання піримідинового кільця (схема 5). На жаль, застосовувані синтетичні методи та характеристика одержаних таким чином сполук не були детально описані. Єдиними структурами у схемі 5, про які було однозначно повідомлено, є кінцеві продукти **1.18** [7].

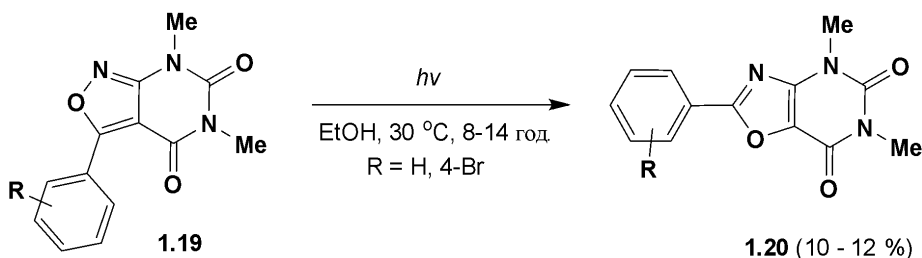
Схема 5



1.1.1.3. Створення оксазоло[4,5-*d*]піримідинового каркасу шляхом рециклізацій

Під час дослідження фотохімічної поведінки 3-арилізоксазоло[3,4-*d*]піримідинів **1.19** знайдено, що останні піддаються рециклізації при опроміненні ртутною лампою, отримуючи при цьому 2-арилоксазоло[4,5-*d*]піримідини **1.20** [8]:

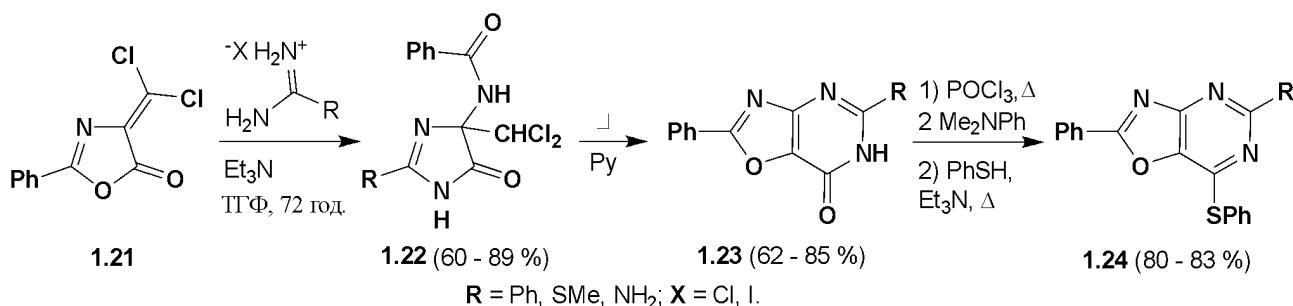
Схема 6



Реакція 1,3-оксазол-5(4*H*)-ону **1.21** з різними амідинами дає імідазолони **1.22**, які далі перетворюються в оксазоло[4,5-*d*]піримідин-7(6*H*)-они **1.23** шляхом кип'ятіння у піридині. Хлорування надлишком оксихлоридом фосфору

сполук **1.23** з фенільним або тіометильним замісником при C(5) з наступною взаємодією з тіофенолом дає кінцеві структури **1.24** [9]:

Схема 7



1.1.1.4. Біологічні властивості похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину

Серед похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину знайдено, що сполука **1.9** (схема 3) є інгібітором амідгідролази жирних кислот (FAAH) зі значенням IC_{50} 4,5 мкМ, а також інгібує моногліцерид ліпази (MGL) на 18% при 100 мкМ. FAAH і MGL є основними ферментами, відповідальними за гідроліз двох ендогенних канабіноїдів арахідоноїлетаноламідів та 2-арахідоноїлгліцерину. Останні активують каннабіноїдні рецептори CB1 і CB2, що викликає полегшення болю та тривоги [5].

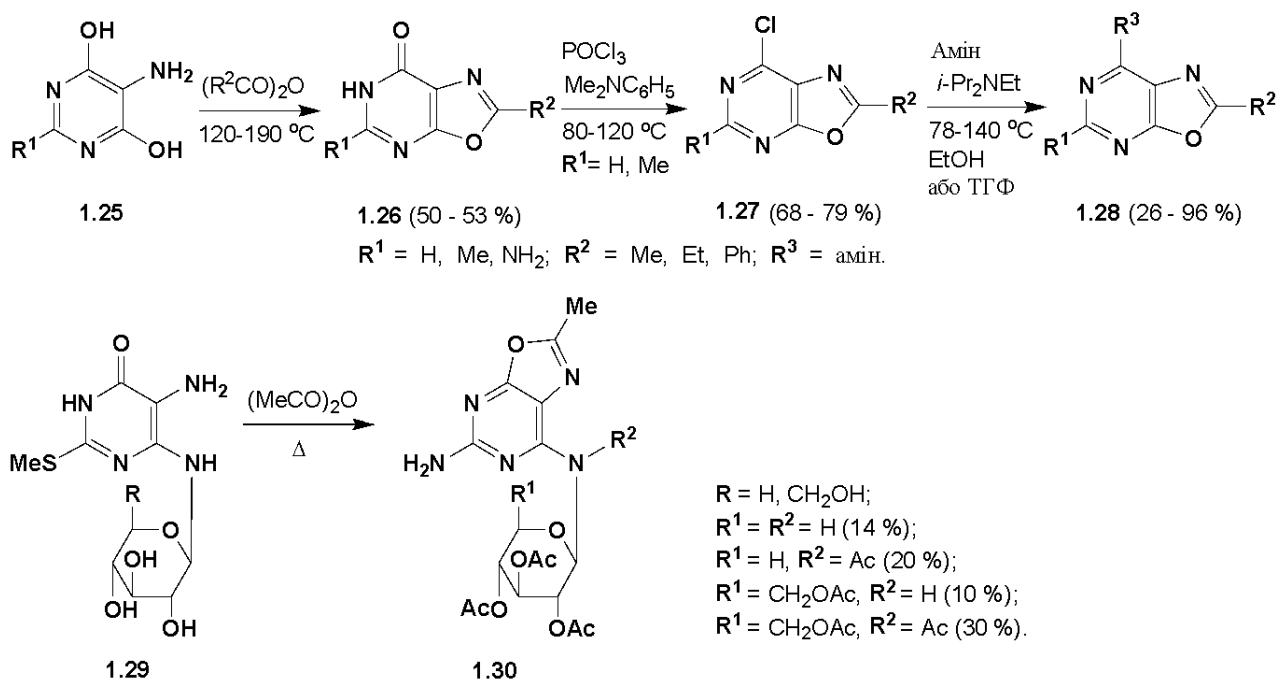
1.1.2. Синтез та біологічні властивості оксазоло[5,4-*d*]піримідинів

1.1.2.1. Анелювання оксазольного циклу до піримідинового

Будівельними блоками для побудови оксазоло[5,4-*d*]піримідинів в одну стадію є 5-амінопіримідини з гідроксильною групою або лактамною карбонільною групою в положенні 4 та/або 6 гетероциклічної системи. Джерелом атома карбону для C(2) одержаного оксазолопіримідину може бути карбонільна група в ангідридах, нітрильна або трифторометильна група.

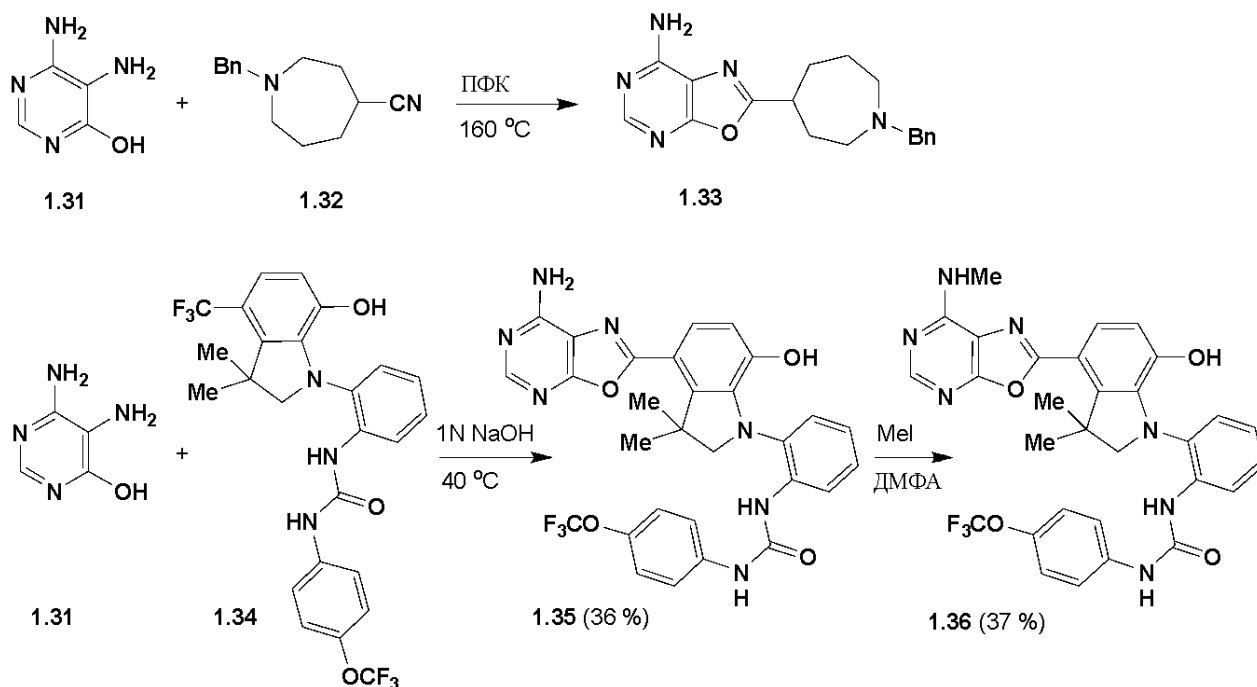
Взаємодія оцтового, пропіонового або бензойного ангідриду з піримідином **1.25** дає оксазоло[5,4-*d*]піримідинони **1.26**. Подальше хлорування оксихлоридом фосфору та реакція з морфоліном, піперидином або різними ариламинами приводять до утворення кінцевих структур **1.28** [10-12]. У випадку заміни 6-гідроксигрупи піримідину на вторинну аміногрупу, циклізація відбувається між 4-карбонільною групою та 5-аміногрупою піримідинового кільця. Кип'ятіння піримідинонів **1.29** в оцтовому ангідриді дає продукти **1.30** [13]:

Схема 8



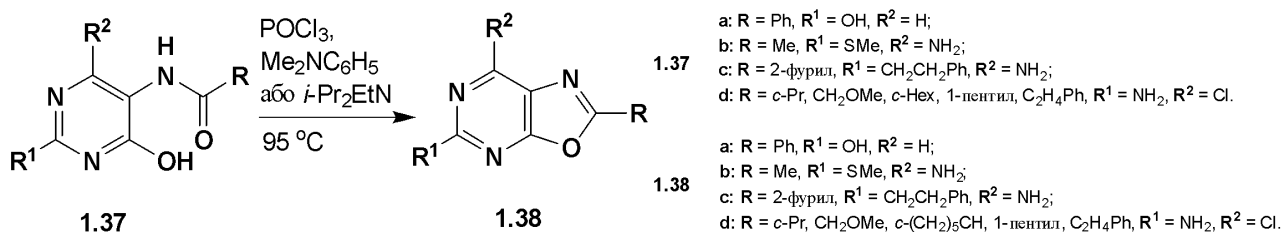
Взаємодія нітрилу **1.32** з 4-піримідином **1.31** у гарячій ПФК приводить до утворення оксазоло[5,4-*d*]піримідину **1.33** [14]. Реакція надлишку піримідину **1.31** зі сполукою **1.34** в лужних умовах дає похідне **1.35**, при алкілюванні якого метилйодидом одержується 7-метиламінооксазолопіримідин **1.36** [15]:

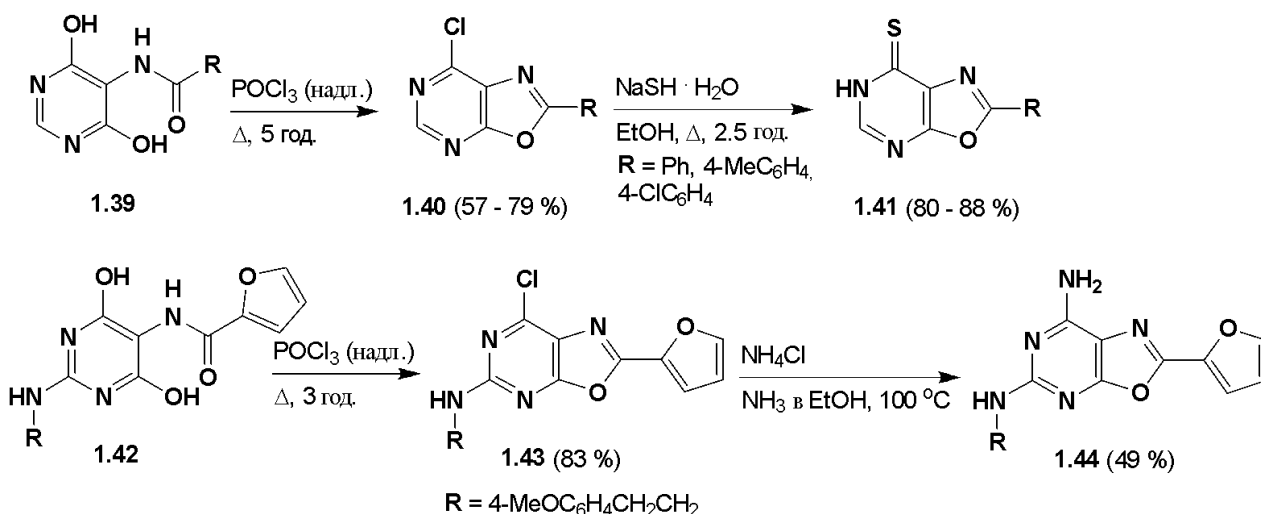
Схема 9



Одним з основних підходів до синтезу оксазоло[5,4-*d*]піримідинів є циклізація 5-ациламінопіримідину з ОН-групою або лактамною карбонільною групою в положенні 4 та/або 6. Типовими зневоднюючими агентами є POCl_3 та ПФК, але також можуть використовуватися інші реагенти або методи. Так, при кип'ятінні 5-ациламінопіримідинів **1.37** з надлишком *N,N*-диметиланіліну в оксихлориді фосфору одержується оксазолопіримідини **1.38** (схема 10) [16-18]. Піримідини **1.39** циклізується до 7-хлорооксазоло[5,4-*d*]піримідинів **1.40** також у киплячому POCl_3 . Подальша реакція з натрій тіосульфідом в етанолі дає оксазолопіримідин-7-тіони **1.41** [19]. За подібних умов відбувається й циклізація сполук **1.42** до похідних **1.43**. Наступне заміщення атома Cl сполук **1.43** на первинну аміногрупу дає 7-амінооксазолопіримідини **1.44** [17]:

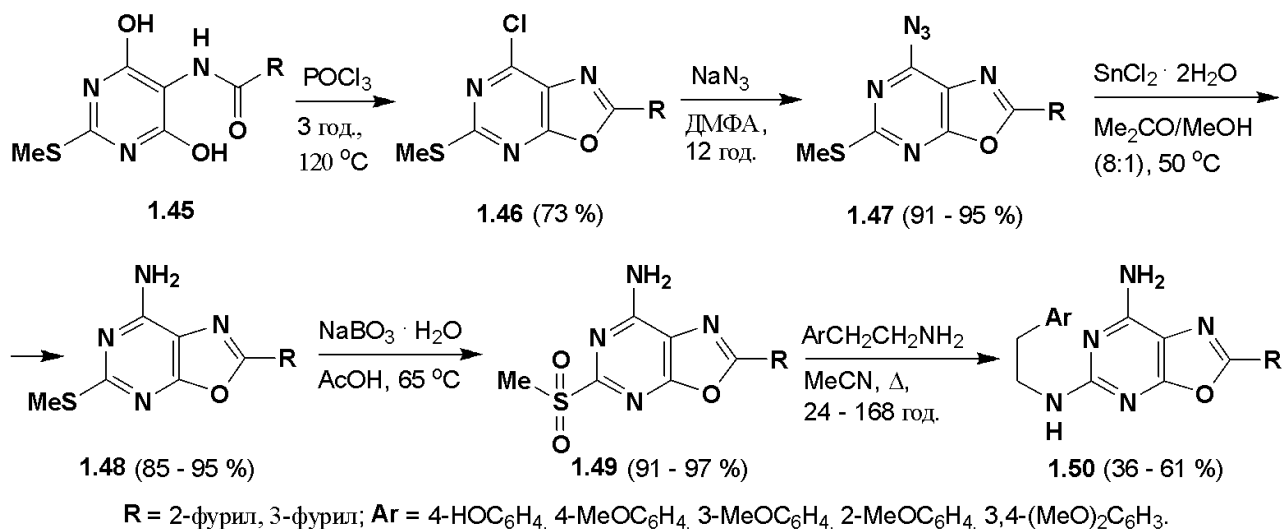
Схема 10





Циклізація піримідинів **1.45** під дією надлишку POCl₃ й подальша взаємодія з азидом натрію приводить до одержання 7-азидооксазолопіримідинів **1.47**. Відновлення азиду з наступним окисненням сульфідів **1.48** дає сульфони **1.49**, які далі реагуючи з різними амінами приводять до бажаних продуктів **1.50** [20]:

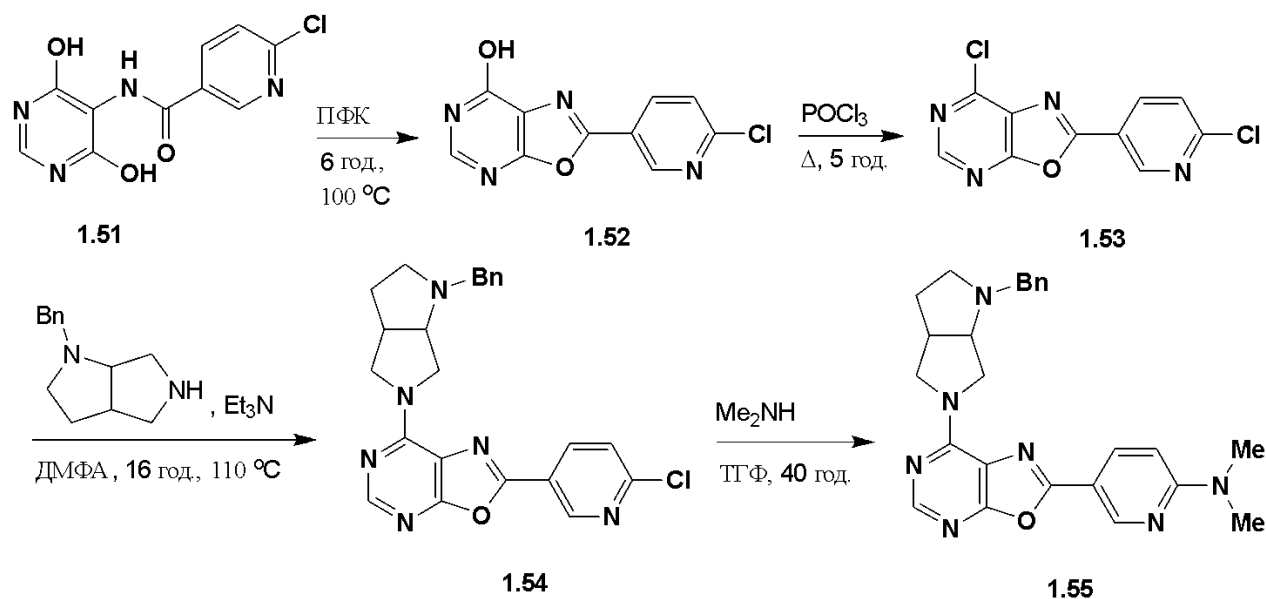
Схема 11



У подібному прикладі, для замикання піримідину **1.51** до оксазолопіримідину **1.52** використовують ПФК. Хлорування **1.52** оксихлоридом фосфору дає похідне **1.53**. Примітно, що атом хлору при С(7) заміщується біпіролідиновим фрагментом при кип'ятінні в ДМФА, тоді як атом хлору у

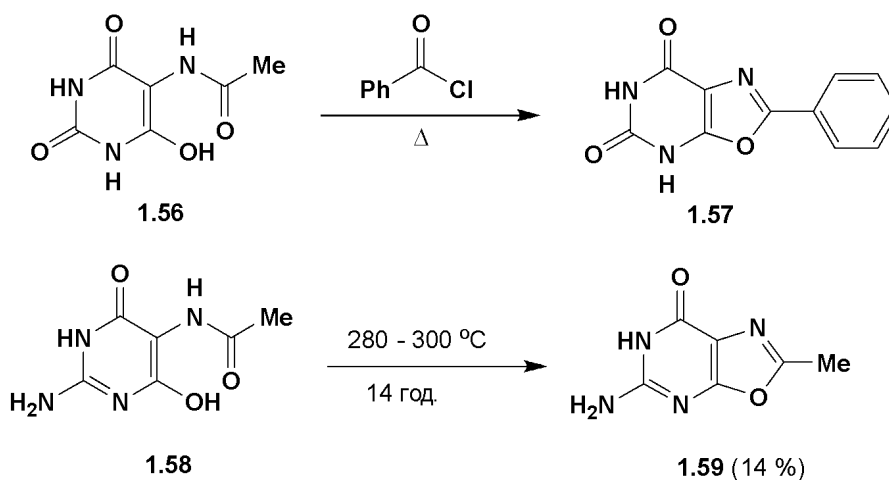
піридиновому фрагменті заміщується на наступній стадії під дією надлишку диметиламіну в ТГФ за звичайних умов з утворенням сполуки **1.55** [21].

Схема 12



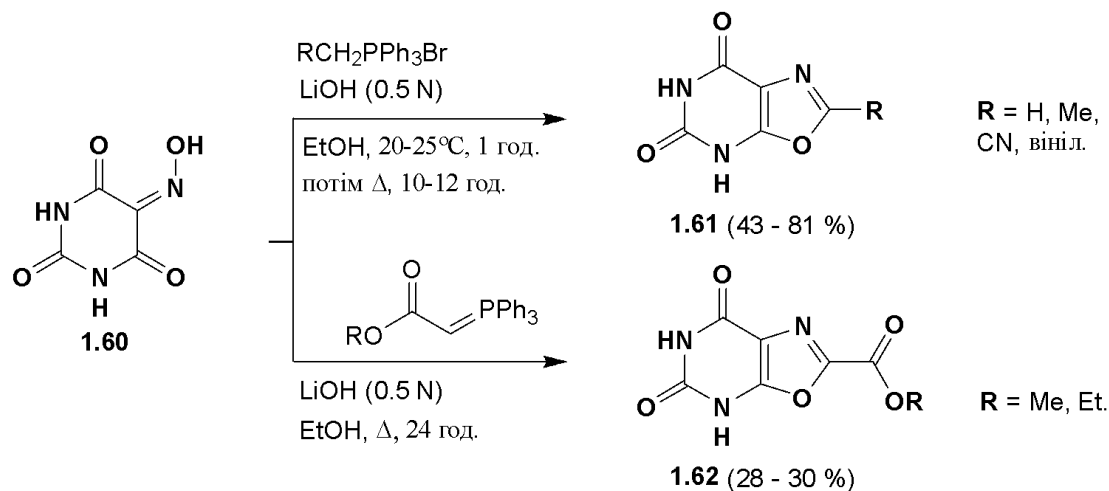
Крім POCl_3 або ПФК, ацилхлорид також може сприяти циклізації. При кип'ятінні ацетиламіну **1.56** у бензоїлхлориді одержується 5,7-оксазоліпіримідиніон **1.57** (схема 13) [22]. Замикання кільця можливо досягнути й термічно. Так, піримідин **1.58** циклізуються без конденсуючого агента сублімацією при високій температурі, при цьому одержується похідне **1.59** з дуже низьким виходом [23]:

Схема 13



Віолурова кислота **1.60** при взаємодії з солями або ілідами трифенілфосфонію дає відповідні оксазоло[5,4-*d*]піримідин-5,7(4*H*,6*H*)-діони **1.61** або **1.62** [24]:

Схема 14



Іншим будівельним блоком для створення оксазоло[5,4-*d*]піримідинового каркасу є 5-амінопіримідин з атомом хлору в положеннях 4 та/або 6, при цьому аміногрупа може бути вільною або ацильованою. Кип'ятіння 5-аміно-4-хлорпіримідину **1.63** з еквімолярними кількостями бензойної кислоти та ПФК в POCl_3 дає оксазолопіримідин **1.64** (схема 15). Подібним чином, обробка 2,4-дихлорпіримідину **1.65** арилкарбоновими кислотами при кип'ятінні в POCl_3 дає 5-хлорооксазолопіримідини **1.66** [25]. При взаємодії піримідину **1.67** з бензоїлхлоридом одержується сполука **1.68** [26]. Циклізація ацильованого похідного **1.69** в 7-хлорозаміщений оксазолопіримідин **1.70** не вимагає сильних агентів, таких як POCl_3 або ПФК, а здійснюється при обробці простою неорганічною основою – цезій карбонатом в ацетонітрилі. Подальше заміщення атома Cl відповідним аміном дає 2,7-дизаміщений оксазолопіримідин **1.71** [27]:

Схема 15

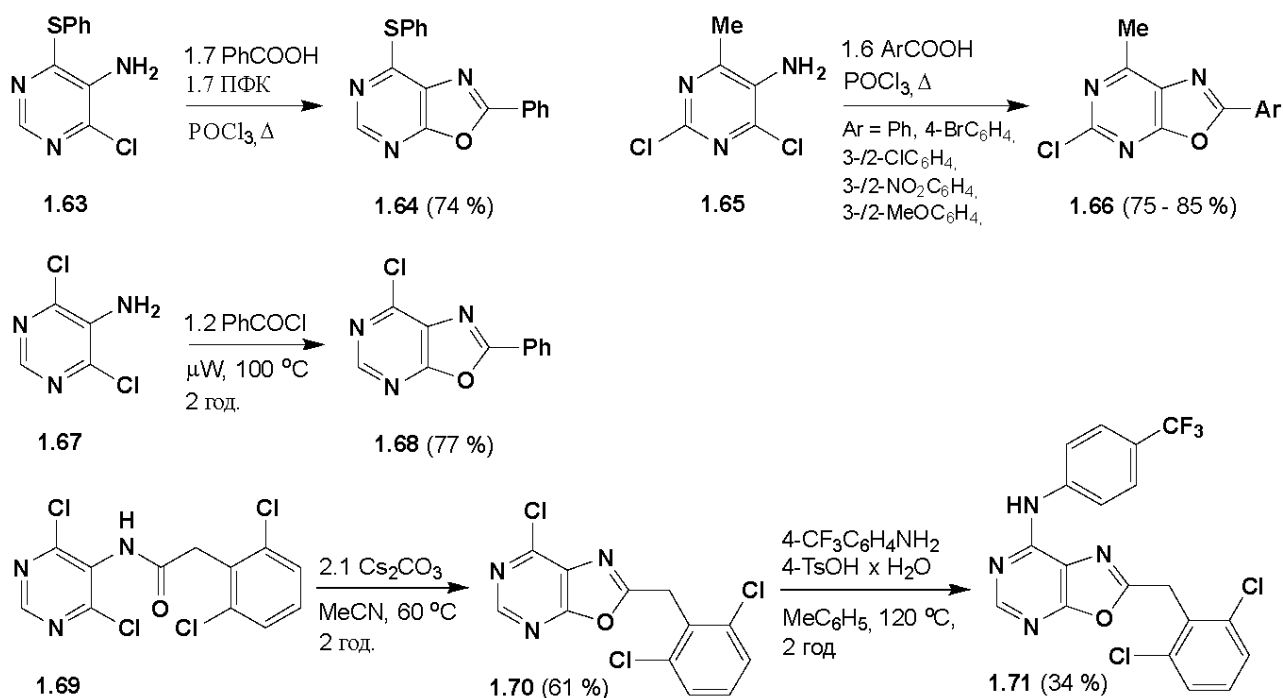
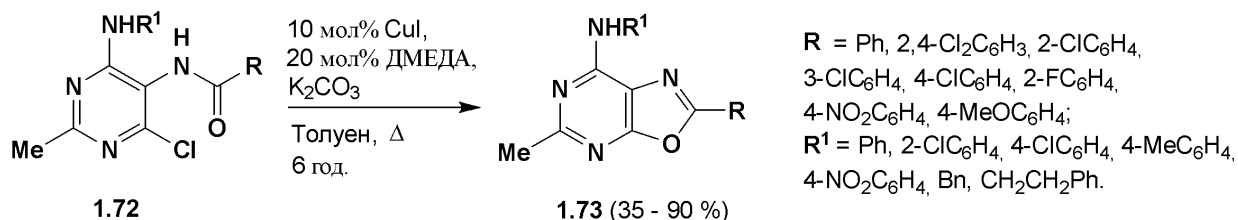


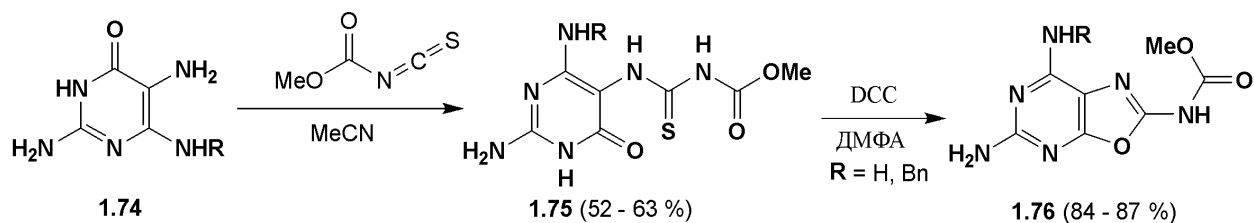
Схема 16



Поєднання міді(I) та диметилетилендіаміну (ДМЕДА) в якості ліганду було використано для каталізу внутрішньомолекулярного C-O перехресної циклізації амідів **1.72** з метою отримання оксазолопіримідинів **1.73** [28] (схема 16).

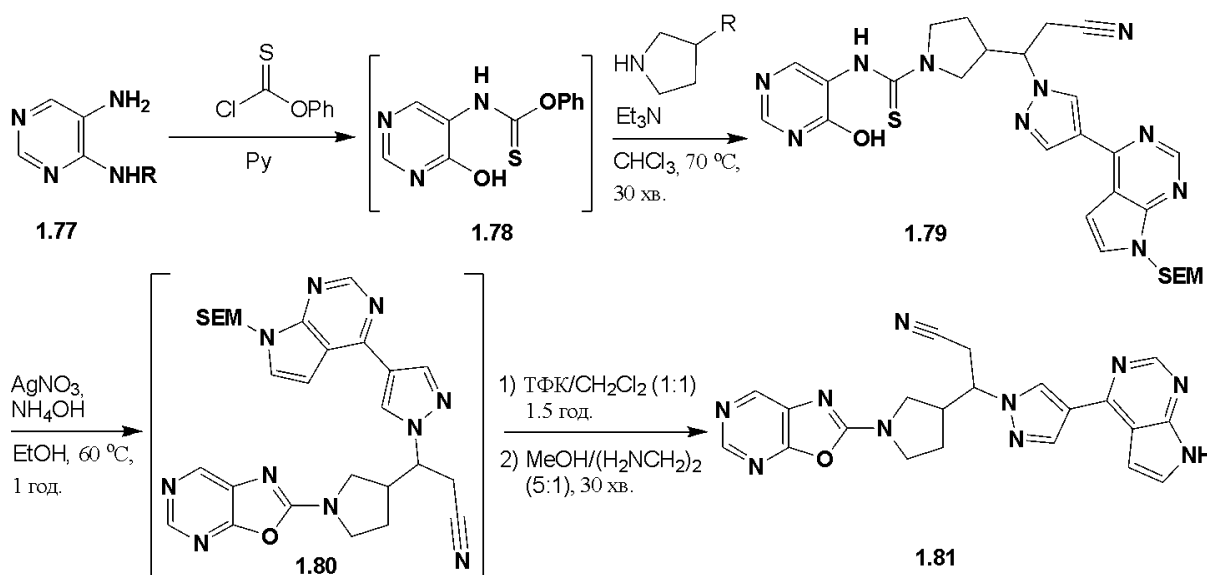
5-Тіоуреїдопіримідин **1.75**, одержаний взаємодією піримідинону **1.74** з метоксикарбонілізотіоціанатом, циклізують шляхом його обробки дициклогексилкарбодіімідом (DCC) до відповідних похідних **1.76** [29]:

Схема 17



Реакцією піримідину **1.77** з *O*-фенілхлортіоноформіатом одержують проміжний *O*-тіокарбамат **1.78**, який далі реагуючи з піролідином дає тіоуреїдопі-римідин **1.79** (схема 18). Циклізацію сполук **1.79** до похідних **1.80** здійснюють обробкою AgNO_3 та водним розчином амоній гідроксиду. Зняття захисту з сирого продукту приводить до утворення бажаного оксазолопіримідину **1.81** [30]:

Схема 18



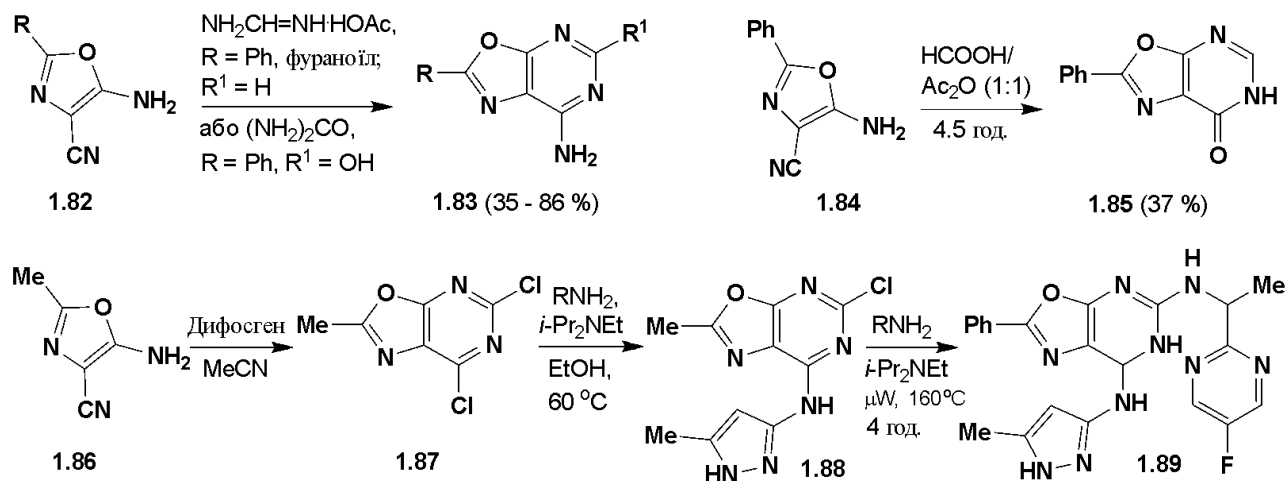
1.1.2.2. Анелювання піримідинового циклу до оксазольного

Іншим синтетичним шляхом до бажаних оксазоло[5,4-*d*]піримідинів є анелювання піримідинового кільця до оксазольного циклу. Оксазол зазвичай має аміногрупу при C(5) і нітрильну, естерну або амідну групу в положенні 4.

C(2)-функціоналізований 5-амінооксазол-4-карбонітрил є універсальним будівельним блоком для побудови різних оксазоло[5,4-*d*]піримідинів. Взаємодія оксазолів **1.82** з ацетатом формамідину або сечовиною дає похідні **1.83** [17, 31]. Обробка сполук **1.84** сумішшю HCOOH та As_2O при 80°C приводить до утворення оксазолопіримідину **1.85** [31]. Для циклізації

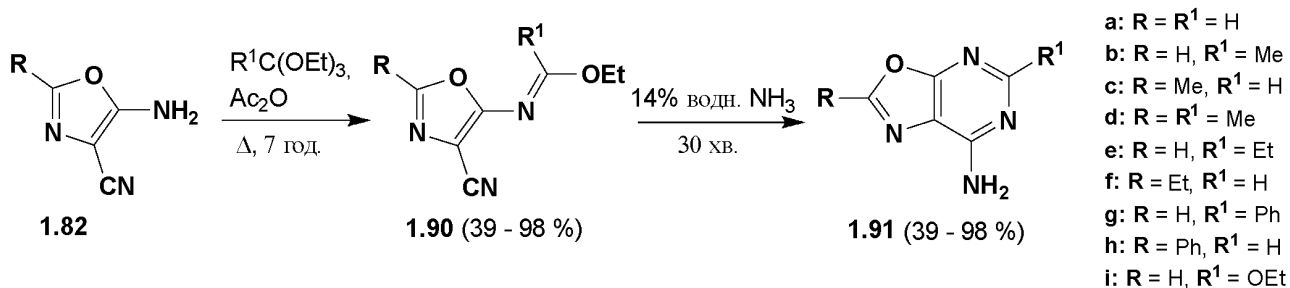
5-аміно-4-карбонітрилу **1.86** до похідного **1.87** застосовують дифосген. Подальші заміщення при C(7) та C(5) амінами приводить до одержання сполуки **1.89** [32]:

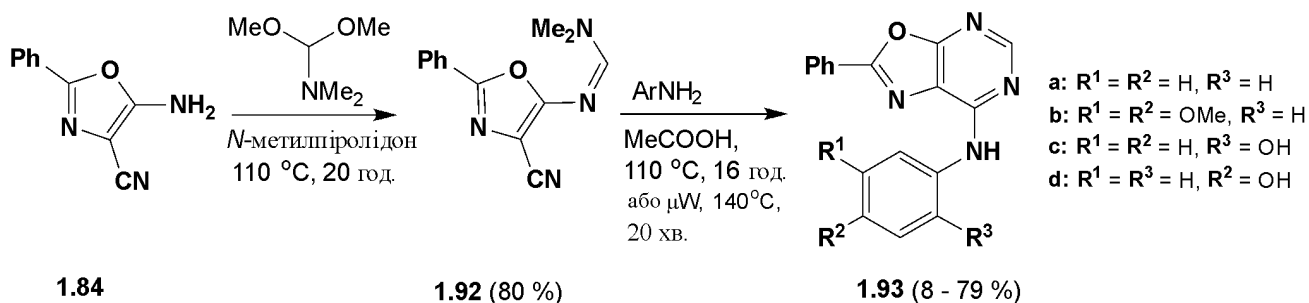
Схема 19



Анелювання кільця піримідину також можна досягнути двостадійно. Взаємодія оксазолів **1.82** з ортоестерами у киплячому оцтовому ангідриді дає проміжні похідні *N*-етоксиметилу **1.90**, циклізація яких водним розчином аміаку дає оксазоло[5,4-*d*]піримідини **1.91** [33]. Замість аміаку також можна використовувати різні первинні аміни [34]. Реакція оксазолу **1.84** з диметилацеталем *N,N*-диметилформаміду в *N*-метил-2-піролідоні приводить до отримання амідину **1.92**. Подальша циклізація сполук **1.92** при обробці різними анілінами в MeCOOH дає *N*-заміщені похідні **1.93** [31].

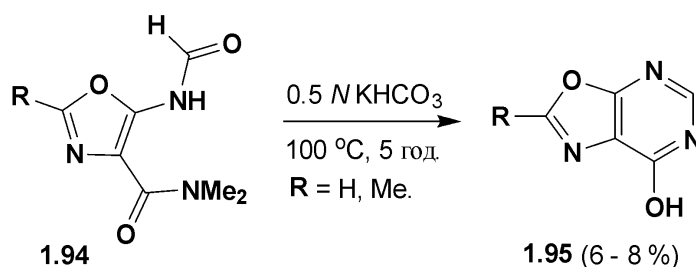
Схема 20

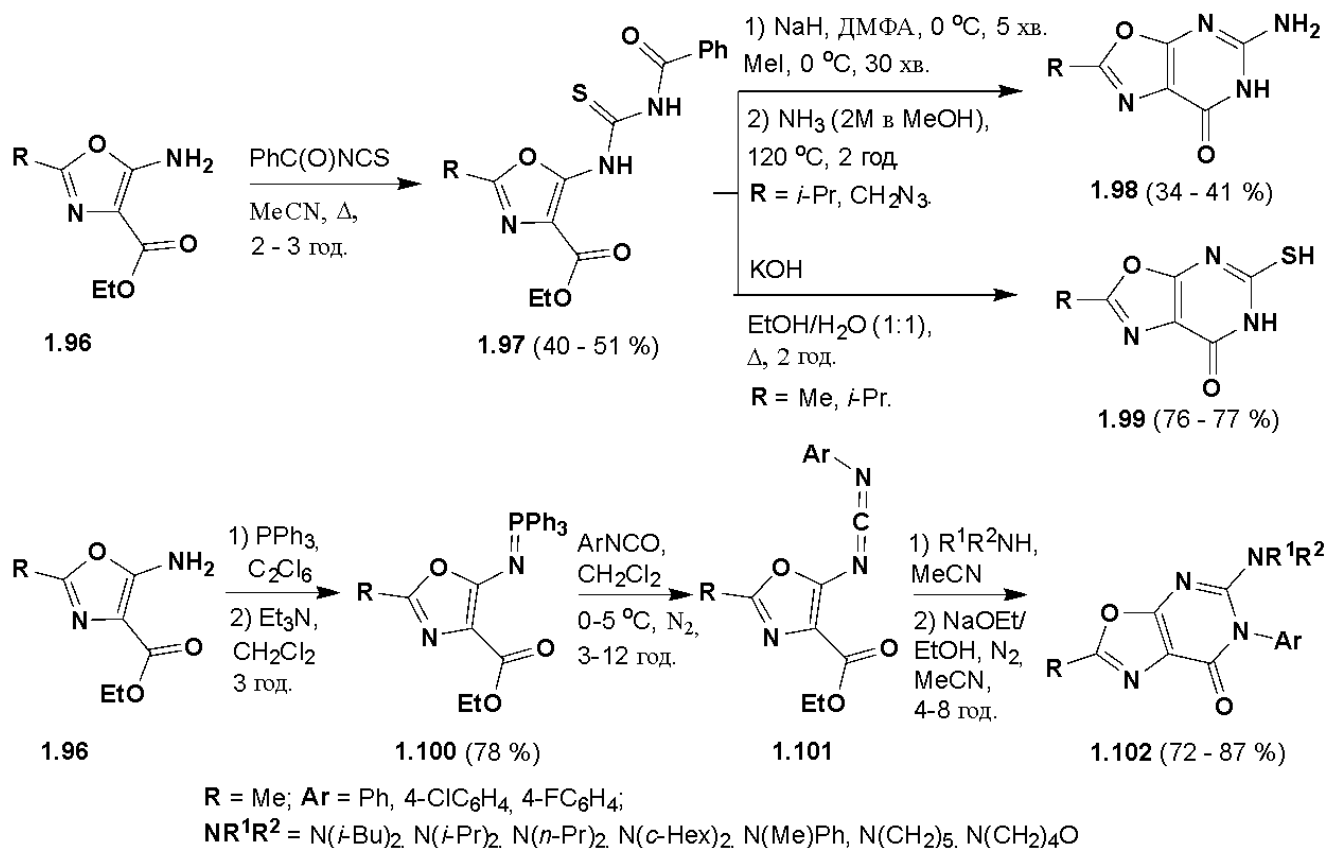




Різні 2,4,5-тризаміщені оксазоли застосовують як будівельні блоки для побудови оксазоло[5,4-*d*]піримідинів. Так, кип'ятіння карбоксамідів **1.94** в роз-чині KHCO_3 приводить до 7-оксазоло[5,4-*d*]піримідинолів **1.95** [35]. При обробці етилкарбоксилатів **1.96** бензоїлізотіоціанатом одержуються тіосечовини **1.97**. Замикання кільця до структур **1.98** досягається шляхом поетапного метилування з наступною циклізацією під дією аміаку. Альтернативно, тіосечовини **1.97** циклізуються до похідних **1.99** спиртовим розчином KOH [36]. Етил 5-амінооксазол-4-карбоксилат **1.96** також використовують для побудови оксазоло[5,4-*d*]піримідинонів **1.102** шляхом послідовної реакції аза-Віттіга [37]:

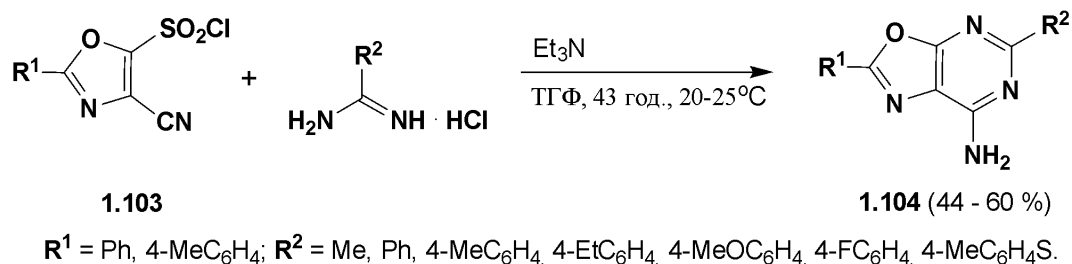
Схема 21





Усі вищезазначені реакції вимагають нагрівання реакційної суміші, що може бути небажаним, коли задіяні лабільні замісники. Тому в нашому відділі був розроблений метод синтезу функціоналізованих оксазолопіримідинів у м'яких реакційних умовах. Взаємодія сульфонілхлоридів **1.103** з різними амідинами при кімнатній температурі в ТГФ дає бажані оксазолопіримідини **1.104** [38, 39]:

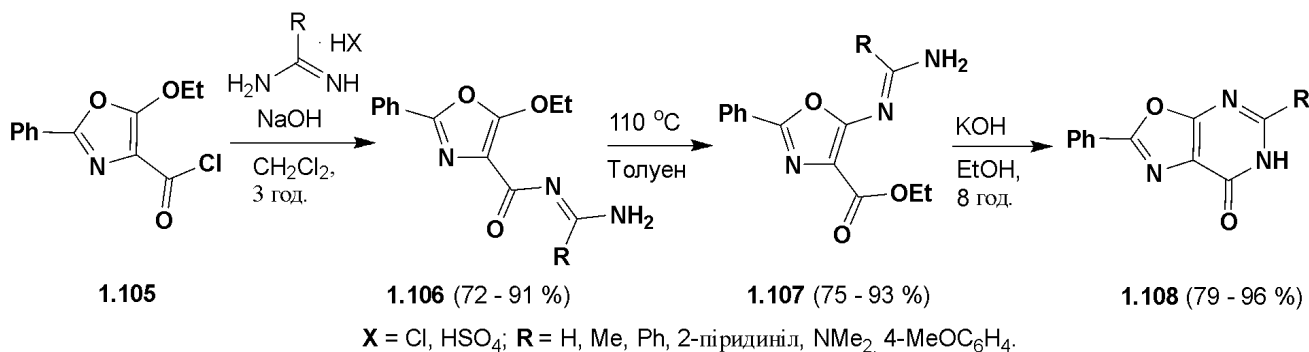
Схема 22



Перегрупування Корнфорта - це реакція, специфічна для 4-оксазолокарбонілхлоридів. Вона була використана для розробки нового

методу синтезу оксазоло[5,4-*d*]піримідинонів **1.108** (схема 23). Взаємодія хлорангідриду **1.105** з відповідним амідом дає проміжні сполуки **1.106**, при кип'ятінні яких у толуолі відбувається перегрупування Корнфорта з утворенням амідинів **1.107**, які далі під дією КОН циклізуються в бажані продукти **1.108** [40]:

Схема 23



1.1.2.3. Біологічні властивості оксазоло[5,4-*d*]піримідинів

1.1.2.3.1. Модулятори рецепторів

Сполука **1.36** (схема 9) є антагоністом рецептора P2Y1 *in vitro* зі значенням K_i 24 нМ. Рецептор P2Y1 є важливим рецептором АДФ у тромбоцитах. У свою чергу, як відомо, активація тромбоцитів відіграє ключову роль у формуванні тромбу. Отже, антагоністи P2Y1 можуть мати значну користь у лікуванні різноманітних розладів тромбів. Сполука **1.36** інгібує АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів зі значенням IC₅₀ 3,9 мкМ [41].

Сполука **1.44** (схема 10) є антагоністом рецептора аденозину A₂ зі значенням IC₅₀ нижче 100 нМ. Цей рецептор відіграє важливу роль у регуляції вивільнення глутамату та дофаміну і може бути корисним для лікування болю, безсоння, депресії, наркоманії та хвороби Паркінсона [17]. Структура **1.44** була використана як ключова сполука в подальшому дослідженні щодо розробки селективних антагоністів рецепторів аденозину A_{2A} для позитронно-емісійної томографії (ПЕТ). В результаті отримали структури **1.50** (схема 11). Сполуки **1.50** є інгібіторами рецептора аденозину A_{2A} (A_{2A}AR) зі значеннями IC₅₀ в межах

14–33 нМ та рецептора аденозину A_1 (A_1AR) зі значеннями IC_{50} від 170–1700 нМ, в результаті чого коефіцієнти селективності A_{2A}/A_1 становлять від 5 до 91. Однак, в *in vitro* тестах спостерігався високий ступінь неспецифічного зв'язування, що робить ці сполуки непридатними для ПЕТ-лігандів [20].

Сполука **1.71** (схема 15) є антагоністом *in vitro* перехідного потенціалу білка ванілоїдного рецептора 1 людини зі значенням IC_{50} 136 нМ. Антагоністи даного рецептора можуть бути корисні при розладах або станах, опосередкованих його активністю, таких як біль, свербіж, артрит, кашель, астма або запальні захворювання кишечника [27].

1.1.2.3.2. Інгібітори кіназ

Оксазолопіримідин **1.55** (схема 12) є інгібітором аденозинкінази (ADK) зі значенням IC_{50} 10 нМ. Інгібування ADK є привабливим терапевтичним підходом для станів, таких як нейродегенерація, судоми, ішемія, біль та запалення [21].

Структура **1.81** (схема 18) є інгібітором Янус-кінази 1 зі значенням IC_{50} від 50 до 100 нМ. Янус-кіназа 1 є тирозинкіназою і відіграє важливу роль у ініціюванні реакцій на цитокінові рецептори. Експресія Янус-кінази 1 в ракових клітинах пов'язана з метастазуванням [30]. Сполука **1.89** (схема 19) є *in vitro* інгібітором Янус-кінази 2 зі значенням IC_{50} 2,3 мкМ [32].

1.1.2.3.3. Різна біологічна активність

Сполука **1.59** (схема 13) є ефективним інгібітором ланцюга рицинового токсину А (RTA) зі значенням IC_{50} 0,40 мМ [23]. Також встановлено, що вона є ефективним інгібітором токсину Shiga 1 A1 (Stx1A1) зі значенням IC_{50} 2 мМ [42]. Рицин - це високотоксичний лектин (вуглевод-зв'язуючий білок), який природним чином зустрічається в насінні рослини касторової олії, *Ricinus communis*. Токсин Shiga продукується *Shigella dysenteriae* та шигатоксигенними серотипами кишкової палички *Escherichia coli*.

1.2. Синтез та біологічні властивості піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів

Гетероциклічна система піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинову (5-аза-9-дезазапурину) є ізостерною пурину, що стало рушійною силою у проведенні досліджень, зокрема в галузі хімії нуклеозидів. Тісна структурна схожість між їх ядрами раціоналізувала розвиток піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів як біологічно активних речовин, які були спрямовані на пуринергічні сигнальні рецептори та ферменти, що беруть участь у метаболізмі біогенних пуринів.

1.2.1. Синтез похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинову

Вперше система піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинову була синтезована Чеккі та Ріді понад 60 років тому в 1957р. [43] (див. нижче схему 33). У цьому підрозділі узагальнені методи одержання похідних даної гетероциклічної основи, розроблені з тих часів. Фармакологічні дані щодо більш цікавих прикладів біоактивних сполук обговорюються окремо в Розділі 1.2.2. Існують кілька загальних синтетичних підходів до побудови піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинової платформи: (1) анелювання 1,3,5-триазинового кільця до піразольного; (2) анелювання піразольного кільця до 1,3,5-триазинового; (3) одночасне утворення 1,3,5-триазинового та піразольного циклів; (4) синтез на основі реакцій рециклізації [44].

1.2.1.1. Синтез шляхом анелювання 1,3,5-триазинового кільця до піразольного

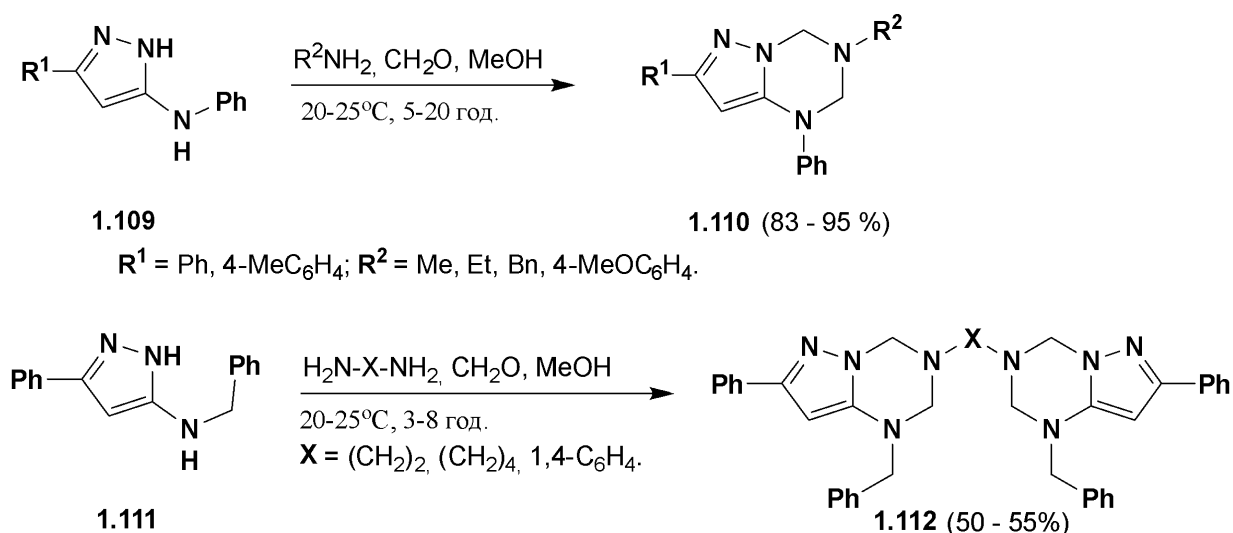
Стратегія побудови кільця 1,3,5-триазинову до піразольного циклу є універсальним синтетичним підходом для отримання піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. Ця стратегія являє собою найбільш часто вживаний шлях до утворення цієї гетероциклічної системи.

1.2.1.1.1. Утворення чотирьох зв'язків (3+1+1+1) шляхом циклізації 3(5)-амінопіразолів з двома одноатомними C- та одним N-синтонами

Конденсація 3(5)-феніламінопіразолів **1.109** з 2 екв. формальдегіду та 1 екв. первинних амінів проходить регіоселективно з одержанням 1,2,3,4-тетрагідропіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.110** [45] (схема 24). Слід

зауважити, що використання 3(5)-алкіламінопіразолів в однакових умовах приводить до утворення піразоло[3,4-*d*]піримідинової системи. При проведенні конденсації піразолу **1.111** з формальдегідом у присутності діаміну утворюються похідні біс(1,2,3,4-тетрагідропіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинілу) **1.112** [46]. В цьому випадку тип замісника при екзоциклічному атомі азоту також відіграє певну роль у регіоселективності замикання кільця: при використанні 3(5)-метиламінопіразолів відбувається замикання не триазинового, а тетрагідропіримідинового циклу.

Схема 24

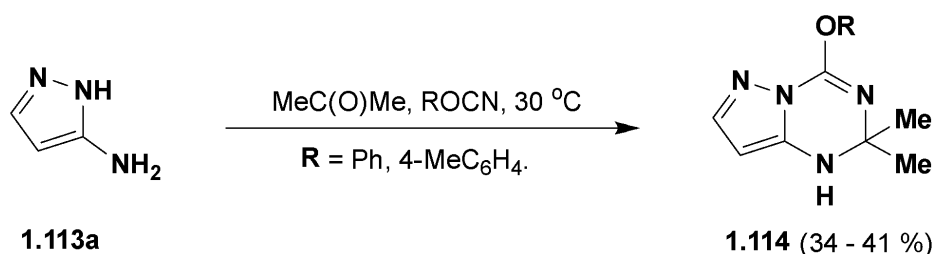


1.2.1.1.2. Утворення трьох зв'язків (3+2+1) шляхом циклізації

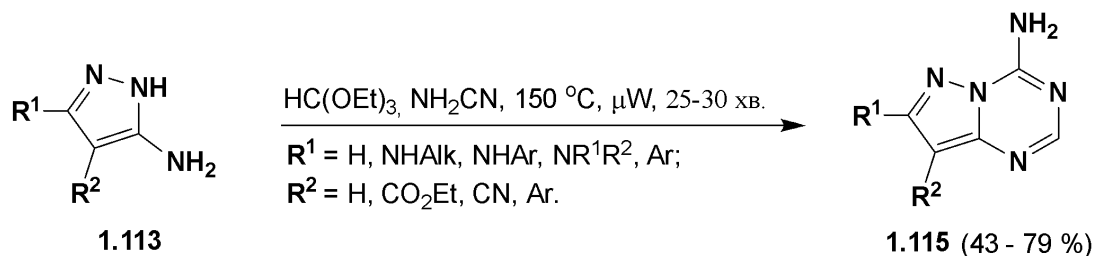
3(5)-амінопіразолів з *C-N*- та *C*-синтонами

Взаємодія 3(5)-амінопіразолу **1.113a** з арилціанатами в ацетоні дає 4-арилокси-2,2-диметил-2,3-дигідропіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **1.114** [47]:

Схема 25



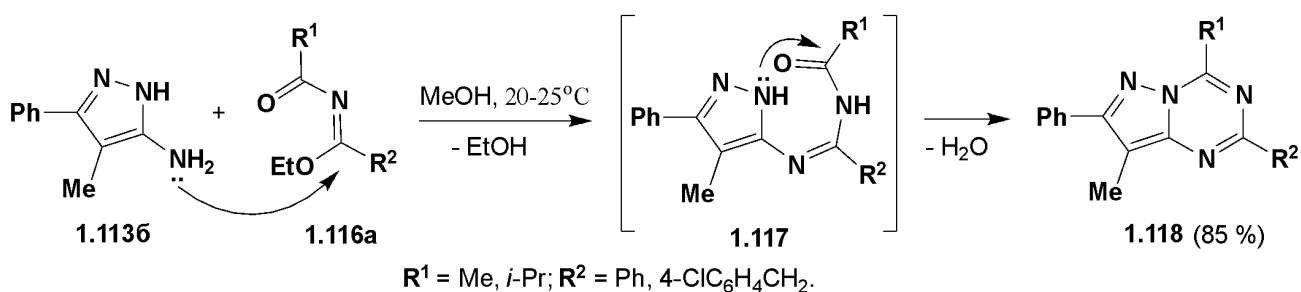
Трикомпонентна реакція амінопіразолів **1.113** з триетилортоформіатом та ціанамідом при нагріванні у метанолі дає різноманітні похідні **1.115** з низьким виходом. Проведення даної взаємодії у мікрохвильовій печі при температурі 150°C впродовж 25 хв приводить до зростання виходу [48-51].



1.2.1.1.3. Утворення двох зв'язків (3+3) шляхом циклізації

3(5)-амінопіразолів з реагентами, що вводять фрагмент C-N-C

Триатомні C-N-C-синтони, використані в даному синтетичному підході, визначають різноманіття замісників у 1,3,5-триазиновому кільці. Заміщені *N*-ацил-, *N*-ціано- та *N*-карбетоксиімідати є чудовими прикладами цього типу синтонів, які в реакціях з 3(5)-амінопіразолами дають різноманітні піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини з алкіл-, арил-, аміно-, оксо- та алкілтіозамісниками у положеннях 2 та 4 триазинового кільця. Так, при взаємодії 3(5)-амінопіразолу **1.1136** з етил-*N*-бензоїлімідатами **1.116a** відбувається циклізація до відповідних похідних **1.118** через стадію утворення проміжної сполуки **1.117** [52]:



Реакція піразолів **1.113** з *N*-аройлтіоацетімідатами або *N*-ацилтіоамідами приводить до замикання 1,3,5-триазинового кільця з одержанням сполук **1.119**, структура яких підтверджена рентгеноструктурним аналізом [53, 54] (схема 28).

Взаємодія 1-арил-1,3,4,4-тетрахлор-2-азабута-1,3-дієнів **1.120** з 3(5)-аміно-піразолами **1.113**, винайдена співробітниками нашого відділу, дає

2-арил-4-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины **1.122** через стадію утворення інтермедіату **1.121** (схема 29) [55].

Схема 28

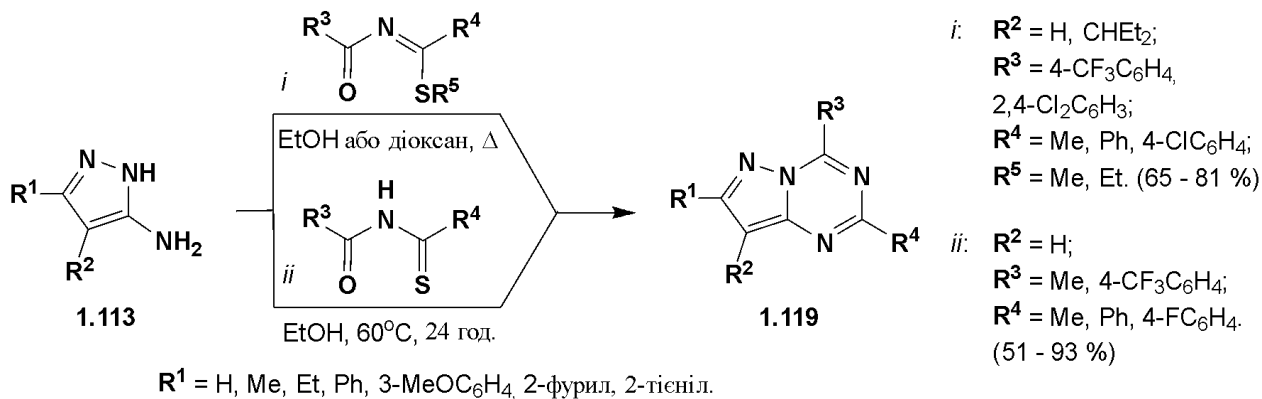
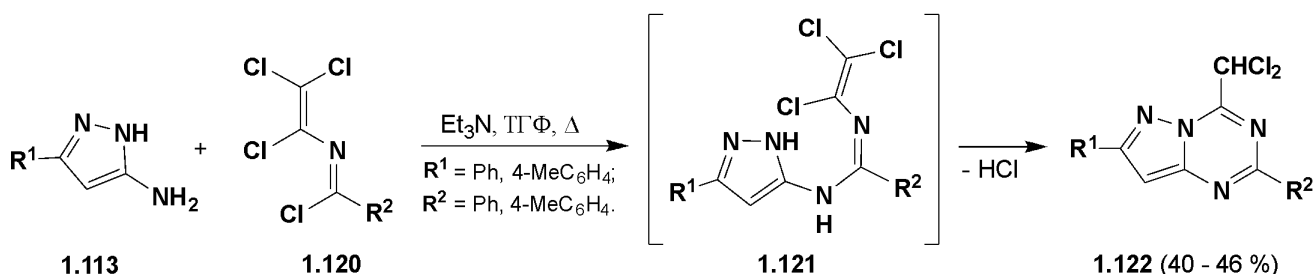
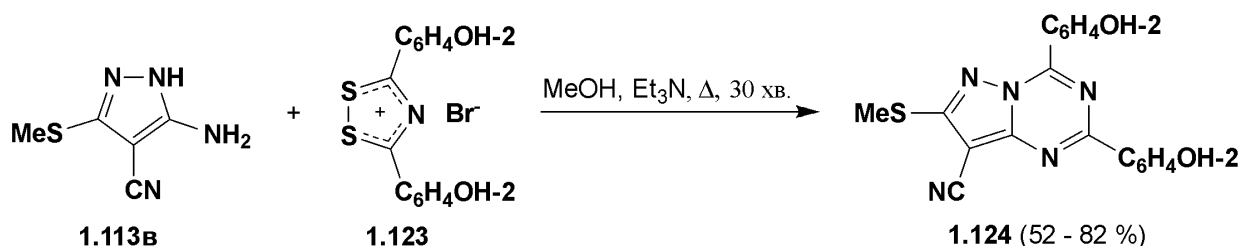


Схема 29



3,5-Біс(2-гідроксифеніл)-1,2,4-дитіазолію бромід **1.123** був використаний як триатомний синтон для одержання 2,4-біс(2-гідроксифеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины **1.124** шляхом взаємодії з 3(5)-амінопіразолом **1.113в** [56]:

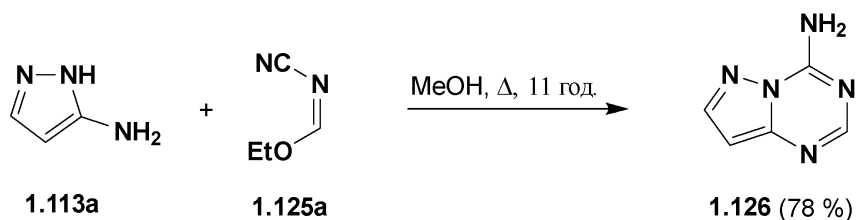
Схема 30



Синтез 4-амінопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины **1.126** (5-аза-9-дезааденін) здійснюється з піразолу **1.113а** та етил-*N*-ціаноформімідату **1.125а** (схема 31) [57]. Для підтвердження структури **1.126** також проведено його незалежний

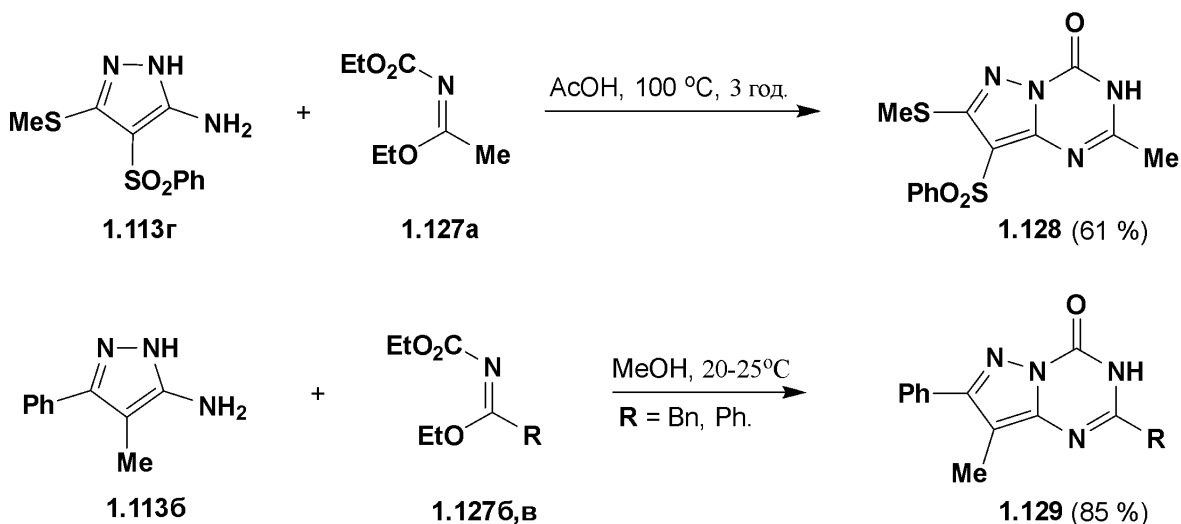
синтез. Встановлено, що такі реакції використовуються для одержання ряду інших *C*-нуклеозидів 4-амінопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину [58-60] та їх аналогів [61].

Схема 31



Ацетімідат **1.127a** є ефективним реагентом для побудови 2-метил-4-оксо-1,3,5-триазинового кільця на 3(5)-амінопіразолі **1.113г** (схема 32) [62]. Подібно, синтез 2-бензил(феніл)-4-оксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.129** здійснюється при обробці піразолу **1.113б** етил-*N*-карбетоксіяцетімідатами **1.127б,в** в метанолі при температурі навколишнього середовища [52]:

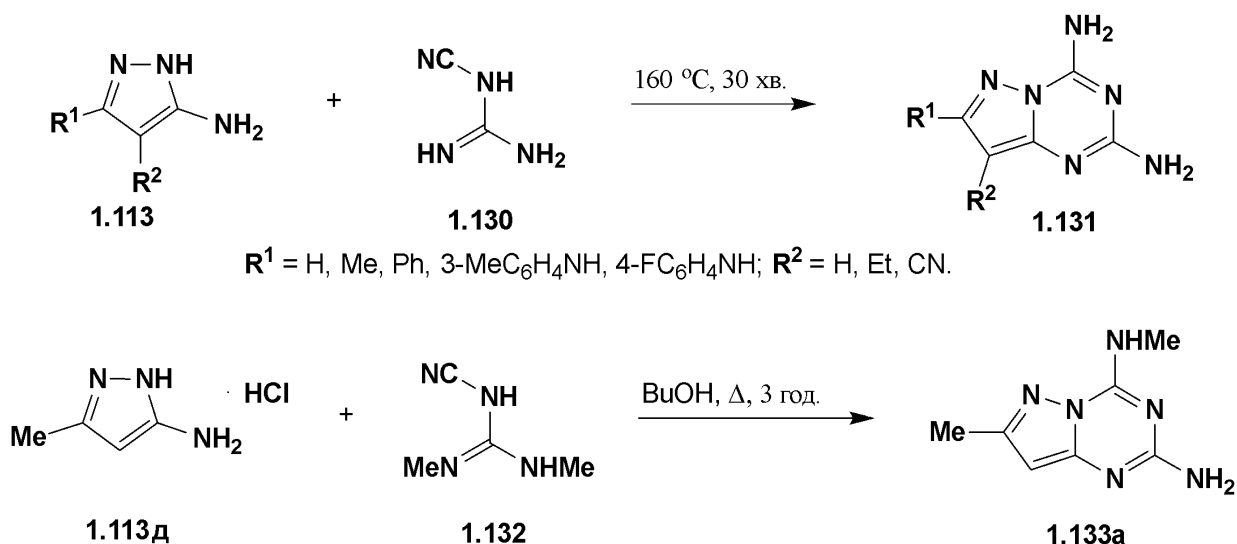
Схема 32



Взаємодія амінопіразолу **1.113г** ($R^1=\text{Ph}$, $R^2=\text{H}$) з ціаногuanідином **1.130** стала першим повідомленням [43] про синтез гетероциклічної системи піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, що забезпечує отримання 2,4-діамінопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.131** (схема 33) [63, 64]. Реакція

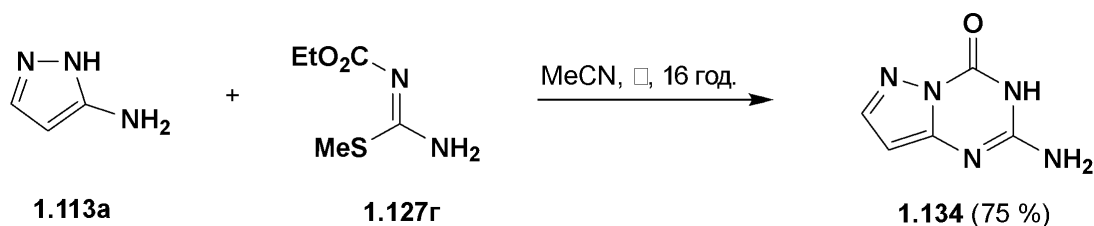
метилпіразологідрохлориду **1.113д** з *N,N'*-диметилціаногуанідином **1.132** приводить до замикання 2-аміно-4-метиламіно-1,3,5-триазинового кільця [63]. Слід зазначити, що даних, які підтверджують регіоселективне утворення сполуки **1.133а**, не надано.

Схема 33



Синтез 4-оксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины (5-аза-9-деазагуанін) **1.134** здійснюється шляхом взаємодії піразолу **1.113а** з тіосечовиною **1.127г** [65]:

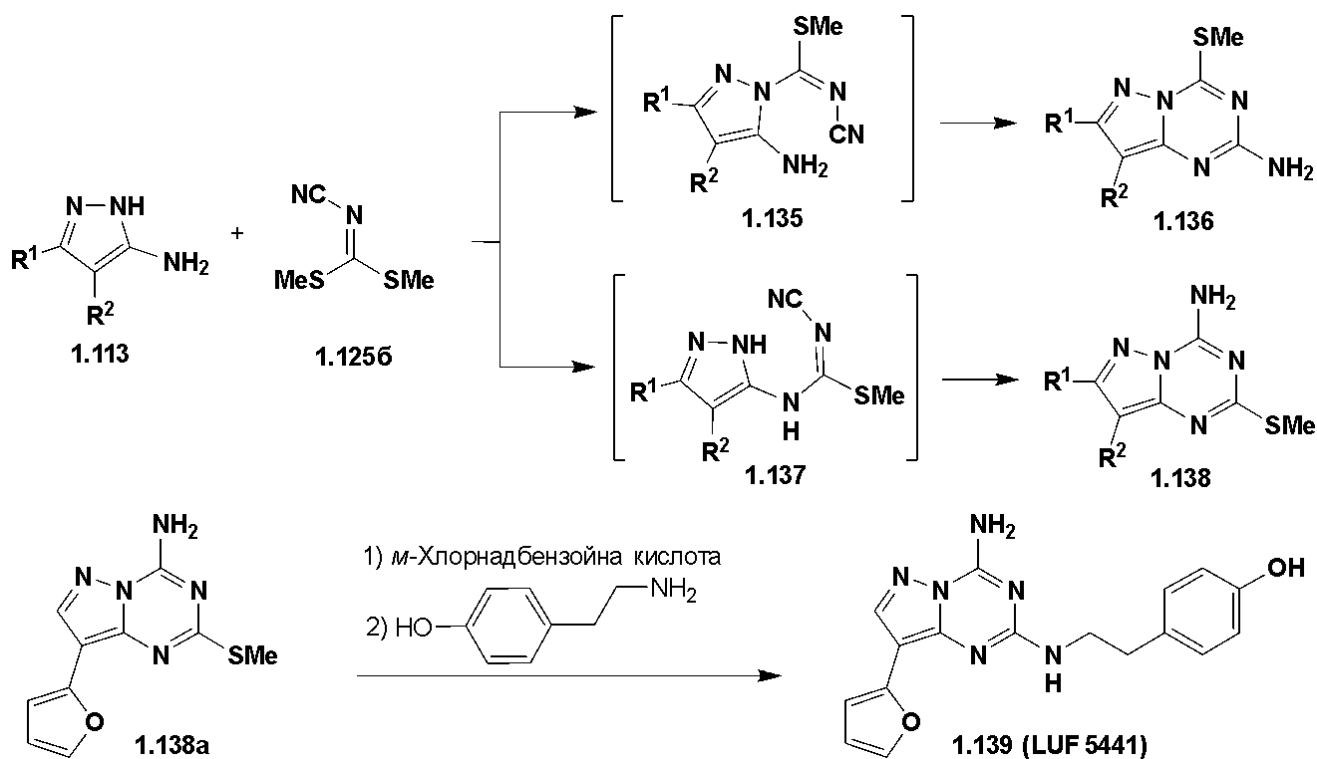
Схема 34



Для реакції 3(5)-амінопіразолів **1.113** з диметил-*N*-ціанодітіокарбонімідатом **1.1256** (схема 35) запропоновано два шляхи перебігу: через проміжні сполуки **1.135** або **1.137**. У цих реакціях утворюється лише один з ізомерів (**1.136** або **1.138**), а не їх суміш. Жодних однозначних доказів структур **1.136** і **1.138** не повідомляється, незважаючи на велику кількість сполук, синтезованих різними

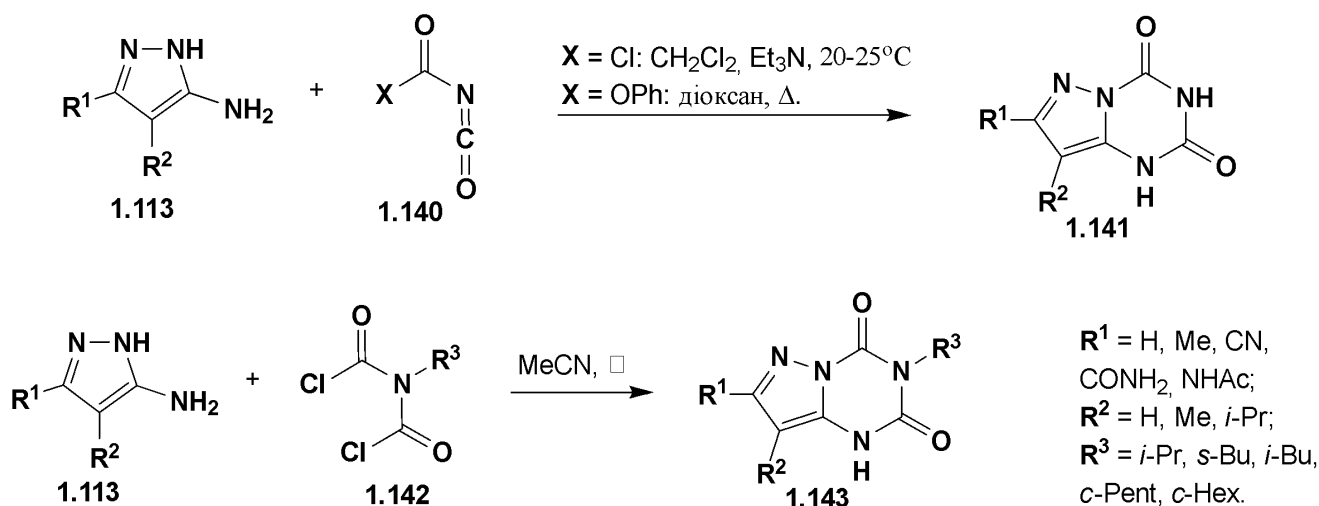
групами [66-73]. Даний метод застосовується в синтезі ефективного ліганду рецептора аденозину **LUF 5441 (1.139)** [74]: одержаний таким чином продукт **1.138a** окиснюють *m*-хлорнадбензойною кислотою й далі обробляють 4-(2-аміноетил)фенолом.

Схема 35



Побудова ядра 2,4-діоксо-1,3,5-триазину на основі 3(5)-амінопіразолів **1.113** досягається з використанням карбонілізоціанатів **1.140** [75, 76] (схема 36). Іншим методом синтезу похідних 2,4-діоксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **1.143** є циклоконденсація піразолів **1.113** з *N*-алкілбіс(хлороформіл)амінами **1.142** [77]:

Схема 36

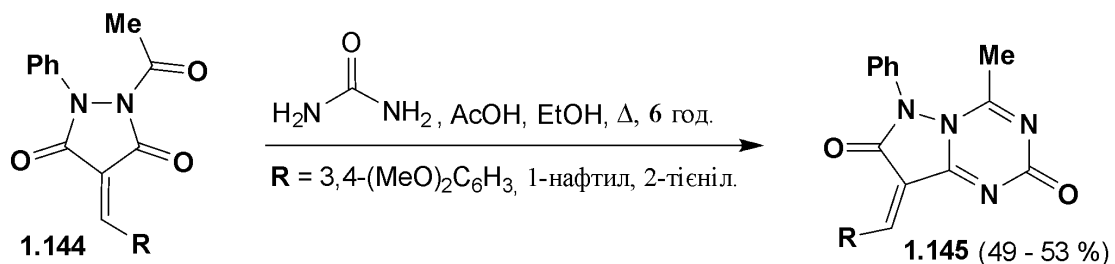


1.2.1.1.4. Утворення двох зв'язків (3+3) шляхом циклізації

1-ацилпіразолідиндіонів з *N-C-N*-синтонами

Нагрівання *N*-ацетилпіразолідиндіонів **1.144** з сечовиною у присутності оцтової кислоти забезпечує утворення піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.145** [78]:

Схема 37

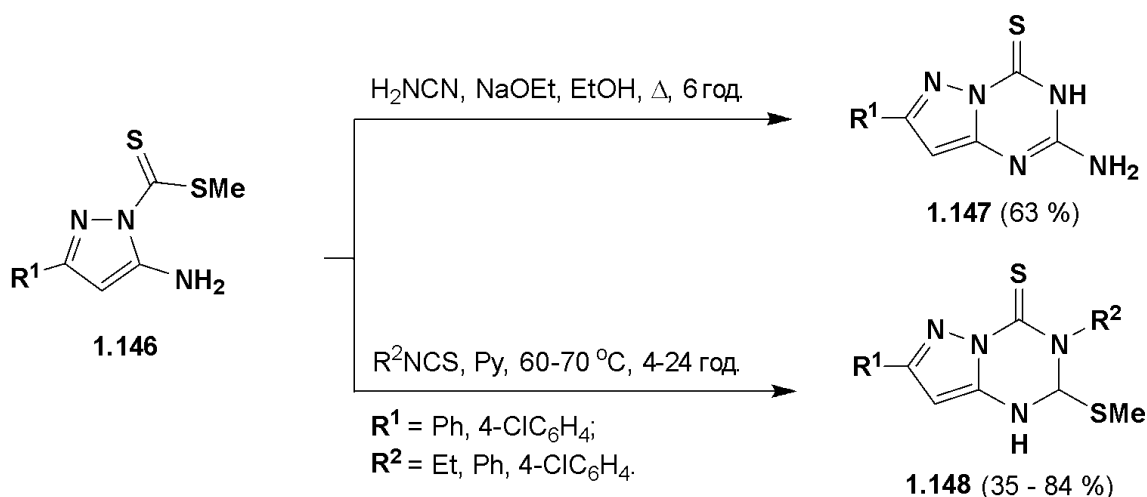


1.2.1.1.5. Утворення двох зв'язків (4+2) шляхом циклізації

1-функціоналізованих 5-амінопіразолів з *C-N*-синтонами

До цього типу гетероциклізації належать взаємодії піразолів **1.146** з ціанамідом або ізотіоціанатами з одержанням продуктів **1.147** або **1.148** [79, 80]:

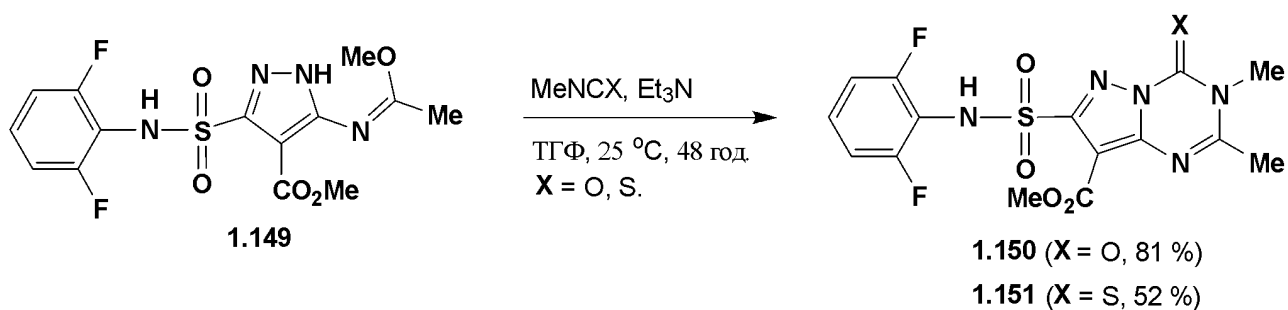
Схема 38



1.2.1.1.6. Утворення двох зв'язків (4+2) шляхом циклізації піразолів, що містять фрагмент N-C в положенні 3(5), з C-N-синтонами

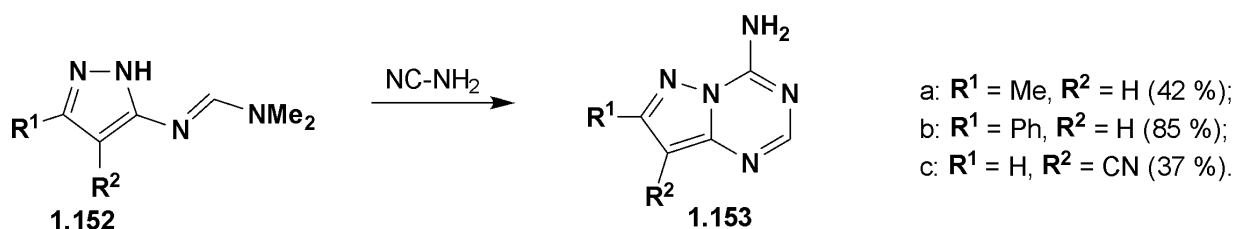
В якості двоатомних синтонів для даного виду циклізацій використовують ізоціанати, ізотіоціанати, ціанамід або трихлороацетонітрил. Так, при взаємодії імідату **1.149** з метилізоціанатом або метилізотіоціанатом утворюються відповідні 4-оксо- або 4-тіоксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **1.150** або **1.151** – потенційні гербіциди та регулятори росту рослин [81]:

Схема 39



Взаємодія 3-азометинзаміщеного піразолу **1.152** з ціанамідом дає похідні **1.153** [82]:

Схема 40



1.2.1.1.7. Утворення двох зв'язків (5+1) шляхом циклізації

1-функціоналізованих 3(5)-амінопіразолів з одноатомним C-синтоном

Замикання триазинового кільця до відповідних похідних **1.155-1.157** досягається при використанні одноатомних C-синтонів, таких як триетилортоформіат [79, 83-85], діетоксиметилацетат [86], алкіл- та арилзаміщені ортоетери [85, 87, 88], оцтово-мурашиний ангідрид [85] або диметилноксалат [88] (схема 41).

Синтез піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.159** з моно- та дизаміщеною аміногрупою проводиться із застосуванням піразолів **1.158** та ортоетерів [84, 85]. Як повідомляється, реакція сполук **1.228a** ($R^1=R^3=\text{H}$, $R^2=R^4=\text{Me}$) з триетилортоформіатом [88] дає суміш продуктів **1.159a** та **1.160** з метильною групою при екзо- та ендочиклічних атомах азоту, відповідно (схема 42).

Схема 41

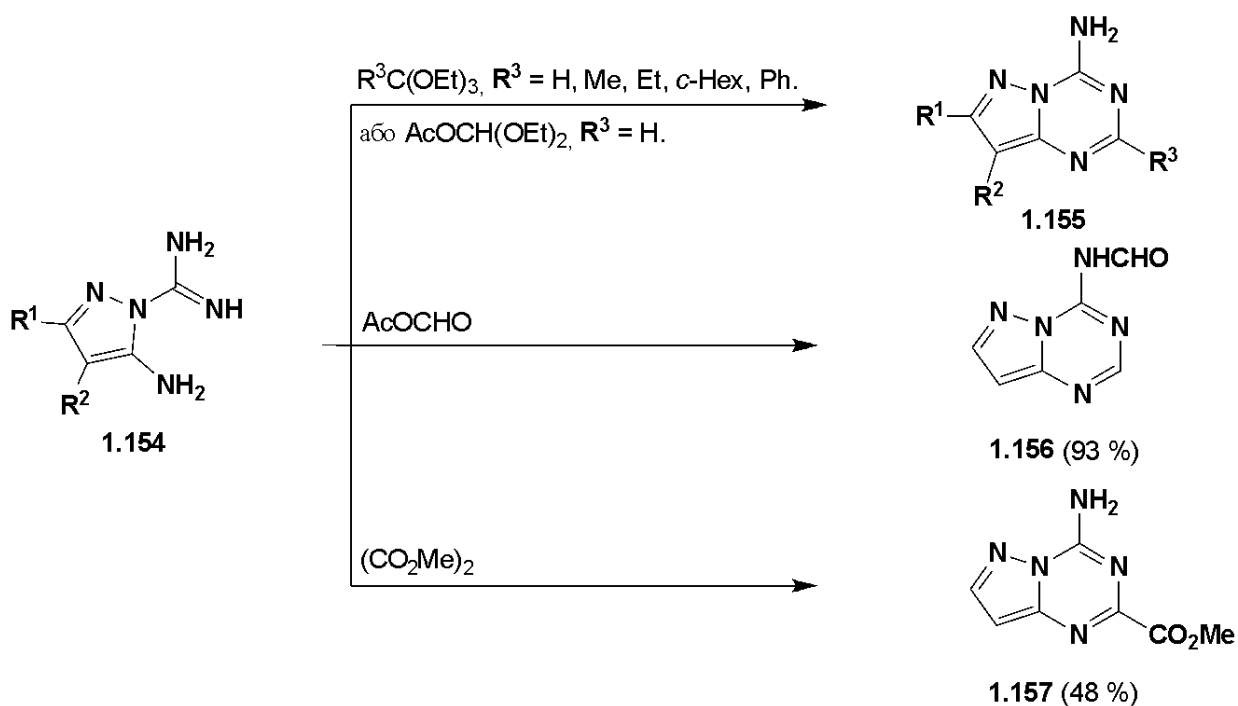


Схема 42

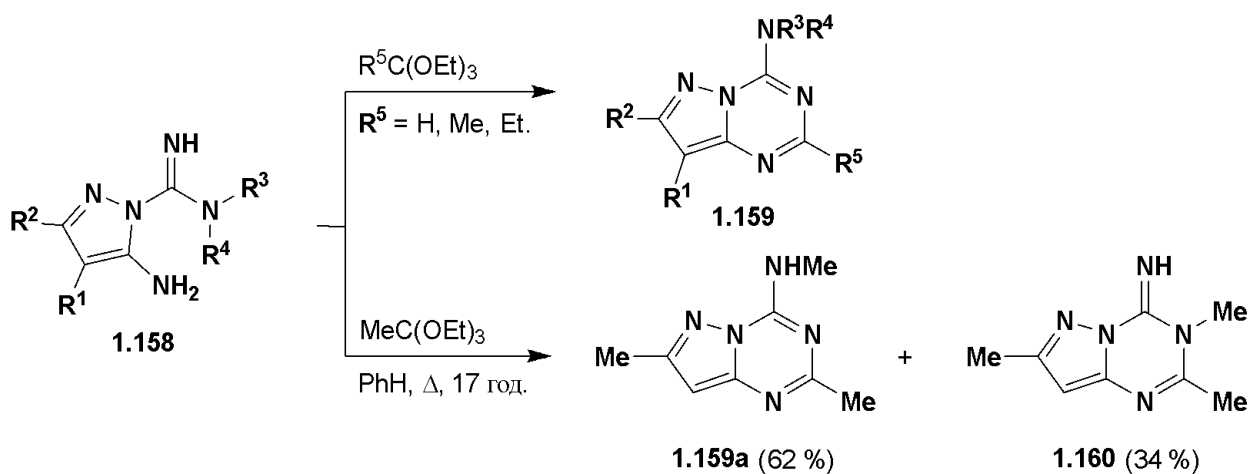
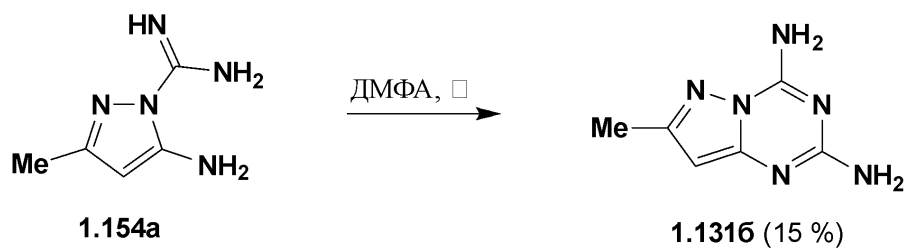


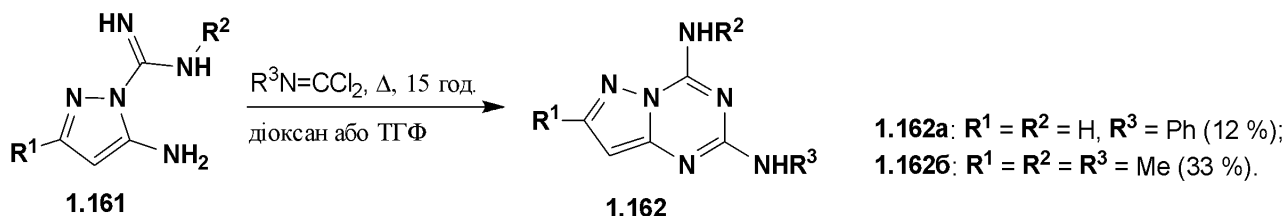
Схема 43



Нагрівання 1-амідино-5-аміно-3-метилпіразолу **1.154a** в ДМФА (схема 43) дає 2,4-діаміно-7-метилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин **1.131б**, який був отриманий за альтернативною процедурою (див. вище схему 33) [63].

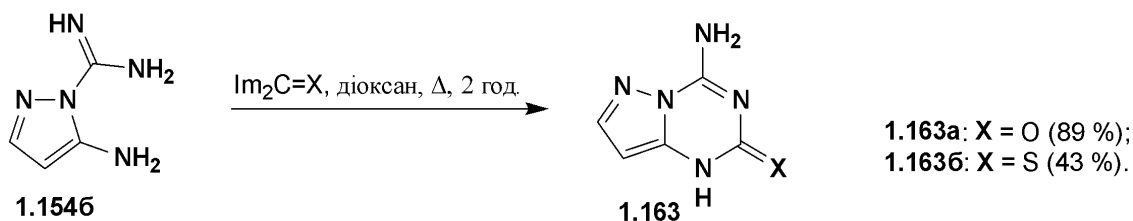
Циклізація піразолів **1.161** з дихлоридом феніл- або метилізоціаніду дає піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **1.162a,б** з низьким виходом [63, 88]:

Схема 44



Для отримання сполук **1.163** проводиться карбонілювання піразолу **1.154б** *N,N'*-карбонілдіімідазолом або тіокарбонілдіімідазолом [88]:

Схема 45



Циклізації 5-аміно-1-карбамоїлпіразолів **1.164** з діетоксиметилацетатом або ортоестерами використовуються для одержання 5-аза-9-дезазагіпоксантину та ряду інших 4-оксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.165** (схема 46) [78, 86, 87, 89-99]. Обробка сполук **1.165** $POCl_3$ з подальшою реакцією з різними нуклеофільними агентами дають продукти **1.166** [99-107]. Цей підхід знайшов широке застосування для синтезу інгібіторів ксантиноксидази [92, 93] та фосфодіестерази [94, 95], антиандрогенних агентів [96], а також важливих проміжних продуктів для інших біологічно активних сполук [97-99].

Синтез 2,4-діоксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.168** здійснюють шляхом обробки піразолів **1.167** етилхлороформіатом [79] або дифосгеном [108] (схема

47). Одержані таким чином сполуки володіють протигрибковими властивостями [109].

Схема 46

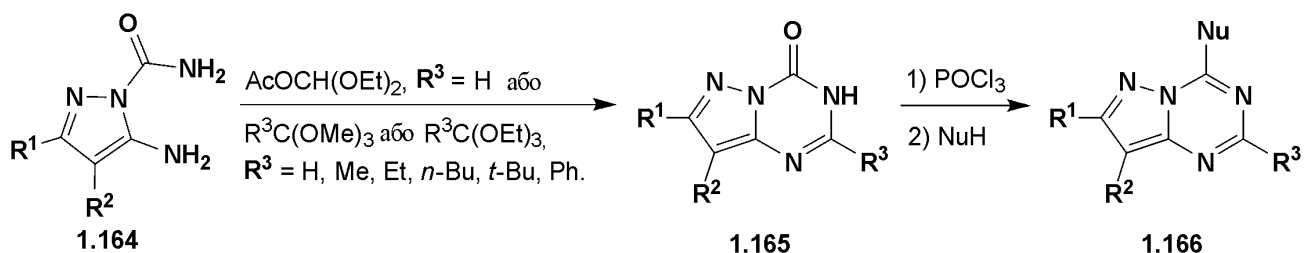
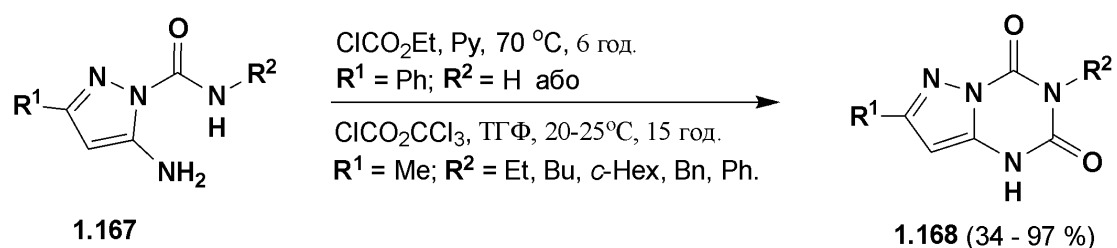
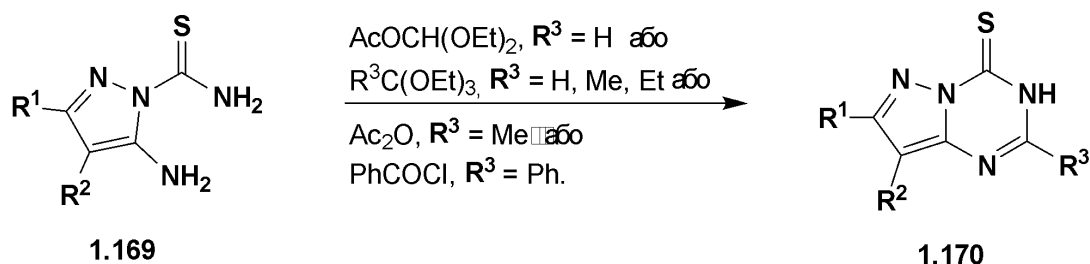


Схема 47



4-Тіоксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **1.170** можна отримати шляхом гетероциклізації 1-тіокарбамоїлпіразолів **1.169** з діетоксиметилацетатом [86], триетилортоформіатом [61, 79, 110-113], триетилортоацетатом [87, 94, 114, 115], ацетангідридом або бензоїлхлоридом [113]:

Схема 48

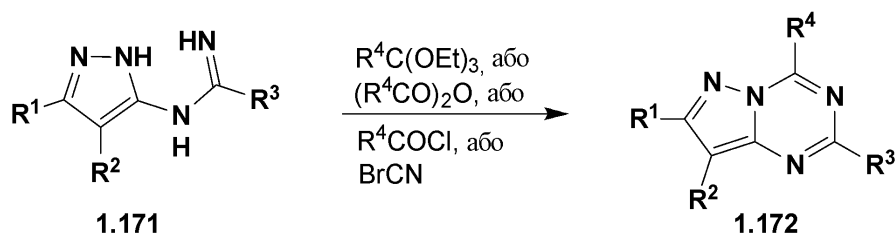


1.2.1.1.8. Утворення двох зв'язків (5+1) шляхом циклізації піразолів, що містять фрагмент N-C-N при C(3(5)), з одноатомним C-синтоном

Найбільш дослідженими в рамках цього синтетичного підходу є гетероциклізації 3(5)-піразоліламідинів **1.171** з використанням різних реагентів, що вводять один атом Карбону. Синтез різноманітних

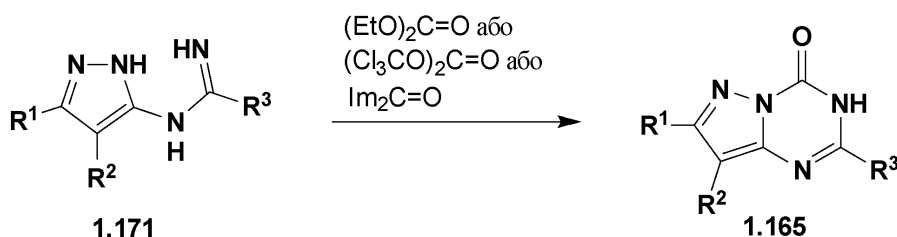
піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.172** здійснюють шляхом взаємодії амідинів **1.171** з ортоестерами [87, 94, 116-119], ангідридами [94, 117], хлороангідридами [53] кислот або бромоціаном [87] (схема 49).

Схема 49



Діетилкарбонат [87, 92, 94, 100-103, 120-124], *N,N'*-карбонілдіімідазол [123-125] і трифосген [126] використовуються як карбонілюючі реагенти в синтезах сполук **1.165**:

Схема 50



Синтез 4-тіоксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **1.1706** досягається шляхом циклізації ацетамідину **1.1716** при тіокарбонілюванні сірковуглецем [87]:

Схема 51

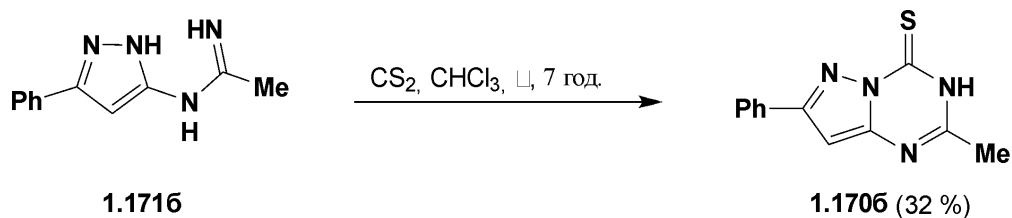
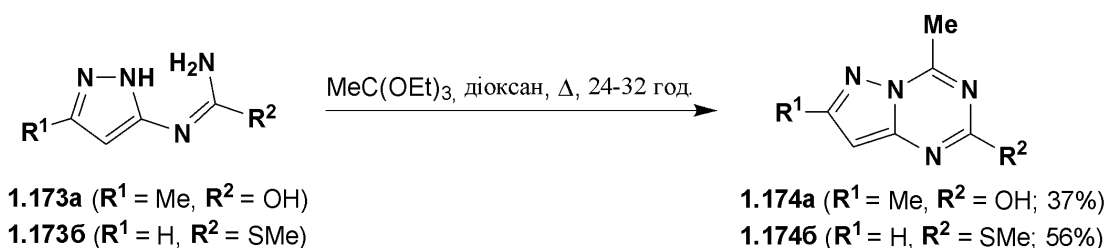


Схема 52

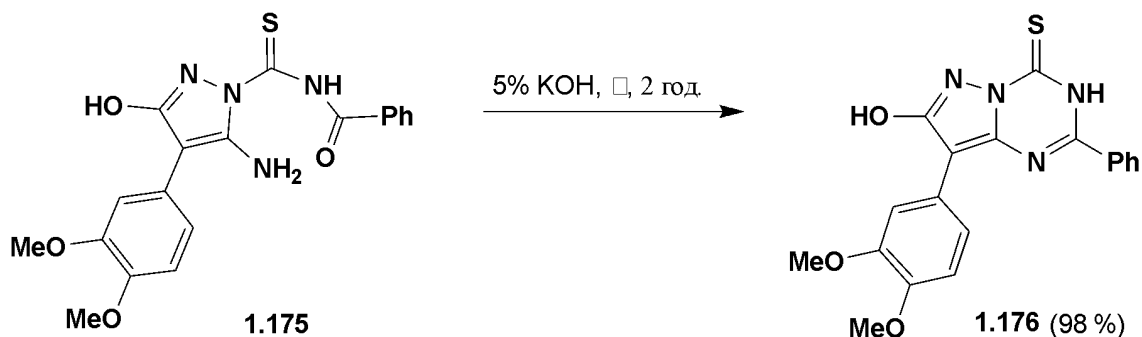


Відомо, що реакції піразолілсечовини **1.173a** або піразолілтіосечовини **1.173b** з триетилортоацетатом дають відповідні похідні **1.174a** [88] або **1.174b** [127, 128] (схема 52).

1.2.1.1.9. Утворення одного зв'язку шляхом внутрішньомолекулярної циклізації 5-амінопіразолів, що містять фрагмент C-N-C при N(1)

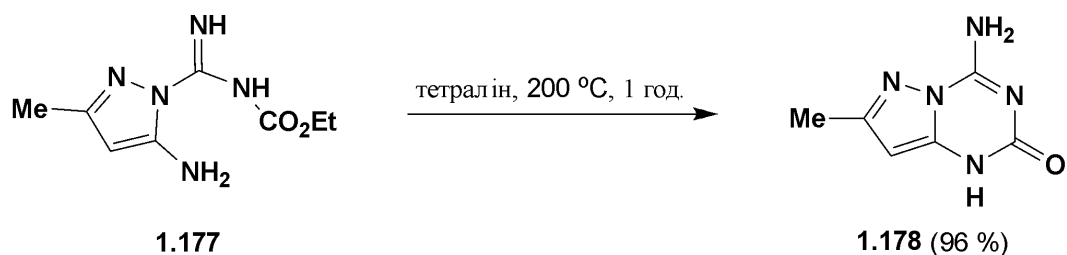
Піразол **1.175** зазнає внутрішньомолекулярної циклізації в лужному середовищі з утворенням піразолотриазину **1.176** [129] (схема 53). Встановлено, що продукт **1.176** має низьку токсичність та протизапальну активність без прояву ульцерогенного ефекту.

Схема 53



Реакція внутрішньомолекулярної циклізації піразолу **1.177** успішно використовується для отримання 4-аміно-7-метил-2-оксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **1.178** [85, 88]:

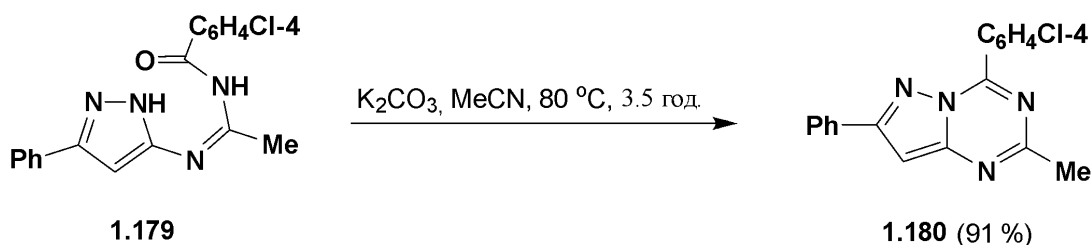
Схема 54



1.2.1.1.10. Утворення одного зв'язку шляхом внутрішньомолекулярної циклізації піразолів, що містять фрагмент N-C-N-C при C(3(5))

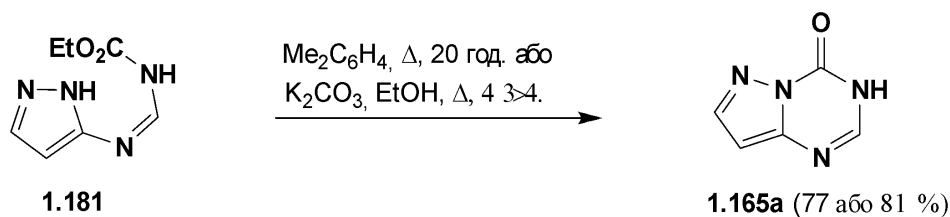
Цей синтетичний підхід передбачає гетероциклізацію похідних піразолу, а саме *N*-ацил- та *N*-карбетоксизаміщених амідинів, гуанідинів, сечовини та тіосечовини. Для стимулювання реакцій застосовують високу температуру та/або основні умови. Циклізацію ацетамідину **1.179** до похідного **1.180** проводять при нагріванні у присутності основи K_2CO_3 [54]:

Схема 55



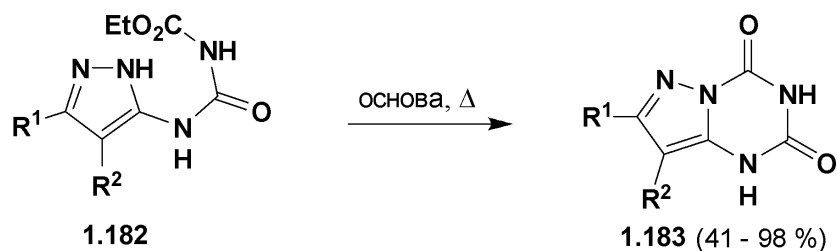
При нагріванні піразолу **1.181** в ксилені або при обробці основою відбувається циклізація з утворенням 5-аза-9-дезагіпоксантину **1.165a** [57]:

Схема 56



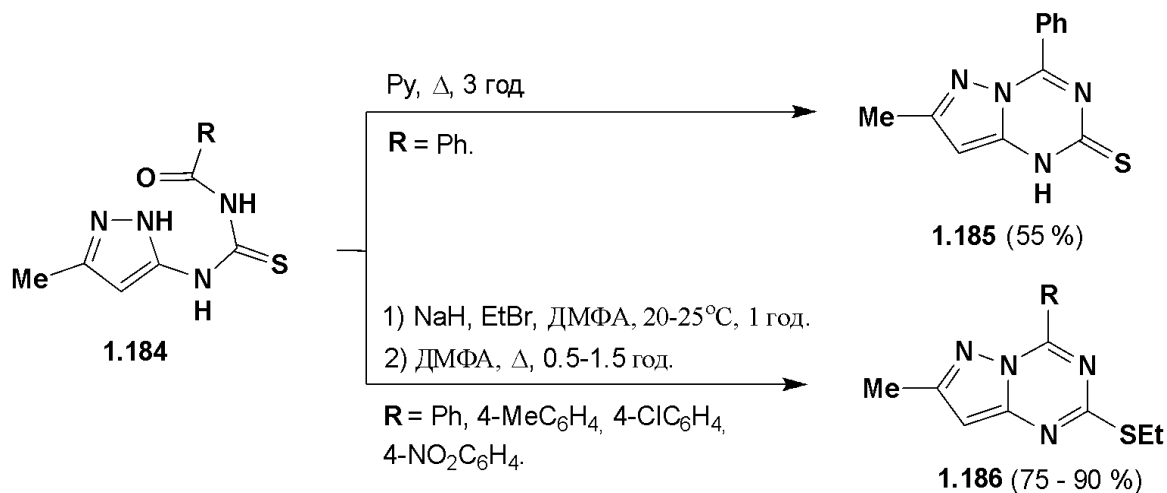
Циклізація *N*-карбетокси-*N'*-(5-піразоліл)сечовин **1.182** під впливом основи (піридин [130] або натрій етоксид [131]) дає 5-аза-9-дезаксантин **1.183**:

Схема 57



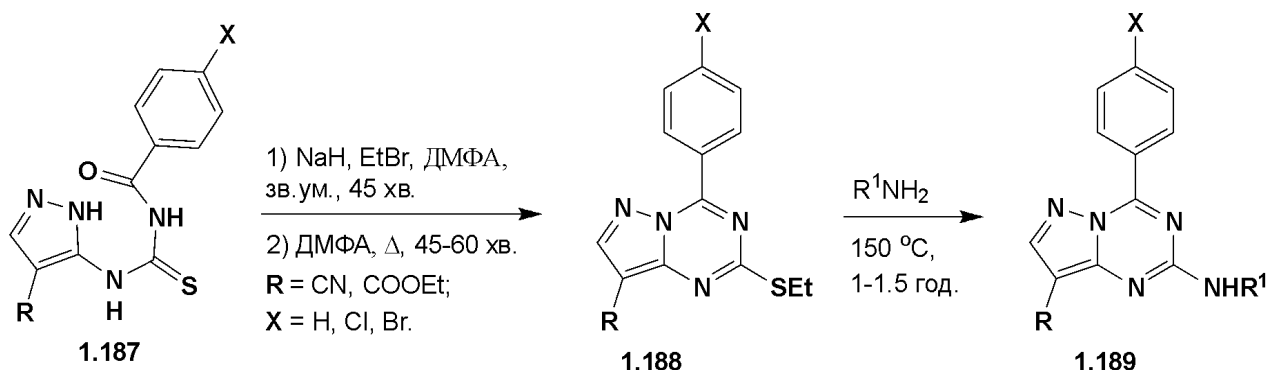
Найбільш значущою групою синтонів в цій підкатегорії гетероциклізації є піразоли з фрагментом *N*-аройл- та *N*-карбетокситіосечовини. Так, тіосечовина **1.184** ($\text{R} = \text{Ph}$) при нагріванні в піридині дає 2-тіокспіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин **1.185** [132]. 2-Етилтіопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **1.186** одержуються при *S*-алкілюванні піразолів **1.184** з наступною термічною циклізацією [133]:

Схема 58



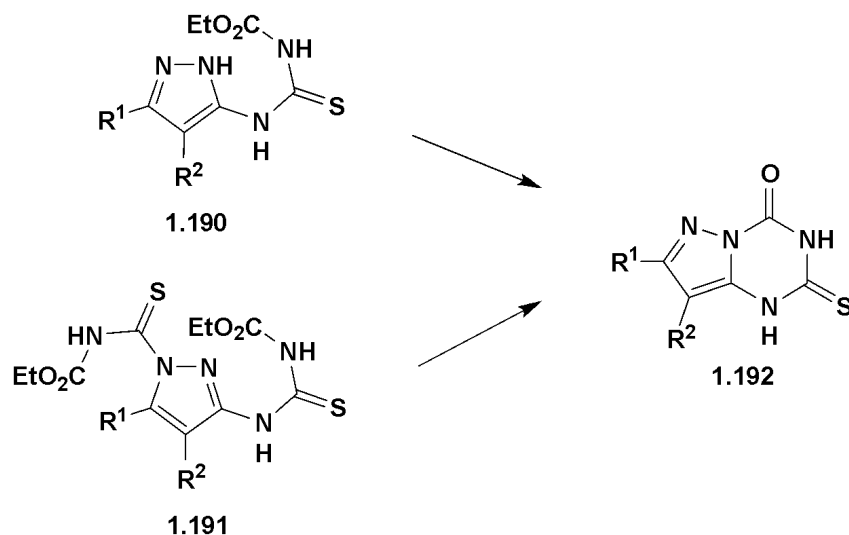
При обробці похідних **1.187** етилбромідом за кімнатної температури в присутності NaH в ДМФА з наступним нагріванням відбувається внутрішньомолекулярна циклізація з утворенням похідних **1.188** [134]. Заміщення етилсульфанільної групи останніх різноманітними амінами дає змогу отримати ефективні CDK2 інгібітори **1.189**:

Схема 59



Синтез 4-оксо-2-тіоксопіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.192** відбувається за допомогою внутрішньомолекулярної циклізації *N*-карбетокситіосечовин **1.190** або **1.191**, а також із суміші цих сполук (схема 60). Встановлено, що циклізацію можна досягнути термічно (180 °C) [128] або у присутності основи (нагрівання в піридині або триетиламіні [130], обробка амоній гідроксидом [135, 136], натрій гідроксидом [92, 127, 128, 137, 138], натрій метоксидом [68], натрій етоксидом [61, 98, 131, 139, 140] або калій карбонатом [141]). Метод успішно застосовується для одержання *S*-нуклеозидів.

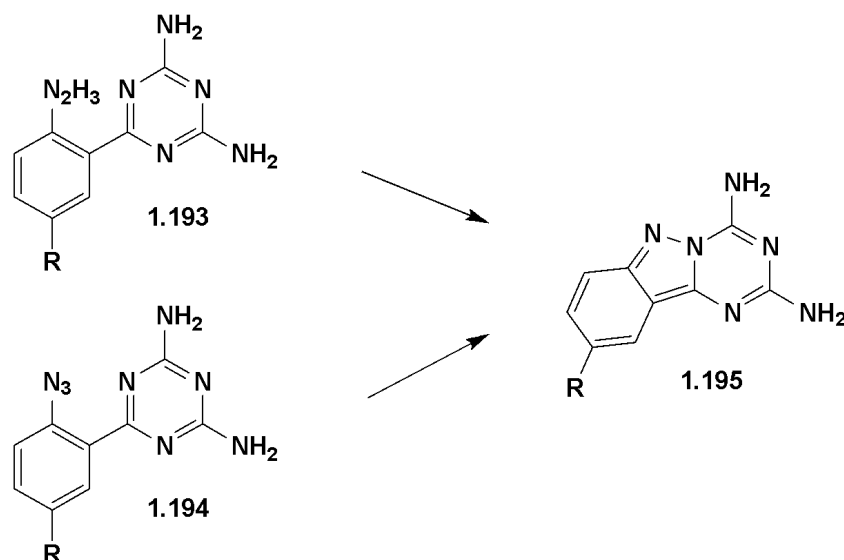
Схема 60



1.2.1.2. Синтез шляхом анелювання піразольного кільця до триазинового циклу

В хімії піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів методи побудови піразольного кільця на каркасі 1,3,5-триазину обмежені. Повідомляється лише про один тип циклізації, а саме утворення одного зв'язку шляхом внутрішньомолекулярної циклізації 1,3,5-триазинів, що містять фрагмент С-С-*N* [142-144].

Схема 61

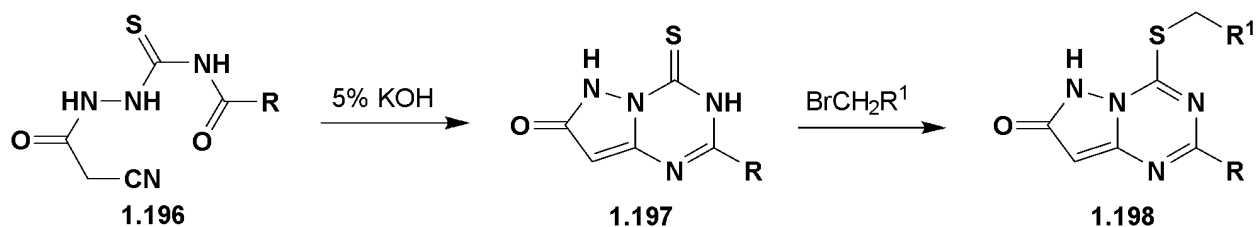


Цей синтетичний підхід передбачає розкладання гідразинів **1.193** або азидів **1.194**, що приводить до замикання піразольного кільця з утворенням похідних **1.195** та виділенням аміаку або азоту відповідно. Встановлено, що реакції протікають гладко в умовах піролізу [142], нагріванням в оцтовій кислоті [144] або фотолізу [143].

1.2.1.3. Синтез шляхом конкурентного утворення триазинового та піразольного циклів

Наразі відомий один приклад даної гетероциклізації. Внутрішньомолекулярна циклізація структур **1.196** приводить до утворення двох зв'язків з одержанням піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **1.197** [145-147]. Наступне алкілування продуктів **1.197** дає похідні **1.198** [148]:

Схема 62



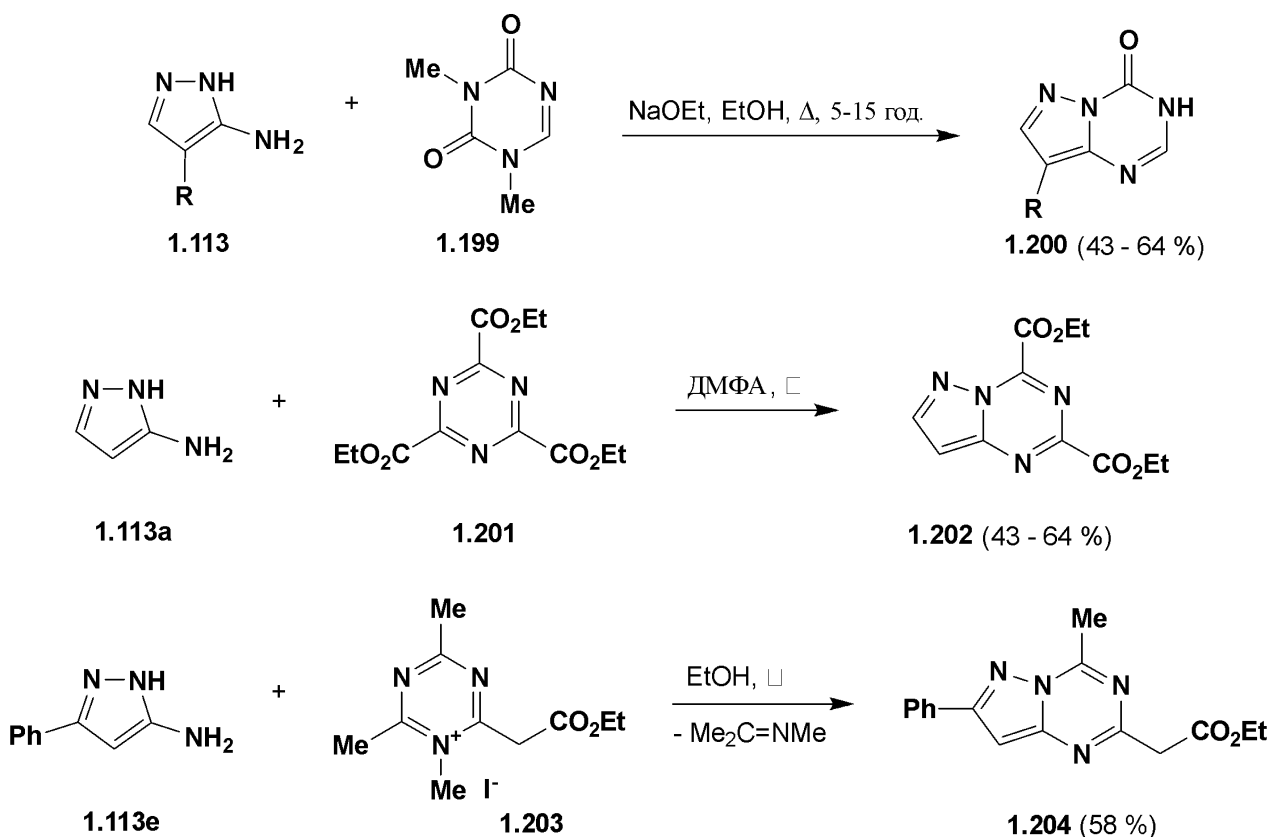
R = Me, Ph, 4-MeC₆H₄, 4-*t*-BuC₆H₄, 4-FC₆H₄;

R¹ = Bn, 3,4-Me₂C₆H₃NHC(O), 2,3-Me₂C₆H₃OCH₂CH₂, 4-BrC₆H₄.

1.2.1.4. Синтез на основі реакцій рециклізації

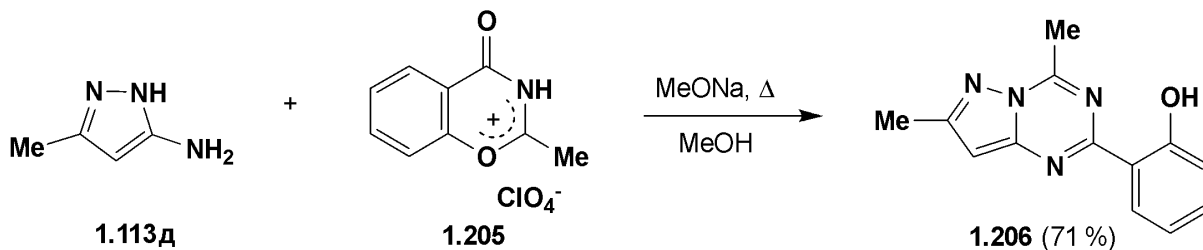
Встановлено, що під дією 5-амінопіразолів **1.113** 5-азаурацил **1.199** зазнає трансформації кільця, забезпечуючи утворення піразолотриазинів **1.200** [149, 150]. Подібним чином, при кип'ятінні сполук **1.113a** або **1.113e** з 1,3,5-триазинами **1.201** або **1.203** одержуються відповідно похідні **1.202** [151] або **1.204** [152]:

Схема 63



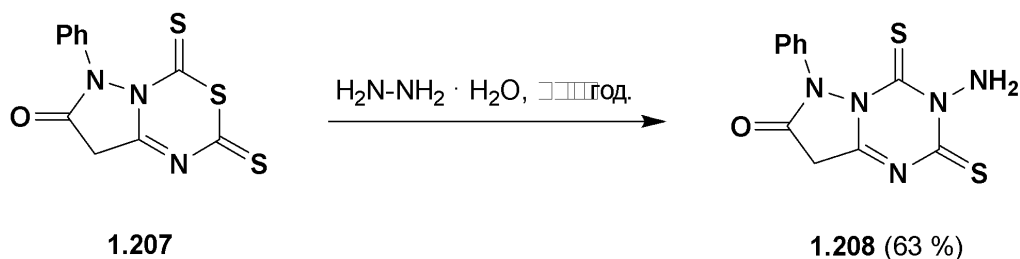
Кип'ятіння еквімолярних кількостей бензоксазинперхлорату **1.205** та амінопіразолу **1.113д** в присутності метилату натрію дає сполуку **1.206** [153]:

Схема 64



Перетворення 1,3,5-тіадіазинового кільця **1.207** в ядро 1,3,5-триазину при обробці гідразиноом приводить до утворення піразолотриазину **1.208** [154]:

Схема 65



1.2.2. Біологічні властивості похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

Тісна структурна подібність між системами піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину та пурину забезпечує раціональне проектування піразолотриазинового скафолду, що може потенційно вплинути на мішені біогенних пуринів, таких як ксантин, аденозин та гуанозин.

1.2.2.1. Інгібітори ферментів

Останні етапи катаболізму пуринів включають ксантиноксидазу (ХО), фермент який окислює гіпоксантин до ксантину і врешті-решт до сечової кислоти. Тому цей фермент є хорошою мішенню для контролю гіперурикемії, особливо при лікуванні подагри. 5-Аза-9-деаза-8-фенілгіпоксантин **1.1656** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = R^3 = \text{H}$, схема 46) виявився ефективним інгібітором ХО зі значенням IC_{50} 47 нМ [92].

Повідомлялося, що заміщені 2-амінопіразолотриазини здатні інгібувати циклінозалежну кіназу 2 (CDK2) [135, 141, 155, 156], яка бере участь у регуляції клітинного циклу.

Етил

2-(бензиламіно)-4-(4-хлорфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин-8-карбоксилат **1.189** ($X = \text{Cl}$, $R^1 = \text{CO}_2\text{Et}$, $\text{NHR}^2 = \text{NHBn}$, схема 59) у дозі 10 мкМ інгібує CDK2 на 82,38% ($\text{IC}_{50} \text{CDK2/Циклін A} = 1.85 \text{ мкМ}$) [134].

Відомі також похідні піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, які являються ефективними інгібіторами фосфодіестерази (PDE) [95, 117, 128, 157, 158], казеїн кінази 2 [159], тимідин фосфорилази (TP) [131, 140, 160], дипептидилпептидази IV [161], метилтрансферази 1 [162], S-аденозилгомоцистеїнази [61].

1.2.2.2. Рецепторні ліганди

Ряд рецепторів, пов'язаних з G-білками, визначено як потенційні мішені для піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів з різною будовою. До них належать: аденозин, P2Y1, котрикотропін-вивільняючий фактор, нейропептид Y, 5-гідрокситриптамін (5-HT), хемокініни, рецептори канабіноїдів та ангіотензину.

Заявлено, що ядро піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину [73, 74, 163] є каркасом для приготування антагоністів аденозинових рецепторів. Прикладом цього є сполука **1.139** (LUF 5441, $K_i (A_1) = 56.4 \text{ мкМ}$, $K_i (A_{2A}) = 9.3 \text{ мкМ}$, $K_i (A_{2B}) = 31 \text{ мкМ}$) (схема 35), яка є деаза-аналогом потужного інгібітора рецептора аденозину A_{2A} **ZM 241385** [74].

Котрикотропін-вивільняючий фактор (CRF) - це гормон і нейромедіатор, який виділяється в мозку у відповідь на стрес і координує ендокринні, імунні, вегетативні та поведінкові реакції. Вважається, що антагоністи рецепторів CRF є потенційними агентами для терапії тривоги та розладів настрою. Відомо, що DMP 696 (**1.166a**: $R^1 = \text{Me}$, $R^2 = 2,4\text{-Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3$, $R^3 = \text{Me}$, $\text{Nu} = \text{NHCH}(\text{CH}_2\text{OMe})_2$) є неконкурентним антагоністом з високою спорідненістю та селективністю щодо рецепторів CRF1 ($K_i = 1.7 \text{ нМ}$). **1.166a** виявляє високу анксиолітичну та антидепресантну активність, а також хорошу біодоступність у пероральному режимі та бажані фармакокінетичні властивості. DMP 696 (**1.166a**) широко використовується як еталонна сполука. Детально про механізми дії, побічні ефекти, фармакокінетику та переваги DMP 696 у порівнянні з іншими

блокуючими агентами CRF1 можна знайти в спеціальному огляді [164]. До антагоністів також належать піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **1.119** (схема 28) [53]. Так, сполука **1.119a** ($R^1 = \text{CHPr}_2$, $R^2 = 2\text{-Cl-3,4-(OMe)}_2\text{C}_6\text{H}_2$) показала високу спорідненість до рецептора CRF з $K_i = 0.7 \text{ nM}$.

4-Аміно-8-арил-2,7-диметилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **1.166b** ($R^1 = \text{Ar}$; $R^2 = R^3 = \text{Me}$; $\text{Nu} = \text{NHR}^4$) [159, 160] відомі як модулятори нейропептидних рецепторів Y1. Встановлено, що аналогічне амінування **1.128** дає відповідні **1.166b** ($R^1 = \text{SO}_2\text{Ph}$, $R^2 = \text{SMe}$, $R^3 = \text{Me}$, $\text{Nu} = \text{NR}^4\text{R}^5$), які являються ефективними лігандами 5-HT₆ рецепторів [62].

Серед похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину знайдено потенційні антагоністи P2Y₁-рецептора (демонструють сильне пригнічення АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів *in vitro* ($\text{pA}_2 = 6,5$) та *in vivo*) [165], рецепторів ангіотензину II [97], ліганди рецепторів CB1 [166] та хемокінів [167].

1.2.2.3. Біологічна активність з невизначеною молекулярною мішенню

Серед інших біоактивних похідних, 2,4-діаміно-7-метилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин (LA 2851, Dametralast, **1.131b**, схема 43) показав поєднання двох основних ефектів, які корисні при терапії астми, а саме бронходилататора [168, 169] та протиалергічну активність [168-170], а також низьку токсичність. Протизапальні властивості також були виявлені для LA 2851 [171]. Аналоги (**1.131** та **1.162**), а також LA 2851 (**1.131b** та його похідні (**1.133a** та ін.) були підготовлені (схеми 33, 43, 44) та досліджені як протиастматичні засоби з використанням різноманітних тваринних моделей, а також клінічно випробувано на людях [63]. Немає детальної інформації про механізм біологічної активності сполук. Однак структурна подібність та спостережуваний фармакологічний профіль, можуть наводити на думку, що ці сполуки працюють як антагоністи рецепторів аденозину.

Численні дослідження показали, що серед піразолотриазинів є потенційні протиракові (інгібітори раку легень (A549 [148]), лімфоми CEM [172],

колоректального раку [172], лейкемії [65]), противірусні (інгібітори вірусу вітряної віспи (VZV) [173], вірус простого герпесу 1 (HSV-1) [174]) та антибактеріальні агенти (проти *Clostridium perfringens*) [175].

Аналіз літературних джерел показав, що на сьогоднішній день відомий масив синтетичних шляхів одержання різноманітно оформлених представників оксазоло[5,4-*d*]піримідинів. Повідомлялося про значну їх біоактивність, яка варіюється від агоніста рецептора до пригнічення проліферації та специфічних ферментів, таких як кінази. Тоді як оксазоло[4,5-*d*]піримідини, навпаки, представляють недостатньо вивчений клас сполук. Обмежений доступ до цієї системи призвів до недостатньої кількості біологічних досліджень. Сучасні синтетичні методи здебільшого обмежуються аелюванням оксазольного кільця до піримідинового або піримідинового циклу до оксазольного. Тому синтез і дослідження похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину наразі залишається актуальним завданням.

Опубліковано значний обсяг підходів до синтезу та досліджень піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. Ця гетероциклічна система продемонструвала великий потенціал у розвитку інгібіторів різних кіназ, PDE, CDK2, XO та TP, антагоністів аденозину, CB і CRF рецепторів, протипухлинних та противірусних засобів, ставши привілейованим каркасом в медичній хімії. Відповідно, протягом останніх років було подано значну кількість патентних заявок.

Таким чином, наявність вагомих результатів в галузі медичної хімії свідчить про актуальність дослідження таких сполук і, водночас, спонукає до подальшого вдосконалення їх структур з метою покращення властивостей та впровадження у медичну практику.

РОЗДІЛ 2

СИНТЕЗ, *IN SILICO* ТА *IN VITRO* ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ПОХІДНИХ ОКСАЗОЛОПІРИМІДИНУ

Оксазолопіримідини – клас азотовмісних гетероциклічних сполук, які завдяки подібної до пурину структури викликають неабиякий інтерес в галузі медичної хімії. Опубліковано значний обсяг досліджень оксазоло[5,4-*d*]піримідинів. На сьогоднішній день відомий широкий спектр синтетичних шляхів одержання різноманітно оформлених представників цього сімейства хімічних речовин. Серед оксазоло[5,4-*d*]піримідинів знайдені агоністи різних рецепторів, інгібітори росту ракових клітин та специфічних ферментів, таких як кінази. Оксазоло[4,5-*d*]піримідини, навпаки, представляють недостатньо вивчений клас сполук. Обмежений доступ до цієї платформи призвів до недостатньої кількості біологічних досліджень. Тому синтез і дослідження похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину наразі залишається актуальним завданням.

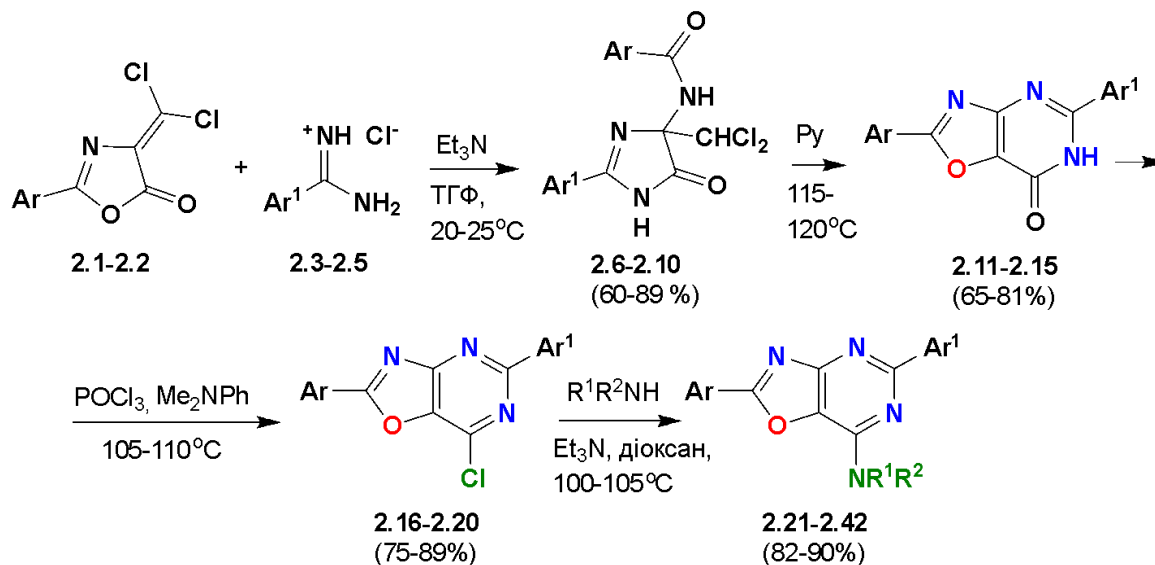
2.1. Одержання нових похідних оксазолопіримідину

2.1.1. Синтез нових 7-амінозаміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів

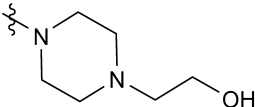
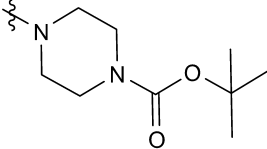
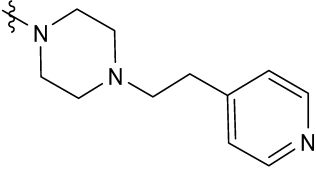
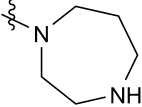
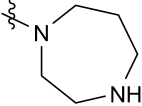
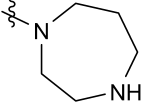
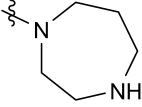
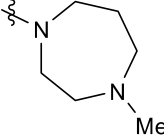
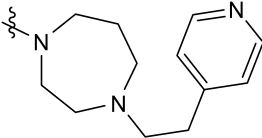
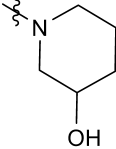
Відома обмежена кількість синтетичних шляхів до одержання похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину і всі вони зазвичай супроводжуються низьким виходом продуктів (10-50%) [1-8]. Зручний та препаративний метод їх синтезу був розроблений в нашому відділі на основі 1,3-оксазол-5(4*H*)-онів [9]. Так, при взаємодії оксазолонів **2.1**, **2.2** з амідинами **2.3-2.5** в присутності триетиламіну відбувається утворення заміщених імідазол-4(5)-онів **2.6-2.10**, які при нагріванні в піридині зазнають рециклізації з подальшою циклоконденсацією до відповідних оксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-онів **2.11-2.15** з виходом 65-81%. Обробка останніх киплячим оксихлоридом фосфору у присутності *N,N*-диметиланіліну дає оксазоло[4,5-*d*]піримідини **2.16-2.20** з лабільним атомом

хлору при C(7), заміщення якого різноманітними амінами приводить до нових похідних 2.21-2.42.

Схема 2.1



№ сполуки	Ar	Ar ¹	NR ¹ R ²
2.1, 2.3, 2.6, 2.11, 2.16 2.21	Ph	Ph	
2.2, 2.4, 2.7, 2.12, 2.17, 2.22	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.5, 2.8, 2.13, 2.18, 2.23	Ph	4-ClC ₆ H ₄	
2.9, 2.14, 2.19, 2.24	4-MeC ₆ H ₄	Ph	
2.10, 2.15, 2.20, 2.25	4-MeC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄	
2.26	Ph	Ph	

№ сполуки	Ar	Ar ¹	NR ¹ R ²
2.27	Ph	Ph	
2.28	Ph	4-ClC ₆ H ₄	
2.29	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.30	Ph	Ph	
2.31	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.32	4-MeC ₆ H ₄	Ph	
2.33	4-MeC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄	
2.34	Ph	Ph	
2.35	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.36	Ph	4-MeC ₆ H ₄	

№ сполуки	Ar	Ar ¹	NR ¹ R ²
2.37	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.38	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.39	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.40	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.41	Ph	4-MeC ₆ H ₄	
2.42	Ph	4-MeC ₆ H ₄	

Оскільки будова проміжних сполук **2.6, 2.7, 2.9, 2.10, 2.11** і **2.16** була раніше надійно доведена, структури споріднених речовин **2.8, 2.12-2.15** і **2.17-2.20** підтверджені за допомогою ЯМР-, ІЧ-спектроскопії та методом елементного аналізу. Сигнали NH сполуки **2.8** з'являються при δ 12,08 і 9,29 м.ч. у ¹H ЯМР спектрах та при 3427-3204 см⁻¹ в ІЧ-спектрах, тоді як сигнал NH речовин **2.12-2.15** можна спостерігати при 12.82-13,15 м.ч і 2600-3344 см⁻¹ відповідно. Смуга коливань NH групи для сполук **2.21-2.25, 2.30-2.33, 2.39-2.42** знаходиться при 2622-3412 см⁻¹, а OH групи для сполуки **2.27** – при 3261 см⁻¹. Сигнали

метиленових ланок піперазинового кільця сполук **2.21-2.29** проявляються у вигляді синглетів та мультиплетів при δ 2.30-3.43 м.ч., гомопіперазинового (сполуки **2.30-2.35**) – при δ 1.91-4.11 м.ч., піперидинового (сполуки **2.36, 2.37**) – при δ 1.51-4.84 м.ч., а цитизинового (сполука **2.38**) – при δ 2.07-7.04 м.ч. В спектрах ^1H ЯМР сполук **2.39-2.42** та поряд з сигналами замісників Ar та Ar¹ присутні характерні сигнали вторинної групи NH при δ 8.28-8.76 м.ч. До того ж, утворення оксазолопіримідинової системи в ланцюзі даних перетворень добре узгоджується також з даними мас-спектрометрії.

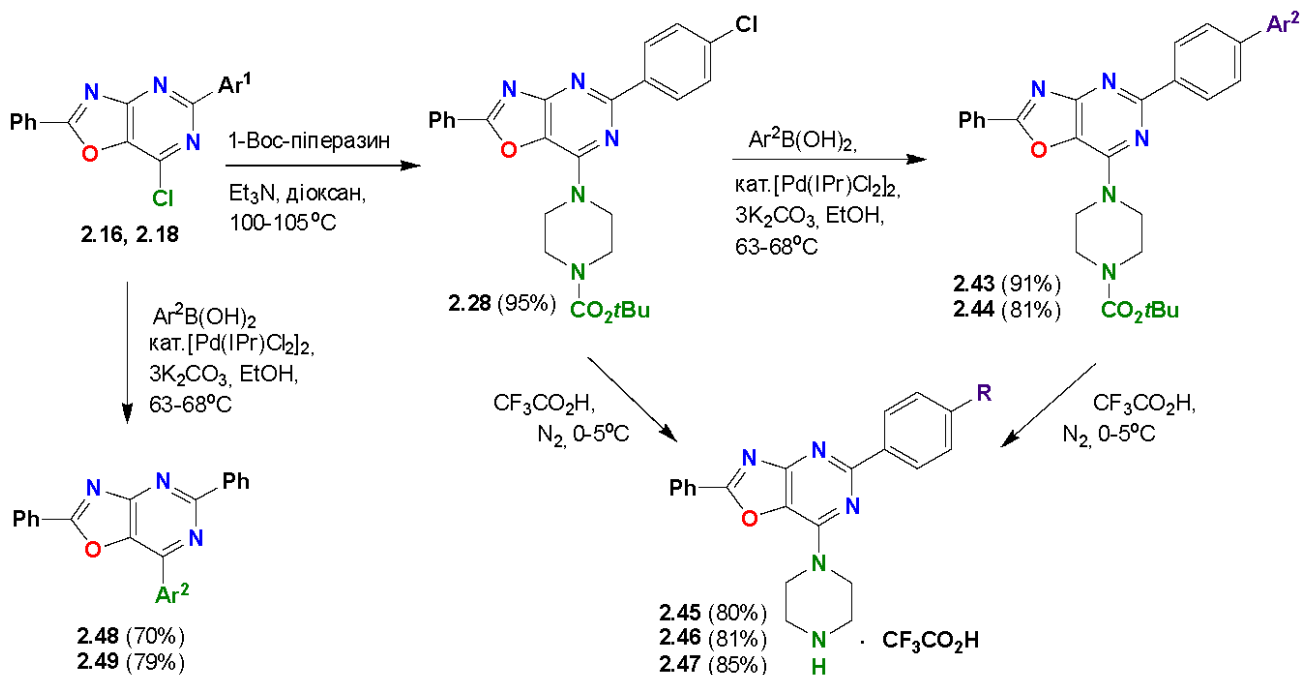
Варто зазначити, що даний метод дозволяє синтезувати оксазоло[4,5-*d*]піримідини з найрізноманітнішими замісниками у положеннях 2, 5 та 7 і зайняти важливу нішу у галузях медичної хімії.

2.1.2. Модифікації положень 5 і 7 оксазоло[4,5-*d*]піримідинів

З метою розширення центрів для π -стекингу були введені біарильні замісники в положення 5 та арильні фрагменти в положення 7 системи оксазоло[4,5-*d*]піримідинів. Один з важливих підходів до синтезу таких сполук є реакція крос-сполучення Судзукі-Міяура, яка широко використовується для одержання біарилів [176, 177], проте нові каталізатори і синтетичні методи значно розширили область використання даної реакції. Так, при кип'ятінні 2-феніл-5-(4-хлорофеніл)-7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.18** з *трет*-бутилпіперазин-1-карбоксилатом у присутності триетиламіну відбувається заміщення атома хлору Вос-захищеним піперазином з утворенням продукту **2.28**, який далі при нагріванні з арилбороновими кислотами у присутності паладієвого каталізатора, калій карбонату у середовищі етанолу дає похідні **2.43, 2.44** (схема 2.2). Механізм даного перетворення передбачає активацію бімолекулярного каталізатора Pd^{II} шляхом взаємодії його з основою (див. схему 2.3) з наступним окиснювальним приєднанням Pd⁰ до 5-(4-хлорофеніл)-оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.28**. Одержаний таким чином комплекс **I** одразу ізомеризується з *цис*- в *транс*-форму. Надалі при взаємодії

комплексу **I** з арилбороновими кислотами відбувається трансметалювання з нуклеофільними групами, які переносяться з атома бору на атом паладію зі збереженням стереохімії отриманого комплексу **II**. Ця послідовність реакцій окиснювального приєднання і трансметалювання дозволяє здійснити перехресне зв'язування двох подібних, але різних за структурою компонентів. Внаслідок наступного відновлювального елімінування бажаного продукту **2.43** або **2.44** знову утворюється вихідний каталізатор Pd^0 . Зняття Вос-захисту зі сполук **2.28**, **2.43**, **2.44** шляхом їх обробки трифторооцтовою кислотою приводить до утворення бажаних 5-біарилоксазоло[4,5-*d*]піримідинів **2.45-2.47**.

Схема 2.2

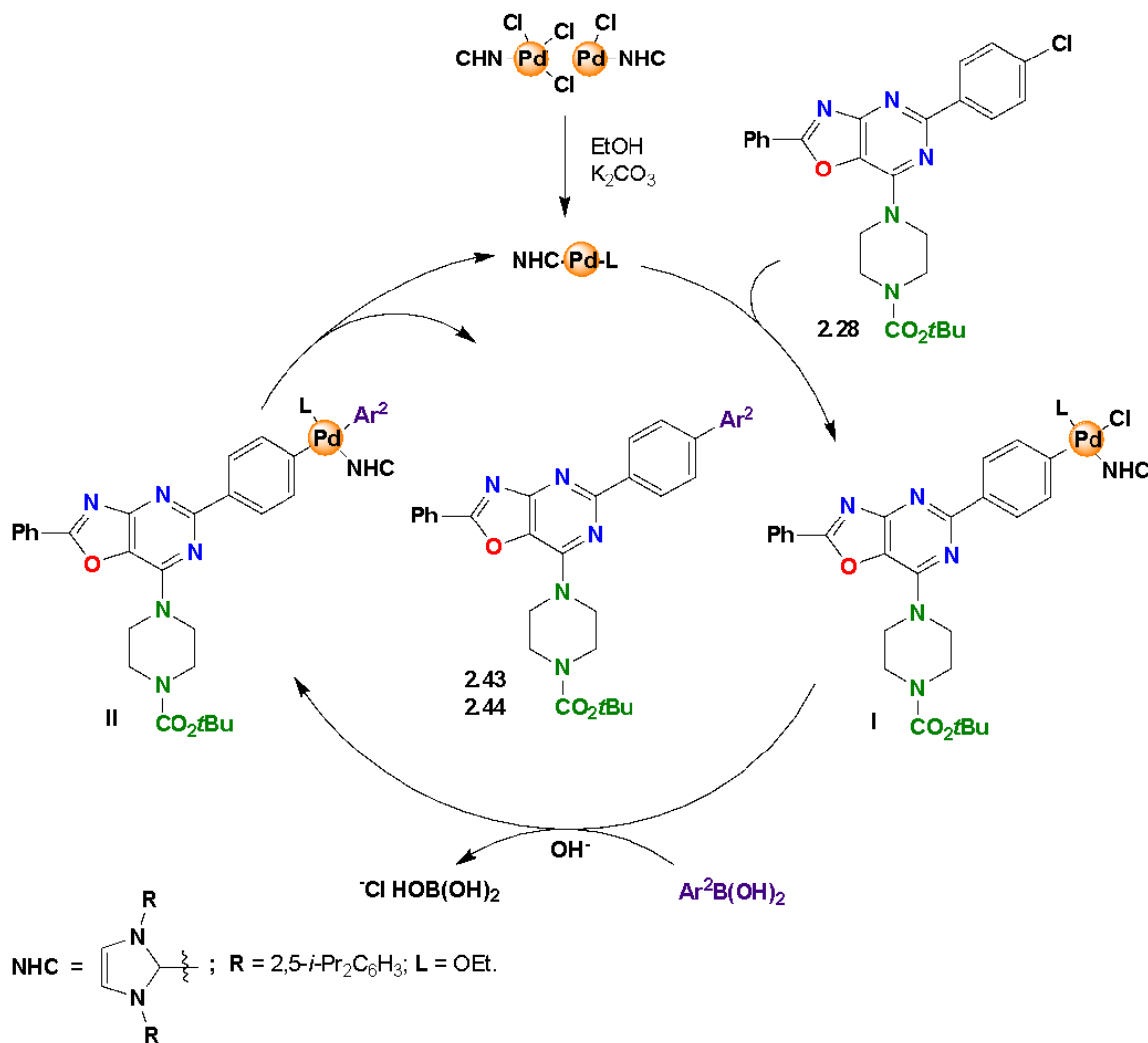


IPr = 1,3-біс(2,6-діізопропілфеніл)імідазол-2-іліден

№ сполуки	Ar ²	R
2.43, 2.48	Ph	-
2.44, 2.49	4-CO ₂ MeC ₆ H ₄	-
2.45	-	Ph
2.46	-	4-CO ₂ MeC ₆ H ₄

Триарилзаміщенні оксазоло[4,5-*d*]піримідини **2.48**, **2.49** також одержуються із застосуванням підходу Судзукі-Міяура шляхом взаємодії з арилбороновими кислотами (схема 2.2).

Схема 2.3

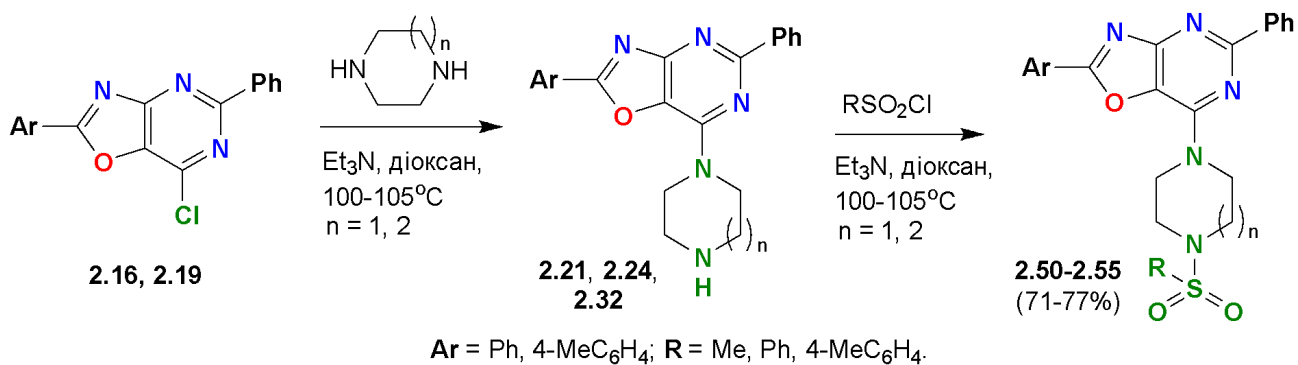


Структура сполук **2.45-2.49** надійно підтверджена методами ЯМР- та ІЧ-спектроскопії, мас-спектрометрії та елементним аналізом. У ¹H ЯМР спектрах оксазолопіримідинів **2.45-2.47** виникає резонанс при δ 9,04–9,16 м.ч., що відповідає Н₂N⁺ піперазинового фрагменту, а в ¹⁹F ЯМР спектрах їх атоми флуору проявляються у вигляді синглету при δ –73,5 м.ч. Сигнали Н₂N⁺ і

метиленових ланок піперазинового фрагменту сполук **2.45-2.47** в ІЧ-спектрах знаходяться в межах 2509–3427 см⁻¹. Сигнали водню фенільних кілець сполук **2.48** і **2.49** розташовані в діапазоні δ 7.47–8.70 м.ч. у вигляді дублетів та мультиплетів. Крім того, для оксазоло[4,5-*d*]піримідинів **2.46** і **2.49** характерні сигнали метоксикарбонільної групи описуються у вигляді синглетів в ¹H ЯМР спектрах при δ 3,94 і 3,98 м.ч., відповідно; їх C=O група в ІЧ-спектрах проявляється, відповідно, при 1721 та 1718 см⁻¹.

В сфері синтезу і дослідження виявилися цікавими похідні оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.50-2.55**, які в положенні 7 гетероциклічної системи містять такі фармакофорні групи як *N*-сульфонілзаміщений піперазин або гомопіперазин. Їх синтез здійснюється шляхом кип'ятіння похідних **2.21**, **2.24** та **2.32**, одержаних зі сполук **2.16** і **2.19** заміщенням атому хлору відповідним аміном, з аліл(арил)сульфонілхлоридами в діоксані у присутності триетиламіну:

Схема 2.4



№ сполуки	Ar	n	R
2.50	Ph	1	Me
2.51	4-MeC ₆ H ₄	1	Me
2.52	4-MeC ₆ H ₄	1	Ph
2.53	4-MeC ₆ H ₄	1	4-MeC ₆ H ₄
2.54	4-MeC ₆ H ₄	2	Ph

Будова отриманих речовин також охарактеризована методами спектроскопії, мас-спектрометрії та елементним аналізом. Сигнали CH₂ піперазинового кільця сполук **2.50-2.53** проявляються у вигляді синглетів та/або триплетів при δ 3.21-4.26 м.ч., а гомопіперазинового (сполуки **2.54**, **2.55**) – при δ 1.98-4.18 м.ч.

2.1.3. Синтез нових ізомерних оксазоло[5,4-*d*]піримідинів

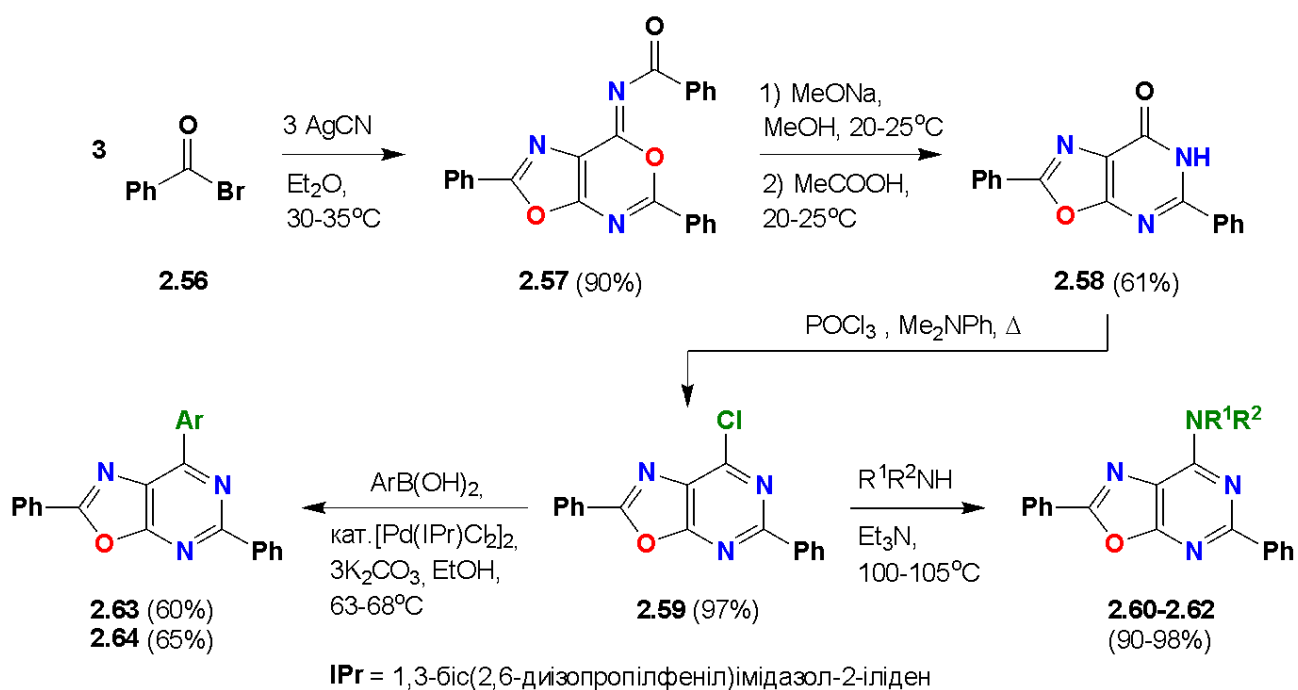
Відомо, що оксазоло[5,4-*d*]піримідини є достатньо вивченим класом органічних сполук на відміну від оксазоло[4,5-*d*]піримідинів, тому в літературі відсутні дані щодо порівняння їх біологічної активності та механізму дії цих ізомерних речовин. З цією метою були отримані та дослідженні нові похідні оксазоло[5,4-*d*]піримідину, функціонально ідентичні їх ізомерам – похідним оксазоло[4,5-*d*]піримідину. Для синтезу даних речовин був використаний метод [178] заснований на рециклізації тримеру **2.57**, одержаного шляхом циклоконденсації бензоїлброміду **2.56** з 3 еквівалентами ціаніду срібла. Так, взаємодія 7-бензоїліміно-2,5-дифенілоксазоло[5,4-*d*][1,3]оксазину **2.57** з натрій метоксидом й наступна обробка неочищеного продукту оцтовою кислотою приводить до утворення 2,5-дифенілоксазоло[5,4-*d*]піримідин-7(6*H*)-ону **2.58**. Кип'ятіння останнього в оксихлориді фосфору в присутності *N,N*-диметиланіліну приводить до бажаного 7-хлорозаміщеного 2,5-дифенілоксазоло[5,4-*d*]піримідину **2.59**, який далі при взаємодії з амінами дає ізомерні оксазоло[5,4-*d*]піримідини **2.60-2.62** або при нагріванні з арилбороновими кислотами в присутності каталізатору й основи – відповідні продукти **2.63**, **2.64**.

Будова проміжних сполук **2.57-2.59** була раніше надійно доведена [178]. ЯМР-спектри сполук **2.60-2.62** подібні до їхніх ізомерів **2.21**, **2.26** і **2.30**, проте

зміщені дещо в сильне поле, а їх температури плавлення нижчі порівняно з їх ізомерами.

У спектрах ^1H ЯМР сигнали водню фенільних кілець 2,5,7-триарилзаміщених похідних оксазоло[5,4-*d*]піримідину **2.63** і **2.64**, порівняно з їх ізомерами **2.48** і **2.49**, зміщенні в більш слабе поле δ 7.49–9.04 м.ч. Синглет метоксикарбонільної групи сполуки **2.64** знаходиться при δ 3,99 м.ч.; в ІЧ-спектрі C=O група проявляється при 1722 см^{-1} .

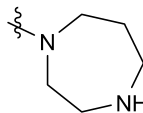
Схема 2.5



№ сполуки	Ar	NR ¹ R ²
2.60	-	
2.61	-	

2.62

-



2.63

Ph

-

2.64

4-CO₂MeC₆H₄

-

2.2. Вивчення біологічної активності синтезованих оксазолопиримідинів

2.2.1. Вплив анелювання спряженої системи 1,3-оксазолу на стабільність комплексів з біомолекулами

2.2.1.1. Можливі взаємодії фармакофорів з фрагментами біомолекул

При ціленаправленому пошуку нових фармакофорів важливим є етап вивчення залежності фармакологічного ефекту від хімічної будови молекули. Найпростіший метод встановлення зв'язку структури з активністю – так званий метод QSAR (quantitative structure-activity relationships) [179, 180]. Для цього використовуються результати *in vitro* досліджень; це дозволяє встановити зв'язок між хімічною будовою молекул та їх біологічною активністю [181-183]. Саме при такому підході було показано, що похідні 1,3-оксазолу повинні проявляти інгібіторну дію щодо різних ракових клітин [184, 185].

Теоретичне моделювання дає можливість дослідити механізм біологічної активності. Згідно з теоретичними уявленнями, умовою проявлення біоактивності органічних молекул є їхня здатність утворювати комплекс з біомолекулами; ця здатність називається *афінністю* [186]. Тобто, показником взаємодії двох молекул – молекули фармакофора [**Pharm**] і біологічної молекули [**BioM**], є формування стабільного комплексу [**Фарм_BioM**]:



Здатність будь-якої органічної молекули формувати комплекс з біомолекулами можна назвати *біологічною афінністю* даної молекули. Стабільність комплексу залежить як від зовнішніх умов, так і від хімічної будови обох компонентів: [**Фарм**] та [**BioM**]. Саме можливість утворення

комплексу та його стабільність в залежності від хімічної будови і визначає ефективність біологічної активності. Для незаряджених молекул припускається, що і утворений комплекс, і обидві компоненти комплексу залишаються нейтральними, тобто ніякого перерозподілу електронів при комплексоутворенні не відбувається. Подібна задача вирішується і методом молекулярного докінгу, а при наступному, пофрагментному підході, загальна взаємодія деталізується, виділяючи окремі взаємодії, і акцент робиться на залежності цих складових від будови взаємодіючих компонентів.

Афінність залежить від геометричної комплементарності фармакофора й біомолекули та від енергії їх стабілізації. Оскільки молекули азотистих основ займають порівняно невеликий об'єм, вони ефективно взаємодіють тільки з окремими фрагментами біомолекул. Відтак, подібно до ідеї, висвітленої в роботах [187-189], що молекулу фармакофора можна розглядати як систему, що складається з окремих визначальних фрагментів, то, як наступний крок, біомолекулу теж можна розглядати як систему, яка складається з окремих фрагментів, співрозмірних з фрагментами фармакофора. Тоді комплекс [Фарм_БіоМ] можна моделювати взаємодією фрагментів; це відкриває шлях для більш точної й надійнішої оптимізації стабільності комплексу [Фарм_БіоМ], де загальна взаємодія в комплексі [Фарм_БіоМ] розглядається як сума окремих можливих взаємодій між окремими фрагментами. Таким чином, пофрагментний підхід можна вважати продовженням методу молекулярного докінгу, але з більш високою точністю потрібних квантово-хімічних розрахунків і кращою наочністю, такою необхідною для хіміків-синтетиків.

При моделюванні комплексів методом молекулярного докінгу найперше враховується так звана гідрофобна взаємодія – взаємодія з мікросередовищем, тобто з водою. Під цим терміном [186] розуміють енергетичний виграш, коли дві

органічні молекули утворюють комплекс, як це зображено на рисунку 2.1, і молекули води між компонентами немає.

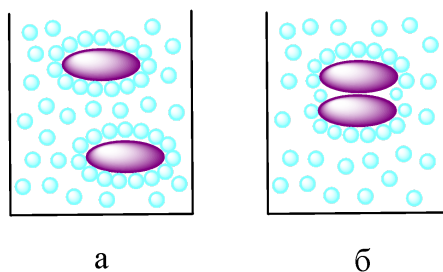


Рис. 2.1. Схема взаємодії з водою двох органічних молекул (а) та утвореного ними комплексу [Фарм_БіоМ] (б)

Як видно з рисунка 2.1б, енергетичний ефект буде тим більший, чим більша площа перекривання компонентів комплексу. Варто зазначити, що для таких планарних спряжених молекул як азотисті основи та їх похідні, гідрофобний ефект повинен бути особливо значний, якщо ці молекули формують комплекси з планарними фрагментами біомолекул.

Відомо [186], що протеїни звичайно утворюють довгі поліпептидні ланцюги з пептидних фрагментів $-\text{CO}-\text{NH}-$. Внаслідок спряження, для даного фрагменту вигідною є планарна конформація зі спільною π -системою (з π -електронів вуглецю та кисню) та неподіленою парою на амінному атомі азоту. Отже, вони можуть взаємодіяти з спряженою системою фармакофора. В поліпептидному ланцюзі окремі фрагменти зв'язані ковалентно за допомогою метиленових груп. Оскільки бар'єри обертання по одинарних зв'язках порівняно невеликі, можливе паралельне розташування двох сусідніх пептидних зв'язків, яке в комплексі [Фарм_БіоМ] може бути стабілізованою спряженою системою фармакофора, якщо він має необхідні розміри.

Однак, треба зауважити, що, як правило, поліпептидні ланцюги формують спіралі, в яких два паралельні ланцюги зв'язані між собою численними водневими зв'язками внаслідок взаємної взаємодії фрагментів $-\text{CO}-\text{NH}-$,

причому утворюються водневі зв'язки між протонами -NH-груп і неподіленими парами атомів однокоординованого кисню. Тому в спіралях відсутня можливість як стекової взаємодії зі спряженою системою фармакофора, так формування водневих зв'язків з неподіленою парою на атомі Нітрогену чи атомом Кисню пептидного фрагмента. Тобто, в спіралях пептидний зв'язок не може ефективно взаємодіяти з фармакофором. Ефективною може бути взаємодія фармакофорів з деякими залишками амінокислот, яка й може стабілізувати комплекс [Фарм_БіоМ].

В даній роботі розглядаються фармакофори на основі азотистих основ. Головна особливість таких молекул – це наявність в них розгалуженої системи π -електронів. Внаслідок цього вони мають планарну будову. Отже, енергетично стабільніший комплекс з найбільшим вирахом у гідрофобній взаємодії такі молекули можуть генерувати з ароматичними залишками амінокислот поліпептидного ланцюга, які теж мають планарну будову. З іншими фрагментами біомолекул вирашу від гідрофобної взаємодії не буде, оскільки електронна взаємодія спряженої системи молекул фармакофора з неспряженими залишками амінокислот (за рахунок сил Ван-дер-Ваальсівського відштовхування) – неефективна. Можна припустити, що тільки комплекси з подібними фрагментами можуть стабілізуватись за рахунок гідрофобного ефекту.

Однак електронна взаємодія між спряженими системами молекул фармакофора та спряженими фрагментами біомолекул, очевидно, буде ефективною – за рахунок перекриття $2p_z$ електронів, які формують спряжені системи, так званої π -стекової взаємодії. Стекова взаємодія між спряженими фрагментами біомолекул може давати додатковий вагомий вклад в стабілізацію комплексу [Фарм_БіоМ]. Серед амінокислот, які входять до складу поліпептидних ланцюгів є тільки 4 залишки зі спряженими системами: фенілаланін (Phe), тирозин (Tyr), триптофан (Trp) і гістидин (His). Такі залишки

є комплементарними для молекул азотистих основ, а тому їх π -стекова взаємодія повинна підвищувати біологічну активність даних молекул як фармакофорів.

В загальному випадку, взаємодія двох π -електронних систем, А і В, згідно з теорією збурень [190], може бути оцінена за допомогою енергії та перекривання молекулярних орбіталей (МО); кількісно вона обчислюється за допомогою формули (2.1):

$$\Delta E \approx \sum \sum \sum \sum [C_{i\mu} C_{j\nu} / (\epsilon_i - \epsilon_j)], \quad (2.1)$$

де ϵ_i та ϵ_j – енергії МО; $C_{i\mu}$ та $C_{j\nu}$ – коефіцієнти МО, які кількісно характеризують перекривання орбіталей взаємодіючих систем; індекси i, μ належать системі А, а індекси j, ν відносяться до системи В; перші дві суми пробігають всі рівні, інші дві суми пробігають всі атоми (π -центри) відповідних систем.

Треба зазначити, що електрони несуть однакові (негативні) заряди. Тому електрони на заповнених МО будуть відштовхуватися. Відсутність електрона на МО у фізиці розглядається як наявність там дірки (hole), тобто умовної частинки з позитивним зарядом, а частинки з протилежними зарядами притягуються. В наближенні теорії молекулярних орбіталей, можна сказати, що дві попарно заповнені чи попарно вакантні МО взаємно відштовхуються, а заповнена й вакантна орбіталь – притягуються. Отже, з формули (2.1) витікає, що взаємодія двох систем (зі своїм набором МО) буде обернено пропорційна віддалі між взаємодіючими орбіталей і прямо пропорційна перекриванню систем в комплексі [А-В]. Всі взаємодії обчислюються при квантово-хімічних розрахунках автоматично, а енергію зв'язування двох систем в комплексі, $E_{\text{зв'язування}}$, можна оцінити як різницю енергій оптимізованого комплексу і енергія обох компонент; тож в стабільному комплексі енергія зв'язування $E_{\text{зв'язування}}$ є позитивною величиною і додатково стабілізує комплекс.

Відтак, одна з основних відмінностей фармакофорів на основі азотистих гетероциклів (як планарних молекул з розгалуженою π -спряженою системою) полягає в тому, що вони можуть формувати більш стабільні комплекси [Фарм_БіоМ].

Крім стекової взаємодії для похідних оксазолу можливе утворення водневих зв'язків, оскільки вони містять атоми двокоординованого нітрогену з неподіленою парою електронів: такі атоми можна трактувати як акцептори для водневих зв'язків. Неподілені пари електронів цих атомів розташовані, як відомо, перпендикулярно до спряженої системи і здатні ефективно генерувати специфічні комплекси ([НВ]-комплекси) із залишками амінокислот, які містять $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ чи $-\text{SH}$ групи; в [НВ]-комплексах компоненти зв'язані між собою водневими зв'язками.

Отже, здатність молекул фармакофорів генерувати π -комплекси за рахунок π -стекової взаємодії, будемо надалі називати *π -електронною афінністю*, а здатність формувати стабільний комплекс за рахунок утворення водневих зв'язків будемо трактувати як *[НВ]-афінність*. Обидві складові афінності можуть бути кількісно оцінені за допомогою квантово-хімічного моделювання.

2.2.1.2. Об'єкти дослідження

У нашому відділі вивчення біологічної активності азотистих основ починалося з похідних 1,3-оксазолу [191, 192], зокрема, синтезовано й досліджено (*in silico* та *in vitro*) введення в положення 2, 4 та 5 донорних, акцепторних спряжених замісників та амбівалентної фенільної групи, а також неспряжених метильної чи *трет*-бутильної або ж фосфорильної груп [182, 191, 193-195].

Встановлено, що похідні оксазолу проявляють різноманітну біологічну активність, зокрема протиракову, протівірусну та рістрегулюючу дії [181, 182, 195-198]. Безумовно, це пов'язано зі здатністю таких молекул формувати

стабільні комплекси [Фарм_БіоМ] з певними фрагментами біомолекул [199]. Молекула 1,3-оксазолу має дві характерні особливості: 1) наявність спряженої системи, а отже молекула може формувати комплекс за рахунок стекової взаємодії; 2) наявність неподіленої пари електронів на двокоординованому атомі нітрогену, внаслідок чого оксазол може брати участь у формуванні водневих зв'язків, причому такий атом нітрогену виступатиме як акцептор протону.

У випадку стекової взаємодії енергія стабілізації комплексів [Фарм_БіоМ] повинна залежати, у загальному випадку, згідно приведеної вище формули (2.1), від взаємного розташування молекулярних рівнів ε_i обох компонент комплексу та їхнього ефективного перекривання, тобто, фактично, від геометричних розмірів молекул фармакофору та того фрагмента біомолекули, який перекривається в комплексі з фармакофором.

В даному підрозділі представлено результати систематичного дослідження *in silico* впливу розширення спряженої системи найпростішої оксазольної основи шляхом анелювання бензолом, піридином та піримідином; анелювані сполуки представлені структурами **2.66-2.68**:

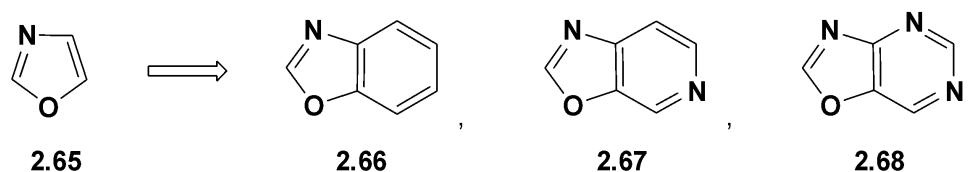


Рис. 2.2. Анелювані похідні оксазолу **2.66-2.68**

Реальні молекули фармакофорів на основі анелюваного оксазолу звичайно містять, як правило, крім основної гетероциклічної платформи, як спряжені, так і неспражені замісники. Роль неспражених замісників полягає в підвищенні розчинності, здатності проникнення через мембрану клітини тощо; в той час як замісники, що містять власну π -спражену систему (як, наприклад, феніл, піридин та ін.) або принаймні один π -електронний центр (гетероатоми –O-, -S-,

-N< з парою електронів) можуть бути включені в загальну систему спряження платформи як фрагменти спряження. В останньому випадку такі замісники, залежно від їх природи, суттєво впливають на електронні характеристики фармакофору, зокрема, на його донорно-акцепторні властивості. Водночас показано, що при введенні такого об'ємного замісника, як фенільне ядро, величина якого співмірна з оксазольним циклом, зв'язування в комплексі фармакофору з фрагментом біомолекули може відбуватися як через оксазольний цикл, так і через фенільний замісник [199].

Однак, тут будуть розглянуті тільки гетероциклічні спряжені платформи. Всі характеристики електронної будови всіх молекул, а також енергії взаємодії в можливих комплексах фармакофорів з модельними фрагментами поліпептидних молекул обчислені не-емпіричним методом DFT/6-31 (d,p)/wB97XD (пакет: GAUSSIAN 03) [200].

2.2.1.3. Молекулярні характеристики анельованих оксазолів 2.66-2.68

2.2.1.3.1. Планарність молекул та їх геометричні розміри

Згідно з квантово-хімічними розрахунками оптимізованої молекулярної геометрії, оксазол та його анельовані похідні як спряжені системи мають жорстку планарну будову, яка не змінюється при утворенні комплексів з фрагментами біомолекул. Всі досліджувані молекули займають порівняно невеликий простір: товщина π -електронної оболонки $\approx 3,4$ Å, тож загальний об'єм оксазольного циклу менше, ніж $6 \times 6 \times 3,5$ Å³, а біциклічних молекул – $\approx 7 \times 8,5 \times 3,5$ Å³.

Таким чином, такі спряжені молекули-фармакофори повинні ефективно взаємодіяти з одним або кількома амінокислотними залишками протеїнових фрагментів. Найбільш ефективною повинна бути взаємодія зі спряженими системами амінокислот, які мають ароматичні залишки.

2.2.1.3.2. Орбіталі неподілених пар: *n*-молекулярні рівні (МО)

Оскільки молекули **2.66-2.68** містять атоми двохкоординованого Нітрогену з конфігурацією $trtrtr\pi^2$, то в електронній оболонці серед вищих молекулярних рівнів з'являються, крім π -рівнів також n -МО, які сприяють утворенню водневих зв'язків [НВ]-комплексу з відповідними амінокислотними залишками. Ці енергії зв'язку, безсумнівно, залежать від положення відповідного n -рівня (орбіталі НЕП). Для ілюстрації на рис. 2.3. показано форму фронтальних та кількох близьких до них орбіталей для сполук **2.65-2.68** поблизу енергетичної щільності.

Як видно з рис. 2.3. розширення системи оксазолу **2.65** при анелюванні бензольним циклом веде до появи високо розташованих π -МО, так, що рівень неподіленої пари опиняється нижче – ВЗМО-2, причому n -МО взаємодіє з σ -орбіталями; анелювання акцепторним піридиновим циклом зміщує рівні, але одночасно з'являється ще один n -рівень неподіленої пари двокоординованого атома нітрогену піридинового циклу, обидва рівні взаємодіють і розщеплюються так, що один n -рівень – ВЗМО-1 (N -піридинового циклу), другий – ВЗМО-3 (N -оксазольного циклу).

Можна припустити, що енергія n -МО повинна впливати на енергію зв'язування в комплексах при формуванні водневих зв'язків так, що для похідних молекули **2.67** можливе утворення комплексів як по атому нітрогену оксазольного фрагменту, так і по атому нітрогену піридинового фрагменту, або по двом атомам нітрогену одночасно. Подібним чином, при анелюванні оксазолу піримідиновим циклом (**2.65**→ **2.68**) можливе утворення [НВ]-комплексів трьох типів, стабілізованих одним водневим зв'язком, комплексу з двома і навіть комплексу з трьома водневими зв'язками.

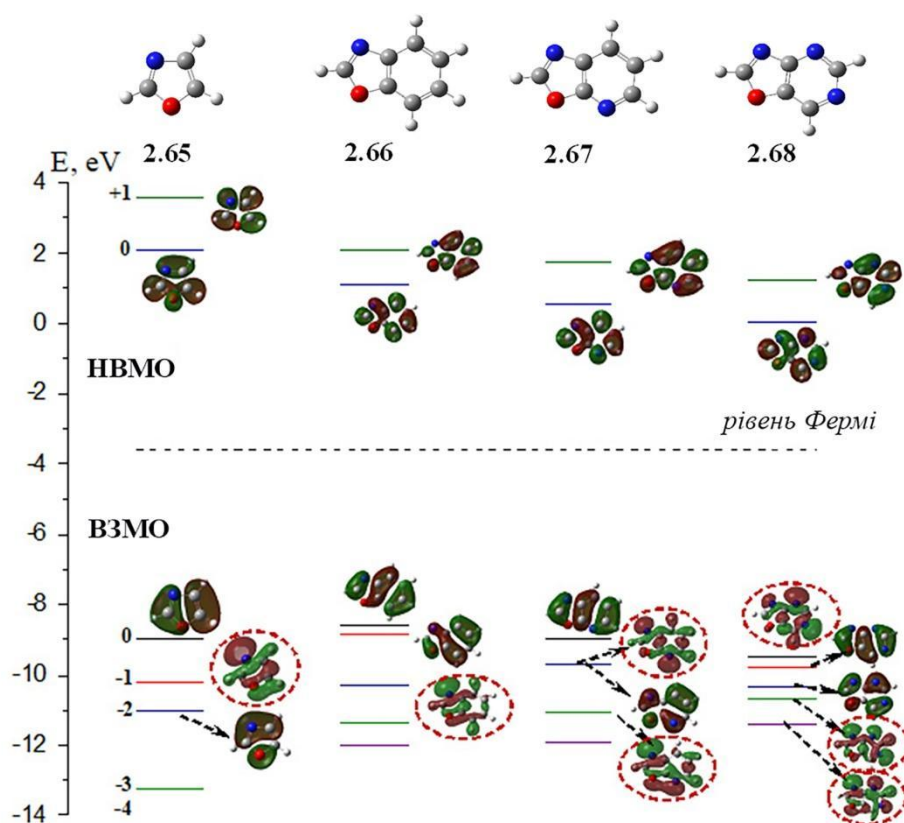


Рис. 2.3. Форма фронтальних та ближніх МО сполук 2.65-2.68

2.2.1.3.3. Індекс ϕ_0 – кількісна характеристика донорно-акцепторних властивостей

Можна припустити, що даний вклад в біологічну активність повинен бути пов'язаний з донорно-акцепторними властивостями компонент комплексу. Кількісно донорно-акцепторні властивості можна оцінити відносним розташуванням верхнього заповненого та нижнього вакантного енергетичних рівнів (енергетичної щілини) відносно незв'язуючого рівня (або рівня Фермі) π -електронів, тобто за допомогою параметру ϕ_0 ; він обчислюється за допомогою формули (2.2):

$$\phi_0 = (\epsilon_{\text{HOMO}} - \alpha) / \Delta \quad (2.2),$$

де ϵ_{HOMO} – енергія НВМО, $\epsilon_{\text{ВЗМО}}$ – енергія ВЗМО, α – енергія незв'язуючого рівня, $\Delta = \epsilon_{\text{HOMO}} - \epsilon_{\text{ВЗМО}}$.

Для нейтральних спряжених вуглеводнів (довгих незаміщених полієнів чи аценів) рівень Фермі π -електронів знаходиться посередині енергетичної щілини; у цьому випадку донорні і акцепторні властивості взаємно збалансовані і, відповідно, $\phi_0=0,5$, тобто енергетична щілина розташована симетрично стосовно уявного незв'язуючого рівня α [201, 202]. Якщо ж енергетична щілина зсунута вгору, тоді параметр $\phi_0 > 0$: таке розташування фронтальних рівнів вказує на переважно донорний характер спряженої молекули. І навпаки, якщо параметр $\phi_0 < 0,5$ і щілина зміщена вниз, то молекула є за визначенням акцептором.

Обчислені значення параметра ϕ_0 , енергії НВМО і ВЗМО для сполук (2.65-2.68) зібрано в таблиці 2.1. Значення енергії рівня Фермі α обчислено як середина щілини для модельного досить довгого полієна: $\text{H}_2\text{C}-(\text{CH}=\text{CH})_{15}-\text{CH}_2$.

Таблиця 2.1

Афінність сполук 2.65-2.68

Молекула	$\epsilon_{\text{ВЗМО}}$, eВ	$\epsilon_{\text{НВМО}}$, eВ	Δ	ϕ_0
2.65	-8,86	1,67	10,53	0,497
2.66	-8,54	0,88	9,42	0,471
2.67	-9,13	0,33	9,46	0,411
2.68	-9,54	-0,20	9,34	0,360
Фенілаланін	-8,46	2,05	10,51	0,534
Триптофан	-7,24	1,84	9,08	0,594
Тирозин	-7,75	1,97	9,72	0,570
Гістидин	-7,98	3,08	11,06	0,600
транс-ПЗ	-8,57	3,34	11,91	0,579
цис-ПЗ	-8,72	2,97	11,69	0,558
Полієн	-6,21	-0,91	5,30	0,500

Примітки: $\Delta = \epsilon_{\text{НВМО}} - \epsilon_{\text{ВЗМО}}$; $\alpha = -3,56$ eВ

З таблиці 2.1. видно, що розширення π -спряженої системи шляхом анелювання знижує, насамперед, енергію НВМО, тому така зміна хімічної будови зменшує параметр ϕ_0 . Заміна СН-групи на більш електронегативний двохкоординований атом нітрогену, наприклад, при переході від бензокзсазолу **2.66** до оксазоліпіридину **2.67**, супроводжується падінням донорних властивостей при анелюванні піридином. Ще значніший ефект дає заміна двох СН-груп на атоми нітрогену (**2.68**). Така зміна донорно-акцепторних властивостей спряжених молекул повинна, безсумнівно, проявлятися в зміні енергій зв'язування в комплексах [Фарм_БіоМ].

Припускається [184], що препарати на основі оксазолу і його похідних взаємодіють з білками, при цьому взаємодії з основами ДНК не відзначено. Виходячи з розмірів молекули **2.65**, можна стверджувати, що вона може ефективно взаємодіяти з фрагментами білкових молекул. Стекова взаємодія можлива з пептидним зв'язком та з ароматичними залишками таких амінокислот, як фенілаланін, тирозин, триптофан та гістидин. Тому було обчислено значення параметра ϕ_0 для перерахованих амінокислот. При обчисленні параметра ϕ_0 ароматичні залишки моделювались тільки спряженою частиною, решта молекули амінокислоти, зв'язана метиленовою групою (CH_2) замінювалась метильною групою (CH_3). Така заміна незначно впливає на донорно-акцепторні властивості, які залежать, передусім, від енергій π -орбіталей. Обчислені величини приведені в таблиці 2.1. Раніше [203] було показано, що таке моделювання незначно змінює значення параметра ϕ_0 : приблизно на ± 0.02 .

Аналогічно моделювались π -фрагмент поліпептидного ланцюга: при оцінці донорно-акцепторних властивостей параметром ϕ_0 в елементарному фрагменті враховувалась тільки π -частина, а решта замінювалась метильною групою. В таблиці 2.1. приведено значення параметра ϕ_0 для двох конформацій

елементарного пептидного зв'язку (ПЗ); як видно, для обох конформацій значення практично співпадають.

В даній роботі припускалось, що молекули **2.65-2.68** не утворюють комплекси з основами РНК/ДНК, тому значення параметра ϕ_0 для азотистих основ в таблиці 2.1 не приводиться; їх значення для модельних основ (без залишку рибози) приведені в роботі [201].

2.2.1.4. Стекова π - π -взаємодія

Спочатку розглянемо стекову взаємодію спряженої системи молекул оксазолу і його анельованих похідних з такими фрагментами білків, які містять фрагменти з спряженою системою: пептидний зв'язок і ароматичні залишки амінокислот. Виходячи з фактичних розмірів досліджуваних молекул, детально розглянутих вище, можна вважати, вони можуть ефективно взаємодіяти за стековим механізмом тільки з одним залишком відповідних амінокислот, з одним пептидним (оксазол) або дипептидним фрагментом (для анельованих похідних оксазолу). На рис. 2.4. приведено оптимізована геометрія молекул **2.65-2.68** і модельних моно- та дипептидів.

Згідно з формулою (2.1) ефективність взаємодії молекул повинна залежати від перекриття молекулярних орбіталей, а отже від їх геометричних розмірів. З порівняння розмірів молекул видно, що з фрагментом -CONH- ефективно перекриватись може тільки одна молекула оксазолу. Біциклічні молекули **2.66-2.68** можуть перекриватися як із одним пептидним зв'язком, так і з двома пептидними зв'язками в поліпептидному ланцюзі. Для ілюстрації на рис. 2.5 представлено оптимізовану геометрію комплексів бензоксазолу з модельними моно- і дипептидною молекулами.

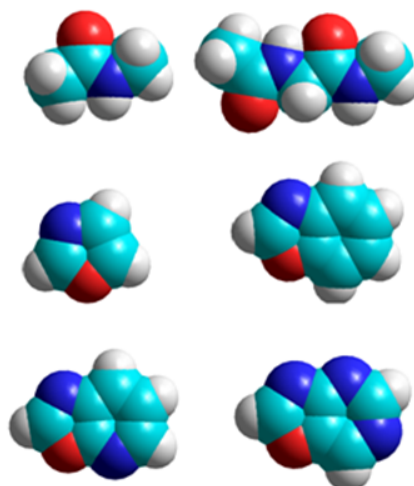


Рис. 2.4. Оптимізована геометрія молекул **2.65-2.68** і модельних моно- та дипептидів

В таблиці 2.1 було показано, що анелювання супроводжується зближенням енергій фронтальних орбіталей, що повинно приводити до зростання енергії взаємодії в комплексах між вакантними МО фармакофора із заповненими орбіталями пептидного зв'язку, а також – між заповненими МО фармакофора і вакантними МО пептидного зв'язку (згідно з формулою 2.1). Тому можна очікувати зростання стабільності π -комплексу [Фарм_БіоМ] при анелюванні оксазольного циклу.

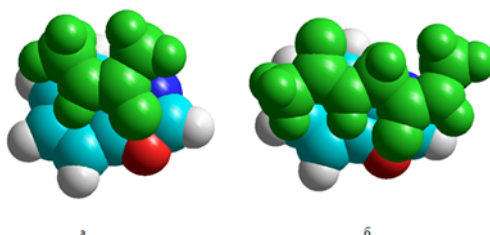


Рис. 2.5. Оптимізована геометрія комплексів бензоксазолу з модельними моно- і дипептидною молекулами

В таблиці 2.2. приведено обчислені енергії взаємодії оксазолу та його анелюваних похідних з модельним пептидним (ПЗ) та дипептидним зв'язком (ДПЗ).

Таблиця 2.2

Стабільність π -комплексів молекул **2.65-2.68** з модельним пептидним зв'язком

Молекул а	$E_{\text{мол}}$, а.о.	[Фарм_ПЗ]		[Фарм_ДПЗ]	
		$E_{\text{комп}}$, а.о.	ΔE , ккал/мол ь	$E_{\text{комп}}$, а.о.	ΔE , ккал/мол ь
2.65	-245,992019658	-494,458331965	-9,31 (<i>транс</i>)		
2.65	-245,992019658	-494,457289045	-12,11 (<i>цис</i>)		
2.66	-399,586298485	-648,060865334	-17,94	-856,02241454	-32,24
2.67	-415,62782517	-664,09305761	-12,09	-872,056904788	-27,68
2.68	-431,65161043	-680,1122263	-9,19	-888,07587177	-23,16
<i>транс</i> -ПЗ	-248,451486374				
<i>цис</i> -ПЗ	-248,445971212				
ДПЗ	-456,387350963				

Примітки:

1. $E_{\text{мол}}$, а.о. – енергія молекул (в атомних одиницях);
2. $E_{\text{комп}}$, а.о. – енергія комплексу;
3. ΔE – енергія зв'язування.

З таблиці 2.2 видно, що комплекс оксазолу з пептидним зв'язком у *цис*-конформації стабільніший ніж у *транс*-конформації майже на 3 ккал/моль. Порівняння відповідних даних для оксазолу **2.65** і його похідних **2.66-2.68** показує, що дійсно анелювання супроводжується із значним зростанням енергії зв'язування. Перехід до можливого комплексу, коли молекула фармакофора перекривається з двома пептиними зв'язками, збільшує майже вдвічі енергію стабілізації.

Водночас видно, що заміна однієї з метиленових груп більш електронегативним атомом нітрогену, яка знижує енергію ВЗМО фармакофора, а отже віддаляє даний рівень від вакантного рівня пептидного зв'язку, дещо зменшує енергію стабілізації комплексу. Хоча ефект перекривання з другим пептидним зв'язком такий же, як і при бензанелюванні.

Крім π -комплексів з пептидними зв'язками, за рахунок спряженої системи оксазол та його анелювані похідні можуть формувати стабільні комплекси зі спряженою системою ароматичних залишків амінокислот; тут ми розглянемо стабілізацію комплексів з модельними залишками фенілаланіну та триптофану, для яких відсутній інший тип взаємодії, за рахунок формування водневих зв'язків.

Таблиця 2.3

Стабільність π -комплексів молекул **2.65-2.68** з модельними залишками амінокислот

Молекул а	E _{мол} , а.о.	[Фарм_Фен]				[Фарм_Трп]	
		E _{комп} , а.о.	ΔE , ккал/мол б	E _{комп} , а.о.	ΔE , ккал/моль	E _{комп} , а.о.	ΔE , ккал/моль
2.65	-245,98433877	-517,483237280	-10,23	-649,019205431	-10,95		
2.66	-399,58629849	-671,089011477	-12,63	-802,626219034	-14,12		
2.67	-415,61610915	-687,121591844	-14,36	-818,66231168	-18,07		
2.68	-431,65161043	-703,14953756	-9,62	-834,68957442	-12,89		
MeC ₆ H ₅	-271,48259160						
MeТрп	-403,01741758						

Дані розрахунків (див. таблицю 2.3) показують, що комплекси чутливі до хімічної будови як фармакофорів, так і фрагментів біомолекул. Анелювання оксазолу фенільним ядром приводить до зростання енергії комплексів як з

фенілаланіном, так і з триптофаном аж на 2 і 3 ккал/моль відповідно. Така ж закономірність спостерігається під час заміни метиленової ланки на один атом нітрогену. Виключенням цієї закономірності є комплекс фенілаланіну зі сполукою **2.68**, яка містить 2 атоми нітрогену, енергія якого є нижчою порівняно з усіма вище згаданими комплексами, а у випадку комплексу сполуки **2.68_Трп** значення ΔE лише дещо більша за енергію комплексу сполуки **2.65_Трп**.

Вплив більшої донорності триптофана порівняно з фенілаланіном простежується при порівнянні комплексів одного й того ж гетероциклу з обома модельними залишками амінокислот: як видно з таблиці 2.3 обчислена енергія зв'язування кожної сполуки в комплексі з модельним триптофаном вища, ніж у відповідного комплексу з фенілаланіном.

2.2.1.5. Комплекси, стабілізовані водневими зв'язками

Інший тип стабільних комплексів [**Фарм_БіоМ**] формується за рахунок утворення водневих зв'язків між компонентами: будемо називати їх [НВ]-комплексами. В молекулах оксазолу та їх анельованих похідних є атоми двохкоординованого нітрогену з неподіленими парами електронів, які можуть бути акцепторними центрами водневих зв'язків. Натомість, деякі амінокислоти містять залишки з групами $-Y-H$, які мають протони, потенційно придатні для формування водневих зв'язків: тирозин (Тир), серин (Сер), треонін (Тре) з $-OH$ групою; гістидин (Гіс), лізин (Ліз), аргінін (Арг) з $-NH_2$ функціональною групою та цистеїн (Цис), що містить групу $-SH$. Оскільки рівень неподіленої пари електронів двохкоординованого атома нітрогену молекул азотистих гетероциклів розташований порівняно високо, значно вище за рівні σ -електронів, тому σ -оболонкою, сформованою атомами карбону неспряжених фрагментів біомолекул, можна (в першому наближенні) знехтувати. Тому неспряжена частина залишків амінокислот моделювалась тільки метильною групою, так чином протоннодонорна група моделювалась молекулами: $Me-Y-H$, де $Y = NH, O, S$. Це також значно спрощувало розрахунки, оскільки не

враховувались можливі конформації. Ми оптимістично припускаємо, що в першому наближенні впливом неспряженого залишку в різних можливих конформаціях амінокислоти можна знехтувати, оскільки будуть порівнюватися енергії стабілізації [НВ]-комплексів в серії хімічно подібних сполук.

В розрахунках, перед оптимізацією, модельні молекули розташовувались на віддалі 2,1 Å, причому зв'язок Y-H знаходився в тій же площині, що й гетероцикл, а зв'язок H₃C-Y – розташовувався перпендикулярно. На відміну від оксазолу та бензоксазолу з одним атомом двокоординованого нітрогену, молекула оксазолопіридину містить два атому нітрогену, тому моделювались два ізомерні комплекси, а у випадку оксазолопіримідину – три відповідно.

Можливі типи [НВ]-комплексів з оксазолом, бензоксазолом та оксазолопіридином, сформованим водневим зв'язком з метанолом, зображені на рис. 2.6.

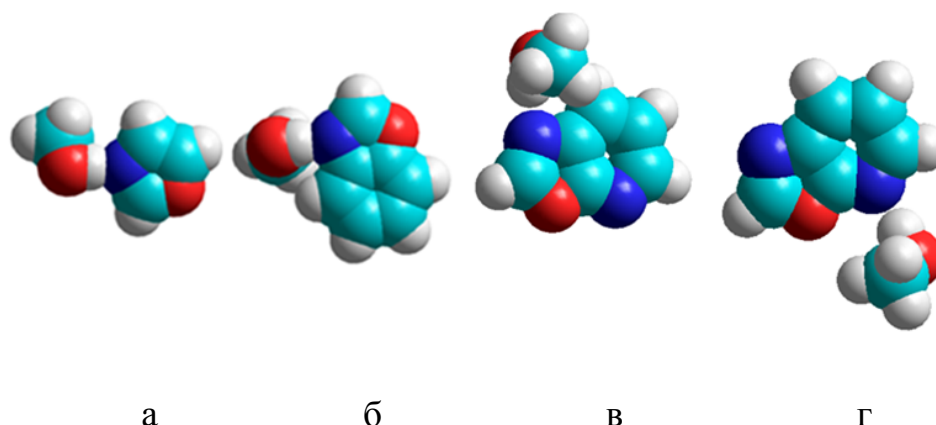


Рис. 2.6. [НВ]-комплекси модельної молекули MeOH і гетероциклів: оксазолу (а), бензоксазолу (б) та оксазолопіридину по двох різних атомах азоту (в,г)

Можна припустити, що сила водневого зв'язку, а отже й стабільність [НВ]-комплексу буде залежати від величини загального заряду двокоординованого атома нітрогену. З молекулою оксазолопіридину можливі два ізомерні комплекси, залежно від того, який атом нітрогену задіяний в утворенні комплексу (з п'ятичленного чи з шестичленного циклу).

Спочатку розглянемо [НВ]-комплекси гетероциклів оксазолу та бензоксазолу, які містять один атом двокоординованого нітрогену, щоб дослідити залежність їх стабільності від природи протонно-донорної модельної молекули Me-Y-H та від хімічної будови самих гетероциклів. Обчислені енергії таких [НВ]-комплексів зібрані в таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Енергії водневих зв'язків в [НВ]-комплексах сполук **2.65** та **2.66**.

№	Y	z, е.о.	l, Å	E _{мол.} , а.о.	E _{комп.} , а.о.	ΔE, ккал/моль
2.65	H N	-0,430	2,434	-245,99201966	-341,83384393	-7,92
	O	-0,430	1,949	-245,99201966	-361,69004740	-8,22
	S	-0,430	2,283	-245,99201966	-684,670094108	-6,57
2.66	H N	-0,474	2,503	-399,59471000	-495,43507943	-7,02
	O	-0,474	1,978	-399,59471000	-515,29509165	-9,69
	S	-0,474	2,454	-399,59471000	-838,27501006	-7,96
MeOH				-115,684935020		
MeNH₂				-95,8292016383		
MeSH				-438,667606391		

Примітки:

1. z – заряд на атомі нітрогену;
2. l – довжина водневого зв'язку, Å.

На прикладі оксазолу **2.65** та його анельованого похідного **2.66** видно, що найстабільніші комплекси утворюються з гідроксигрупою модельної молекули MeOH, причому енергія [НВ]-комплексу зростає при розширенні спряженої системи молекули фармакофора. Перехід до аміно- чи тіогрупи в модельній молекулі Me-Y-H зменшує стабільність комплексу, сформованого за рахунок

водневого зв'язку. Тому надалі, при моделюванні [НВ]-комплексів, будемо будувати модельні комплекси з найбільш чутливою ОН-групою.

Наведені в таблиці 2.4 результати показують, наскільки важливим для стабільності [НВ]-комплексу і, відповідно, для біологічної афінності є хімічна будова фармакофорів і природа функціональних груп, здатних формувати водневі зв'язки.

При анелюванні оксазолу піридиновим або піримідиновим циклом можуть формуватися відповідно 2 або 3 типи [НВ]-комплексів: з водневим зв'язком по атомах нітрогену в п'ятичленному оксазольному циклі та шестичленному піридиновому або піримідиновому циклі. Обчислені енергії зв'язування для комплексів структур **2.67**, **2.68** з модельною молекулою MeOH наведені в таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Енергії водневих зв'язків в [НВ]-комплексах оксазоліпіридину **2.67** і оксазол[4,5-*d*]піримідину **2.68** з модельною молекулою MeOH

№	$E_{\text{мол}}, \text{ а.о.}$	Атом N	$z, \text{ е.о.}$	$l, \text{ \AA}$	$E_{\text{комп}}, \text{ а.о.}$	$\Delta E, \text{ ккал/моль}$
2.67	-415,62782517	N(3)	-0,478	2,022	-531,32932042	-9,44
		N(5)	-0,497	1,993	-531,32647723	-7,66
2.68	-431,65161043	N(3)	-0,441	2,055	-547,35839785	-13,71
		N(6)	-0,458	2,028	-547,35444306	-11,23
		N(4)	-0,431	2,000	-547,35724784	-13,00

Насамперед, розрахунки показують, що абсолютна величина негативного заряду на атомі двохкоординованого нітрогену в п'ятичленному оксазольному циклі оксазоліпіридину **2.67** і оксазоліпіримідину **2.68** тільки незначно зростає порівняно як з моноциклічним оксазолом **2.65**, так і з біциклічним похідним

2.66. З таблиці 2.5 також видно, що заряди на відповідному атомі нітрогену в піридиновому циклі практично такі, як в п'ятичленному циклі.

При переході від бензоксазолу **2.66** до оксазолопіридину **2.67** в [НВ]-комплексах, сформованих водневими зв'язками по атому нітрогену оксазольного циклу, енергія зменшується незначно. При формуванні [НВ]-комплексу з атомом нітрогену в піридиновому циклі енергія зв'язування зменшується майже на 2 ккал/моль. В трьох [НВ]-комплексах з оксазолопіримідину **2.68** енергія зв'язування значно більша і залежить від положення атому нітрогену, з яким зв'язується модельна молекула MeOH.

Варто зауважити, що для комплексів ізомерів оксазолопіридину **2.67** та оксазолопіримідину **2.68** також можливе одночасно утворення комплексів – з двома чи навіть трьома водневими зв'язками по обох атомах нітрогену, що, без сумніву, повинно приводити до додаткової стабілізації [Фарм_БіоМ] комплексів.

Таблиця 2.6

Енергії водневих зв'язків в [НВ]-комплексах молекул **2.65-2.68** з модельним пептидним зв'язком

№	Е _{мол} , а.о.	Атом N	Е _{комп} , а.о.	ΔЕ, ккал/моль
2.65	-245,99201966	N(3)	-494,46043865	-10,63
2.66	-399,59471000	N(3)	-648,06554629	-12,14
2.67	-415,62782517	N(3)	-664,09799992	-11,73
	-415,62782517	N(5)	-664,09636842	-10,70
2.68	-431,65161043	N(3)	-680,11717946	-8,84
	-431,65161043	N(6)	-680,11929025	-10,16
	-431,65161043	N(4)	-680,11927722	-10,15
транс-ПЗ	-248,451486374			

Порівняння таблиць 2.5 і 2.6 показує схожі тенденції щодо енергії зв'язування в [НВ]-комплексах як з модельним пептидом, так і з модельною молекулою MeOH.

Слід зазначити, що у випадку молекул **2.67** і **2.68** їх [НВ]-комплекси можуть бути одночасно утворені двома або навіть трьома водневими зв'язками, що, безсумнівно, повинно привести до додаткової стабілізації комплексу [Фарм_БіоМ].

Отже, теоретичний *in silico* аналіз взаємодії між молекулами фармакофорів на основі біциклічних азотистих гетероциклів з біомолекулами показує, що (крім гідрофобної взаємодії) стабілізацію комплексів [Фарм_БіоМ] забезпечують стекова взаємодія π-системи молекул фармакофора з π-системою пептидного зв'язку та ароматичних залишків амінокислот в поліпептидних ланцюгах, а також водневі зв'язки між неподіленими парами двохкоординованого атома нітрогену та функціональними –OH, –NH₂, –SH групами амінокислот і (ди)пептидним зв'язком. Встановлено, що π-стекова взаємодія анелюваних похідних оксазолу з модельними донорними залишками триптофану більша, ніж з модельними залишками фенілаланіну. При утворенні комплексів за допомогою водневих зв'язків найбільш стабільними виявились [НВ]-комплекси, в яких задіяна OH-група біомолекули, а найменш стабільними – [НВ]-комплекси з SH-групою. Розширення спряженої системи анелюванням супроводжується зростанням акцепторних властивостей азотистих гетероциклів як фармакофорів, особливо при анелюванні піридином та піримідином, внаслідок чого стабільність комплексів зростає. Перехід до біциклічних спряжених систем з двома чи трьома двохкоординованими атомами нітрогену забезпечує додаткову стабілізацію [Фарм_БіоМ] комплексів за рахунок можливого одночасного утворення кількох водневих зв'язків.

2.2.2. *In vitro* дослідження протипухлинної активності оксазолопіримідинів

З метою встановлення залежності взаємозв'язку протипухлинної дії від структури оксазолопіримідинів проведено *in vitro* скринінг оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та оксазоло[5,4-*d*]піримідинів з акцепторними замісниками (арили) в положеннях 2 і 5 гетероциклічної системи та донорними (аміни) або акцепторними (арили) фрагментами в положенні 7. Досліджені сполуки представлені на рис. 2.7:

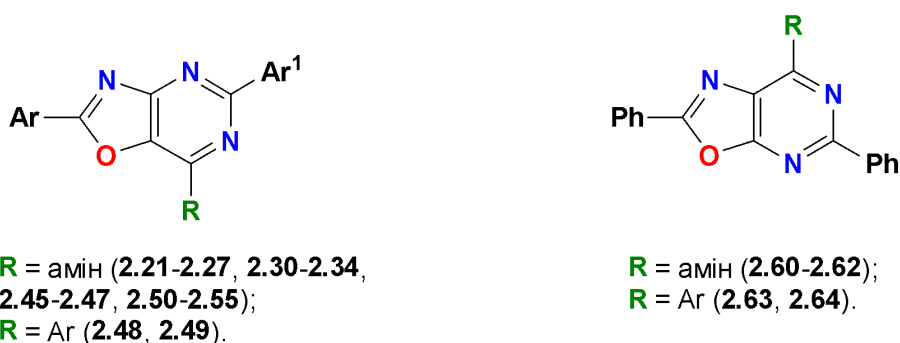


Рис. 2.7. Досліджені оксазоло[4,5-*d*]піримідини та оксазоло[5,4-*d*]піримідини

2.2.2.1. Результати скринінгу протиракової активності оксазоло[4,5-*d*]піримідинів

Протираковий скринінг проводили згідно методики, описаної в розділі 4.2. Результати протиракового скринінгу при концентрації 10^{-5} М представлено в таблицях 2.6-2.8 (сполуки 2.21-2.27, 2.30-2.34, 2.45-2.47, 2.60-2.62).

Результати односторових досліджень (10^{-5} μ M) сполуки 2.21 показали, що відсоток росту ракових клітин знаходиться в діапазоні від -100.00 до 105.85%. Найбільш чутливими клітинними лініями раку були ACHN та UO-31 (рак нирок, летальність становить -100.00 та -99.79% відповідно), SF-539 (рак ЦНС, -95.94%), MDA-MB-435 (меланома, -93.90%) та MDA-MB-231/ATCC (рак молочної залози, -87,09%).

Таблиця 2.6

Результати протиракового скринінгу сполук **2.21, 2.22, 2.24-2.27** при
концентрації 10^{-5} М на 60 лініях клітин раку

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10^{-5} М (%)						
Клітинна лінія	2.21	2.22	2.24	2.25	2.26	2.27
Лейкемія						
CCRF-CEM	-31.06	-75.99	-69.2 ₈	-72.1 ₅	-26.70	3.65
HL-60(TB)	-46.50	-66.62	-68.4 ₂	-69.3 ₁	-62.73	-57.67
MOLT-4	-24.86	-68.76	-69.2 ₃	-72.5 ₉	1.58	63.66
Недрібноклітинний рак легень						
A549/ATCC	-44.82	3.88	-84.4 ₇	-83.2 ₈	37.35	29.16
NCI-H322M	-95.06	-78.55	-95.9 ₂	47.86	—	—
Рак товстого кишечника						
COLO-205	-39.72	-91.08	-92.4 ₃	-81.1 ₉	—	—
KM12	-75.43	-89.10	-87.8 ₆	-81.9 ₄	—	—
Рак ЦНС						
SF-539	-95.94	-90.97	-93.3 ₆	95.78	102.66	95.47
U-251	-56.99	-98.24	-90.2 ₃	-98.5 ₀	-10.62	—
Меланома						
LOX IMVI	-81.85	-89.05	-78.6 ₃	-79.5 ₆	-49.12	11.05
MDA-MB-435	-93.90	-80.97	-87.4 ₃	-77.0 ₇	-3.46	107.55
Рак яєчників						
OVCAR-3	-53.43	-89.50	-89.7 ₁	-94.6 ₃	9.94	103.34

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10^{-5} М (%)						
Клітинна лінія	2.21	2.22	2.24	2.25	2.26	2.27
OVCAR-4	-88.22	-51.57	-81.9 6	11.95	37.22	27.08
Рак нирок						
ACHN	-100.00	-99.83	-97.2 4	50.66	84.55	98.48
UO-31	-99.79	-90.57	-91.8 2	64.55	-28.62	75.30
Рак простати						
PC-3	-27.91	-81.48	-81.5 7	-90.2 2	47.18	74.25
DU-145	-55.35	-93.08	-86.7 8	11.91	–	–
Рак молочної залози						
MDA-MB-231/ATCC	-87.09	-79.22	-79.2 7	-72.0 6	-12.09	14.10
MDA-MB-468	-73.97	-31.37	-87.1 7	-33.4 6	-8.86	62.74

Примітка: – речовина не була протестована щодо даної лінії.

Сполука **2.22** показала відсоток росту ракових клітин в діапазоні від -99.83 до 110.16%. Найбільш чутливими клітинними лініями раку були ACHN та UO-31 (рак нирок, летальність становить -99.83 та -90.57% відповідно), U-251 та SF-539 (рак ЦНС, -98.24 та -90.97% відповідно), COLO-205 та KM-12 (рак товстого кишечника, -91.08 та -89.10% відповідно), DU-145 та PC-3 (рак простати, -93.08% та -81.48% відповідно), LOX IMVI та MDA-MB-435 (меланома, -89.05 та -80.97% відповідно).

Оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.24** продемонстрував відсоток росту ракових клітин в межах від -99.60 до -42.99% із середньою летальністю -80%, що свідчить про його високу цитотоксичність щодо всіх досліджених ліній раку. Ця сполука виявила найвищу активність (летальність $\geq 90\%$) щодо ліній ракових

клітин ACHN та UO-31 (рак нирок), NCI-H322M та HOP-62 (недрібноклітинний рак легень), COLO-205 (рак товстого кишечника), SF-539 та U-251 (ЦНС).

Оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.25** показав відсоток росту ракових клітин в діапазоні від -98.50 до 119.83% і показав найкращу цитотоксичність проти раку ЦНС U251 (-98.50%), раку яєчників OVCAR-3 (-94.63%), меланоми M14 (-94,3%), рак передміхурової залози PC-3 (-90.22%) та недрібноклітинний рак легенів A549/ATCC (-83.28%).

Сполука **2.26** показала відсоток росту ракових клітин в межах від -85.34 до 116.06%. Найбільш чутливими видами раку були лейкемія (летальність для HL-60 (ТВ) та CCRF-CEM клітинних ліній становить відповідно -62,70 та -26,73%), рак товстого кишечника (HT-29 – -64.2, та HCT-116 – -25.4%), рак ЦНС (U251 – -10.62%), меланома (LOX IMVI – -49.12%), рак нирок (UO-31 – -28.62%), рак молочної залози (MDA-MB-231/ATCC – -12.09 та MDA-MB-468 – -8.86%).

Оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.27** продемонстрував відсоток росту ракових клітин в діапазоні від -57.67 до 118.25% і виявив найбільшу цитотоксичність проти клітинної лінії HL-60(ТВ) (лейкемія). Клітинні лінії підпанелей ЦНС, нирок та простати були практично нечутливими до цього похідного.

Таким чином, 2,5-дифеніл-7-піперазиноксазоло[4,5-*d*]піримідини **2.26** і **2.27** з *N*-заміщеним піперазинним замісником продемонстрували нижчу рістінгібуючу активність щодо більшості ліній ракових клітин порівняно з похідними (**2.21**, **2.22**, **2.24**, **2.25**), що містять незаміщений NH у піперазиновому фрагменті, що свідчить про важливість утворення водневих зв'язків між лігандом і біомолекулою. Виняток для обох сполук становить лінія ракових клітин HL-60(ТВ) (лейкемія).

Таблиця 2.7

Результати протиракового скринінгу сполук **2.30-2.34** при концентрації 10^{-5} М на 60 лініях ракових клітин

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10^{-5} М (%)					
Клітинна лінія	2.30	2.31	2.32	2.33	2.34
Лейкемія					
CCRF-CEM	-21.47	-70.95	-75.75	-72.07	-25.18
HL-60(TB)	-62.17	-69.68	-69.81	-69.26	-62.47
MOLT-4	-34.21	-73.19	-68.12	-66.04	-39.32
Недрібноклітинний рак легень					
A549/ATCC	-44.34	-87.85	-66.48	-62.34	-29.33
NCI-H322M	—	-70.44	-6.90	16.53	—
Рак товстого кишечника					
COLO-205	—	-80.91	-86.92	-71.55	—
KM12	—	-81.53	-92.34	11.30	—
Рак ЦНС					
SF-539	-92.83	-91.38	-88.53	73.80	—
U-251	-78.83	-85.87	-84.94	-92.36	-82.91
Меланома					
LOX IMVI	-68.05	-91.55	-89.85	-79.32	-79.21
MDA-MB-435	-44.52	-87.90	-83.11	70.82	-50.53
Рак яєчників					
OVCAR-3	-74.31	-85.66	-81.75	-67.67	-65.04
OVCAR-4	-58.21	-62.56	-52.28	2.20	2.83
Рак нирок					
ACHN	-79.81	-98.78	-98.87	-77.10	67.83
UO-31	-51.63	-99.04	-98.14	62.61	-51.06
Рак простати					
PC-3	28.60	-88.74	-88.86	-89.54	28.28
DU-145	—	-15.18	-25.48	42.00	—
Рак молочної залози					
MDA-MB-231/ATCC	-79.75	-91.70	-86.88	-78.77	-80.51

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10 ⁻⁵ М (%)					
Клітинна лінія	2.30	2.31	2.32	2.33	2.34
MDA-MB-468	-70.7	-76.21	-67.54	5.40	-84.62

Примітка: – речовина не була протестована щодо даної лінії.

Вивчаючи варіацію пригнічення росту ракових клітин досліджуваних сполук по всій панелі клітинних ліній, було виявлено, що більшість із 7-(1,4-діазепан)-заміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів при концентрації 10⁻⁵ М показали значне пригнічення для більшості клітинних ліній, за виключенням похідного **2.34** з *N*-метилзаміщеним діазепановим замісником при С(7) (таблиця 2.7). Винятками для окремих сполук були наступні лінії ракових клітин: EKVX, NCI-H226, UACC-257, A498 та CAKI-1 (**2.30**), NCI-H226, SK-OV-3, A498 та BT-549 (**2.31**), NCI-H226 та A498 (**2.32**), EKVX, NCI-H226, SK MEL-5, UACC-257, UACC-62 (**2.34**) з інгібуванням росту менше 50% (дивись додатки). Оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.33** продемонстрував незначне пригнічення росту підпанелей недрібноклітинного раку легень, раку ЦНС, меланоми та раку нирок. Більше того, ці сполуки продемонстрували значну цитотоксичність щодо всіх досліджених ліній ракових клітин лейкемії, а сполука **2.32** показала летальність для понад 60% досліджуваних клітинних ліній.

Оксазоло[4,5-*d*]піримідини з *N*-сульфонілзаміщеним піперазиновим або 1,4-діазепановим фрагментом в положенні 7 системи показали низьку протиракову активність порівняно з NH-незаміщеним піперазином/1,4-діазепаном. За їх участі спостеряглося інгібування росту клітин ліній недрібноклітинного раку легень (HOP-62, NCI-H522M) – на 14.60-27.75% (сполуки **2.51**, **2.52** та **2.54**), лінії раку товстого кишечника (HCT-116) – на 23.72-34.81% (сполуки **2.51**, **2.52**), раку ЦНС – SF-539 на 47.51% (сполука **2.52**) і SNB-75 на 28.83-35.25% (сполуки **2.51**, **2.54** і **2.55**), раку нирок– ACHN на 28% (сполуки **2.51**, **2.52**) та UO-31 на 12.83-34.42% (сполуки **2.50**, **2.53-2.55**), раку молочної залози – MDA-MB-231/ATCC на 16.93-27.63%

(сполуки **2.52**, **2.54** і **2.55**) та HS 578T на 18.29-66.94% (сполуки **2.51**, **2.52** і **2.54**) (таблиця 2.8). Жодна з сполук не виявила пригнічення ліній клітин лейкемії. Оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.52** проявив значну цитотоксичну дію щодо лінії клітин раку ЦНС SNB-75 із значенням відсотку росту клітин -17.15%.

Таблиця 2.8

Результати протиракового скринінгу сполук **2.50-2.55** при концентрації 10^{-5} М на 60 лініях клітин раку

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10^{-5} М (%)						
Клітинна лінія	2.50	2.51	2.52	2.53	2.54	2.55
Лейкемія						
HL-60(TB)	92.38	98.42	106.89	104.54	107.41	113.65
MOLT-4	97.44	100.68	102.23	104.47	99.90	88.94
Недрібноклітинний рак легень						
HOP-62	106.57	85.40	72.25	99.51	81.98	93.94
NCI-H522M	98.07	74.90	72.89	94.91	81.25	86.26
Рак товстого кишечника						
HCT-116	104.45	76.28	65.19	99.08	98.54	105.46
Рак ЦНС						
SF-539	105.40	86.34	52.49	104.21	87.13	86.91
SNB-75	102.40	64.75	-17.15	91.98	70.39	72.17
U-251	107.71	85.57	78.91	112.73	94.03	96.82
Меланома						
LOX IMVI	103.34	88.52	96.70	99.73	95.06	96.49
MDA-MB-435	111.66	105.63	95.70	104.75	98.74	97.30
Рак яєчників						
OVCAR-3	119.26	111.61	92.96	118.67	107.16	103.21
OVCAR-4	120.55	114.54	99.62	111.42	63.58	96.39
Рак нирок						
ACHN	112.52	72.02	72.00	104.04	86.02	99.29

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10^{-5} М (%)						
Клітинна лінія	2.50	2.51	2.52	2.53	2.54	2.55
UO-31	86.87	92.22	99.22	87.17	79.21	65.58
Рак простати						
PC-3	111.16	96.97	96.43	101.28	96.05	90.41
Рак молочної залози						
MDA-MB-231/ATCC	106.17	88.99	72.37	105.90	83.07	82.10
HS 578T	124.33	83.63	43.06	102.98	81.71	96.24

Примітка: – речовина не була протестована щодо даної лінії.

Синтезовані сполуки **2.22**, **2.24-2.27**, **2.30-2.34** відповідали заздалегідь визначеним пороговим критеріям інгібування одноступінцевого скринінгу NCI 60, тому були відібрані для розширених п'ятидозових досліджень (10^{-4} – 10^{-8} М) на панелі з 60 ліній ракових клітин. У таблиці 2.9 представлені результати п'ятидозового аналізу протипухлинної активності цих сполук щодо кожної клітинної лінії раку.

Протиракова активність досліджуваних оксазоло[4,5-*d*]піримідинів з піперазиновим фрагментом (GI_{50} , TGI та LC_{50}) зменшується в ряду: **2.24** > **2.22** > **2.25** > **2.27** $\approx$ **2.26**. Таким чином, сполука **2.24** виявляла найвищу активність по відношенню до всіх перевірених підпанелей раку з найбільшою селективністю щодо підпанелей лейкемії та раку товстого кишечника (таблиця 2.9).

Таблиця 2.9

Протипухлинна активність сполук **2.22**, **2.24-2.26**, **2.30-2.34** щодо певних підпанелей раку: середня інгібіторна (GI_{50} , μ М), середня цитостатична (TGI, μ М) та середня цитотоксична (LC_{50} , μ М) дії цих сполук

Показ- ник	Лейкемі я	Недрібн. рак легень	Рак товстого кишеч.	Рак ЦНС	Мела- нома	Рак яєчників	Рак нирок	Рак простати	Рак молоч. залози	Серед. знач.
Сполука 2.22										
GI ₅₀	1.70	2.04	3.24	1.78	3.16	2.57	2.19	1.70	2.63	2.34
TGI	3.80	6.17	5.62	3.47	5.50	5.13	4.07	3.16	5.89	4.90
LC ₅₀	17.78	13.49	9.55	9.33	10.97	10.47	7.76	5.89	16.60	11.22
Сполука 2.24										
GI ₅₀	0.22	0.83	0.30	0.55	1.32	0.45	0.50	0.50	0.55	0.53
TGI	0.51	2.09	0.66	1.26	2.51	1.12	1.15	1.66	1.70	1.29
LC ₅₀	3.80	5.01	1.70	2.82	4.68	3.31	2.88	4.57	4.90	3.47
Сполука 2.25										
GI ₅₀	0.51	10.96	1.78	8.71	9.78	190.55	6.02	1.70	10.72	5.01
TGI	1.66	22.39	5.13	24.55	17.38	10.72	12.02	3.31	27.54	11.75
LC ₅₀	6.46	40.74	10.47	44.67	32.36	20.89	22.91	6.31	39.81	26.30
Сполука 2.26										
GI ₅₀	2.13	5.13	3.02	2.46	4.37	3.24	2.09	4.68	2.40	3.09
TGI	21.38	30.20	24.55	17.38	20.42	18.20	14.45	>100	8.91	19.50
LC ₅₀	>100	>100	67.61	46.77	37.15	45.71	50.12	>100	44.67	57.54
Сполука 2.27										
GI ₅₀	3.02	2.69	2.63	2.29	5.62	2.29	5.01	3.31	2.09	3.16

Показ- ник	Лейкемі я	Недрібн. рак легень	Рак товстого кишеч.	Рак ЦНС	Мела- нома	Рак яєчників	Рак нирок	Рак простати	Рак молоч. залози	Серед. знач.
TGI	14.45	25.70	33.11	14.45	56.23	20.89	24.55	>100	4.47	22.39
LC ₅₀	54.95	>100	64.57	38.91	70.80	64.57	69.18	>100	58.88	66.07
Сполука 2.30										
GI ₅₀	1.10	1.82	1.70	1.70	1.82	1.96	1.70	1.91	1.62	1.70
TGI	2.82	3.47	3.24	3.39	3.39	3.80	3.16	3.47	3.24	3.39
LC ₅₀	14.13	6.61	6.31	7.08	6.46	8.51	6.03	6.31	6.31	6.92
Сполука 2.31										
GI ₅₀	0.87	1.78	1.32	1.74	1.82	1.91	1.66	1.74	1.74	1.62
TGI	2.14	3.39	2.63	3.24	3.31	3.63	3.09	3.24	3.55	3.09
LC ₅₀	6.03	6.46	6.03	6.03	6.17	6.17	5.75	5.89	7.41	6.17
Сполука 2.32										
GI ₅₀	0.85	1.74	1.66	1.62	1.82	1.86	1.62	1.74	1.66	1.62
TGI	2.30	3.39	3.31	3.16	3.39	3.55	3.09	3.24	3.47	3.24
LC ₅₀	6.76	6.46	6.61	6.03	6.31	7.08	5.89	5.89	7.24	6.46
Сполука 2.33										
GI ₅₀	0.78	2.88	2.51	1.78	3.34	2.57	2.24	1.70	3.63	2.29
TGI	1.82	8.51	5.13	3.31	6.46	4.90	4.27	3.09	7.94	4.90
LC ₅₀	4.47	16.22	8.91	6.17	12.30	9.77	7.94	5.62	19.06	9.55

Показ- ник	Лейкемія	Недрібн. рак легень	Рак товстого кишеч.	Рак ЦНС	Мела- нома	Рак яєчників	Рак нирок	Рак простати	Рак молоч. залози	Серед. знач.
Сполука 2.34										
GI ₅₀	1.55	1.66	1.74	1.82	1.91	1.95	1.66	1.95	1.66	1.74
TGI	4.47	3.31	3.24	4.27	3.72	3.80	3.16	4.27	3.31	3.63
LC ₅₀	34.67	6.46	6.17	11.22	10.71	14.13	6.03	24.55	5.89	10.23

Результати протипухлинної активності показали, що присутність толільного фрагменту з електронодонорною метильною групою (сполука **2.24**) у положенні 2 оксазоло[4,5-*d*]піримідинової системи замість фенільної (сполука **2.22**) підвищує його протиракову активність більш ніж в 5 разів, тоді як заміна фенільної групи при С(5) на толільну (сполука **2.25**) зменшує активність на порядок (таблиці 2.6 та 2.9).

Протиракова активність оксазоло[4,5-*d*]піримідинів з 1,4-діазепановим фрагментом (GI₅₀, TGI та LC₅₀) зменшується в ряду: **2.31** $\approx$ **2.32** > **2.30** $\approx$ **2.34** > **2.33**. Сполуки **2.31** та **2.32** виявляли найвищу активність по відношенню до всіх досліджених підпанелей раку з найбільшою селективністю щодо підпанелі лейкемії (таблиця 2.9).

З метою подальшого дослідження впливу замісника в *n*-положенні фенільної групи при С(5) на протиракову активність оксазоло[4,5-*d*]піримідинів проведено скринінг сполук **2.45-2.47** на трьох лініях клітин – раку товстого кишечника, яєчників та молочної залози (табл. 2.10). Оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.45** з біфенільним замісником при С(5) проявив інгібіторну дію на три лінії ракових клітин в діапазоні 1.4 $\pm$ 0.3 – 5.3 $\pm$ 0.3 μ М. Сполука **2.46** з карбокиметильною групою в 4-положенні біфенільного фрагменту показала однакову активність щодо лінії раку товстого кишечника (НСТ-116) порівняно з

оксазолопіримідином **2.45** і втричі кращу активність щодо лінії раку яєчників (OVCAR3) та в шестеро кращу щодо лінії раку молочної залози (MDA-MB-231), що свідчить про важливість утворення водневих зв'язків 4-карбокисметильної групи з фрагментами біомішені. Введення атома Хлору в *n*-положення фенільного кільця при С(5) приводить до значного підвищення цитотоксичності оксазолопіримідину **2.47**, який порівняно зі сполуками **2.45** і **2.46** продемонстрував у 16 разів кращу інгібіторну дію щодо лінії раку товстого кишечника (HCT-116), близьку до сполуки **2.46** активність щодо ліній раку яєчників (OVCAR3) та молочної залози (MDA-MB-231). Таким чином, оксазоло[4,5-*d*]піримідини **2.46** і **2.47** показали вищу активність щодо ліній раку яєчників та молочної залози порівняно з контрольним препаратом доксорубіцином, що свідчить про важливу роль водневих та галогенних зв'язків в утворенні стабільного комплексу [Фарм-БіоМ].

Таблиця 2.10

Результати протиракового скринінгу сполук **2.45-2.49** на 3 лініях клітин раку

Інгібування росту ракових клітин IC ₅₀ , μM						
Клітинна лінія	Доксо-ру біцин	2.45	2.46	2.47	2.48	2.49
Рак товстого кишечника						
HCT-116	0.10±0.01	3.9±0.4	3.9±0.3	0.24±0.03	>100	>100
Рак яєчників						
OVCAR3	0.0021± 0.0004	5.3±0.3	1.8±0.3	1.7±0.2	>100	43±4
Рак молочної залози						
MDA-MB-231	0.36±0.03	1.4±0.3	0.24±0.05	0.21±0.03	>100	22±2

Введення арильних замісників в положення 7 гетероциклічної системи веде до зниження протипухлинної дії оксазолопіримідинів **2.48** і **2.49**.

2.2.2.2. Результати скринінгу протиракової активності оксазоло[5,4-*d*]піримідинів порівняно з їх ізомерами – оксазоло[4,5-*d*]піримідинами

З метою оцінки та порівняння біологічних властивостей проведено однодозовий скринінг (10^{-5} μ M) нових похідних оксазоло[5,4-*d*]піримідину **2.60-2.62**, функціонально ідентичних їх ізомерам **2.21**, **2.30** та **2.26** (таблиця 2.11). Встановлено, що сполука **2.60** показала близьку до ізомера **2.21** рістінгібуючу дію щодо ліній клітин лейкемії, меланоми та раку нирок; кращу активність по відношенню до ліній клітин A549/ATCC (недрібноклітинний рак легень), COLO-205 (рак товстого кишечника) та PC-3 (рак простати) і гіршу активність на лініях клітин NCI-H322M (недрібноклітинний рак легень), SF-539 (рак ЦНС), MDA-MB-468 (рак молочної залози). Речовина **2.61** продемонструвала близьку до ізомера **2.30** рістінгібуючу дію щодо лінії клітин A549/ATCC (недрібноклітинний рак легень); кращу активність по відношенню до лінії клітин MDA-MB-435 (меланома) та PC-3 (рак простати) і значно гіршу активність на лініях клітин SF-539 (рак ЦНС), OVCAR-4 (рак яєчників), UO-31 (рак нирок), MDA-MB-231 (рак молочної залози). Оксазоло[5,4-*d*]піримідин **2.62** з *N*-етилзаміщеним піперазином в положенні 7 порівнянно з ізомером **2.26** не виявив цитотоксичності на жодній з досліджених клітинних ліній.

Таблиця 2.11

Результати протиракового скринінгу сполук **2.60-2.62** при концентрації 10^{-5} M на 60 лініях клітин раку

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10^{-5} M (%)			
Клітинна лінія	2.60	2.61	2.62
Лейкемія			
HL-60(TB)	-49.58	-34.63	101.20
MOLT-4	-34.60	0.53	101.41
Недрібноклітинний рак легень			

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10⁻⁵ М (%)			
Клітинна лінія	2.60	2.61	2.62
A549/ATCC	-77.18	-38.79	104.93
NCI-H322M	81.98	93.69	93.54
Рак товстого кишечника			
COLO-205	-84.04	-79.18	108.48
KM12	-86.14	-74.74	105.10
Рак ЦНС			
SF-539	-39.98	76.30	96.90
U-251	-93.50	-90.88	105.85
Меланома			
MDA-MB-435	-93.74	-85.72	102.98
Рак яєчників			
OVCAR-3	-90.61	-69.80	111.21
OVCAR-4	-65.12	76.28	104.06
Рак нирок			
ACHN	-99.21	-53.47	99.69
UO-31	-91.56	51.05	93.68
Рак простати			
PC-3	-62.32	-27.25	99.55
DU-145	-63.16	-18.40	109.59
Рак молочної залози			
MDA-MB-231/ATCC	-81.01	-3.19	102.86
MDA-MB-468	-37.16	-52.90	103.32

Результати п'ятидозових випробувань оксазоло[4,5-*d*]піримідинів **2.30**, **2.31** та їх ізомерних аналогів **2.60**, **2.61** (таблиця 2.12) показали, що вони володіють близькою рістінгібіторною, цитостатичною та цитотоксичною діями, демонструючи кращий протипухлинний ефект порівняно з відомими

протираковими засобами – тамоксифеном, кризотинібом та акалабрутинібом, за винятком рістінгібуючої дії кризотинібу (1.55 μM), яка суттєво не відрізняється від оксазолопіримідинів (1.62-1.70 μM).

Таблиця 2.12

Середні значення дозозалежних параметрів протипухлинної активності на 60 лініях клітин раку (п'ятидозові випробування) оксазоло[4,5-*d*]піримідинів **2.21**, **2.30** і оксазоло[5,4-*d*]піримідинів **2.60**, **2.61** та відомих протиракових засобів:

тамоксифену (Т), кризотинібу (К) і акалабрутинібу (А)

Показник	2.21	2.30	2.60	2.61	Т	К	А
GI ₅₀ , μM	1.62	1.70	1,70	1,70	7.94	1.55	50.9
TGI, μM	3.31	3.39	3.39	3.39	25.11	6.46	98.9
LC ₅₀ , μM	12.88	6.92	7,94	7,94	63.10	21.38	100

Отже, протиракова активність похідних оксазолопіримідину суттєво залежить від природи замісників даної гетероциклічної основи. Так, оксазолопіримідини (**2.21-2.25**, **2.30-2.34**, **2.45-2.47**, **2.60-2.62**) з NH-незаміщеним піперазиновим або діазепановим фрагментом при С(7) проявляють значну рістінгібуючу активність ракових клітин *in vitro*. Заміщення атому гідрогену NH піперазину/діазепану на алкільні/сульфонільні угруповання (сполуки **2.26**, **2.27**, **2.50-2.55**) або ж заміна піперазину на арильні замісники (сполуки **2.48**, **2.49**) приводить до суттєвого зниження або повної втрати протипухлинної здатності сполук, що свідчить про важливість водневих зв'язків в утворенні комплексу ліганду з біомолекулою. Оксазоло[4,5-*d*]піримідини та їх ізомери – оксазоло[5,4-*d*]піримідини володіють близькими рістінгібуючою, цитостатичною і цитотоксичною діями та продемонстрували кращий протипухлинний ефект порівняно з відомими протираковими засобами – тамоксифеном, кризотинібом та акалабрутинібом.

2.2.3. Дослідження оксазолопіримідинів як перспективних інгібіторів аденозинкінази

Аденозинкіназа (АДК) є ключовим ферментом для регуляції рівня аденозину [204-206] та каталізує метаболізм аденозину через перетворення останнього до 5'-аденозинмонофосфату (АМФ). Фермент існує у двох ізоформах: довгій (ADK-L), яка локалізується в ядрі клітини та короткій (ADK-S), яка розміщується в цитоплазмі. З гіпер- або гіпоекспресією аденозинкінази пов'язані різні патологічні стани, включаючи травми головного мозку, епілепсію, судинні захворювання, рак та діабет.

Відомо, що рівень аденозину в тканинах і концентрація позаклітинного аденозину, які визначають ступінь активації рецептора аденозину, залежать від цитоплазматичної ізоформи аденозинкінази [207, 208]. Тоді як ядерна ізоформа АДК не залежить від рецепторів аденозину і може відігравати ключову роль у регуляції клітинної проліферації, як показано на β -клітинах підшлункової залози та кардіоміоцитах [209]. Очевидно, довга ізоформа АДК може зіграти важливу роль у біології раку. Таким чином, ядерна аденозинкіназа стала новою терапевтичною мішенню для використання певних ядерних функцій АДК, таких як взаємодія з mTOR [209]. Тому розробка нових терапевтичних засобів для вибіркової дії на певну ізоформу АДК наразі є актуальним і, водночас, складним завданням.

Як зазначалося раніше (див. підрозділ 1.1.2.3.2), серед похідних оксазоло[5,4-*d*]піримідину знайдені інгібітори аденозинкінази [21], тому пошук нових селективних інгібіторів АДК серед синтезованих нами оксазолопіримідинів стало важливим челенджем цієї роботи.

2.2.3.1. Супресорна дія оксазолопіримідинів як нових інгібіторів аденозинкінази на ріст ліній клітин нирок хом'яків (ВНК)

З метою вивчення механізму дії оксазолопіримідинів проводили дослідження активності трьох ізомерних оксазолопіримідинів **2.21**, **2.32** та **2.60** (рис. 2.8) на чотирьох лініях клітин нирок хом'яків з різними профілями ізоформ АДК та без них (рис. 2.9).

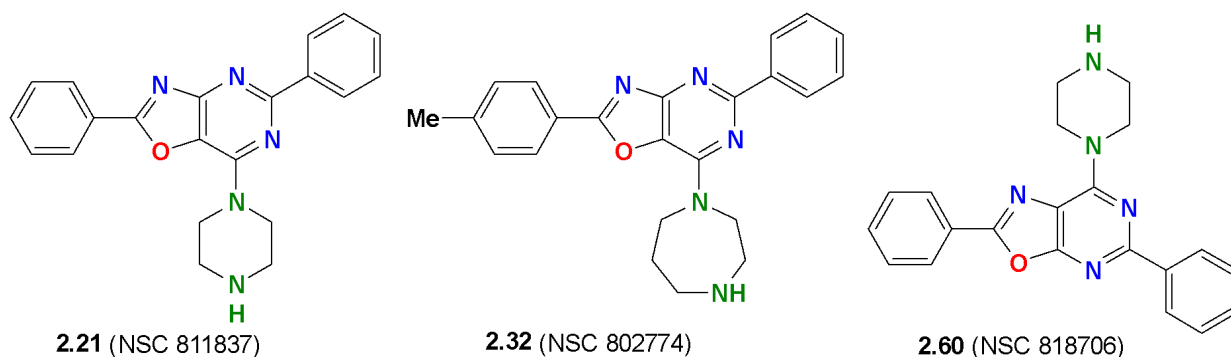


Рис. 2.8. Досліджені оксазоло[4,5-*d*]піримідини та оксазоло[5,4-*d*]піримідини.

Найбільш перспективною для подальших досліджень виявилась речовина **2.21**. Так, при її високих дозах – 100 мкМ і 30 мкМ спостерігалось пригнічення росту по всіх лініях клітин, однак при концентрації 10 мкМ сполука **2.21** проявила інгібіторну дію лише на клітини, які містили довгу форму ADK-L (рис. 2.10), таким чином демонструючи селективність щодо цієї ізоформи аденозинкінази.

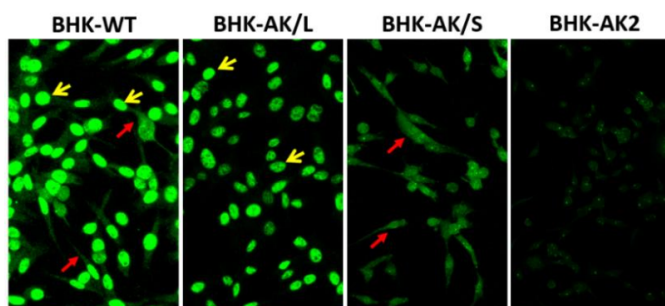


Рис. 2.9. Імунофлуоресцентне фарбування ліній клітин нирок хом'яків: BHK-WT (з обома ADK-L/S формами), BHK-AK/L (лише ізоформа ADK-L), BHK-AK/S (лише ізоформа ADK-S), і клітини BHK-AK2 (без жодної з ізоформ ADK).

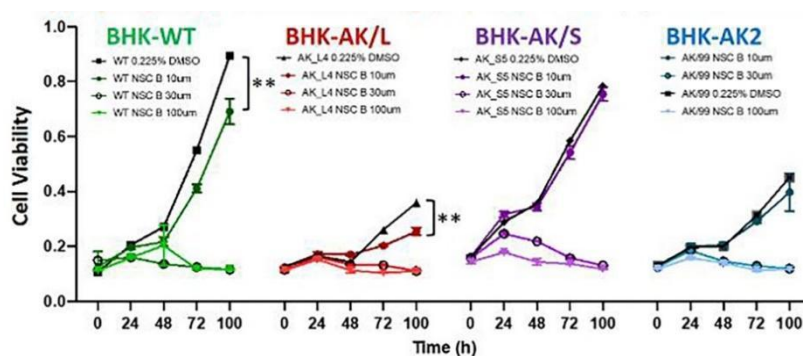


Рис. 2.10. Вплив оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.21** (NSC B) на ріст ліній клітин нирок хом'яків ВНК.

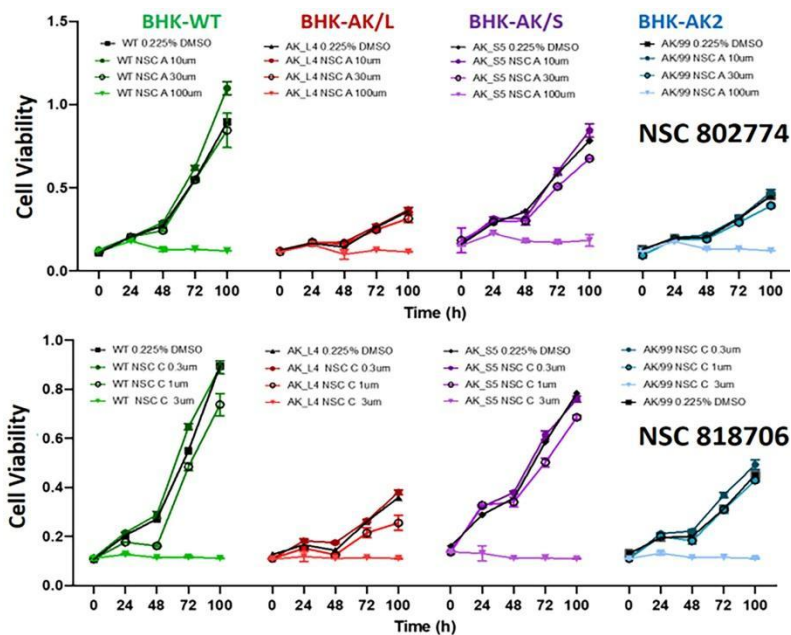


Рис. 2.11. Вплив оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.32** (NSC-802774) та оксазоло[5,4-*d*]піримідину **2.60** (NSC-818706) на ріст ліній клітин нирок хом'яків ВНК.

Оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.32** не виявляв ефекту пригнічення проліферації клітин при дозі 10 мкМ та 30 мкМ, а лише при високій концентрації (100 мкМ). Цікаво, що оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.60** продемонстрував вищу клітинну токсичність (навіть у дозі 3 мкМ) порівняно з похідними **2.21** та **2.32**, однак при менших дозах (0,3 мкМ та 1 мкМ) не виявляв пригнічувального ефекту і не мав специфічної дії на жодну з ізоформ АДК, порівняно з сполукою **2.21** (рис. 2.11).

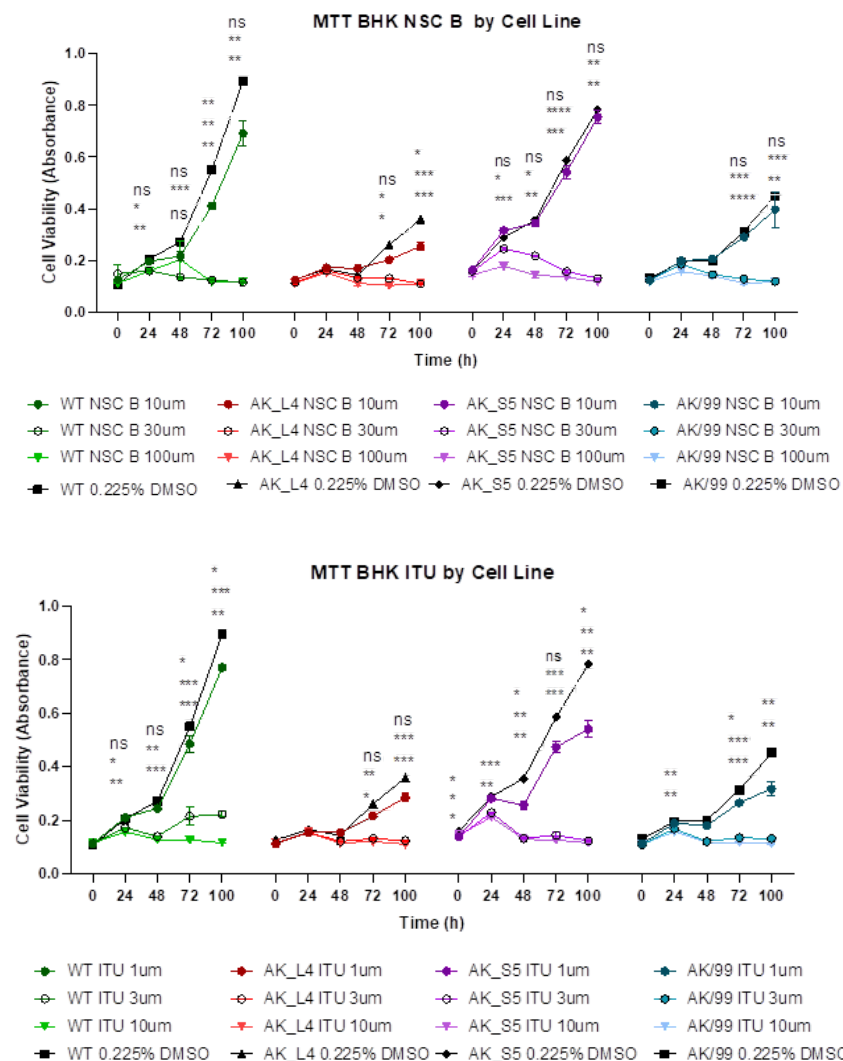


Рис. 2.12. Вплив оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.21** (NSC B) та 5-йодотуберцидином (ITU) на ріст ліній клітин нирок хом'яків ВНК.

Повторний МТТ-тест підтвердив селективність дії оксаолопіримідину **2.21** (NSC B) на лінію ВНК, що експресує АДК-L (АК-L4), порівняно зі звичайним інгібітором АДК 5-йодотуберцидином (5-ITU), який, окрім інгібування АДК-L та АДК-S, також продемонстрував повне пригнічення росту клітин лінії ВНК-АК2 (він же АК/99 на рис. 2.12 без жодної з ізоформ АДК), що вказує на неспецифічні ефекти за межами АДК. Сполука **2.21** не мала ефекту інгібування на лінії ВНК-АК2 (АК/99) при концентрації 10 μM , що свідчить про високоспецифічний клітинний ефект проти АДК. Таким чином,

оказолопіримідин **2.21** був відібраним для подальших досліджень на 4 лініях клітин гліобластоми, які мають різний рівень експресії ізоформ АДК.

2.2.3.2. Дослідження дії оксазолопіримідинів на життєздатність ліній клітин гліобластоми (GBM) з різним рівнем експресії ізоформ аденозинкінази

Рак є другою причиною смертності після серцево-судинних захворювань у всьому світі. Пухлини головного мозку по частоті займають п'яте місце серед пухлин інших локалізацій, поступаючись пухлинам шлунку, матки, легень і стравоходу. Гліобластома (GBM) є найбільш агресивним типом раку, який починається в головному мозку [210].

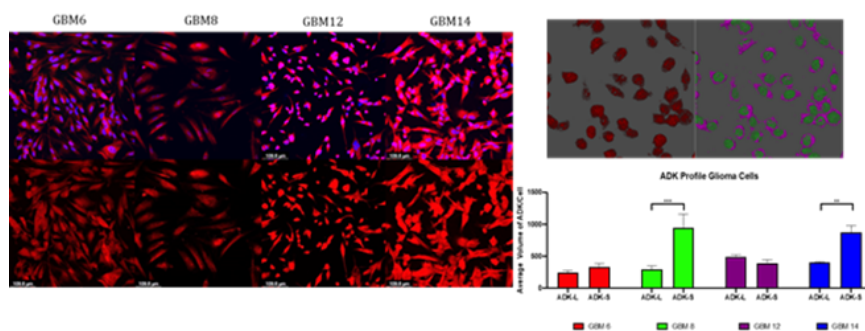


Рис. 2.13. Лінії клітин гліобластоми людини з різними профілями експресії ізоформ АДК: GBM6 (ADK-L<ADK-S), GBM8 (ADK-L<ADK-S), GBM12 (ADK-L>ADK-S) та GBM14 (ADK-L<ADK-S).

Проведено дослідження дії оказоло[4,5-*d*]піримідину **2.21** та відомого інгібітора АДК 5-йодотуберцидину на чотирьох відведених пацієнтом клітинних лініях гліобластоми (GBM6, 8, 12 та 14), які мають різні профілі експресії ізоформ АДК (див. рис. 2.13).

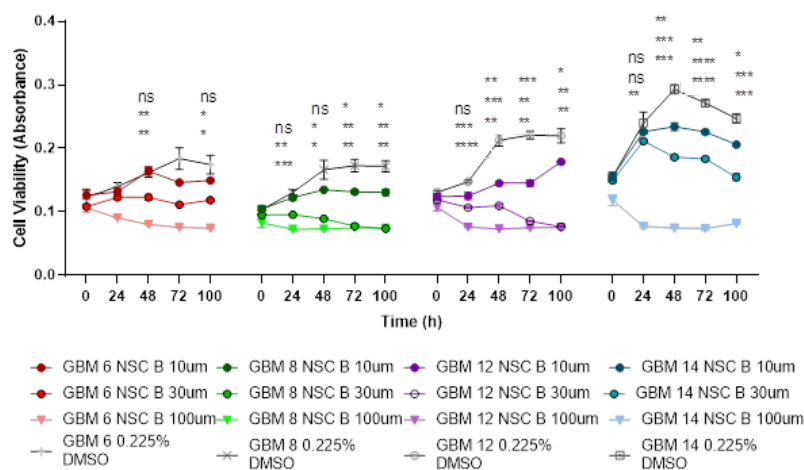


Рис. 2.14. Вплив оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.21** (NSC B) на ріст ліній клітин гліобластоми GBM.

Використовуючи ті самі концентрації речовин, що тестувались на клітинах ВНК, спостерігалось: (i) сполука **2.21** (NSC-B) ефективно пригнічувала усі 4 лінії GBM залежно від дози (рис. 2.14); (ii) остання (NSC-B) також продемонструвала більш значне пригнічення на лініях GBM12 та GBM14, які мають вищі рівні експресії ADK-L; (iii) 5-ITU, навпаки, показав менше інгібування росту ліній GBM6 та GBM8, при його менших дозах порівняно з речовиною NSC-B (рис. 2.15).

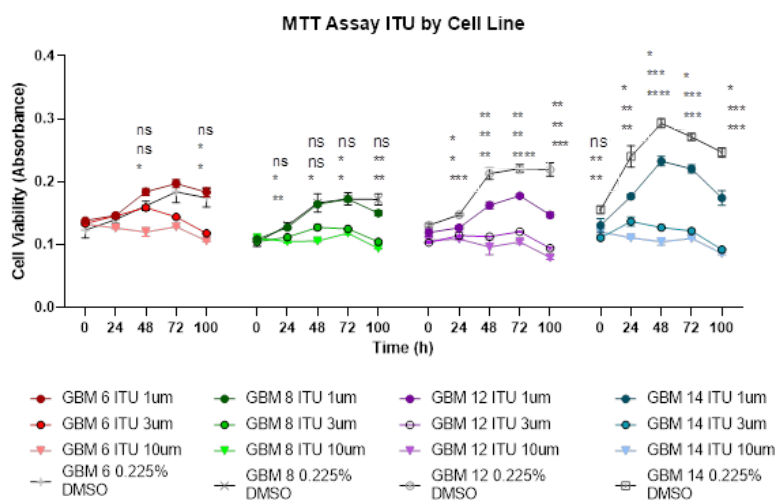


Рис. 2.15. Вплив 5-йодотуберцидину (ITU) на ріст ліній клітин
гліобластоми GBM

Ці дані підтверджують попередні відкриття, зроблені на лініях ВНК: оксазолопіримідин **2.21** володіє селективністю щодо ізоформи ADK-L, про що свідчить його сильніше інгібування ліній клітин GBM з вищим рівнем ADK-L.

**2.2.3.3. Результати молекулярного докінгу оксазолопіримідинів з
кристалами аденозинкінази**

Вивчення механізму інгібування аденозинкінази проводилось у відділі механізмів біоорганічних реакцій Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря за допомогою молекулярного докінгу сполук з кристалами АДК, представлених в таблиці 2.13.

Таблиця 2.13

Енергії зв'язування (ккал/моль) оксазолопіримідинів **2.21** (NSC B), **2.32** (NSC 802774) та **2.60** (NSC 818706) в південному (S) та північному (N) сайті зв'язування конформера рибози кристалів з банку даних білків (PDB)

Сполука	Ідентифікаційні коди кристалів з банку даних білків							
	1BX4		2I6A		2I6B		4O1L	
	Сайт зв'язування конформера рибози							
	Північ.	Півд.	Північ.	Півд.	Північ.	Півд.	Північ.	Півд.
NSC B	-8,9	-7,6	-4,8	-4,4	-5,9	-8,7	-8,4	-6,9
NSC 802774	-8,1	-7,5	-2,8	-3	-5,4	-9,4	-7	-5,9
NSC 818706	-9,1	-8,1	-4,7	-4,9	-5,6	-8,5	-8,7	-7,3

Докінг сполук проводився в сайті зв'язування південного (S) та північного (N) конформера рибози. Отримані результати в обох сайтах зв'язування рибози показали лише незначні відмінності в значеннях спорідненості, що не дає можливості вибрати бажаний сайт зв'язування. Однак слід зазначити, що лише у випадку південної (S) ділянки зв'язування конформеру рибози розташування

оксазолопіримідинів демонструвало суперпозицію (рис. 2.16). Ця суперпозиція була дуже схожою для всіх кристалів, за виключенням кристалів 2I6B. Загалом, результати докінгу показали, що зв'язування сполук **2.21** та **2.60** було кращим, ніж зв'язування оксазолопіримідину **2.32**, тоді як зв'язування ізомерного похідного **2.60** було кращим, ніж зв'язування сполуки **2.21**. Однак у випадку кристала 2I6B зв'язування **2.32** було кращим, ніж зв'язування **2.21** та **2.60**.

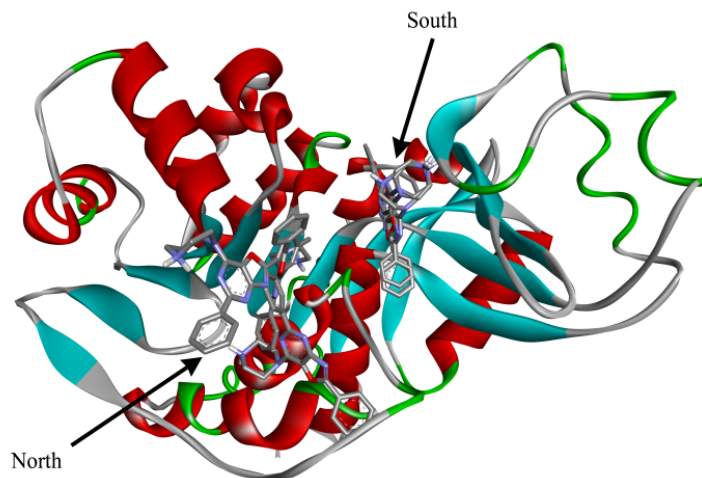


Рис. 2.16. Моделі зв'язування сполук NSC B, NSC 802774 та NSC 818706 в північному (N) та південному (S) сайтах конформера рибози кристалу 2I6B

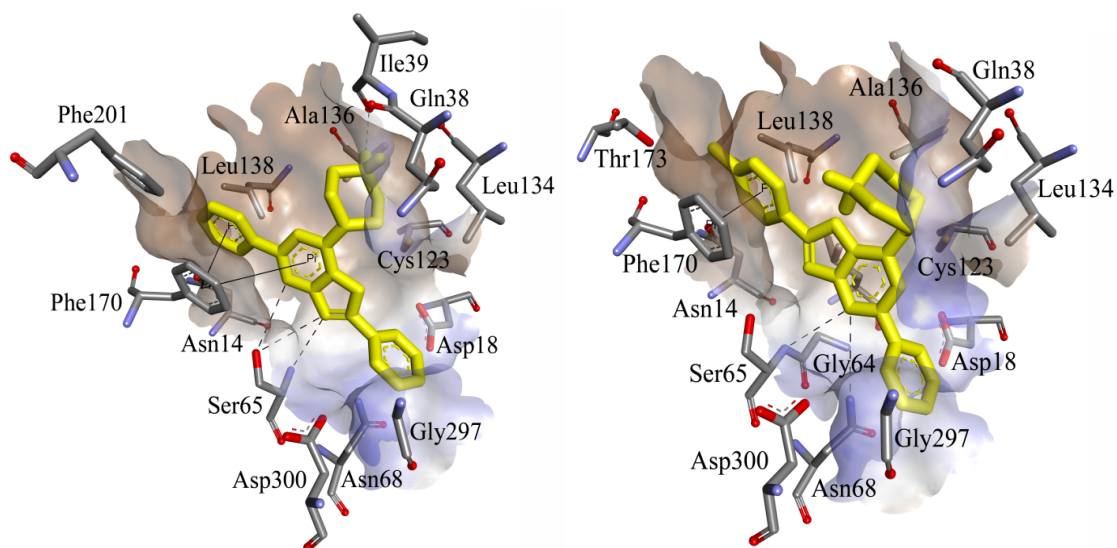


Рис. 2.17. Можливі моделі зв'язування сполук **2.21** (NSC B, зліва) та **2.32** (NSC 802774, справа) в південному сайті конформера рибози кристалу 2I6B

Результати молекулярного докінгу досліджуваних оксазолопіримідинів в південній ділянці кристалу 2I6V (рис. 2.17, 2.18) вказують на зв'язування в активному сайті, в основному, за рахунок π -стекової взаємодії, водневих зв'язків та гідрофобних взаємодій. Знайдено, що π -стекові взаємодії можливі між фенільними замісниками при C(5) сполук **2.21**, **2.60** (рис. 2.17 зліва, рис. 2.18) або

n-толільною групою при C(2) сполуки **2.32** (рис. 2.17, справа) та залишком Phe170. Водневі зв'язки можуть утворюватися між карбонільною групою основного поліпептидного ланцюга Ile39 та NH піперазинового фрагменту сполук **2.21** і **2.60**, OH-групою бічного ланцюга Ser65 та атомами нітрогену піримідинового кільця сполук **2.21** і **2.60**, NH групою основного ланцюга Ser65 та атомом нітрогену оксазольного циклу речовини **2.21**, або піримідинового кільця сполуки **2.32**, атомом оксигену оксазольного циклу у випадку речовини **2.60**. Водневі зв'язки також можливі між NH групою бічного ланцюга Asn68 та атомом нітрогену піримідинового кільця сполуки **2.32** або атомом оксигену оксазольного циклу речовини **2.60**. Таким чином, всі три похідні оксазолопіримідину по-різному можуть зв'язуватися з одними й тими ж залишками амінокислот.

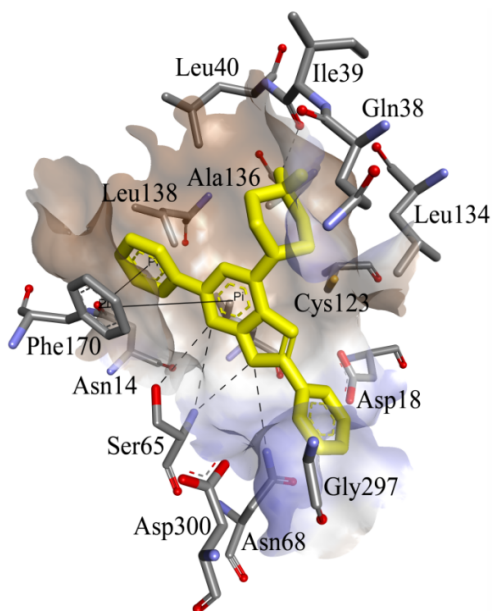


Рис. 2.18. Можлива модель зв'язування сполуки **2.60** (NSC 818706) в південному сайті конформера рибози кристалу 2I6B

2.2.4. Дослідження протівірусної активності оксазоло[4,5-*d*]піримідинів

В останні десятиліття посилене використання імуносупресорної терапії в поєднанні з вищими показниками виживання у пацієнтів, які проходять лікування в такий спосіб, призвело до збільшення популяції зі значними дефектами імунної системи [211, 212]. Пацієнти, які отримують імуносупресори, мають підвищений ризик розвитку реактивації прихованих або субклінічних вірусних інфекцій (так званих вірусних опортуністичних інфекцій), найпоширенішими з яких є цитомегаловірус людини (HCMV), вірус вітряної віспи (VZV), вірус простого герпесу (HSV), вірус папіломи людини (HPV) і ВК вірус (BKV) [213]. Опортуністичні інфекції найчастіше трапляються в перші кілька місяців після початку імунодефіциту і є основними причинами захворюваності та смертності серед таких пацієнтів. Показано, що профілактика та раннє лікування вірусних інфекцій покращують якість та тривалість життя людей, в яких є порушення імунітету. Розробка ефективних препаратів для

профілактики та лікування вірусних опортуністичних інфекцій має надзвичайно важливе значення для продовження життя пацієнтів з імунодефіцитом.

Біциклічні ароматичні конденсовані гетероцикли, до яких належать синтезовані речовини, є добре відомими фармакофорами у розробці нових лікарських препаратів. Похідні оксазолу та піримідину, а також їх конденсовані гетероцикли проявляють широкий спектр протівірусної активності [214, 215], включаючи опортуністичні віруси [195, 216]. Однак оксазоло[4,5-*d*]піримідини, на відміну від оксазоло[5,4-*d*]піримідинів, були синтезовані в обмеженій кількості, що призвело до браку біологічних досліджень [217].

2.2.4.1. Результати *in vitro* досліджень протівірусної активності оксазоло[4,5-*d*]піримідинів

Активність 19 похідних оксазолопіримідину (рис. 2.19) щодо HCMV, VZV, HSV, HPV та BKV оцінювали за допомогою протівірусного скринінгу *in vitro*. Дані, отримані під час вивчення протівірусної активності досліджуваних сполук, поряд із позитивним контролем щодо кожного вірусу, наведені в таблиці 2.14.

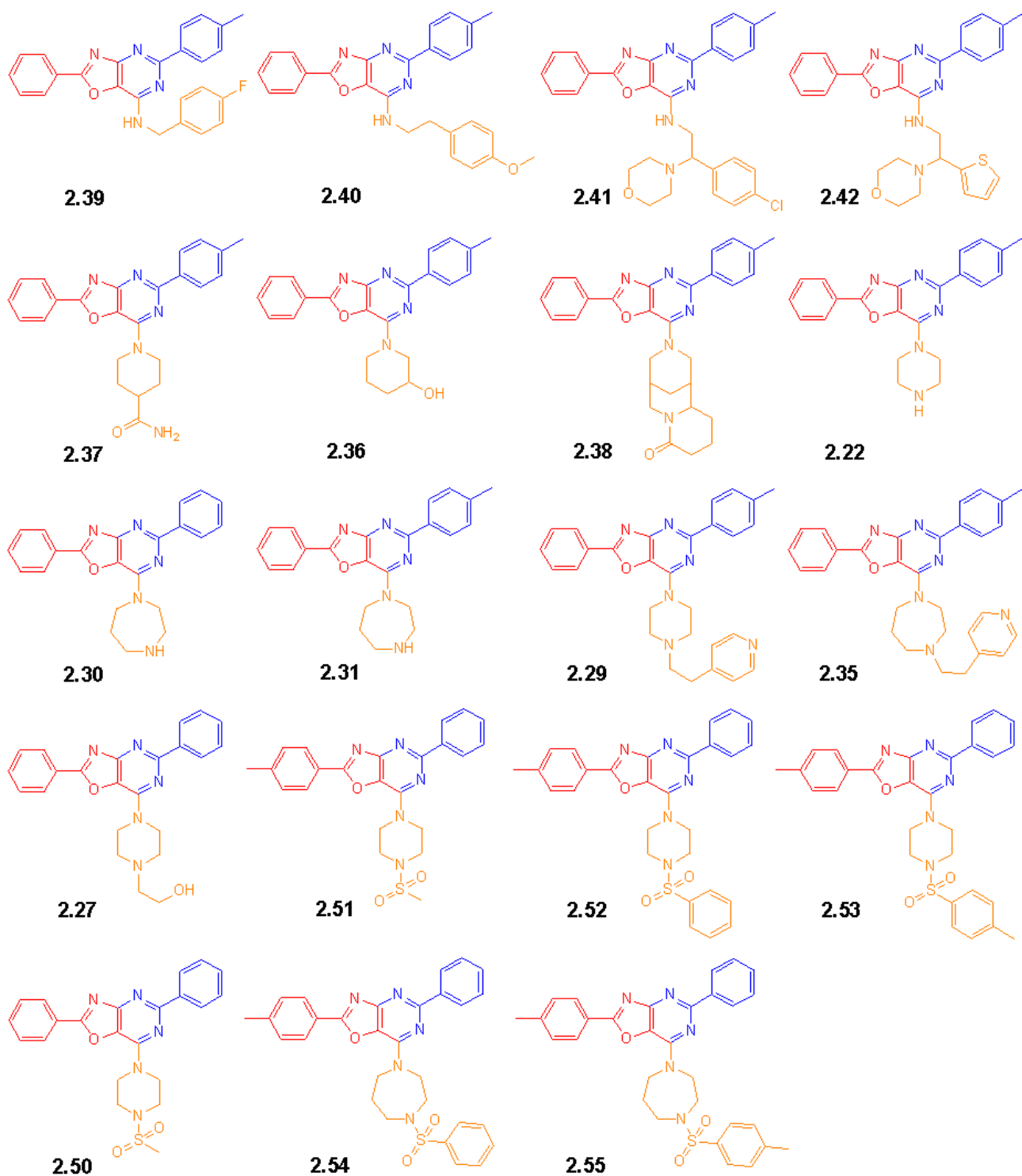


Рис. 2.19. Досліджені похідні оксазоло[4,5-*d*]піримідину.

Аналізуючи отримані результати, сполука **2.42** – єдиний представник оксазолопіримідинів, який проявив протівірусну активність (BKV EC₅₀ = 0,22 μM, SI₅₀ = 85), проте повторне тестування за допомогою вторинного аналізу не

підтвердило його ефективність ($EC_{50} = 15,12 \mu M$, $SI_{50} = 2$). Решта сполук не демонстрували сприятливої противірусної дії. Варто зауважити, що значення CC_{50} вказують на високий ступінь цитотоксичності більшості випробуваних сполук.

Таблиця 2.14

In vitro активність похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину в первинному аналізі щодо досліджуваних вірусів та цитотоксичність клітин

Сполука	EC_{50}	EC_{90}	CC_{50}	SI_{50}	SI_{90}
Цитомегаловірус людини					
2.39	>6,00	>6,00	13,79	<2	<2
Ганцикловір	1,10	>150,00	>150,00	>137	1
2.40	>1,20	>1,20	4,83	<4	<4
2.41	>6,00	>6,00	20,63	<3	<3
2.42	>1,20	>1,20	5,82	<5	<5
2.37	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.36	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.38	>30,00	>30,00	91,42	<3	<3
2.29	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.35	>1,20	>1,20	3,14	<3	<3
Ганцикловір	0,68	141,52	>150,00	>219	>1
2.22	>6,00	>6,00	18,13	<3	<3
2.31	>30,00	>30,00	92,21	<3	<3
2.50	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.54	>30,00	>30,00	105,32	<4	<4

Сполука	EC ₅₀	EC ₉₀	CC ₅₀	SI ₅₀	SI ₉₀
2.55	>1,20	>1,20	3,05	<3	<3
2.51	114,11	>150,00	>150,00	>1	1
2.52	>30,00	>30,00	88,41	<3	<3
2.53	>30,00	>30,00	96,24	<3	<3
Ганцикловір	0,94	>150,00	>150,00	>159	1
Вірус вітряної віспи					
2.39	>1,20	>1,20	3,76	<3	<3
2.41	>30,00	>30,00	37,54	<1	<1
2.42	>6,00	>6,00	21,47	<4	<4
2.37	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.36	62,07	109,73	>150,00	>2	>1
2.38	>30,00	>30,00	87,35	<3	<3
Ацикловір	3,28	22,29	>150,00	>46	
2.40	>6,00	>6,00	16,88	<3	<3
2.22	>6,00	>6,00	18,06	<3	<3
2.31	>30,00	>30,00	87,08	<3	<3
2.29	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.35	>1,20	>1,20	3,64	<3	<3
2.50	81,07	141,75	>150,00	>2	>1
2.54	>30,00	>30,00	100,07	<3	<3
2.55	>1,20	1,20	3,16	<3	<3
Ацикловір	2,25	20,38	>150,00	>67	>7

Сполука	EC ₅₀	EC ₉₀	CC ₅₀	SI ₅₀	SI ₉₀
2.51	139,62	>150,00	>150,00	>1	1
2.52	>30,00	>30,00	73,83	<2	<2
2.53	>6,00	>6,00	16,94	<3	<3
Ацикловір	2,25	20,38	>150,00	>67	>7
BK вірус					
2.40	>6,00	>6,00	17,19	<3	<3
2.41	3,51	>6,00	23,53	7	<4
2.42	0,22	4,94	18,64	85	4
2.22	2,41	5,94	19,40	8	3
2.31	>30,00	>30,00	77,00	<3	<3
2.29	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.35	>1,20	>1,20	5,32	<4	<4
2.51	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.52	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
2.53	>30,00	>30,00	86,07	<3	<3
2.50	119,82	>150,00	>150,00	>1	1
2.54	>30,00	>30,00	93,31	<3	<3
2.55	>1,20	>1,20	5,27	<4	4
Цидофовір	0,24	9,53	>150,00	>600	>16
2.30	>1,20	>1,20	5,68	<5	<5
2.27	>1,20	>1,20	3,60	<3	<3
Цидофовір	4,62	54,50	>150,0	>32	>3
Вірус простого герпесу 1					

Сполука	EC ₅₀	EC ₉₀	CC ₅₀	SI ₅₀	SI ₉₀
2.39	>1.20	>1.20	4.04	<3	<3
2.40	>1.20	>1.20	4.80	<4	<4
2.41	>6.00	>6.00	19.62	<3	<3
2.42	>6.00	>6.00	17.53	<3	<3
2.37	>150.00	>150.00	>150.00	1	1
2.36	>150.00	>150.00	>150.00	1	1
2.38	>30.00	>30.00	77.65	<3	<3
Ацикловір	0.72	1.13	>150.00	>208	>133
2.22	>6.00	>6.00	16.19	<3	<3
2.31	>30.00	>30.00	88.77	<3	<3
2.29	>30.00	>30.00	110.00	<4	<4
2.35	>1.20	>1.20	2.96	<2	<2
2.51	>150.00	>150.00	>150.00	1	1
2.52	>30.00	>30.00	78.34	<3	<3
2.53	>6.00	>6.00	15.92	<3	<3
2.50	>150.00	>150.00	>150.00	1	1
2.54	>30.00	>30.00	117.00	<4	<4
2.55	>1.20	>1.20	3.32	<3	<3
Ацикловір	0.78	19.37	>150.00	>193	>8
Вірус папіломи людини 11					
2.22	>6.00	>6.00	18.01	<3	<3
2.52	>150.00	>150.00	>150.00	1	1

Сполука	EC ₅₀	EC ₉₀	CC ₅₀	SI ₅₀	SI ₉₀
9-[2-(фосфоно-метокси)етил]гуанін	1.72	>150.00	>150.00	>87	1

Таким чином, зменшення токсичності та збільшення протівірусної активності шляхом подальшої модифікації замісників досліджуваних похідних оксазолопіримідину є основним завданням наступного синтезу з метою підвищення їх протівірусної ефективності.

2.2.4.2. Дослідження механізму протівірусної активності оксазоло[4,5-*d*]піримідинів за допомогою молекулярного докінгу

Сигнальна активність похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину представлена лише у великій базі даних нових терапевтичних засобів, які інгібують, регулюють та модулюють активність компонентів шляху PI3K/AKT/mTOR [7]. Цей шлях, компоненти якого беруть участь у регуляції сплайсингу, трансляції та виживання клітин пре-мРНК, розглядається як перспективна мішень для розробки нових протівірусних агентів [218, 219]. Основна діяльність шляху PI3K/AKT/mTOR забезпечує виживання клітин, тоді як інактивація сигналізації PI3K/AKT/mTOR призводить до апоптозу [220]. Зокрема, відомо, що HCMV [221], HSV-1 [222], VZV [223], BKV [224] та HPV [225] блокують або запобігають ініціації смерті клітини господаря за допомогою своїх внутрішніх сигнальних механізмів. Оскільки сигнальний шлях клітини господаря PI3K/AKT/mTOR відіграє вирішальну регуляторну роль у загибелі клітин, не виключено, що похідні оксазоло[4,5-*d*]піримідину також можуть виявляти протівірусну активність, інгібуючи цей шлях. Крім того, активність оксазоло[5,4-*d*]піримідину, каркас якого є ізомером оксазоло[4,5-*d*]піримідину, також, ймовірно, пов'язана з активацією сигнального шляху, що веде до апоптозу клітин [226]. Для зараженого вірусом організму апоптоз клітин з подальшою фагоцитарною елімінацією є ефективним протівірусним інструментом [227].

Слід також зазначити, що оскільки всі похідні оксазоло[4,5-*d*]піримідину, представлені у вищезазначеній базі даних, на відміну від представлених тут, містять залишок морфоліну, дуже ймовірно, що досліджувані сполуки можуть взаємодіяти з різними компонентами проапоптичного шляху, як показано для похідних оксазоло[5,4-*d*]піримідину [226], або, крім того, з компонентами інших сигнальних шляхів, які регулюють життєвий цикл клітини. Однак усі ці очевидні припущення потребують експериментальної перевірки. У разі підтвердження проапоптичного механізму дії цих сполук функціоналізація повинна бути спрямована на підвищення їх селективності щодо заражених клітин. Наявність сполук із підвищеною селективністю (**2.41**, **2.22**), які показали ефективність проти ВКВ, дозволяє сподіватися, що цей підхід не зазнає невдачі.

Таблиця 2.15.

Розрахункові енергії зв'язування оксазоло[4,5-*d*]піримідинів **2.41** та **2.22** у сайті зв'язування АТФ PI3K γ , AKT1 та mTOR (PDB IDs: 2A5U, 3MVH та 4JT5).

Сполука	Афінність, ккал/моль		
	PI3K γ	AKT1	mTOR
2.41	-9.9	-10.0	-10.2
2.22	-9.6	-9.3	-9.6

Використовуючи підхід молекулярного докінгу, похідні оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.41** та **2.22** оцінювали як потенційні АТФ-конкурентні ліганди PI3K γ , AKT1 та mTOR. Дослідження проводилися за допомогою програмного забезпечення AutoDock Vina [228]. Отримані енергії зв'язування свідчили про хорошу спорідненість сполук до АТФ-зв'язуючих ділянок цих ферментів (табл. 2.15). Для порівняння, редокінг співкристалізованих лігандів AS-605240 [229], похідного піролопіримідину [230], та PP242 [231] до ділянки зв'язування АТФ PI3K γ , AKT1 або mTOR показав енергію зв'язування -9.8, -9.9 та -8.7 ккал/моль відповідно.

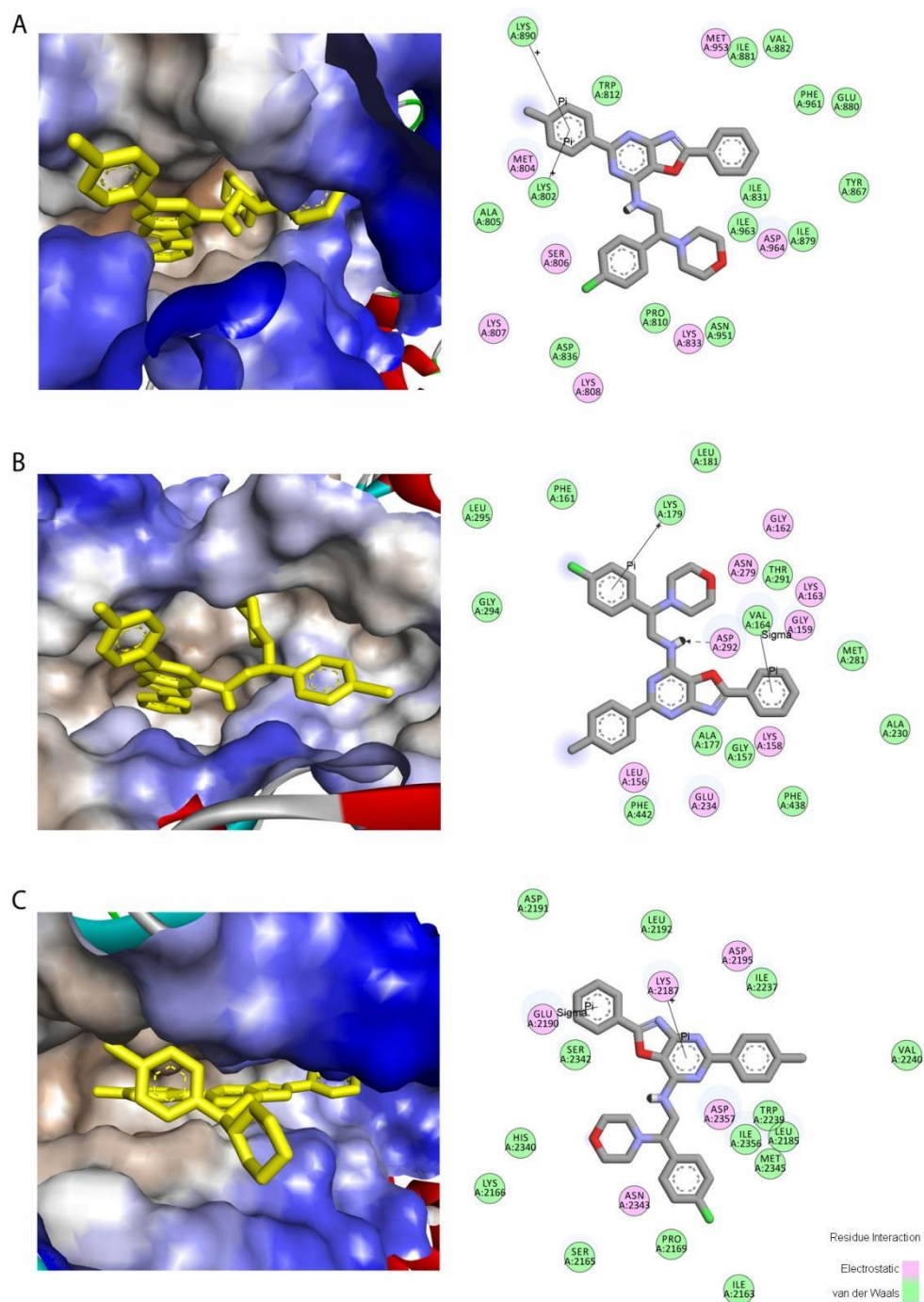


Рис. 2.20. Графічне представлення моделей зв'язування оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.41** в сайтах зв'язування АТФ: РІЗК γ (А), АКТ1 (В) та mTOR (С).

Графічне представлення моделей зв'язування оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.41** з РІЗК γ , АКТ1 та mTOR зображено на рис. 2.20. Подібне зв'язування

спостерігалось також для похідного оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.22**. Відповідно до отриманих результатів 2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідиновий фрагмент сполуки **2.41** займає положення аденозин-рибозної частини в АТФ-зв'язуючих ділянках РІЗКγ та АКТ1, тоді як замісник у положенні 7 каркасу знаходиться в зоні зв'язування трифосфатів. Положення ліганду в модельних комплексах з РІЗКγ та АКТ1 стабілізується головним чином за рахунок електростатичних та ван-дер-ваальсівських взаємодій з оточеними залишками амінокислот.

У порівнянні з РІЗКγ та АКТ1, оксазоло[4,5-*d*]піримідин **2.41** продемонстрував інше зв'язування в активному центрі mTOR. У цьому випадку *n*-толільний фрагмент сполуки **2.41** знаходиться поблизу сайту зв'язування аденозин-рибози, тоді як замісник при С(7) близький до амінокислотних залишків, які відповідають за зв'язування трифосфатного фрагмента АТФ.

Однак в *in silico* експериментах не виявлено відповідності між енергією зв'язування та протівірусною активністю щодо ВК вірусу для деяких протестованих оксазоло[4,5-*d*]піримідинів (активні сполуки **2.41**, **2.22** та неактивні сполуки **2.29**, **2.50**, **2.51**, **2.52**). Це спостереження, а також виявлення того, що всі сполуки цієї групи можуть бути легко розміщені в сайтах зв'язування АТФ, вказує на те, що інші протеїнкінази також можуть розглядатися як їх можливі мішені.

Таким чином, під час реалізації даного етапу дослідження шляхом синтезу та функціоналізації різними методами було отримано 35 нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину з різноманітними амінними та арильними замісниками в положенні 7 і арильними та біарильними фрагментами в положенні 5 гетероциклічної системи, а також п'ять нових представників оксазоло[5,4-*d*]піримідину, функціонально ідентичних їхнім ізомерним похідним.

При проведенні теоретичного *in silico* аналізу взаємодії між молекулами фармакофорів на основі біциклічних азотистих гетероциклів з біомолекулами встановлено, що крім гідрофобної взаємодії стабілізацію комплексів [Фарм_BioM] забезпечують стекова взаємодія π -системи молекул біциклічних азотистих гетероциклів з π -системою пептидного зв'язку та ароматичних залишків амінокислот в поліпептидних ланцюгах та водневі зв'язки між неподіленими парами двохкоординованого атома нітрогену та функціональними $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ групами амінокислот і (ди)пептидним зв'язком.

Результати протиракового скринінгу на 60 ліній ракових клітин показали, що оксазолопіримідини з NH-незаміщеним піперазиновим або 1,4-діазепановим замісником при C(7) проявляють значну рістінгібуючу активність клітин пухлин. Заміщення атому гідрогену в NH фрагменті цих груп на інші угруповання (алкільні або сульфонільні); введення в положення 7 оксазолопіримідинів фрагменту піперидину або арильних замісників веде до суттєвого зниження або втрати протипухлинної здатності цих сполук. Оксазоло[4,5-*d*]піримідини та їх функціональноідентичні ізомерні похідні, оксазоло[5,4-*d*]піримідини, володіють близькою рістінгібуючою, цитостатичною і цитотоксичною дією.

Під час вивчення механізмів дії похідних оксазолопіримідину винайдено новий інгібітор аденозинкінази, який селективно діє на довгу ізоформу даного ферменту – 2,5-дифеніл-7-піперазиноксазоло[4,5-*d*]піримідин.

При проведенні первинного противірусного аналізу знайдено, що *N*-(2-морфоліно-2-(тіофен-2-ил)етил)-5-(4-метоксифенетил)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-амін володіє селективною дією щодо ВК-вірусу із значенням $\text{EC}_{50} = 0,22$ мкМ та $\text{SI}_{50} = 85$ мкМ, що свідчить про перспективність пошуку сполук з противірусним потенціалом серед даних гетероциклів.

РОЗДІЛ 3

СИНТЕЗ, *IN SILICO* ТА *IN VITRO* ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ПОХІДНИХ ПІРАЗОЛО[1,5-*a*][1,3,5]ТРИАЗИНУ

Піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини – клас гетероциклічних основ, які являються 5-азаізостерами пурину. Ця гетероциклічна система продемонструвала великий потенціал у розвитку інгібіторів різних кіназ, фосфодієстерази, ксантиноксидази та тимідинфосфорилази, антагоністів аденозинових, канабіноїдних і кортикотропін-вивільняючих гормональних рецепторів, протиракових та противірусних засобів, ставши, таким чином, привілейованим каркасом в медичній хімії. Очікується, що успіх у розробці нових біоактивних сполук, сконструйованих з використанням цієї гетероциклічної платформи, буде продовжувати зростати.

3.1. Одержання нових похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

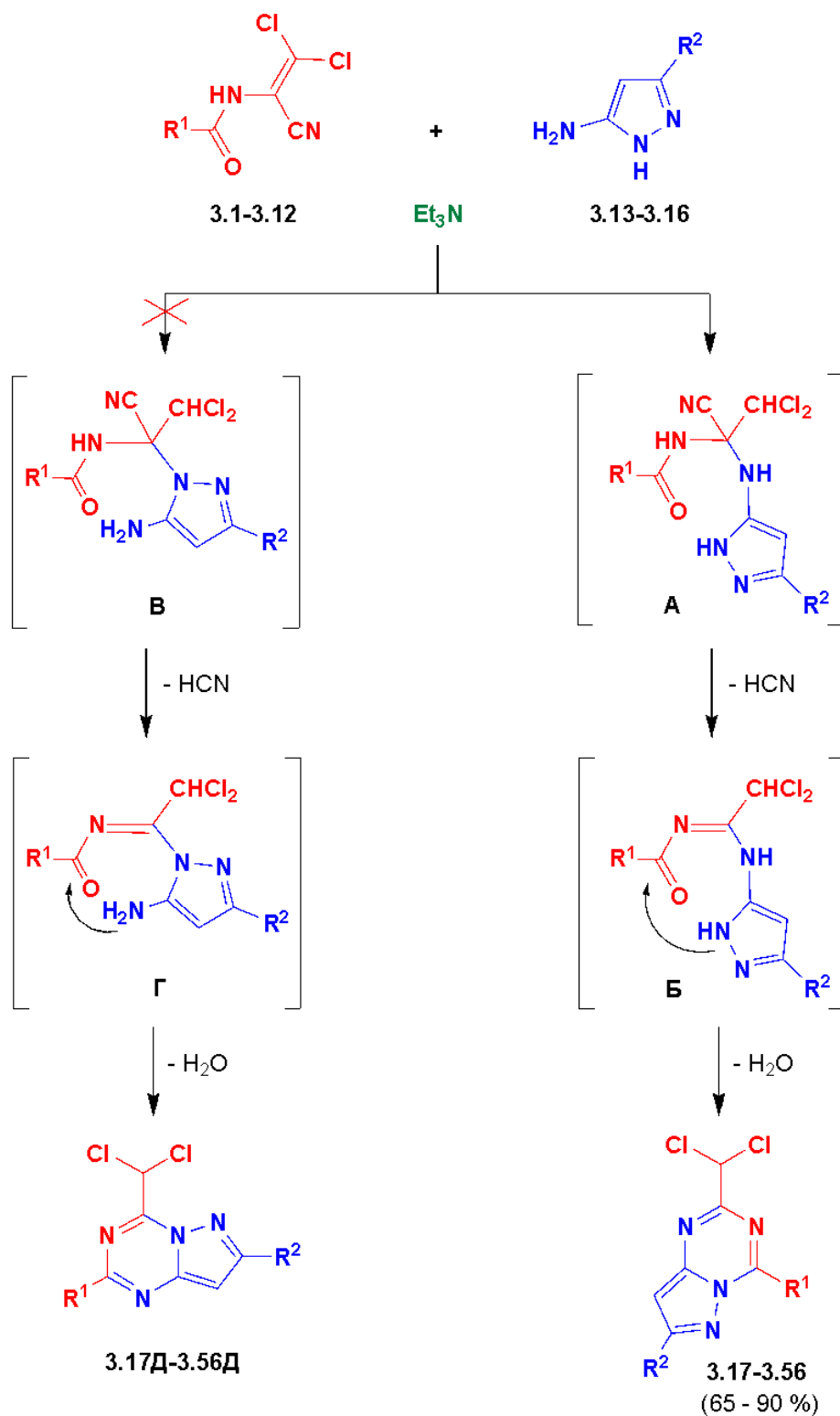
Існує велике різноманіття синтетичних підходів (див. пірозділ 1.2.1) до одержання піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинового скаффолду, найпопулярніший з яких являється стратегія анелювання 1,3,5-триазинового кільця до піразольного циклу. В рамках даного підходу, нами вперше розроблено оригінальний метод синтезу нових раніше невідомих 2-дихлорометилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину на основі взаємодії дихлороакрилонітрилів

3.1-3.12 з

5-амінопіразолами **3.13-3.16**. Ймовірно, під час реакції спочатку утворюються інтермедіати **A**, як результат приєднання первинної аміногрупи піразолів до α -атома Карбону енамідів. Відщеплення молекули ціановодню під впливом триетиламіну дає другий проміжний продукт **B**, внутрішньомолекулярна циклоконденсація якого приводить до утворення кінцевих сполук **3.17-3.57** (схема 3.1). Але не можна було виключити одержання ізомерних форм

3.17-3.57Д. Їх утворення передбачає атаку ендоеиклічним атомом азоту піразолу α -атома карбону енамїду з утворенням проміжних сполук **В** та **Г**.

Схема 3.1



№	R ¹	R ²	№	R ¹	R ²
---	----------------	----------------	---	----------------	----------------

3.17	Me	Me	3.37	4-FC ₆ H ₄	Me
3.18	Me	Ph	3.38	4-FC ₆ H ₄	Ph
3.19	Me	4-MeC ₆ H ₄	3.39	4-FC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄
3.20	Me	4-FC ₆ H ₄	3.40	4-FC ₆ H ₄	4-FC ₆ H ₄
3.21	<i>t</i> -Bu	4-MeC ₆ H ₄	3.41	4-ClC ₆ H ₄	Me
3.22	<i>t</i> -Bu	4-FC ₆ H ₄	3.42	4-ClC ₆ H ₄	Ph
3.23	Ph	Me	3.43	4-ClC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄
3.24	Ph	Ph	3.44	4-ClC ₆ H ₄	4-FC ₆ H ₄
3.25	Ph	4-MeC ₆ H ₄	3.45	2-фураніл	Me
3.26	Ph	4-FC ₆ H ₄	3.46	2-фураніл	Ph
3.27	2-MeC ₆ H ₄	Ph	3.47	2-фураніл	4-MeC ₆ H ₄
3.28	4-MeC ₆ H ₄	Me	3.48	2-фураніл	4-FC ₆ H ₄
3.29	4-MeC ₆ H ₄	Ph	3.49	2-тієніл	Me
3.30	4-MeC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄	3.50	2-тієніл	Ph
3.31	4-MeC ₆ H ₄	4-FC ₆ H ₄	3.51	2-тієніл	4-MeC ₆ H ₄
3.32	4-MeOC ₆ H ₄	Me	3.52	2-тієніл	4-FC ₆ H ₄
3.33	4-MeOC ₆ H ₄	Ph	3.53	3-піридиніл	Me
3.34	4-MeOC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄	3.54	3-піридиніл	Ph
3.35	4-MeOC ₆ H ₄	4-FC ₆ H ₄	3.55	3-піридиніл	4-MeC ₆ H ₄
3.36	2-FC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄	3.56	3-піридиніл	4-FC ₆ H ₄

Для встановлення будови продуктів використовували різні фізико-хімічні методи аналізу, зокрема, елементний аналіз, ЯМР та ІЧ спектроскопії, а також мас-спектрометрію.

Згідно спектру ЯМР ¹H (рис. 3.1) наявні всі необхідні сигнали протонів піразолотриазинів **3.19Д** та **3.19**, причому протон дихлорометильної групи проявляється у вигляді синглету при 7.39 м.ч., протони метильної групи, які проявляються при 2.98 м.ч., свідчать, що остання зв'язана з сильноакцепторним замісником.

У спектрі ЯМР ¹H ізомеру **3.28Д** або **3.28** (рис. 3.2) присутні смуги протонів двох метильних груп зі значеннями 2.4-2.5 м.ч., а також ароматичних протонів.

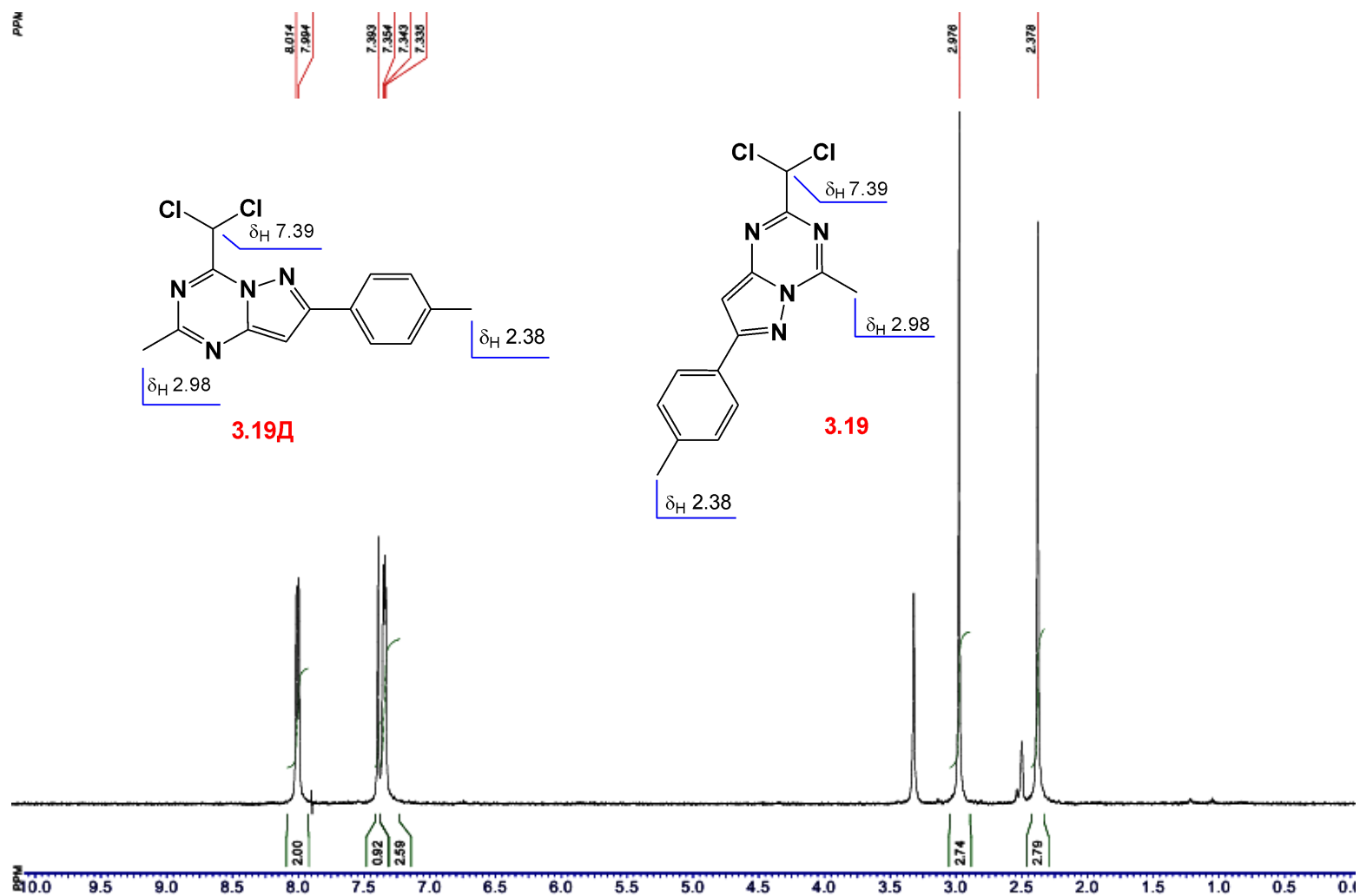


Рис. 3.1. Спектр ЯМР ^1H піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.19** або **3.19Д**

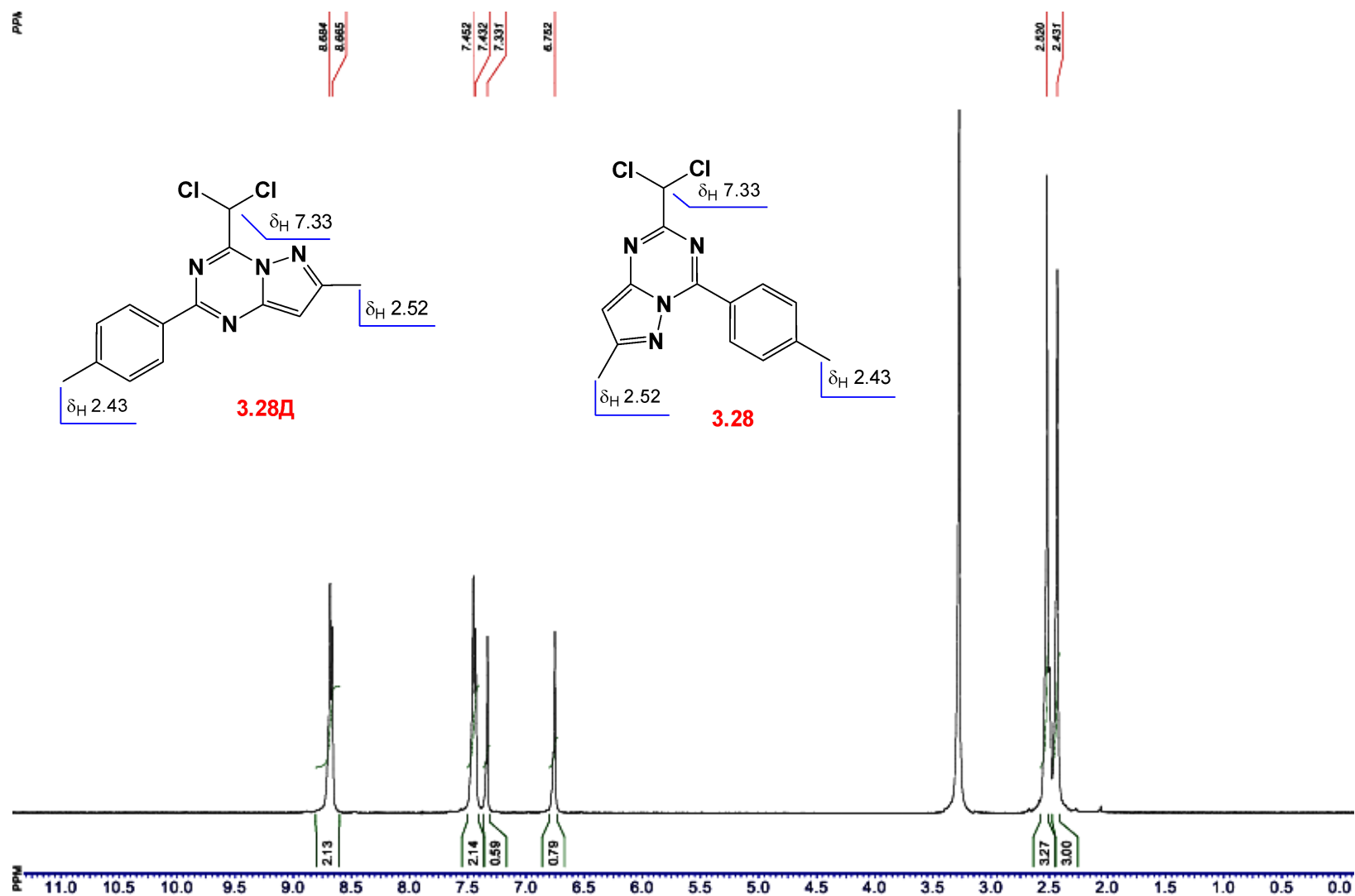


Рис. 3.2. Спектр ЯМР ^1H піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.28** або **3.28Д**

Як видно зі спектру (рис. 3.2) у слабкому полі розміщений дублет протонів при 8.7 м.ч., що свідчить про зв'язок ароматичного кільця з електроноакцепторним угрупованням.

Але всі ці дані не могли однозначно дати відповідь, яку з ізомерних структур було отримано. Для остаточного визначення структури одержаних сполук проведено рентгеноструктурне дослідження піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазиу з 4-метилфенільним замісником в піразольному кільці та фенільною групою в триазиновому циклі (рис. 3.3).

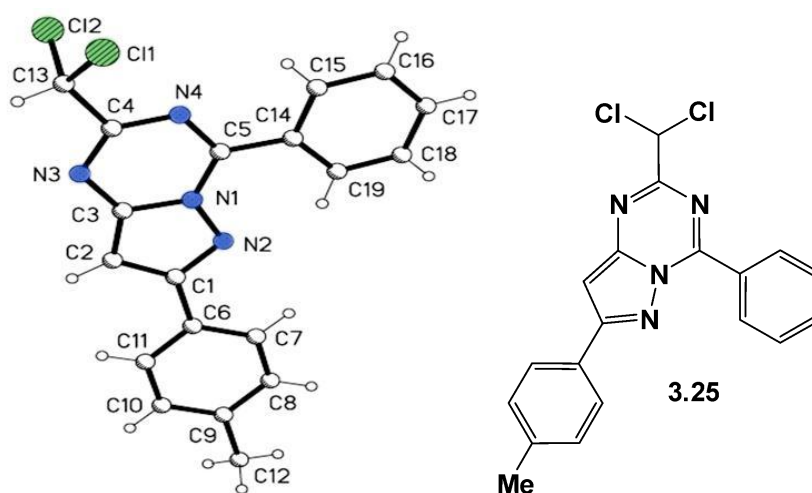


Рис. 3.3. Рентгеноструктурний аналіз

2-дихлорометил-4-феніл-7-(4-метилфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазиу **3.25**

Рентгеноструктурний аналіз підтвердив протікання циклоконденсації з отриманням 2-дихлорометилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазиу. Їх утворення передбачає саме першочергову атаку екзоциклічним атомом азоту піразолу по α -положенню енамиду. Піразолотриазинова система в сполуці **3.25** має плоску будову, середньоквадратичне відхилення атомів складає 0,0178. Арильні замісники фактично також розташовані в тій самій площині, а відмінності в орієнтації становлять 4,7 та 3,7° відповідно. Розподілення довжин зв'язків в центральній біциклічній системі свідчать про делокалізацію електронної густини в ній, а в цілому вони характерні для системи, що містять піразольні та триазинові гетероцикли.

На відміну від сполуки **3.25**, в структурі 2-дихлорометил-4-(2-метилфеніл)-7-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.27** 2-метилфенільний замісник в положенні 4 та гетероциклічна платформа знаходяться в різних площинах, про що свідчить рентгеноструктурний аналіз речовини **3.27**, зображений на рис. 3.4.

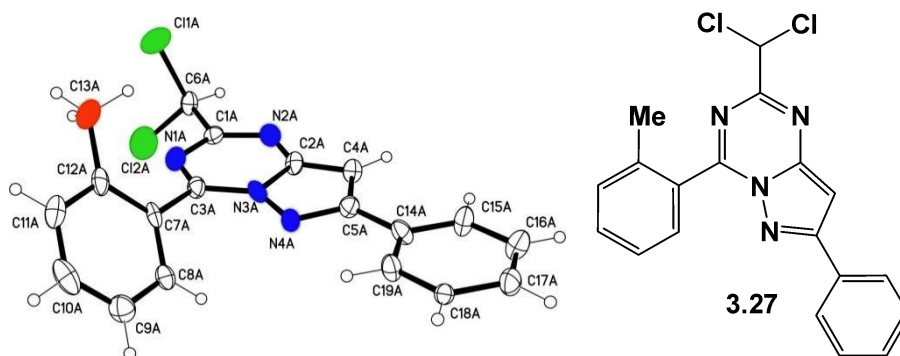


Рис. 3.4. Рентгеноструктурний аналіз

2-дихлорометил-4-феніл-7-(4-метилфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.27**

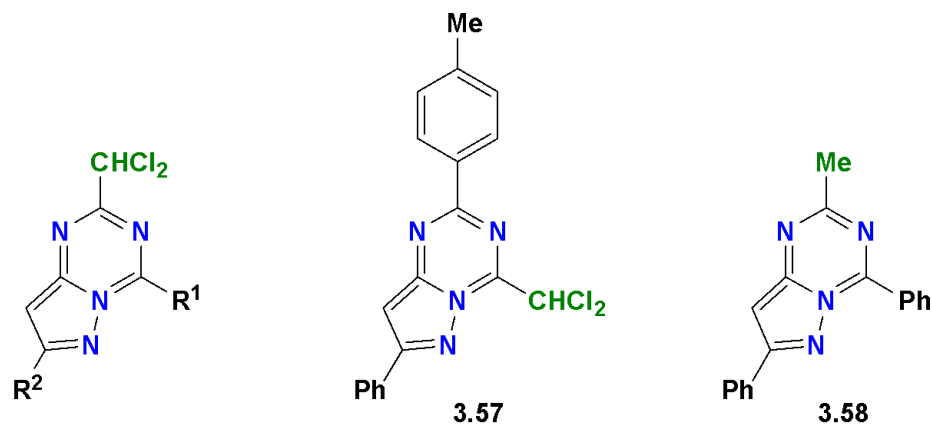
В кристалі **3.27** знайдено дві незалежні молекули. Як і для сполуки **3.25** розподілення довжин зв'язків та валентних кутів в центральній біциклічній системі піразолотриазину **3.27** типова для подібних спряжених систем. Усі С-Н зв'язки знаходяться в діапазоні 1.303-1.392(8)Å та мають проміжне значення між довжинами стандартного подвійного та одинарного зв'язків нітроген карбон. Біциклічна система в обох незалежних молекулах планарна, середньоквадратичне відхилення атомів з площини складає 0.0236 та 0.0177Å, а незалежні молекули фактично не відрізняються одна від одної за конформаційними параметрами. Так орто-метилфенільний замісник повернутий щодо центральної площини на 46.2 та 46.5°, а відмінності в орієнтації бензольного циклу склали 3.3 і 1.9°.

3.2. *In vitro* дослідження нових похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

3.2.1. Протиракова активність похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

З метою встановлення залежності взаємозв'язку протипухлинної дії від структури піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів проведено *in vitro* скринінг похідних

2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триази́ну з алкільними, арильними або гетерильними замісниками в положеннях 4 гетероциклічної системи та алкільними або арильними фрагментами в положенні 7, а також 4-дихлорометил- та 2-метилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триази́ну. Досліджені сполуки представлені на рис. 3.5:



R^1 = Me (**3.17**, **3.18**), *t*-Bu (**3.21**), Ph (**3.23**, **3.24**), 2-MeC₆H₄ (**3.27**), 4-MeC₆H₄ (**3.28**), 4-ClC₆H₄ (**3.41**, **3.42**), 3-піридиніл (**3.54**);
 R^2 = Me (**3.17**, **3.23**, **3.28**, **3.41**), Ph (**3.18**, **3.24**, **3.27**, **3.42**, **3.54**), 4-MeC₆H₄ (**3.21**).

Рис. 3.5. Досліджені похідні піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триази́ну

3.2.1.1. Результати односторових випробувань для похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триази́ну

Протираковий скринінг проводили згідно методики, описаної в розділі 4.3. Результати протиракового скринінгу при концентрації 10⁻⁵ М представлено в таблиці 3.1 (сполуки **3.17**, **3.18**, **3.21**, **3.23**, **3.24**, **3.27**, **3.28**, **3.41**, **3.42**, **3.54**, **3.57**, **3.58**). Результати односторових досліджень (10⁻⁵ μМ) показали, що середнє значення відсотку росту ракових клітин речовини **3.17** з двома метильними замісниками близьке до 100 %, а діапазон значень відносно вузький, що свідчить про його низьку цитотоксичність. Протипухлинні властивості сполуки **3.18** з метильною групою у положенні 4 та фенільним замісником при С(7) також дуже низькі; деяке пригнічення росту було лише на лінії ЕКVХ недрібноклітинного

раку легень (табл. 3.1). У випадку 4-*трет*-бутилзаміщеного піразолотриазину **3.21** також спостерігалось лише незначне сповільнення росту ракових клітин.

Проте наявність арильного або гетерильного замісника (замість алкілу) у положенні 4 гетероциклічної системи приводить до значного зростання активності. Речовини **3.23**, **3.24**, **3.28**, **3.41**, **3.42** та **3.54** ефективно гальмують ріст більшості ліній ракових клітин.

Таблиця 3.1

Результати протиракового скринінгу сполук **3.17**, **3.18**, **3.21**, **3.23**, **3.24**, **3.27**, **3.28**, **3.41**, **3.42**, **3.54**, **3.57** та **3.58** у дозі 10^{-5} М на 60 лініях клітин раку

Відсоток росту ракових клітин при концентрації 10^{-5} М (%)		
Сполука	Середнє значення / Діапазон значень	Найменше значення (клітинна лінія / панель)
3.17	99.5 / 80.6–117.9	80.6 (SNB-75 / рак ЦНС)
3.18	89.6 / 21.5–111.1	21.5 (EKVX / недрібноклітинний рак легенів)
3.21	84.1 / 35.2–117.5	35.3 (HL-60(TB) / лейкомія)
3.23	49.8 / -50.0 –112.8	-50.0 (NCI-H460 / недрібноклітинний рак легенів)
3.24	5.0 / -82.1–86.9	-82.1 (HCC-2998 / рак товстого кишечника)
3.27	64.71 / 3.45–107.36	3.45 (RXF 393 / рак нирок)
3.28	8.8 / -69.3–81.8	-69.3 (HCC-2998 / недрібноклітинний рак легенів)
3.41	-2.0 / -77.0–67.0	-77.0 (HCC-2998 / недрібноклітинний рак легенів)
3.42	20.9 / -55.0–89.0	-55.0 (RXF 393 / рак нирок)
3.54	15.38 / -68.69–96.41	-68.69 (HCC-2998 / рак товстого кишечника)
3.57	29.28 / -68.64–120.09	-68.64 (TK-10 / рак нирок)
3.58	98.07 / 57.99–179.73	57.99 (A498 / рак нирок)

Однак важливим є той фактор, щоб арильний замісник і піразолотриазинаова система знаходилися в одній площині. В структурі **3.27**, яка містить 2-метилфенільну групу в положенні 4, гетероциклічна платформа та арильний замісник при C(4) знаходяться в різних площинах, що відобразилося на низькій активності даної сполуки і свідчить про важливість π -стекових взаємодій між інгібітором та біомішенню. Характер замісника в положенні 7 не настільки важливий – висока цитотоксичність властива похідним **3.28** і **3.41** з 7-метильною групою.

Критичним для прояву протиракової активності цих сполук та ізомерної речовини **3.57** [55] з CHCl_2 групою в положенні 4 (див. рис. 3.5), є наявність дихлорометильного фрагменту. Так, дослідження протиракової активності 2-метилзаміщеного піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.58** [117] (рис. 3.5), синтезованого за відомим підходом на основі циклоконденсації 5-ацетамідинозаміщеного піразолу з бензойним ангідридом, показали, що заміна дихлорометильної групи на метильну веде до втрати піразолотриазином **3.58** протипухлинного ефекту, що свідчить про важливість галогенних зв'язків в утворенні комплексу ліганду з біомішенню.

3.2.1.2. Результати п'ятидозових випробувань для похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

Відповідно до результатів однодозових випробувань, найбільш перспективні речовини **3.23**, **3.24**, **3.41** та **3.54** були відібрані для наступного п'ятидозового аналізу для встановлення параметрів GI_{50} , TGI та LC_{50} . У табл. 3.2 наведені середні значення цих параметрів для піразолотриазинів на 60 лініях ракових клітин.

Таблиця 3.2

Середні значення дозозалежних параметрів протипухлинної активності на 60 лініях клітин раку (п'ятидозові випробування) піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів

3.23, 3.24, 3.41 та 3.54 та відомих протиракових засобів: тамоксифену (Т),
кризотинібу (К) і акалабрутинібу (А)

Показник	3.23	3.24	3.41	3.54	Т	К	А
GI₅₀, μM	4.47	2.24	1.17	1.32	7.94	1.55	50.9
TGI, μM	23.44	13.18	7.41	6.31	25.11	6.46	98.9
LC₅₀, μM	75.86	66.07	58.88	63.10	63.10	21.38	100

Результати п'ятидозових випробувань показали, що показники GI₅₀, TGI та LC₅₀ піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів змінюються в залежності від замісників в положенні 4 та 7 гетероциклічної системи. Так, сполука **3.23** з метильною групою при С(7) продемонструвала майже вдвічі менші рістінгібіторну та цитостатичну дії порівняно з речовиною **3.24**, яка містить фенільний замісник при С(7). Хоча GI₅₀ та TGI для 7-метил-4-(4-хлорофеніл)піразолотриазину **3.41** в два рази менші порівняно з 4,7-дифенілзаміщеним похідним **3.24**, що ймовірно пов'язано з важливістю утворення галогенних зв'язків при формуванні стабільного комплексу ліганду з біомішенню. Ці ж показники для 4-(3-піридиніл)-7-фенілпіразолотриазину **3.54** близькі за значенням до сполуки **3.41**. Сполуки **3.41** та **3.54** показали кращу рістінгібіторну дію, ніж відомий протираковий препарат кризотиніб, а піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини **3.23** і **3.24** продемонстрували кращі в кілька разів рістінгібуючі та цитостатичні ефекти, ніж тамоксифен та акалабрутиніб. Цитотоксичні ефекти для всіх досліджених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину близькі до тамоксифену.

3.2.1.3. COMPARE аналіз та можливий механізм протипухлинної активності піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів

Для визначення можливих механізмів протиракової активності піразолотриазинів використовували COMPARE аналіз [232], який полягає в порівнянні результатів протипухлинної активності досліджуваних сполук із відомими протираковими препаратами, для яких механізм дії вже відомий.

Ймовірність подібності протиракової активності визначається кореляційним коефіцієнтом (r), яка є високою при $r > 0.7$.

За результатами COMPARE аналізу лише для сполуки **3.41** кореляція, обчислена як вектор GI_{50} , перевищила 0,5 у порівнянні з фторурацилом. Цей протипухлинний засіб продукує активні метаболіти, які вбудовуються в РНК і ДНК і пригнічують їх обробку, тим самим пригнічуючи ріст клітин [233]. Для інших досліджуваних сполук (**3.23**, **3.24**, **3.28**, **3.42**) аналогів протиракового механізму не виявлено, тому 2-дихлорометилзаміщені піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триязини можуть бути потенційно новим класом протипухлинних засобів.

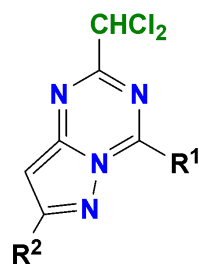
Отже, протиракова активність похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триязину суттєво залежить від природи замісників даної гетероциклічної основи. Так, похідні з арильним замісником при С(4) виявились надзвичайно активними, а природа замісника в положенні 7 суттєво не впливає на їх протипухлинний ефект. Крім того, важливим є той фактор, щоб арильний замісник при С(4) і піразолотриязинова система знаходилися в одній площині. Також критичним для прояву протиракової активності цих сполук є наявність дихлорометильного фрагменту, заміна якого на метильну групу веде до втрати піразолотриaziном протипухлинних властивостей. COMPARE аналіз не виявив жодних відомих протипухлинних препаратів з подібною дією, що вимагає більш детального вивчення механізму протиракової дії отриманих 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів.

3.2.2. Протівірусна активність похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триязину

П'ять 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **3.24**, **3.25**, **3.28-3.30** (рис. 3.6) були протестовані *in vitro* проти: i) *Dengue virus* 2 (штам New Guinea C, клітинна лінія Huh7), ii) *Tacaribe virus* (штам TRVL 11573, клітинна лінія Vero), iii) *Zika virus* (штам MR766, клітинна лінія Vero 76) в Інституті протівірусних досліджень Університету штату Юта; iv) *Human cytomegalovirus* (штам AD169,

клітинна лінія HFF), v) *Herpes simplex virus 1* (штам E-377, клітинна лінія HFF), vi) *Varicella-Zoster virus* (штам Елен, клітинна лінія HFF) в університеті Алабами в Бірмінгемі.

Оцінювалося інгібування цитопатичного ефекту, спричинене вірусом, а також токсичність сполук у клітинах-господаря. У первинних аналізах (i-iii) сполуки (при концентраціях 0,1-100 мкг/мл) не володіли достатньою противірусною активністю, яка б перевищувала їх рівень цитотоксичності, але наступні тести (iv-vi) дали прийнятні результати (див. таблицю 3.3). Усі сполуки виявляли досить низьку активність, за винятком 2-дихлорометил-4,7-дифенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.24**, який, однак, мав порівняно високу токсичність. З точки зору селективності, взаємодія 2-дихлорометил-4,7-біс(4-метилфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.30** з AD169 – HFF (аналіз iv) з $SI_{50} > 6$ заслуговує на увагу.



3.24, 3.25, 3.28-3.30 :

3.24: $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Ph}$;

3.25: $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = 4\text{-MeC}_6\text{H}_4$;

3.28: $R^1 = 4\text{-MeC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{Me}$;

3.29: $R^1 = 4\text{-MeC}_6\text{H}_4$, $R^2 = \text{Ph}$;

3.30: $R^1 = 4\text{-MeC}_6\text{H}_4$, $R^2 = 4\text{-MeC}_6\text{H}_4$.

Рис. 3.6. Досліджені похідні піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

Таблиця 3.3

In vitro активність похідних 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину в аналізі щодо досліджуваних вірусів та цитотоксичність клітин

Сполука	EC ₅₀	EC ₉₀	CC ₅₀	SI ₅₀	SI ₉₀
iv) <i>Human cytomegalovirus</i> (цитомегаловірус людини)					
3.24	>1,20	>1,20	3,86	<3	<3
3.25	>6,00	>6,00	19,48	<3	<3
3.28	>30,00	>30,00	70,63	<2	<2

Сполука	EC ₅₀	EC ₉₀	CC ₅₀	SI ₅₀	SI ₉₀
3.29	>6,00	>6,00	14,69	<2	<2
3.30	24,32	>150,00	>150,00	<6	1
Ганцикловір	4,65	15,80	>100,00	>21	>6
v) <i>Herpes simplex virus 1</i> (вірус простого герпесу 1)					
3.24	>1,20	>1,20	4,04	<3	<3
3.25	>30,00	>30,00	31,37	<1	<1
3.28	>6,00	>6,00	22,18	<4	<4
3.29	>6,00	>6,00	15,70	<3	<3
3.30	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
Ацикловір	0,78	13,55	>150,00	>192	>11
vi) <i>Varicella-Zoster virus</i> (вірус вітряної віспи)					
3.24	>1,20	>1,20	4,15	<3	<3
3.25	>6,00	>6,00	17,19	<3	<3
3.28	>6,00	>6,00	19,24	<3	<3
3.29	>6,00	>6,00	15,88	<3	<3
3.30	>150,00	>150,00	>150,00	1	1
Ацикловір	3,28	22,29	>150,00	>46	>7

Отже, дослідження протівірусної активності піразолотриазинів проти шести вірусів показали, що вони не володіють достатнім протівірусним ефектом через високий рівень їх цитотоксичності.

3.2.3. Вивчення потенційних вазодилататорних властивостей похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину за їхньої дії на гладенькі м'язи судин

Вазодилаторні властивості похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.17**, **3.45-3.49** та **3.53-3.56** (рис. 3.7) вивчалися згідно методики, описаної в розділі 4.4. Результати дослідження наведені у таблиці 3.4.

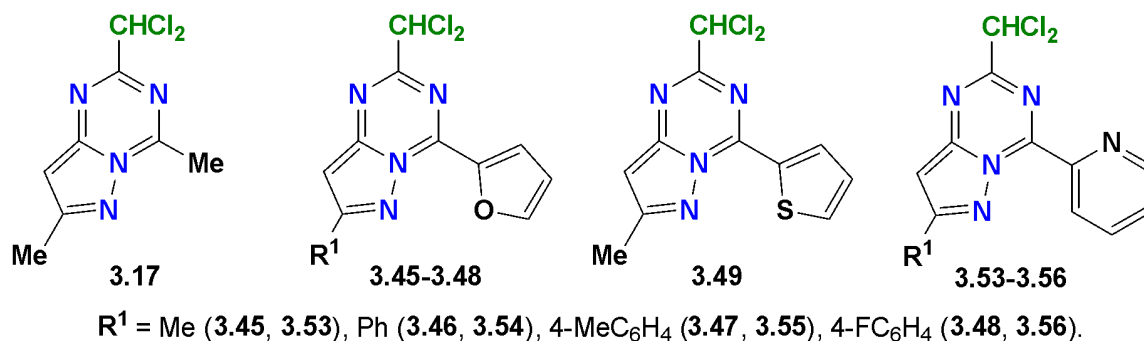


Рис. 3.7. Досліджені похідні піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

Таблиця 3.4

Потенційна вазодилаторна активність піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **3.17**, **3.45-3.49** та **3.53-3.56** за їхнього впливу на сегменти грудної аорти щурів, попередньо активованих фенілефрином (10^{-6} моль/л)

Сполука	Потенційна вазодилаторна активність сполуки (% від амплітуди скорочення судин) / Примітки
3.17	10^{-6} моль/л – 0 %; 10^{-5} моль/л – $12,3 \pm 4,3$ %; 10^{-8} моль/л – 0%; 10^{-7} моль/л – $30,5 \pm 2,2$ %; 10^{-6} моль/л – $50,1 \pm 2,3$ %.
3.45	10^{-5} моль/л – $61,0 \pm 3,5$ % / Розчинність у DMSO (10^{-2} моль/л): спостерігалось помутніння розчину за подальшого розведення у розчині Кребсу.
3.46	Активність відсутня / Речовина розчинилась у DMSO лише у 10^{-3} моль/л.
3.47	10^{-8} моль/л – 0%; 10^{-7} моль/л – $1,7 \pm 0,2$ %; 10^{-6} – $8,2 \pm 1,3$ %. / Речовина розчинилась у DMSO лише в 10^{-3} моль/л.
3.48	Активність відсутня / Речовина розчинилась у DMSO лише у 10^{-3} моль/л.

Сполука	Потенційна вазодилататорна активність сполуки (% від амплітуди скорочення судин) / Примітки
3.49	10^{-8} моль/л – 0%; 10^{-7} моль/л – $2,1 \pm 1,3\%$; 10^{-6} моль/л – $16,4 \pm 1,4\%$; 10^{-5} моль/л – $21,9 \pm 3,1\%$.
3.53	10^{-8} моль/л – 0%; 10^{-7} моль/л – $19,4 \pm 2,2\%$; 10^{-6} моль/л – $45,5 \pm 3,6\%$; 10^{-5} моль/л – $52,2 \pm 3,7\%$.
3.54	Активність відсутня.
3.55	Не розчинилась у DMSO (навіть у 10^{-3} моль/л).
3.56	Не розчинилась у DMSO (навіть у 10^{-3} моль/л).

Аналіз результатів досліджень показав, що частина представлених зразків виявляла вазодилататорну активність різного ступеня дії, а частина сполук не проявляла вазоактивності (табл. 3.4). Необхідно відмітити, що деякі зразки сполук були нерозчинні у DMSO за отримуваної концентрації маточного розчину (10^{-3} моль/л), що унеможливило дослідження їхньої судинної активності. Як видно з таблиці 3.4, високу вазодилататорну активність в ряду представлених в дослідженні зразків виявили сполуки **3.45** та **3.53**. На рис. 3.8 представлені результати розширених досліджень даних речовин (n=12). Показано, що виражене дозозалежне розслаблення при дії зразків на судини спостерігалось, починаючи із концентрації 10^{-7} моль/л. Максимальна амплітуда розслаблення у дозі 10^{-5} моль/л складала для сполук **3.45** та **3.53** $61,0 \pm 3,5\%$ і $52,2 \pm 3,7\%$, відповідно. Середня ефективна концентрація (EC_{50}), що виражена як логарифм концентрації (Log M), при цьому становила $-7.0 \pm 0,2$ для зразка **3.45** та $-6.74 \pm 0,09$ для зразка **3.53** (рис. 3.8).

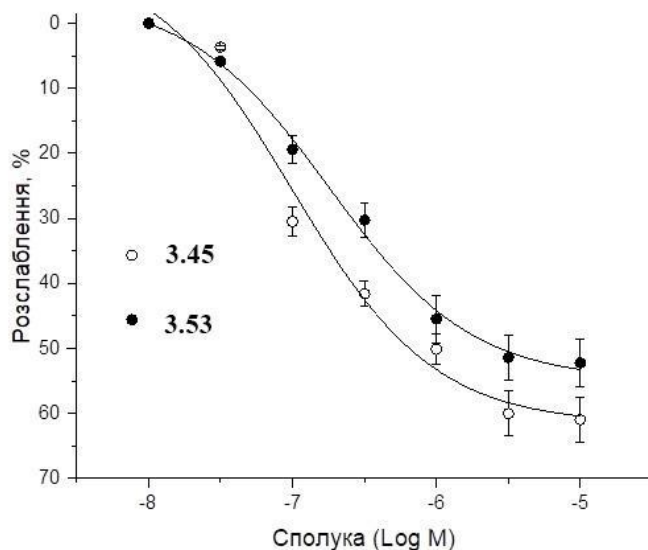


Рис. 3.8. Вазодилаторна активність піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів **3.45** та **3.53** при дії на сегменти грудної аорти щурів, попередньо активованих фенілефрином (10^{-6} моль/л).

Отже, за оцінкою результатів досліджень, піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини представляють перспективний клас органічних сполук для створення засобів з судинорозширювальними властивостями.

Таким чином, у результаті виконання даного дослідження було розроблено зручний та оригінальний метод синтезу нових невідомих раніше похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинов з дихлорометильною групою в положенні 2 гетероциклічної системи, заснований на циклоконденсації 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами, та синтезовано 40 нових піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів з алкільними, арильними або гетерильними замісниками в положеннях 4 та 7 гетероциклічної системи. Серед них знайдено ефективні протипухлинні агенти. Встановлено наступні критичні чинники для прояву протиракової активності похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинов: наявність в положенні 2 дихлорометильного

фрагменту, а також арильного замісника при C(4) в одній площині з гетероциклічною платформою. COMPARE аналіз не виявив жодних відомих протипухлинних препаратів з подібною дією, що вимагає більш детального вивчення механізму протиракової дії отриманих піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. Дослідження їх противірусної активності показали, що вони не володіють достатнім противірусним ефектом через високий рівень їх цитотоксичності. Також серед похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину знайдено представники з вазодилататорною активністю – 2-дихлорометил-4-(фуран-2-іл)-7-метилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин та 2-дихлорометил-7-метил-4-(піридин-3-іл)-піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин з максимальною амплітудою розслаблення (10^{-5} моль/л) $61,0 \pm 3,5\%$ та $52,2 \pm 3,7\%$, відповідно, що свідчить про перспективність пошуку серед них судинорозширюючих агентів.

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

4.1. Матеріали та методи дослідження структури синтезованих речовин

Комерційно доступні реагенти використовували без додаткового очищення. Розчинники очищали дистиляцією з використанням зазначених сушильних агентів: ТГФ (Na/бензофенон), ДМФА, MeCN (CaH₂), MeOH (Mg). Моніторинг реакцій проводили за допомогою тонкошарової хроматографії на пластинках SiO₂ 60 F₂₅₄ фірми Merck. Температури плавлення визначали на приладі Fisher-Johns або Stuart SMP40. Інфрачервоні спектри реєстрували на спектрометрах Bruker Tensor 27 або Vertex-70 на таблетках KBr. Спектри ЯМР на ядрах ¹H, ¹⁹F та ¹³C реєстрували на спектрометрах Bruker Avance II (296,2 К, 400 та 101 МГц, відповідно) або Agilent DD2 500 (353,2 К, 500, 376 та 126 МГц, відповідно) у (D₆)DMSO або CDCl₃, внутрішній стандарт – сигнал залишкових протонів розчинника. Мас-спектри фіксували при використанні рідинної хроматомас-спектрометричної системи на хроматографі Agilent 1200 Series, оснащеному діодною матрицею із мас-селективним детектором G6130A (іонізація розпиленням в електричному полі при атмосферному тиску). Елементний аналіз сполук проводився в лабораторії аналітичної хімії Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України.

Рентгеноструктурне дослідження кристалів сполук **3.25**, **3.27** та **3.36** проведено на дифрактометрі Bruker Smart Apex II (λMoKα- випромінювання (λ = 0.71078 Å), графітовий монохроматор, 2.08 ≤ θ ≤ 26.39°). Структура розшифрована прямим методом і уточнена методом найменших квадратів у повноматричному анізотропному наближенні з використанням програм Bruker SHELXTL [234]. Атоми Гідрогену, які зв'язані з атомами карбону, виявлені та уточнені ізотропно.

4.1.1. Синтез нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину

Загальна методика синтезу оксазоло[4,5-*d*]піримідин-7(6*H*)-онів **2.11** – **2.15** [9]. Суміш 2 ммоль одного з оксазол-5(4*H*)-онів **2.1** – **2.2**, 2 ммоль одного з

амідинів **2.3 – 2.5** та 2 ммоль триетиламіну в 10 мл сухого ТГФ перемішували за кімнатної температури (20-25 °С) впродовж 72 годин. Після видалення розчинника твердий залишок розтирали у воді, відфільтровували і сушили. Неочищений продукт далі пускали в реакцію рециклізації: розчин 3.5 ммоль одного з одержаних 4,5-дигідро-1*H*-імідазол-5(4)-онів **2.6 – 2.10** в 7 мл піридину кип'ятили впродовж 10 годин. Далі піридин видаляли у вакуумі. Залишок обробляли H₂O, фільтрували, сушили і перекристалізували з суміші ДМФА/MeCN (3:1).

2,5-Дифенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7(6*H*)он 2.11. Вихід: 83%. Т. пл. >300 °С. ¹H ЯМР (300 МГц, (D₆)DMSO): 13.09 (с, 1 H, NH), 7.54–8.21 (м, 10 H, 2ArH). ¹³C ЯМР (125 МГц, (D₆)DMSO): 164.4, 158.4, 155.1, 152.2, 142.1, 132.3, 130.0, 129.1, 128.7, 127.7, 127.5, 127.2, 125.1. MS, m/z: 290.1 [M+H]⁺. Розраховано для C₁₇H₁₁N₃O₂ (289.29): C 70.58, H 3.83, N 14.53. Знайдено: C 70.55, H 3.87, N 14.60.

5-(4-Метилфеніл)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7(6*H*)он 2.12. Вихід: 84%. Т. пл. >300 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 12.82 (ушир с, 1H, NH), 8.22 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 8.07 (д, J = 8.4 Гц, 2H, ArH), 7.73–7.66 (м, 3H, ArH), 7.40 (д, J = 7.8 Гц, 2H, ArH), 2.40 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (125 МГц, (D₆)DMSO): 164.6, 158.6, 155.7, 152.0, 141.5, 132.5, 129.3, 129.2, 128.9, 127.8, 127.4, 127.3, 125.5, 20.9. MS, m/z: 304 [M+1]⁺. Розраховано для C₁₈H₁₃N₃O₂: C 71.28; H 4.32; N 13.85. Знайдено: C 71.24; H 4.30; N 13.92%.

2-Феніл-5-(4-хлорофеніл)оксазоло[4,5-*d*]піримідин-7(6*H*)он 2.13. Вихід: 12.74 g, 82%. Т. пл. 294–296 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, 353.2 K, (D₆)DMSO): 8.19–8.13 (м, 4H, ArH); 7.69–7.56 (м, 5H, ArH). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 164.6; 158.2; 154.6; 151.5; 136.1; 132.1; 131.7; 130.7; 129.3; 128.8; 128.1; 127.1; 125.3. MS, m/z: 324.0 [M+H]⁺. Розраховано для C₁₇H₁₀ClN₃O₂ (323.74): C 63.07, H 3.11, N 12.98. Знайдено: C 63.00, H 3.17, N 12.91.

2-(4-Метилфеніл)-5-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7(6*H*)он 2.14. Вихід: 82%. Т. пл. >300°C. ¹H ЯМР (500 МГц, (D₆)DMSO): 13.06 (ушир с, 1H, NH), 8.13-8.07 (м, 4H, ArH), 7.61-7.56 (м, 3H, ArH), 7.45 (д, J = 7.0 Гц, 2H), 2.42 (с, 3H, Me). MS, m/z: 304 [M+1]⁺. Розраховано для C₁₈H₁₃N₃O₂: C 71.28; H 4.32; N 13.85. Знайдено: C 71.25; H 4.33; N 13.77%.

2,5-Ди-(4-метилфеніл)-оксазоло[4,5-*d*]піримідин-7(6*H*)он 2.15. Вихід: 80%. Т. пл. >300°C. ¹H ЯМР (500 МГц, (D₆)DMSO): 12.97 (с, 1H, NH), 8.07 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 8.03 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH), 7.45 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 7.36 (д, J = 8.2 Гц, 2H, ArH), 2.42 (с, 3H, Me), 2.39 (с, 3H, Me). MS, m/z: 318 [M+1]⁺. Розраховано для C₁₉H₁₅N₃O₂: C 71.91; H 4.76; N 13.24. Знайдено: C 71.88; H 4.74; N 13.30%.

Загальна методика синтезу 7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідинів 2.16 – 2.20. Суміш 3 ммоль однієї зі сполук **2.11 – 2.15**, 10 мл POCl₃ та 6 ммоль Me₂NPh кип'ятили впродовж 3 год. Після охолодження до кімнатної температури розчин вилили у високий стакан з льодом. Одержаний осад після танення льоду відфільтрували і перекристалізували з 1,4-діоксану.

2,5-Дифеніл-7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.16. Вихід: 90%. Т. пл. 219–220 °C. ¹H ЯМР (300 МГц, (D₆)DMSO): 7.55–8.41 (м, 10 H, 2ArH). MS, m/z: 308 [M+1]⁺. Розраховано для C₁₇H₁₀ClN₃O (307.74): C 66.35; H 3.28; Cl 11.52; N 13.65. Знайдено: C 66.14; H 3.49; Cl 11.32; N 13.53.

5-(4-Метилфеніл)-2-феніл-7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.17. Вихід: 86%. Т. пл. 237°C-239°C. ¹H ЯМР (300 МГц, (D₆)DMSO): 8.30-8.23 (м, 4H, ArH), 7.80-7.63 (м, 3H, ArH), 7.25 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 2.39 (с, 3H, Me). MS, m/z: 322 [M+1]⁺. Розраховано для C₁₈H₁₂ClN₃O: C 67.19; H 3.76; Cl 11.02; N 13.06. Знайдено: C 67.15; H 3.77; Cl 11.10; N 13.02%.

2-Феніл-5-(4-хлорофеніл)-7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.18. Вихід: 96%. Т. пл. 241–243°C. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.44 (д, J = 7.8 Гц, 4H, ArH); 7.71–7.46 (м, 5H, ArH). ¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃): 169.0; 164.0; 161.3; 141.6;

138.3; 137.6; 134.8; 134.2; 130.2; 129.5; 129.2; 129.1; 125.2. MS, m/z: 344.0 [M+H]⁺. Розраховано для C₁₇H₉Cl₂N₃O (342.19): C 59.67, H 2.65, N 12.28. Знайдено: C 59.56, H 2.66, N 12.20.

2-(4-Метилфеніл)-5-феніл-7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.19. Вихід: 84%. Т. пл. 197-199°C. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.43-8.40 (м, 2H, ArH), 8.20 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH), 7.54-7.47 (м, 5H, ArH), 2.48 (с, 3H, Me). MS, m/z: 322 [M+1]⁺. Розраховано для C₁₈H₁₂ClN₃: C 67.19; H 3.76; Cl 11.02; N 13.06. Знайдено: C 67.14; H 3.78; Cl 11.08; N 13.00%.

2,5-Ди-(4-метилфеніл)-7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.20. Вихід: 81%. Т. пл. 288-290°C. ¹H ЯМР (500 МГц, (D₆)DMSO): 8.30 (д, J = 7.8 Гц, 2H, ArH), 8.22 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH), 7.49 (д, J = 8.4 Гц, 2H, ArH), 7.37 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH), 2.40 (с, 3H, Me), 2.36 (с, 3H, Me). MS, m/z: 336 [M+1]⁺. Розраховано для C₁₉H₁₄ClN₃: C 67.96; H 4.20; Cl 10.56; N 12.51. Знайдено: C 67.93; H 4.19; Cl 10.61; N 12.45%.

Загальна методика синтезу оксазоло[4,5-*d*]піримідинів 2.21 – 2.42. Суміш 2 ммоль одного з 7-хлоро-оксазоло[4,5-*d*]піримідинів **2.16 – 2.20**, 2 ммоль відповідного аміну та 2 ммоль триетиламіну в 15 мл діоксану кип'ятили впродовж 6 годин. Після видалення розчинника залишок розтирали у воді, відфільтровували, сушили і перекристалізовували з суміші ДМФА/MeCN (1:3).

2,5-Дифеніл-7-піперазин-1-іл-оксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.21. Вихід: 80%. Т. пл. 245-247 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.41 – 8.35 (м, 2H, ArH), 8.26 (д, J = 7.4 Гц, 2H, ArH), 7.73–7.64 (м, 3H, ArH), 7.49 (с, 3H, ArH), 4.00 (с, 4H, CH₂ (піперазин)), 2.91 (с, 4H, CH₂ (піперазин)). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 164.13, 161.57, 159.29, 147.84, 137.80, 132.75, 130.01, 129.35, 128.32, 127.73, 125.64, 45.58. MS, m/z: 358.0 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₁H₁₉N₅O (357.42): C 70.57, H 5.36, N 19.59. Знайдено: C 70.55, H 5.40, N 19.54.

5-(4-Метилфеніл)-7-піперазин-1-іл-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.22. Біла кристалічна речовина. Вихід 77%. Т. пл. 256°C-258°C. ІЧ (KBr, см⁻¹):

3412-2707 (NH, ArH), 1611, 1548, 1371, 1307, 1053, 1021, 776, 710. ^1H ЯМР (400 МГц, (D_6) DMSO): 8.26-8.21 (м, 4Н, ArH), 7.70-7.61 (м, 3Н, ArH), 7.27 (д, 2Н, ArH), 3.98 (с, 4Н, піперазин), 2.94-2.93 (м, 4Н, піперазин), 2.37 (с, 4Н, Me, NH). MS, m/z : 372 $[\text{M}+1]^+$. Розраховано для $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}$: С, 71.14; Н, 5.70; N, 18.85. Знайдено: С, 71.10; Н, 5.67; N, 18.92.

7-Піперазин-1-іл-2-феніл-5-(4-хлорофеніл)оксазоло[4,5-*d*]піримідин

2.23. Біла кристалічна речовина. Вихід: 87%. Т. пл. 258-260°C. ІЧ (KBr): 3417 – 2509 (NH, CH_2 (піперазин)), 1718, 1674, 1622, 1545, 1452, 1358, 1283, 1207, 1127, 1021, 930, 832, 767, 694. ^1H ЯМР (500 МГц, (D_6) DMSO): 8.40 (дд, $J = 8.9, 2.1$ Гц, 2Н, ArH); 8.33 – 8.29 (м, 2Н, ArH); 7.73 (дд, $J = 8.4, 6.3$ Гц, 1Н, ArH); 7.70 – 7.65 (м, 2Н, ArH); 7.55 (дд, $J = 8.9, 2.3$ Гц, 2Н, ArH); 4.31 – 4.24 (м, 4Н, піперазин); 3.42 – 3.36 (м, 4Н, піперазин). ^{13}C ЯМР (126 МГц, (D_6) DMSO): 164.59; 161.77; 158.26; 147.29; 136.18; 134.83; 132.60; 129.22; 128.92; 128.02; 127.84; 127.60; 125.20; 42.38; 41.56. MS, m/z : 392.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-(4-метилфеніл)-7-піперазин-1-іл-5-феніл-оксазоло[4,5-*d*]піримідин

2.24. Біла кристалічна речовина. Вихід 74%. Т. пл. 273°C-275°C. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3320-2690 (NH, ArH), 1613, 1552, 1370, 1307, 1061, 1024, 771, 707, 695. ^1H ЯМР (400 МГц, (D_6) DMSO): 8.38-8.36 (м, 2Н, ArH), 8.12 (д, 2Н, ArH), 7.49-7.43 (м, 5Н, ArH), 3.98 (с, 4Н, піперазин), 2.92 (с, 4Н, піперазин), 2.43 (с, 4Н, Me, NH). MS, m/z : 372 $[\text{M}+1]^+$. Розраховано для $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}$: С, 71.14; Н, 5.70; N, 18.85. Знайдено: С, 71.09; Н, 5.68; N, 18.94.

2,5-Ди-(4-метилфеніл)-7-піперазин-1-іл-оксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.25.

Світло-жовта кристалічна речовина. Вихід 73%. Т. пл. 279°C-281°C. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3380-2707 (NH, ArH), 1611, 1551, 1368, 1310, 1163, 1057, 1020, 939, 783, 727. ^1H ЯМР (400 МГц, (D_6) DMSO): 8.25 (д, 2Н, ArH), 8.09 (д, 2Н, ArH), 7.42 (д, 2Н, ArH), 7.27 (д, 2Н, ArH), 3.98 (с, 4Н, піперазин), 2.95 (с, 4Н, піперазин), 2.43 (с, 3Н, Me), 2.38 (с, 3Н, Me), 2.30 (с, 1Н, NH). MS, m/z : 386 $[\text{M}+1]^+$. Розраховано для $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}$: С, 71.67; Н, 6.01; N, 18.17; Знайдено: С, 71.64; Н, 5.99; N, 18.10.

7-(4-Етилпіперазин-1-іл)-2,5-дифенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.26. Біла кристалічна речовина. Вихід 72%. Т. пл. 215°C-217°C. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3108-2622 (ArH), 1618, 1547, 1375, 1311, 1164, 1056, 1018, 927, 770, 696. ^1H ЯМР (400 МГц, (D_6) DMSO): 8.36-8.34 (м, 2H, ArH), 8.19 (д, 2H, ArH), 7.66-7.58 (м, 3H, ArH), 7.46-7.45 (м, 3H, ArH), 4.01 (с, 4H, піперазин), 2.58 (с, 4H, піперазин), 2.42 (кв, 2H, CH_2 (Et)), 1.06 (т, 3H, Me). ^{13}C ЯМР (125 МГц, (D_6) DMSO): 188.2, 176.2, 164.1, 161.6, 137.8, 132.7, 129.9, 129.3, 128.2, 127.8, 127.7, 127, 6, 125.6, 52.1, 51.6, 44.7, 11.9. MS, m/z : 386 $[\text{M}+1]^+$. Розраховано для $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}$: C, 71.67; H, 6.01; N, 18.17. Знайдено: C, 71.61; H, 5.98; N, 18.24.

2-[4-(2,5-Дифенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)піперазин-1-іл]етан-1-ол 2.27. Біла кристалічна речовина. Вихід 75%. Т. пл. 220°C-222°C. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3261 (OH), 3099-2615 (ArH), 1619, 1578, 1547, 1474, 1448, 1378, 1313, 1216, 1054, 1006, 935, 770, 700. ^1H ЯМР (400 МГц, (D_6) DMSO): 8.36-8.34 (м, 2H, ArH), 8.21-8.19 (м, 2H, ArH), 7.68-7.59 (м, 3H, ArH), 7.46-7.45 (м, 3H, ArH), 4.32 (ушир. с, 1H, OH), 4.04 (с, 4H, піперазин), 3.63 (т, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 2.73 (с, 4H, піперазин), 2.58 (т, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$). ^{13}C ЯМР (125 МГц, (D_6) DMSO): 190.4, 177.7, 164.1, 161.5, 159.2, 137.7, 132.6, 129.9, 129.2, 128.2, 127.7, 127.6, 125.5, 60.0, 58.3, 52.7, 44.5. MS, m/z : 402 $[\text{M}+1]^+$. Розраховано для $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$: C, 68.81; H, 5.77; N, 17.44. Знайдено: C, 68.77; H, 5.75; N, 17.34.

***трет*-Бутил**

4-[5-(4-хлорофеніл)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл]піперазин-1-карбоксилат 2.28. Біла кристалічна речовина. Вихід: 95%. Т. пл. 248–250°C. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3065–2880 (CH_2 (піперазин)), 1693, 1620, 1547, 1479, 1364, 1289, 1173, 1131, 1084, 1011, 930, 848, 776, 686. ^1H ЯМР (500 МГц, 353.2 K, (D_6) DMSO): 8.40–8.37 (м, 2 H, ArH), 8.28 (дд, $J = 5.2, 3.4$ Гц, 2 H, ArH), 7.72–7.63 (м, 3 H, ArH), 7.53–7.50 (м, 2 H, ArH), 4.07 (дд, $J = 6.2, 4.4$ Гц, 4 H, піперазин), 3.63 (дд, $J = 6.2, 4.5$ Гц, 4 H, піперазин), 1.48 (с, 9 H, $\text{Me}_3\text{CO}_2\text{C}$). ^{13}C ЯМР (126 МГц, (D_6) DMSO): 164.24, 161.42, 158.19, 153.57, 147.58, 136.35, 134.54, 132.23, 129.07,

128.73, 127.79, 127.70, 127.39, 125.28, 78.80, 44.19, 42.67, 27.67. MS, m/z: 492 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₆H₂₆ClN₅O₃ (491.98): C 63.48, H 5.33, N 14.23. Знайдено: C 63.44, H 5.30, N 14.18.

5-(4-Метилфеніл)-2-феніл-7-(4-(2-(піридин-4-іл)етил)піперазин-1-іл)-оксазол[4,5-*d*]піримідин 2.29. Біла кристалічна речовина. Вихід: 86 %. Т. пл. 188 – 190 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.47 – 8.46 (м, 2H, ArH); 8.27 – 8.24 (м, 4H, ArH); 7.72 – 7.63 (м, 3H, ArH); 7.32 – 7.28 (м, 4H, ArH); 4.04 (ушир. с, 4H, CH₂); 2.83 (т, J = 7.5 Гц, 2H, CH₂); 2.67 – 2.64 (м, 6H, CH₂); 2.37 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 164.20; 161.66; 159.45; 152.37; 149.36; 147.69; 139.70; 135.08; 132.79; 129.35; 128.95; 127.73; 125.64; 124.26; 58.05; 52.29; 31.69; 20.95. MS, m/z: 477 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₉H₂₈N₆O (476.23): C 73.09, H 5.92, N 17.63. Знайдено: C 73.05, H 5.90, N 17.58.

7-(1,4-Діазепан-1-іл)-2,5-дифенілоксазол[4,5-*d*]піримідин 2.30. Біла кристалічна речовина. Вихід 78%. Т. пл. 213-215°C. ІЧ (KBr, см⁻¹): 3330-2770 (NH, ArCH), 1622, 1549, 1480, 1449, 1370, 1133, 1021, 928, 769, 696, 662. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.37 (д, J = 6.4 Гц, 2H, ArH), 8.20 (д, J = 6.8 Гц, 2H, ArH), 7.70-7.63 (м, 3H, ArH), 7.49-7.48 (м, 3H, ArH), 4.05 4.01 (м, 4H, CH₂ (1,4-діазепан)) 3.02 (с, 2H, CH₂(1,4-діазепан)), 2.76 (т, J=4.4 Гц, 2H, CH₂ (1,4-діазепан)), 1.91 (т, J = 4.4 Гц, 2H, CH₂ (1,4-діазепан)) (NH протон не спостерігався). ¹³C ЯМР (125 МГц, CF₃CO₂D): 170.8, 155.7, 151.9, 150.0, 136.4, 135.3, 130.1, 130.0, 128.9, 128.6, 128.1, 128.0, 122.3, 49.4, 46.9, 46.4, 44.2 25.0. MS, m/z: 372 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₂H₂₁N₅O: C 71.14; H 5.70; N 18.85. Знайдено: C 71.10; H 5.67; N 18.92.

7-(1,4-Діазепан-1-іл)-5-(4-метилфеніл)-2-фенілоксазол[4,5-*d*]піримідин 2.31. Біла кристалічна речовина. Вихід 72%. Т. пл. 240-243°C. ІЧ (KBr, см⁻¹): 3362-2640 (NH, ArCH), 1621, 1546, 1369, 1290, 1135, 1060, 1020, 920, 781, 689. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.25 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 8.19 (д, J = 6.4 Гц, 2H, ArH), 7.63 (д, J = 8.8 Гц, 2H, ArH), 7.27 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 4.07-4.03 (м,

4H, 1,4-діазепан), 3.05 (с, 2H, 1,4-діазепан), 2.80 (с, 2H, 1,4-діазепан), 2.37 (с, 3H, CH₃), 1.94 (с, 2H, 1,4-діазепан) (NH протон не спостерігався). ¹³C ЯМР (125 МГц, CF₃CO₂D): 170.6, 155.7, 151.7, 149.9, 147.9, 136.3, 130.7, 130.0, 128.8, 128.1, 128.0, 125.7, 122.3, 49.3, 46.9, 46.4, 44.1, 25.0, 20.2. MS, m/z: 386 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₃H₂₃N₅O: C, 71.67; H, 6.01; N, 18.17. Знайдено: C, 71.61; H, 5.98; N, 18.24.

7-(1,4-Діазепан-1-іл)-2-(4-метилфеніл)-5-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин

2.32. Світло-жовта кристалічна речовина. Вихід 73%. Т. пл. 251-254°C. ІЧ (KBr, см⁻¹): 3342-2622 (NH, ArCH), 1613, 1550, 1378, 1268, 1143, 1069, 771, 702. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.39-8.37 (м, 2H, ArH), 8.11 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 7.49-7.45 (м, 5H, ArH), 4.11-4.04 (м, 4H, 1,4-діазепан), 3.06-3.04 (м, 2H, 1,4-діазепан), 2.80- 2.78 (м, 2H, 1,4-діазепан), 2.44 (с, 3H, Me), 2.30 (ушир. с, 1H, NH), 1.96-1.93 (с, 2H, 1,4-діазепан). ¹³C ЯМР (125 МГц, CF₃CO₂D): 171.1, 155.6, 151.9, 149.8, 149.6, 135.2, 130.9, 130.0, 129.0, 128.7, 127.9, 119.3, 119.2, 49.4, 47.4, 47.0, 46.9, 46.5, 46.4, 46.2, 44.2, 25.0, 24.2, 20.6. MS, m/z: 386 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₃H₂₃N₅O: C, 71.67; H, 6.01; N, 18.17. Знайдено: C, 71.64; H, 5.99; N, 18.10.

7-(1,4-Діазепан-1-іл)-2,5-ди-(4-метилфеніл)-оксазоло[4,5-*d*]піримідин

2.33. Біла кристалічна речовина. Вихід 75%. Т. пл. 244-247°C. ІЧ (KBr, см⁻¹): 3339-2742 (NH, ArCH), 1616, 1574, 1550, 1488, 1455, 1390, 1368, 1328, 1204, 1082, 1014, 927, 781, 728. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.25 (д, J = 6.8 Гц, 2H, ArH), 8.07 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 7.43 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 7.23 (д, J = 7.2 Гц, 2H, ArH), 4.03 (д, J = 16.0 Гц, 4H, 1,4-діазепан), 3.03 (ушир. с, 2H, 1,4-діазепан), 2.78 (ушир. с, 2H, 1,4-діазепан), 2.42 (с, 3H, Me), 2.37 (с, 3H, Me), 1.92 (ушир. с, 2H, 1,4-діазепан) (NH протон не спостерігався). ¹³C ЯМР (125 МГц, CF₃CO₂D): 170.9, 155.6, 151.8, 149.8, 149.5, 147.9, 130.9, 130.8, 129.0, 128.0, 127.7, 125.7, 119.3, 49.3, 47.4, 47.0, 46.9, 46.5, 46.4, 46.1, 44.1, 25.0, 24.2, 20.5,

20.2. MS, m/z: 400 $[M+1]^+$. Розраховано для $C_{24}H_{25}N_5O$: C, 72.16; H, 6.31; N, 17.53. Знайдено: C, 72.13; H, 6.30; N, 17.62.

7-(4-Метил-1,4-діазепан-1-іл)-2,5-дифенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.34. Біла кристалічна речовина. Вихід 74%. Т. пл. 171°C. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3105-2635 (ArCH), 1618, 1546, 1374, 1307, 1065, 1023, 770, 697. 1H ЯМР (400 МГц, CF_3CO_2D): 8.62-8.60 (м, 4H, ArH), 8.23-8.17 (м, 2H, ArH), 8.08 (с, 4H, ArH), 5.53-5.29 (м, 1H, 1,4-діазепан), 5.18-5.02 (м, 3H, 1,4-діазепан), 4.81-4.70 (м, 1H, 1,4-діазепан), 4.60-4.35 (м, 1H, 1,4-діазепан), 4.05-3.94 (м, 2H, 1,4-діазепан), 3.57 (с, 3H, CH_3), 3.18- 3.02 (м, 2H, 1,4-діазепан). ^{13}C ЯМР (125 МГц, CF_3CO_2D): 170.9, 155.7, 152.0, 150.0, 135.4, 135.3, 130.1, 130.0, 129.0, 128.6, 128.2, 128.0, 122.3, 56.9, 48.9, 45.0, 43.1, 24.2. MS, m/z: 386 $[M+1]^+$. Розраховано для $C_{23}H_{23}N_5O$: C, 71.67; H, 6.01; N, 18.17. Знайдено: C, 71.65; H, 5.99; N, 18.24.

5-(4-Метилфеніл)-2-феніл-7-(4-(2-(піридин-4-іл)етил)-1,4-діазепан-1-іл)-оксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.35. Біла кристалічна речовина. Вихід: 82 %. Т. пл. 135 – 137 °C. 1H ЯМР (400 МГц, $(D_6)DMSO$): 8.33 (д, $J = 4.8$ Гц, 2H, GetH), 8.28 – 8.25 (м, 2H, ArH), 8.21 (д, $J = 7.3$ Гц, 2H, ArH), 7.70 – 7.62 (м, 3H, ArH), 7.29 (д, $J = 7.7$ Гц, 2H, ArH), 7.19 (д, $J = 5.0$ Гц, 2H, GetH), 4.07 (с, 4H, CH_2), 2.98 (с, 2H, CH_2), 2.73 (с, 6H, CH_2), 2.37 (с, 3H, Me), 1.96 (с, 2H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, $(D_6)DMSO$): 164.37, 161.22, 159.50, 149.50, 149.12, 147.98, 139.59, 135.31, 132.66, 129.37, 128.93, 127.69, 127.57, 125.81, 124.19, 57.16, 53.65, 32.35, 20.95. MS, m/z: 491 $[M+1]^+$. Розраховано для $C_{30}H_{30}N_6O$ (490.25): C 73.45, H 6.16, N 17.13. Знайдено: C 73.42, H 6.15, N 17.20.

1-(5-(4-Метилфеніл)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)піперидин-3-ол 2.36. Біла кристалічна речовина. Вихід: 72 %. Т. пл. 291 – 293 °C. 1H ЯМР (400 МГц, $(D_6)DMSO$): 8.26 – 8.22 (м, 4H, ArH), 7.72 – 7.62 (м, 3H, ArH), 7.28 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H, ArH), 5.06 (д, $J = 4.2$ Гц, 1H, OH), 4.47 (ушир. с, 1H, CH), 4.28 (ушир. д, $J = 13.2$ Гц, 1H, CH), 3.71 (ушир. с, 1H, CH), 3.64 – 3.58 (м, 1H, CH), 3.42 (ушир. с, 1H, CH), 2.36 (с, 3H, Me), 1.97 – 1.86 (м, 2H, CH_2), 1.61 – 1.51 (м,

2H, CH₂). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 163.93, 161.49, 159.41, 147.87, 139.62, 135.20, 132.72, 129.36, 128.93, 127.71, 127.66, 125.71, 64.99, 32.72, 22.35, 20.96. MS, m/z: 487 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₃H₂₂N₄O₂ (486.17): C 71.48, H 5.74, N 14.50. Знайдено: C 71.46, H 5.70, N 14.56.

1-(5-(4-Метилфеніл)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)піперидин-4-карбоксамід 2.37. Біла кристалічна речовина. Вихід: 70 %. Т. пл. 299 – 301 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.28-8.24 (м, 4H, ArH), 7.73-7.64 (м, 3H, ArH), 7.30 (д, J = 7.9 Гц, 3H, ArH, NH₂), 6.79 (ушир. с, 1H, NH₂), 4.84 (д, J = 13.4 Гц, 2H, CH₂), 3.34 (ушир. с, 2H, CH₂), 2.38 (с, 3H, Me), 1.96 (д, J = 13.1 Гц, 2H, CH₂), 1.74-1.66 (м, 2H, CH₂). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 164.49, 162.61, 159.83, 139.81, 135.38, 132.77, 129.41, 129.00, 127.75, 28.37, 20.98. MS, m/z: 414 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₄H₂₃N₅O₂ (413.19): C 69.72, H 5.61, N 16.94. Знайдено: C 69.70, H 5.63, N 17.00.

5-(4-Метилфеніл)-3-(2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)-1,2,3,4,5,6-гексагідро-8H-1,5-метанопіридо[1,2-*a*][1,5]ціазоцин-8-он 2.38. Біла кристалічна речовина. Вихід: 78 %. Т. пл. 263 – 265 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.30 – 8.23 (м, 2H, ArH), 8.20 – 8.17 (м, 2H, ArH), 7.75 – 7.62 (м, 3H, ArH), 7.28 (д, J = 8.0 Гц, 2, ArH H), 7.04 (ушир. с, 1H, GetH), 6.34 (дд, J = 6.9, 1.5 Гц, 1H, GetH), 5.90 (д, J = 9.0 Гц, 1H, GetH), 5.12 (ушир. с, 1H, CH), 4.88 (ушир. с, 1H, CH), 4.03 (д, J = 15.6 Гц, 1H, CH), 3.70 – 3.40 (м, 4H, CH₂), 2.68 (ушир. с, 1H, CH), 2.37 (с, 3H, Me), 2.18 (ушир. д, J = 12.9 Гц, 1H, CH), 2.07 (ушир. д, J = 12.7 Гц, 1H, CH). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 164.05, 161.79, 161.74, 159.20, 157.54, 147.86, 146.14, 139.69, 138.50, 134.96, 132.86, 129.40, 128.90, 127.73, 127.00, 125.53, 115.73, 104.80, 48.51, 34.31, 27.53, 25.57, 20.95. MS, m/z: 476 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₉H₂₅N₅O₂ (475.20): C 73.25, H 5.30, N 14.73. Знайдено: C 73.22, H 5.28, N 14.74.

5-(4-Метилфеніл)-N-(4-флуоробензил)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-амін 2.39. Біла кристалічна речовина. Вихід: 80 %. Т. пл. 190 – 192 °C. ¹H ЯМР

(400 МГц, (D₆)DMSO): 8.76 (с, 1H, H-N), 8.26 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH), 8.21 (д, J = 6.8 Гц, 2H, ArH), 7.71 – 7.63 (м, 3H, ArH), 7.54 – 7.49 (м, 2H, ArH), 7.28 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH), 7.17 (т, J = 8.9 Гц, 2H, ArH), 4.84 (д, J = 6.0 Гц, 2H, CH₂), 2.36 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (101 МГц, (D₆)DMSO): 164.27, 162.45, 160.07, 159.92, 139.61, 136.49, 135.80, 135.32, 132.67, 129.84, 129.41, 128.97, 127.75, 127.54, 126.00, 115.20, 114.99, 42.79, 20.95. MS, m/z: 411 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₅H₁₉FN₄O (410.15): C 73.16, H 4.67, N 13.65. Знайдено: C 73.13, H 4.65, N 13.58.

N-(4-Метоксифенетил)-5-(4-метилфеніл)-2-фенілоксазоло[4,5-d]піримідин-7-амін 2.40. Біла кристалічна речовина. Вихід: 82 %. Т. пл. 151 – 153 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.29 (ушир. д, J = 7.9 Гц, 3H, ArH, NH), 8.23 – 8.20 (м, 2H, ArH), 7.72 – 7.65 (м, 3H, ArH), 7.31 (д, J = 7.9 Гц, 2H, ArH), 7.26 – 7.23 (м, 2H, ArH), 6.87 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH), 3.84 – 3.80 (м, 2H, CH₂), 3.71 (с, 3H, MeO), 2.96 (т, J = 7.5 Гц, 2H, CH₂), 2.38 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 131.58, 128.99, 128.17, 127.49, 127.21, 125.40, 113.32, 54.44, 20.58. MS, m/z: 437 [M+1]⁺. Розраховано для C₂₇H₂₄N₄O₂ (436.19): C 74.29, H 5.54, N 12.84. Знайдено: C 74.30, H 5.50, N 12.78.

5-(4-Метоксифенетил)-2-феніл-N-(2-(4-хлорофеніл)-2-морфоліноетил)оксазоло[4,5-d]піримідин-7-амін 2.41. Біла кристалічна речовина. Вихід: 78 %. Т. пл. 225 – 227 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.29 – 8.10 (м, 5H, ArH), 7.71 – 7.65 (м, 3H, ArH), 7.37 (ушир. с, 4H, ArH), 7.29 (д, J = 7.8 Гц, 2H, ArH), 4.26 – 4.23 (м, 1H, CH), 3.92 – 3.84 (м, 2H, CH₂), 3.56 – 3.54 (м, 4H, CH₂), 2.45 (ушир. с, 4H, CH₂), 2.37 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (126 МГц, CDCl₃): 161.43, 147.87, 140.36, 135.40, 132.63, 130.20, 129.16, 128.41, 128.21, 126.45, 119.98, 50.68, 21.57. Розраховано для C₃₀H₂₈N₄O₂ (525.19): C 68.50, H 5.37, Cl 6.74, N 13.31. Знайдено: C 68.48, H 5.40, Cl 6.68, N 13.25.

N-(2-Морфоліно-2-(тіофен-2-іл)етил)-5-(метоксифенетил)-2-феніл-оксазоло[4,5-d]піримідин-7-амін 2.42. Біла кристалічна речовина. Вихід: 75 %. Т. пл. 226 – 228 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.28 – 8.26 (м, 3H, ArH, NH), 8.20

(ушир. д, $J = 7.1$ Гц, 2H, ArH), 7.70 – 7.63 (м, 3H, ArH), 7.49 – 7.47 (м, 1H, GetH), 7.29 (д, $J = 7.9$ Гц, 2H, ArH), 7.10 (д, $J = 3.5$ Гц, 1H, GetH), 7.06 – 7.04 (м, 1H, GetH), 4.33 (т, $J = 6.9$ Гц, 1H, CH), 4.22 – 4.16 (м, 1H, CH), 4.05 – 4.03 (м, 1H, CH), 3.97 – 3.94 (м, 1H, CH), 3.83 (т, $J = 4.7$ Гц, 1H, CH), 3.55 (ушир. с, 2H, CH₂), 2.58 (ушир. с, 2H, CH₂), 2.37 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 159.86, 154.76, 139.62, 132.68, 129.38, 128.95, 127.79, 127.71, 127.56, 126.72, 125.20, 66.51, 66.00, 49.51, 20.95. Розраховано для C₂₈H₂₇N₅O₂S (497.19): C 67.58, H 5.47, N 14.07, S 6.44. Знайдено: C 67.60, H 5.51, N 14.10, S 6.48.

Загальна

методика

синтезу

трет-Бутил-4-(5-біарил-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)-піперазин-1-ілкарбоксилатів 2.43–2.44. Суміш 2 ммоль оксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.28**, 4 ммоль однієї з арилборонових кислот, 6 ммоль K₂CO₃, 10 мкмоль [Pd(IPr)Cl₂]₂ і 20 мл безводного EtOH перемішували при 60 °C впродовж 18 год. Одержаний осад фільтрували, промивали водою і етанолом, потім розчиняли в дихлорометані та пропускали через мікрофільтр. Розчинник видаляли у вакуумі.

трет-Бутил-4-(5-біфеніл-4-іл-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)піперазин-1-ілкарбоксилат 2.43. Біла кристалічна речовина. Вихід: 91%. Т. пл. 288.3 °C. ІЧ (KBr, см⁻¹): 3451-2973 (CH₂ (піперазин)), 1698, 1617, 1547, 1474, 1375, 1251, 1169, 1056, 1013, 930, 854, 769, 696. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.56 – 8.52 (м, 2H, ArH); 8.26 – 8.22 (м, 2H, ArH); 7.71 – 7.65 (м, 4H, ArH); 7.62 – 7.51 (м, 3H, ArH); 7.50 – 7.43 (м, 2H, ArH); 7.40 – 7.34 (м, 1H, ArH); 4.08 (д, $J = 6.2$ Гц, 4H, піперазин); 3.68 (д, $J = 7.0$ Гц, 4H, піперазин); 1.53 (с, 9H, Me₃CO₂C). ¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃): 165.15; 162.69; 160.51; 154.79; 148.03; 142.82; 140.84; 137.02; 132.70; 129.77; 129.21; 128.93; 128.90; 128.16; 127.66; 127.26; 127.06; 126.26; 80.50; 45.07; 28.58. HR-MS, *m/z*: 534.2493 [M+1]⁺. Розраховано для C₃₂H₃₁N₅O₃ (533.64): C 72.03, H 5.86, N 13.12. Знайдено: C 71.99, H 5.84, N 13.02.

трет-Бутил-4-[5-(4'-метоксикарбонілбіфеніл-4-іл)-2-фенілоксазоло-[4,5-*d*]піримідин-7-іл]-піперазин-1-ілкарбоксилат 2.44. Біла кристалічна

речовина. Вихід: 81%. Т. пл. 280.3 °С. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3450-2973 (CH_2 (піперазин)), 1720 ($\text{C}=\text{O}$), 1693, 1608, 1545, 1426, 1377, 1278, 1172, 1058, 1026, 931, 844, 774, 693. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): 8.55 (д, $J = 8.2$ Гц, 2H, ArH); 8.24 (д, $J = 7.5$ Гц, 2H, ArH); 8.12 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H, ArH); 7.73 – 7.69 (м, 4H, ArH); 7.61 – 7.52 (м, 3H, ArH); 4.11 – 4.06 (м, 4H, піперазин); 3.94 (с, 3H, MeO_2C); 3.72 – 3.65 (м, 4H, піперазин); 1.53 (с, 9H, $\text{Me}_3\text{CO}_2\text{C}$). ^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3): 167.11; 165.22; 162.67; 160.24; 154.78; 148.04; 145.22; 141.47; 137.85; 132.76; 130.24; 129.22; 129.18; 129.01; 128.22; 128.17; 127.21; 127.13; 126.20; 80.53; 52.28; 45.06; 28.57. HR-MS, m/z : 592.2535 $[\text{M}+1]^+$. Розраховано для $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5$ (591.67): C 69.02, H 5.62, N 11.84. Знайдено: C 68.98, H 5.60, N 11.78.

Загальна

методика

синтезу

4-(5-біарил-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)піперазин-1-іл-трифлуороацетатів 2.45 – 2.47. Під час перемішування суміші 2 ммоль однієї з сполук **2.28**, **2.43** або **2.44** і 5 мл 1,4-діоксану в інертній атмосфері (Ar) при 0 °С додавали надлишок трифтороцтової кислоти (5 мл). Далі розчин перемішували при кімнатній температурі впродовж 5 годин. Надлишок трифтороцтової кислоти та 1,4-діоксану видаляли при зниженому тиску і температурі 70°C. Одержаний осад промивали водою, сушили і перекристалізовували з MeCN/ДМФА.

4-(5-Біфеніл-4-іл-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)-піперазин-1-іл-трифлуороацетат 2.45. Біла кристалічна речовина. Вихід: 80%. Т. пл. 288.5°C. ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3427 – 3009 (NH_2^+ , CH_2 (піперазин)), 1681, 1620, 1548, 1452 1379, 1201, 1130, 1025, 930, 769, 720, 695. ^1H ЯМР (400 МГц, $(\text{D}_6)\text{DMSO}$): 9.16 (ушир. с, 2H, NH_2^+ (піперазин)); 8.45 (д, $J = 8.5$ Гц, 2H, ArH); 8.29 (д, $J = 7.1$ Гц, 2H, ArH); 7.81 – 7.69 (м, 5H, ArH); 7.68 – 7.61 (м, 2H, ArH); 7.55 – 7.47 (м, 2H, ArH); 7.41 (д, $J = 6.8$ Гц, 1H, ArH); 4.33 – 4.21 (м, 4H, піперазин); 3.47–3.36 (м, 4H, піперазин). ^{13}C ЯМР (101 МГц, $(\text{D}_6)\text{DMSO}$): 164.66; 161.97; 159.06; 158.34; 147.42; 141.81; 139.49; 136.49; 133.07; 129.38; 129.04; 128.43; 127.96; 127.93; 126.76; 126.68; 125.43; 42.62. ^{19}F ЯМР (376 МГц, $(\text{D}_6)\text{DMSO}$): - 73.54. HR-MS,

m/z : 434.1962 $[M+H]^+$. Розраховано для $C_{29}H_{24}F_3N_5O_3$ (546.55): C 63.62, H 4.42, N 12.79. Знайдено: C 63.59, H 4.47, N 12.76.

4-[5-(4'-Метоксикарбонілбіфеніл-4-іл)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл]піперазин-1-ілтрифлуороацетат 2.46. Біла кристалічна речовина. Вихід: 81%. Т. пл. 243.9 °C. ІЧ (KBr): 3422 – 2522 (NH_2^+ , CH_2 (піперазин)), 1721($C=O$), 1667, 1625, 1548, 1482, 1376, 1278, 1208, 1132, 1024, 935, 833, 773, 720, 693. 1H ЯМР (400 МГц, $(D_6)DMSO$): 9.16 (ушир. с, 2H, NH_2^+ (піперазин)); 8.46 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H, ArH); 8.29 (д, $J = 7.1$ Гц, 2H, ArH); 8.06 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H, ArH); 7.89 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H, ArH); 7.84 (д, $J = 8.5$ Гц, 2H, ArH); 7.76 – 7.70 (м, 1H, ArH); 7.69 – 7.61 (м, 2H, ArH); 4.26 (с, 4H, піперазин); 3.89 (с, 3H, MeO_2C); 3.40 (с, 4H, піперазин). ^{13}C ЯМР (101 МГц, $(D_6)DMSO$): 166.01; 164.66; 161.93; 160.98; 158.81; 147.40; 143.92; 140.29; 137.32; 133.08; 129.83; 129.54; 129.37; 128.71; 128.48; 127.95; 126.98; 125.40; 52.21; 42.63. ^{19}F ЯМР (376 МГц, $(D_6)DMSO$): 73.56. HR-MS, m/z : 492.2017 $[M+H]^+$. Розраховано для $C_{31}H_{26}F_3N_5O_5$ (605.58): C 61.49, H 4.33, N 11.56. Знайдено: C 61.4, H 4.29, N 11.50.

2-Феніл-5-(4-хлорофеніл)оксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-іл)піперазин-1-ілтрифлуороацетат 2.47. Біла кристалічна речовина. Вихід: 85%. Т. пл. 258.6°C. ІЧ (KBr): 3417 – 2509 (NH_2^+ , CH_2 (піперазин)), 1718, 1674, 1622, 1545, 1452, 1358, 1283, 1207, 1127, 1021, 930, 832, 767, 694. 1H ЯМР (500 МГц, 353.2 К, $(D_6)DMSO$): 9.04 (ушир. с, 2H, NH_2^+ (піперазин)); 8.40 (д, $J = 8.9$ Гц, 2H, ArH); 8.33 – 8.29 (м, 2H, ArH); 7.73 (д, $J = 8.4$ Гц, 1H, ArH); 7.70 – 7.65 (м, 2H, ArH); 7.55 (д, $J = 8.9$ Гц, 2H, ArH); 4.31 – 4.24 (м, 4H, піперазин); 3.42 – 3.36 (м, 4H, піперазин). ^{13}C ЯМР (126 МГц, 353.2 К, $(D_6)DMSO$): 164.59; 161.77; 158.26; 147.29; 136.18; 134.83; 132.60; 129.22; 128.92; 128.02; 127.84; 127.60; 125.20; 42.38; 41.56. ^{19}F ЯМР (376 МГц, $(D_6)DMSO$): 73.52. HR-MS, m/z : 392.1264 $[M+H]^+$. Розраховано для $C_{23}H_{19}F_3ClN_5O_3$ (505.89): C 54.61, H 3.79, N 13.84. Знайдено: C 54.56, H 3.81, N 13.86.

Загальна методика синтезу 2,5,7-триарилоксазоло[4,5-*d*]піримідинів 2.48 – 2.49. До розчину 1 ммоль 2,5-дифеніл-7-хлорооксазоло[4,5-*d*]піримідину **2.16** в 7 мл ТГФ та 0,7 мл абсолютного EtOH додавали 2 ммоль одного з арилборонових кислот, 3 ммоль K₂CO₃, а потім 5 мкмоль [Pd(IPr)Cl₂]₂. Реакційну суміш перемішували при 60 °С впродовж 18 год. Осад фільтрували, промивали водою та етанолом, сушили, потім розчиняли в дихлорометані та пропускали через мікрофільтр. Розчинник видаляли у вакуумі.

2,5,7-Трифенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.48. Біла кристалічна речовина. Вихід: 70%. Т. пл. 268.5 °С. ІЧ (KBr): 1613, 1546, 1485, 1448, 1396, 1363, 1216, 1021, 922, 763, 689. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.70 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH); 8.63 (д, J = 7.0 Гц, 2H, ArH); 8.42 (д, J = 7.1 Гц, 2H, ArH); 7.69 – 7.56 (м, 6H, ArH); 7.56 – 7.46 (м, 3H, ArH). ¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃): 168.16; 164.32; 161.53; 146.76; 138.48; 137.78; 133.86; 133.55; 131.74; 130.59; 129.37; 129.18; 129.04; 128.91; 128.68; 128.63; 125.89. HR-MS, m/z: 350.1279 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₃H₁₅N₃O (349.40): C 79.07, H 4.33, N 12.03. Знайдено: C 79.03, H 4.36, N 11.95.

2,5-Дифеніл-7-(4-метоксикаронілфеніл)оксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.49. Біла кристалічна речовина. Вихід: 79%. Т. пл. 272.2 °С. ІЧ (KBr): 1718 (C=O), 1602, 1544 1394, 1358, 1283, 1217, 1115, 1020, 918, 767, 695. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.69 – 8.62 (м, 4H, ArH); 8.40 (д, J = 5.4, Гц, 2H, ArH); 8.29 – 8.26 (м, 2H, ArH); 7.70 – 7.65 (м, 1H, ArH); 7.64 – 7.57 (м, 2H, ArH); 7.56 – 7.47 (м, 3H, ArH); 3.98 (с, 3H, MeO₂C). ¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃): 168.45; 166.59; 164.65; 161.67; 145.36; 138.60; 137.83; 137.48; 133.77; 132.64; 130.76; 130.29; 129.43; 128.98; 128.89; 128.67; 125.65; 52.57. HR-MS, m/z: 408.1331 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₅H₁₇N₃O₃ (407.43): C 73.70, H 4.21, N 10.31. Знайдено: C 73.65, H 4.20, N 10.35.

Загальна методика синтезу 2-(4-Метилфеніл)-5-феніл-7-(4-сульфонілпі-перазин-1-іл)заміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів 2.50-2.55. До розчину 1 ммоль одного з 7-піперазин(діазепан)заміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів **2,21, 2,24, 2,32** і 1

ммоль триетиламіну в 10 мл діоксану додали 1 ммоль одного з алкіл(арил)сульфонілхлоридів. Реакційну суміш нагрівали при 100-105°C впродовж 6 годин. Після видалення розчинника залишок розтирали у воді, відфільтровували, сушили і перекристалізовували.

7-(4-Метилсульфонілпіперазин-1-іл)-2,5-дифенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.50. Біла кристалічна речовина. Вихід: 71 %. Т. пл. 275 – 277 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.51 – 8.44 (м, 2H, ArH); 8.29 – 8.22 (м, 2H, ArH); 7.66 – 7.52 (м, 3H, ArH); 7.50 – 7.43 (м, 3H, ArH); 4.26 (т, J = 5.1 Гц, 4H, CH₂ (піперазин)); 3.48 (т, J = 5.1 Гц, 4H, CH₂ (піперазин)); 2.85 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (151 МГц, CDCl₃): 164.25; 162.00; 160.10; 153.24; 143.63; 136.86; 131.96; 129.45; 128.31; 127.47; 127.24; 126.68; 125.11; 44.81; 33.92. MS, m/z: 436.0 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₂H₂₁N₅O₃S (435.14): C 60.68, H 4.86, N 16.08, S 7.36. Знайдено: C 60.65, H 4.86, N 16.00, S 7.30.

7-(4-Метилсульфонілпіперазин-1-іл)-2-(4-метилфеніл)-5-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.51. Біла кристалічна речовина. Вихід: 75 %. Т. пл. 289 – 291 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.50 – 8.43 (м, 2H, ArH); 8.12 (д, J = 8.2 Гц, 2H, ArH); 7.49 – 7.42 (м, 3H, ArH); 7.35 (д, J = 7.8 Гц, 2H, ArH); 4.23 (т, J = 5.1 Гц, 4H, CH₂ (піперазин)); 3.47 (т, J = 5.0 Гц, 4H, CH₂ (піперазин)); 2.85 (д, J = 1.6 Гц, 3H, Me); 2.46 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (126 МГц, CDCl₃): 165.73; 163.12; 156.93; 147.60; 137.90; 130.03; 128.45; 128.22; 45.81; 34.24; 21.29. MS, m/z: 450.0 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₃H₂₃N₅O₃S (449.15): C 61.45, H 5.16, N 15.58, S 7.13. Знайдено: C 61.50, H 5.15, N 15.50, S 7.10.

2-(4-Метилфеніл)-5-феніл-7-(4-фенілсульфонілпіперазин-1-іл)оксазоло[4,5-*d*]піримідин 2.52. Біла кристалічна речовина. Вихід: 73 %. Т. пл. 247 – 249 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.43 (ушир. д, J = 6.1 Гц, 2H, ArH); 8.11 (д, J = 7.8 Гц, 2H, ArH); 7.80 (д, J = 7.5 Гц, 2H, ArH); 7.60 – 7.52 (м, 3H, ArH); 7.44 (ушир. с, 3H, ArH); 7.34 (д, J = 7.7 Гц, 2H, ArH); 4.23 (ушир. с, 4H, CH₂ (піперазин)); 3.25 (ушир. с, 4H, CH₂ (піперазин)); 2.46 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (126 МГц, CDCl₃):

158.19; 143.90; 135.62; 133.40; 130.56; 130.03; 129.46; 128.55; 128.46; 128.30; 127.90; 46.11; 44.75; 21.95. MS, m/z: 512.0 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₈H₂₅N₅O₃S (511.17): C 65.74, H 4.93, N 13.69, S 6.27. Знайдено: C 65.70, H 4.91, N 13.70, S 6.25.

2-(4-Метилфеніл)-5-феніл-7-(4-тозилсульфонілпіперазин-1-іл)оксазол[4,5-*d*]піримідин 2.53. Біла кристалічна речовина. Вихід: 72 %. Т. пл. 261 – 263 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.46 – 8.39 (м, 2H, ArH); 8.09 (д, J = 7.9 Гц, 2H, ArH); 7.66 (д, J = 8.3 Гц, 2H, ArH); 7.46 – 7.40 (м, 3H, ArH); 7.32 (т, J = 7.8 Гц, 4H, ArH); 4.20 (т, J = 5.0 Гц, 4H, CH₂ (піперазин)); 3.21 (т, J = 5.0 Гц, 4H, CH₂ (піперазин)); 2.45 (с, 3H, Me); 2.39 (с, 3H, Me). ¹³C ЯМР (126 МГц, CDCl₃): 165.56; 163.18; 160.74; 147.40; 144.28; 143.73; 137.89; 132.40; 130.30; 130.04; 129.98; 128.41; 128.38; 128.18; 127.93; 127.81; 123.34; 46.09; 44.62; 21.93; 21.66. MS, m/z: 526.2 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₉H₂₇N₅O₃S (525.18): C 66.27, H 5.18, N 13.32, S 6.10. Знайдено: C 66.25, H 5.15, N 13.24, S 6.20.

2-(4-Метилфеніл)-5-феніл-7-(4-фенілсульфоніл-1,4-діазепан-1-іл)оксазол[4,5-*d*]піримідин 2.54. Біла кристалічна речовина. Вихід: 74 %. Т. пл. 229 – 231 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.34 – 8.31 (м, 2H, ArH); 8.04 (д, J = 7.8 Гц, 2H, ArH); 7.68 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH); 7.49 – 7.36 (м, 8H, ArH); 4.09 (т, J = 5.6 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)); 3.98 (т, J = 5.6 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)); 3.61 (т, J = 5.6 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)); 3.41 (ушир. с, 2H, CH₂ (діазепан)); 2.39 (с, 3H, Me); 1.98 (ушир. с, 2H, CH₂ (діазепан)). ¹³C ЯМР (126 МГц, (D₆)DMSO): 164.44; 161.41; 159.24; 147.21; 143.12; 139.18; 137.87; 132.55; 129.98; 129.91; 129.06; 128.34; 127.71; 127.58; 127.41; 126.40; 122.90; 46.87; 21.26. MS, m/z: 526.2 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₉H₂₇N₅O₃S (525.18): C 66.27, H 5.18, N 13.32, S 6.10. Знайдено: C 66.31, H 5.20, N 13.36, S 6.15.

2-(4-Метилфеніл)-5-феніл-7-(4-тозилсульфоніл-1,4-діазепан-1-іл)оксазол[4,5-*d*]піримідин 2.54. Біла кристалічна речовина. Вихід: 77 %. Т. пл. 192 – 194 °C. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.44 (д, J = 6.0 Гц, 2H, ArH); 8.10 (д, J = 7.9 Гц,

2H, ArH); 7.55 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH); 7.46 – 7.44 (м, 3H, ArH); 7.36 (д, J = 8.0 Гц, 2H, ArH); 7.04 (д, J = 7.9 Гц, 2H, ArH); 4.18 (т, J = 5.5 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)); 4.10 (т, J = 6.3 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)); 3.62 (т, J = 5.6 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)); 3.43 (т, J = 6.0 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)); 2.47 (с, 3H, Me); 2.27 (с, 3H, Me); 2.16 (т, J = 6.6 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)). ¹³C ЯМР (126 МГц, CDCl₃): 160.73; 143.60; 138.13; 130.20; 130.03; 129.69; 128.38; 128.05; 126.81; 123.57; 47.52; 21.94; 21.52. MS, m/z: 540.2 [M+H]⁺. Розраховано для C₃₀H₂₉N₅O₃S (539.20): C 66.77, H 5.42, N 12.98, S 5.94. Знайдено: C 66.75, H 5.40, N 13.05, S 5.90.

4.1.2. Синтез нових похідних оксазоло[5,4-*d*]піримідину

7-Бензоїліміно-2,5-дифенілоксазоло[3,4-*d*][1,3]оксазин 2.57 [178]. Розчин 59 ммоль бензоїлброміду **2.56** у 35 мл безводного етеру, в якому суспендований 59 ммоль ціаніду срібла, кип'ятили впродовж 21 год. Одержаний осад фільтрували і промивали холодним етером. Жовтий продукт розчиняли у гарячому хлороформі, таким чином відокремлюючи від солей срібла. Розчинник видаляли у вакуумі. Вихід: 90%. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.14-8.02 (м, 6H, ArH); 7.72-7.54 (м, 9H, ArH). ¹³C ЯМР (100 МГц, (D₆)DMSO): 174.70; 160.95; 160.20; 159.53; 145.84; 133.96; 133.48; 133.42; 133.23; 129.51; 129.36; 128.80; 128.69; 128.08; 126.74; 125.28; 117.70.

2,5-Дифенілоксазоло[5,4-*d*]піримідин-7-он 2.58 синтезували за описаною методикою [178]. Розчин 18 ммоль тримеру **2.57** у 70 мл безводного метанолу, що містив 36 ммоль метоксиду натрію, перемішували за кімнатної температури впродовж 16 год. Осад фільтрували, промивали метанолом і сушили. Отриману натрієву сіль перетворювали в сполуку **2.58** шляхом перемішування у 50 мл 50% MeCO₂H за кімнатної температури впродовж 1 год. Вихід: 61%. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 13.12 (с, 1H, NH); 8.18-8.11 (м, 4H, ArH); 7.65-7.56 (м, 6H, ArH). ¹³C ЯМР (100 МГц, (D₆)DMSO): 163.90; 158.50; 155.63; 132.07; 131.81; 129.40; 128.83; 128.12; 126.70; 125.98.

2,5-Дифеніл-7-хлорооксазоло[5,4-*d*]піримідин 2.59. Суміш 5 г оксазоло[5,4-*d*]піримідин-7(6*H*)ону **2.58**, синтезованого за відомою методикою [178], 50 мл POCl₃ та 3,6 мл Me₂NPh кип'ятили впродовж 3 годин. Після охолодження до кімнатної температури розчин вилили у високий стакан з льодом. Одержаний осад після танення льоду відфільтрували і перекристалізували з 1,4-діоксану. Біла кристалічна речовина. Вихід: 97%. Т. пл. 209 – 211 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.43-8.39 (м, 2H, ArH); 8.30-8.28 (м, 2H, ArH); 7.78-7.73 (м, 1H, ArH); 7.71-7.67 (м, 2H, ArH); 7.62-7.56 (м, 3H, ArH). ¹³C ЯМР (100 МГц, (D₆)DMSO): 166.19; 162.99; 159.36; 148.96; 135.29; 133.51; 131.70; 129.63; 129.46; 129.08; 128.11; 128.06; 125.00.

Загальна методика синтезу оксазоло[5,4-*d*]піримідинів 2.60–2.62. Суміш 2 ммоль 7-хлорооксазоло[5,4-*d*]піримідину **2.59**, 2 ммоль відповідного аміну та 2 ммоль триетиламіну в 15 мл діоксану кип'ятили впродовж 6 годин. Після видалення розчинника твердий залишок розтерли у воді, відфільтрували, висушили і кристалізували з суміші ДМФА/MeCN (1:3).

2,5-Дифеніл-7-піперазин-1-іл-оксазоло[5,4-*d*]піримідин 2.60. Біла кристалічна речовина. Вихід: 98%. Т. пл. 189-191 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.38–8.35 (м, 2H, ArH), 8.18–8.13 (м, 2H, ArH), 7.65–7.58 (м, 3H, ArH), 7.51–7.49 (м, 3H, ArH), 4.21 (ушир. с, 4H, CH₂ (піперазин)), 2.90-2.88 (м, 4H, CH₂ (піперазин)), 2.55 (ушир. с, 1H, H-N (піперазин)). ¹³C ЯМР (100 МГц, (D₆)DMSO): 166.11, 158.64, 156.82, 153.24, 137.26, 131.80, 130.50, 129.34, 128.49, 127.84, 126.81, 125.94, 114.78, 45.72. MS, m/z: 358.0 [M+H]⁺.

7-(4-Етилпіперазин-1-іл)-2,5-дифенілоксазоло[5,4-*d*]піримідин 2.61. Світло-жовта кристалічна речовина. Вихід: 90%. Т. пл. 184-186 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 8.45 (д, J = 6.5 Гц, 2H, ArH), 8.21 (д, J = 6.7 Гц, 2H, ArH), 7.53–7.46 (м, 6H, ArH), 4.41 (ушир. с, 4H, CH₂ (етилпіперазин)), 2.67-2.64 (м, 4H, CH₂ (етилпіперазин)), 2.52 (кв, J = 7.2 Гц, 2H, CH₂ (етилпіперазин)), 1.17 (т, J = 7.2 Гц, 3H, Me (етилпіперазин)). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃): 166.78, 159.91, 157.77,

153.81, 137.93, 131.53, 130.47, 129.08, 128.46, 128.42, 127.33, 126.86, 115.70, 52.99, 52.64, 12.00. MS, m/z: 386.1 [M+H]⁺.

7-(1,4-Діазепан-1-іл)-2,5-дифенілоксазоло[5,4-*d*]піримідин 2.62. Біла кристалічна речовина. Вихід: 95%. Т. пл. 150-152°C. ¹H ЯМР (400 МГц, (D₆)DMSO): 8.35 (д, J = 3.9 Гц, 2H, ArH), 8.11 (д, J = 6.5 Гц, 2H, ArH), 7.57–7.63 (м, 3H, ArH), 7.49–7.53 (м, 3H, ArH), 4.31 (д, J = 5.4 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)), 4.01-4.04 (м, 2H, CH₂ (діазепан)), 2.98-3.01 (м, 2H, CH₂ (діазепан)), 2.74 (д, J = 5.1 Гц, 2H, CH₂ (діазепан)), 2.43 (ушир. с, 1H, H-N (діазепан)), 1.90 (с, 2H, CH₂ (діазепан)). ¹³C ЯМР (100 МГц, (D₆)DMSO): 165.86, 158.66, 156.91, 153.60, 137.43, 131.64, 130.39, 129.29, 128.45, 127.76, 126.66, 126.08, 114.69, 47.54, 47.78, 47.06, 30.16, 28.46. MS, m/z: 372.0 [M+H]⁺.

2,5,7-Триарилоксазоло[5,4-*d*]піримідини 2.63 – 2.64. До розчину 1 ммоль 2,5-дифеніл-7-хлорооксазоло[5,4-*d*]піримідину **2.59** в 6 мл ТГФ та 0,6 мл абсолютного EtOH додавали 2 ммоль одного з арилборонових кислот, 3 ммоль K₂CO₃, а потім 5 мкмоль [Pd(IPr)Cl₂]₂. Реакційну суміш перемішували впродовж 18 год при температурі 63-68 °C. Осад фільтрували, промивали водою та етанолом, сушили, потім розчиняли в дихлорометані і пропускали через мікрофільтр. Розчинник видаляли у вакуумі.

2,5,7-Трифенілоксазоло[5,4-*d*]піримідин 2.63. Біла кристалічна речовина. Вихід: 60%. Т. пл. 288.7 °C. ІЧ (KBr): 1615, 1569, 1450, 1392, 1365, 1271, 1022, 963, 916, 760, 687. ¹H ЯМР (400 МГц, (CDCl₃): 8.96 (д, J = 6.7 Гц, 2H, ArH); 8.66 (д, J = 7.8, Гц, 2H, ArH); 8.38 (д, J = 7.3 Гц, 2H, ArH); 7.65 – 7.49 (м, 9H, ArH). ¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃): 167.26; 162.52; 160.08; 154.84; 137.47; 135.32; 132.74; 131.60; 130.89; 129.84; 129.24; 128.89; 128.74; 128.65; 128.31; 128.05; 126.22. HR-MS, m/z: 350.1279 [M+H]⁺. Розраховано для C₂₃H₁₅N₃O (349.40): C 79.07, H 4.33, N 12.03. Знайдено: C 79.00, H 4.33, N 11.98.

2,5-Дифеніл-7-(4-метоксикаронілфеніл)оксазоло[5,4-*d*]піримідин 2.64. Біла кристалічна речовина. Вихід: 65%. Т. пл. 277.5 °C. ІЧ (KBr): 1722 (C=O),

1615, 1538, 1392, 1361, 1278, 1107, 1020, 962, 767, 700. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): 9.04 – 9.01 (м, 2H, ArH); 8.66 – 8.61 (м, 2H, ArH); 8.42 – 8.33 (м, 2H, ArH); 8.29 – 8.21 (м, 2H, ArH); 7.68 – 7.48 (м, 6H, ArH); 3.99 (с, 3H, MeO_2C). ^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3): 167.43; 166.88; 163.03; 160.23; 153.43; 139.33; 137.22; 133.00; 132.41; 131.08; 130.03; 129.69; 129.33; 128.81; 128.67; 128.58; 128.44; 126.01; 52.51. HR-MS, m/z : 408.1331 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Розраховано для $\text{C}_{25}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ (407.43): C 73.70, H 4.21, N 10.31. Знайдено: C 73.66, H 4.22, N 10.20.

4.1.3. Синтез нових похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину

Загальна методика синтезу піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів 3.17-3.56. До розчину одного з 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрilів **3.1-3.12** (0.01 моль) в тетрагідрофурані (10 мл), було додано еквівалентну кількість одного з піразолоамінів **3.13-3.16** (0.01 моль) та триетиламіну (0.01 моль), після чого реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі 24 год, а далі піддавалась нагріванню при 55—60 °C впродовж 2 год. Після випаровування розчинника у вакуумі твердий залишок розтирали у воді, відфільтровували та перекристалізовували.

2-Дихлорометил-4,7-диметилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.17. Жовта кристалічна речовина. Вихід: 75 %. Т. пл. 108–110 °C (H_2O). ІЧ (KBr , cm^{-1}): 3101, 3021, 3003, 2929, 1681, 1603, 1526, 1358, 1254, 843, 786, 743, 667. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 2.49 (с, 3H), 2.91 (с, 3H), 6.69 (с, 1H), 7.26 (с, 1H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMSO): 14.5, 19.2, 70.9, 97.6, 147.5, 157.2, 158.0, 158.8. MS, m/z 231 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-4-метил-7-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.18. Світло жовта кристалічна речовина. Вихід: 75 %. Т. пл. 194–196 °C (MeCN). ІЧ (KBr , cm^{-1}): 3012, 1606, 1529, 1457, 1253, 836, 787, 764, 736, 688, 655. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO): 3.01 (с, 3H), 7.23 (с, 1H), 7.34 (с, 1H), 7.50–7.54 (м, 3H), 8.09 (д, $J = 5.0$ Гц, 2H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMSO): 19.2, 70.9, 95.0, 126.7, 129.0, 130.1, 131.3, 148.3, 157.5, 157.9, 159.4. MS, m/z 293 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-4-метил-7-(4-метилфеніл)піразоло[1,5-а][1,3,5]триазин

3.19. Жовта кристалічна речовина. Вихід: 80 %. Т. пл. 172–174 °С (EtOH). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3001, 1600, 1523, 1449, 1255, 843, 775, 657. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 2.38 (с, 3H), 2.98 (с, 3H), 7.34–7.35 (м, 3H), 7.39 (с, 1H), 8.00 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMSO): 19.2, 21.0, 70.9, 94.7, 126.6, 128.5, 129.6, 139.8, 148.3, 157.4, 158.0, 159.3. MS, m/z 307 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-7-(4-флуорофеніл)-4-метилпіразоло[1,5-а][1,3,5]триази

н 3.20. Вихід: 75 %. Т. пл. 175–177 °С (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3009, 1612, 1521, 1449, 1234, 1094, 844, 779, 739, 660. ^1H ЯМР: 2.98 (с, 3H, Me-4), 7.33–7.42 (м, 4H, CHCl_2 , H-8,3'',5''), 8.13–8.17 (м, 2H, H-2'',6''). ^{13}C ЯМР: 19.7 (Me-4), 71.3 (CHCl_2), 95.4 (C-8), 116.5 (д, $J = 21.9$ Гц, C-3'',5''), 128.4 (д, $J = 3.0$ Гц, C-1''), 129.5 (д, $J = 8.5$ Гц, C-2'',6''), 148.9, 157.4, 158.1, 159.9, 163.7 (д, $J = 247.3$ Гц, C-4''). MS, m/z 311.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

4-трет-Бутил-2-дихлорометил-7-(4-метилфеніл)піразоло[1,5-а][1,3,5]триазин 3.21. Вихід: 82 %. Т. пл. 139–141 °С (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3008, 2927, 1599, 1447, 1363, 1245, 839, 791, 748, 659. ^1H ЯМР: 1.66 (с, 9H, Me_3C -4), 2.38 (с, 3H, Me-4''), 7.30–7.36 (м, 4H, CHCl_2 , H-8,3'',5''), 7.99 (д, 2H, $J = 4.0$ Гц, H-2'',6''). ^{13}C ЯМР: 21.0 (Me-4''), 26.3 (Me_3C -4), 38.6 (Me_3C -4), 70.9 (CHCl_2), 94.1 (C-8), 126.7, 128.6, 129.6, 139.9, 149.8, 157.2, 157.4, 165.6. MS, m/z 349.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

4-трет-Бутил-2-дихлорометил-7-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-а][1,3,5]триазин 3.22. Вихід: 74 %. Т. пл. 93–95 °С (EtOH). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3001, 2934, 1609, 1586, 1511, 1448, 1363, 1254, 1231, 1156, 845, 791, 746, 659. ^1H ЯМР: 1.66 (с, 9H, Me_3C -4), 7.35–7.40 (м, 3H, H-8 або CHCl_2 , H-3'',5''), 7.45 (с, 1H, H-8 або CHCl_2), 8.14–8.18 (м, 2H, H-2'',6''). ^{13}C ЯМР: 26.8 (Me_3C -4), 39.1 (Me_3C -4), 71.4 (CHCl_2), 94.8 (C-8), 116.6 (д, $J = 21.9$ Гц, C-3'',5''), 128.4 (д, $J = 3.0$ Гц, C-1''), 129.5 (д, $J = 8.5$ Гц, C-2'',6''), 150.4, 156.6, 158.0, 162.8, 165.4 (д, $J = 247.3$ Гц, C-4''). MS, m/z 353.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-7-метил-4-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.23.

Вихід: 79 %. Жовта кристалічна речовина. Т. пл. 120–122 °С (EtOH). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3008, 1600, 1528, 1485, 1236, 1183, 839, 783, 735, 686, 669, 643, 530. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 2.52 (с, 3H), 6.80 (с, 1H), 7.40 (с, 1H), 7.61–7.65 (м, 3H), 8.70 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMSO): 14.6, 71.0, 97.5, 128.5, 129.5, 131.1, 133.5, 149.9, 153.91, 157.4, 158.7. MS, m/z 293 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-4,7-дифенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.24. Вихід: 75 %. Світло жовта кристалічна речовина. $T_{\text{пл}}$ 154–156 °С (EtOH+MeCN, 2:1). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 7.47 (с, 1H), 7.52–7.59 (м, 4H), 7.72–7.82 (м, 3H), 8.16 (д, $J = 7.2$ Гц, 2H), 8.84 (д, $J = 7.2$, 2H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO): 71.5, 95.4, 127.4, 129.1, 129.6, 130.0, 130.7, 131.7, 134.2, 151.2, 154.9, 157.0, 158.1, 158.9. MS, m/z : 355 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C 60.83; H 3.39; Cl 20.04; N 15.82. $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4$. Розраховано, %: C 60.86; H 3.41; Cl 19.96; N 15.77.

2-Дихлорометил-7-(4-метилфеніл)-4-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.25. Вихід: 70 %. Темно жовта кристалічна речовина. Т. пл. 190–192 °С (MeCN). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 2.40 (с, 3H), 7.39–7.52 (м, 4H), 7.76–7.81 (м, 3H), 8.07 (с, 2H), 8.85 (с, 2H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO): 21.5, 71.5, 95.1, 127.2, 128.9, 129.1, 130.0, 130.1, 131.7, 134.1, 140.5, 151.2, 154.7, 158.1, 159.0. MS, m/z : 369 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C 61.78; H 3.80; Cl 19.11; N 15.10. $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4$. Розраховано, %: C 61.80; H 3.82; Cl 19.20; N 15.17.

Рентгеноструктурне дослідження кристалів сполуки 3.25.

Кристали піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.25**: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4$, $M = 369.24$, триклинні, просторова група $P-1$, $a = 8.2464(13)$, $b = 10.123(2)$, $c = 11.899(2)$ Å, $\alpha = 114.573(6)$, $\beta = 90.109(7)$, $\gamma = 111.483(4)^\circ$, $V = 826.5(3)$ Å³, $Z = 2$, $d_c = 1.484$, $\mu = 0.402$ мм⁻¹, $F(000) = 380$, розмір кристалу 0.13 x 0.22 x 0.46 мм. Кристалографічні дослідження проведено при кімнатній температурі на дифрактометрі Bruker Smart Apex II. Дані інтенсивності були зібрані при $\theta_{\text{max}} \leq 25.25^\circ$, використовуючи Mo-K α випромінювання ($\lambda = 0.71078$ Å). Всього було зібрано 10855 відображень

(2990 незалежних відображень, $R_{\text{merg}} = 0.0385$). Структура розшифрована прямим методом і уточнена методом найменших квадратів у повноматричному анізотропному наближенні з використанням комплексу програм Bruker SHELXTL. Усі атоми гідрогену СН були розміщені у розрахованих положеннях і уточнені як «верхова» модель. Кінцеві значення факторів розходження були отримані при $R1 = 0.0347$ та $wR2 = 0.087$ для 2473 відображень з $I \geq 2\sigma(I)$; $R1 = 0.0453$ та $wR2 = 0.0937$, $GOF = 1.063$ для 2990 незалежних відображень, 227 параметрів, найбільше і найменше значення піків з ряду різниць Фур'є складає 0.22 та -0.27 е/Å^3 .

2-Дихлорометил-7-(4-флуорофеніл)-4-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]три-ази н 3.26. Вихід: 80 %. Т. пл. 163–165 °С (MeCN+ДМФА, 2:1). ІЧ (KBr, см^{-1}): 3085, 2924, 1607, 1589, 1477, 1451, 1226, 840, 795, 781, 663. ^1H ЯМР: 7.30–7.44 (м, 4H, CHCl_2 , H-8,3'',5''), 7.65–7.76 (м, 3H, H-3'–5'), 8.11–8.14 (м, 2H, H-2'',6''), 8.78 (д, $J = 7.2 \text{ Гц}$, 2H, H-2',6'). ^{13}C ЯМР: 71.4 (CHCl_2), 95.2 (C-8), 116.5 (д, $J = 21.6 \text{ Гц}$, C-3'',5''), 128.2 (д, $J = 3.0 \text{ Гц}$, C-1''), 129.0, 129.5 (д, $J = 8.5 \text{ Гц}$, C-2'',6''), 129.8, 131.7, 134.1, 151.2, 154.7, 157.9, 158.1, 163.8 (д, $J = 247.5$, C-4''). MS, m/z 371.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-7-феніл-4-(2-метилфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.27. Вихід: 83 %. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 161–163 °С (MeCN). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 8.06 – 7.99 (м, 2H), 7.96 – 7.88 (м, 1H), 7.63 – 7.43 (м, 8H), 2.39 (с, 3H). ^{13}C ЯМР (126 МГц, DMSO): 158.49, 157.54, 157.07, 149.72, 137.92, 131.65, 131.25, 130.90, 130.40, 130.17, 129.47, 129.04, 126.76, 125.51, 95.25, 70.93, 19.78. MS, m/z 369.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Рентгеноструктурне дослідження кристалів сполуки 3.27.

Кристали піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.27**: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4$, $M = 369.24$, ромбічні, просторова група $Pna2_1$, $a = 21.3967(15)$, $b = 20.6548(14)$, $c = 7.9969(5)\text{Å}$, $V = 3534.2(4)\text{Å}^3$, $Z = 8$, $d_c = 1.388$, μ 0.376 мм^{-1} , $F(000)$ 1520. Рентгеноструктурне дослідження монокристалу сполуки **3.27** з лінійними

розмірами $0.15 \times 0.17 \times 0.55$ мм проведено при кімнатній температурі на дифрактометрі Bruker Smart Apex II (λMoK_α - випромінювання, графітовий монохроматор, $\theta_{\text{макс}}$ 26.39° , сегмент сфери $-19 \leq h \leq 26$, $-18 \leq k \leq 25$, $-9 \leq l \leq 9$). Всього було зібрано 20811 відображень, з яких 6840 являються незалежними (R-фактор усереднення 0.0650). Була введена корекція поглинання на програмі SADABS методом мультисканування ($T_{\text{мін}}/T_{\text{макс}} = 0.5879/0.7454$). Структура розшифрована прямим методом і уточнена методом найменших квадратів у повноматричному анізотропному наближенні з використанням комплексу програм Bruker SHELXTL. При уточненні використано 6840 незалежних відображень, з них 4900 відображень з $I > 2\sigma(I)$, (453 параметрів, використана вагова схема $\omega = 1/[\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.1166\text{P})^2 + 0.90728\text{P}]$, де $\text{P} = (\text{Fo}^2 + 2\text{Fc}^2)/3$, відношення максимального(середнього) зсуву до похибки в останньому циклі 0.00(0.000). Кінцеві значення факторів розходження $R_1(\text{F})$ 0.0792, $wR_2(\text{F}^2)$ 0.1861 по відображеннях з $I > 2\sigma(I)$, $R_1(\text{F})$ 0.1114, $wR_2(\text{F}^2)$ 0.2077, GOF 1.056 по всім незалежним відображенням. Надлишкова електрона густина з ряду різниць Фур'є після останнього циклу уточнення складає 0.32 та -0.12 е/Å^3 .

2-Дихлорометил-7-метил-4-(4-метилфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин

3.28. Вихід: 70 %. Темно жовта кристалічна речовина. Т. пл. $155\text{—}157^\circ\text{C}$ (MeCN). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 2.43 (с, 3H), 2.52 (с, 3H), 6.75 (с, 1H), 7.33 (с, 1H), 7.44 (д, $J = 7.8$ Гц, 2H), 8.67 (д, $J = 7.9$ Гц, 2H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO): 14.6, 21.4, 71.0, 97.4, 126.6, 129.0, 131.2, 144.3, 150.0, 153.7, 157.4, 158.6. MS, m/z : 307 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C 54.71; H 3.93; Cl 23.16; N 18.16. $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4$. Розраховано, %: C 54.74; H 3.94; Cl 23.08; N 18.24.

2-Дихлорометил-4-(4-метилфеніл)-7-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин

3.29. Вихід: 78 %. Темно жовта кристалічна речовина. Т. пл. $163\text{—}165^\circ\text{C}$ (MeCN). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 2.46 (с, 3H), 7.43 (с, 1H), 7.43-7.56 (м, 6H), 8.13 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 8.77 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO): 21.9,

71.5, 95.2, 127.1, 127.3, 129.5, 129.7, 130.7, 131.7, 131.8, 144.9, 151.2, 154.6, 158.1, 158.8. MS, m/z : 369 $[M+H]^+$. Знайдено, %: C 61.75; H 3.80; Cl 19.06; N 15.22. $C_{19}H_{14}Cl_2N_4$. Розраховано, %: C 61.80; H 3.82; Cl 19.20; N 15.17.

2-Дихлорометил-4,7-біс(4-метилфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин

3.30. Вихід: 70 %. Жовта кристалічна речовина. Т. пл. 188—190 °C (MeCN). 1H ЯМР (302 МГц, DMSO): 2.38 (с, 3H), 2.46 (с, 3H), 7.34 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 7.43 (с, 1H), 7.45 (с, 1H), 7.51 (д, $J = 8.2$ Гц, 2H), 8.02 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 8.77 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO): 21.0, 21.4, 71.0, 94.4, 126.6, 126.7, 128.5, 129.2, 129.6, 131.3, 139.9, 144.4, 150.7, 154.0, 157.6, 158.4. MS, m/z : 383 $[M+H]^+$. Знайдено, %: C 62.64; H 4.19; Cl 18.41; N 14.54. $C_{20}H_{16}Cl_2N_4$. Розраховано, %: C 62.68; H 4.21; Cl 18.50; N 14.62.

2-Дихлорометил-4-(4-метилфеніл)-7-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.31. Вихід: 86 %. Т. пл. 160–162 °C (MeCN+ДМФА, 2:1). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3015, 2920, 1606, 1588, 1482, 1450, 1229, 1152, 840, 785, 742, 664. 1H ЯМР: 2.47 (с, 3H, Me-4'), 7.37–7.53 (м, 6H, $CHCl_2$, H-8,3',5',3'',5''), 8.18–8.22 (м, 2H, H-2'',6''), 8.76 (д, $J = 9.6$ Гц, 2H, H-2',6'). ^{13}C ЯМР: 21.9 (Me-4'), 71.5 ($CHCl_2$), 95.2 (C-8), 116.5 (д, $J = 21.4$ Гц, C-3'',5''), 127.1, 128.4 (д, $J = 3.0$ Гц, C-1''), 129.6 (д, $J = 8.5$ Гц, C-2'',6''), 129.7, 131.8, 145.0, 151.3, 154.7, 157.9, 158.2, 163.9 (д, $J = 247.3$ Гц, C-4''). MS, m/z 387.2 $[M+H]^+$.

2-Дихлорометил-4-(4-метоксифеніл)-7-метилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.32. Вихід: 80 %. Т. пл. 139–141 °C (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 2993, 1601, 1527, 1486, 1261, 1180, 1025, 840, 781, 746, 717, 667. 1H ЯМР: 2.53 (с, 3H, Me-7), 3.91 (с, 3H, MeO-4'), 6.75 (с, 1H, H-8), 7.22 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, H-3',5'), 7.35 (с, 1H, $CHCl_2$), 8.87 (д, $J = 9.2$ Гц, 2H, H-2',6'). ^{13}C ЯМР: 15.1 (Me-7), 56.2 (MeO-4'), 71.5 ($CHCl_2$), 97.7 (C-8), 114.5, 121.8, 134.0, 150.6, 153.5, 157.8, 158.8, 164.1. MS, m/z 323.0 $[M+H]^+$.

2-Дихлорометил-4-(4-метоксифеніл)-7-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.33. Вихід: 78 %. Т. пл. 138–140 °C (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 2998, 1602, 1479,

1265, 1182, 1150, 1028, 840, 764, 689. ^1H ЯМР: 3.92 (с, 3H, MeO-4'), 7.24 (д, $J = 9.2$ Гц, 2H, H-3',5'), 7.40 (с, 1H, H-8 або CHCl_2), 7.45 (с, 1H, H-8 або CHCl_2), 7.52–7.54 (м, 3H, H-3''–5''), 8.14 (д, $J = 6.4$ Гц, 2H, H-2'',6''), 8.97 (д, $J = 9.2$ Гц, 2H, H-2',6'). ^{13}C ЯМР: 56.2 (MeO-4'), 71.6 (CHCl_2), 95.0 (C-8), 114.6, 121.7, 127.2, 129.5, 130.6, 131.8, 134.2, 151.3, 153.8, 158.0, 158.6, 164.2. MS, m/z 385.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-4-(4-метоксифеніл)-7-(4-метилфеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.34. Вихід: 84 %. Т. пл. 189–191 °С (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3014, 2938, 1598, 1475, 1263, 1182, 1150, 1025, 844, 787, 746, 664. ^1H ЯМР: 2.39 (с, 3H, Me-4''), 3.94 (с, 3H, MeO-4'), 7.26 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, H-3',5'), 7.34–7.39 (м, 4H, H-8, CHCl_2 , H-3'',5''), 8.01 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H, H-2'',6''), 8.98 (д, $J = 8.8$ Гц, 2H, H-2',6'). ^{13}C ЯМР: 21.5 (Me-4''), 56.3 (MeO-4'), 71.6 (CHCl_2), 94.7 (C-8), 114.7, 121.8, 127.2, 129.0, 130.1, 134.2, 140.4, 151.3, 153.8, 158.0, 158.8, 164.2. MS, m/z 399.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-4-(4-метоксифеніл)-7-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.35. Вихід: 76 %. Т. пл. 175–177 °С (MeCN+ДМФА, 2:1). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3009, 2923, 1608, 1595, 1481, 1448, 1260, 1228, 1152, 838, 796, 742, 663. ^1H ЯМР: 3.94 (с, 3H, MeO-4'), 7.26 (д, $J = 9.0$ Гц, 2H, H-3',5'), 7.38–7.42 (м, 3H, H-8 або CHCl_2 , H-3'',5''), 7.47 (с, 1H, H-8 або CHCl_2), 8.20–8.22 (м, 2H, H-2'',6''), 8.97 (д, $J = 9.0$ Гц, 2H, H-2',6'). ^{13}C ЯМР: 56.2 (MeO-4'), 71.6 (CHCl_2), 95.0 (C-8), 114.7, 116.5 (д, $J = 21.4$ Гц, C-3'',5''), 121.7, 128.4 (д, $J = 3.0$ Гц, C-1''), 129.6 (д, $J = 8.5$ Гц, C-2'',6''), 134.2, 151.4, 153.9, 157.7, 158.1, 163.7 (д, $J = 247.3$ Гц, C-4''), 164.3. MS, m/z 403.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-7-(4-метилфеніл)-4-(2-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.36. Вихід: 73 %. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 190–192 °С (MeCN). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 8.08 – 7.99 (м, 1H), 7.92 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H), 7.87 – 7.77 (м, 1H), 7.60 – 7.48 (м, 3H), 7.46 (с, 1H), 7.32 (д, $J = 7.9$ Гц, 2H), 2.36 (с, 3H). ^{13}C ЯМР (126 МГц, DMSO): 160.94, 158.87 (д, $J = 13.6$ Гц), 157.56, 153.11, 149.41, 140.08, 134.73 (д, $J = 8.7$ Гц), 132.08, 129.62, 128.34,

126.76, 124.69 (д, J = 3.4 Гц), 118.21 (д, J = 13.2 Гц), 116.43 (д, J = 20.7 Гц), 95.15, 70.73, 21.00. MS, m/z 387.2 [M+H]⁺.

Рентгеноструктурне дослідження кристалів сполуки **3.36**.

Кристали піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину **3.36**: C₁₉H₁₃Cl₂FN₄, M = 387.23, триклинні, просторова група P-1, *a* = 13.9854(11), *b* = 16.2603(13), *c* = 16.9938(14) Å, α = 80.290(4), β = 74.656(4), γ = 79.171(4)°, V = 3631.4(5) Å³, Z = 8, d_c = 1.417, μ 0.377 мм⁻¹, F(000) 1584. Рентгеноструктурне дослідження монокристалу сполуки **3.36** з лінійними розмірами 0.14 × 0.30 × 0.32 мм проведено при кімнатній температурі на дифрактометрі Bruker Smart Apex II (λMoK_α - випромінювання, графітовий монохроматор, θ_{макс} 25.05°, сегмент сфери 16 ≤ h ≤ 16, -19 ≤ k ≤ 19, -20 ≤ l ≤ 20). Всього було зібрано 25361 відображень, з яких 12364 являються незалежними (R-фактор усереднення 0.0472). Була введена корекція поглинання на програмі SADABS методом мультисканування (T_{мін}/T_{макс} = 0.6640/0.7454). Структура розшифрована прямим методом і уточнена методом найменших квадратів у повноматричному анізотропному наближенні з використанням комплексу програм Bruker SHELXTL. При уточненні використано 12364 незалежних відображень, з них 6628 відображень з I > 2σ(I), (932 параметрів, використана вагова схема ω = 1/[σ²(Fo²)+(0.1689P)²+8.1132P], де P = (Fo²+2Fc²)/3, відношення максимального (середнього) зсуву до похибки в останньому циклі 0.013(0.002). Кінцеві значення факторів розходження R1(F) 0.0981, wR2(F²) 0.2929 по відображеннях з I > 2σ(I), R1(F) 0.1600, wR2(F²) 0.3384, GOF 1.032 по всім незалежним відображенням. Надлишкова електрона густина з ряду різниць Фур'є після останнього циклу уточнення складає 1.14 та -0.38 е/Å³.

В кристалі **3.36** знайдено 4 незалежні молекули. Розподілення довжин зв'язків та валентних кутів в центральній біциклічній системі піразолотриазину **3.36** типова для подібних спряжених систем. Усі C-N зв'язки знаходяться в

діапазоні 1.290-1.401(8)Å та мають проміжне значення між довжинами стандартного подвійного та одинарного зв'язків нітроген карбон, які складають 1.28 та 1.45Å відповідно. Центральна біциклічна система у всіх незалежних молекулах планарна, середньоквадратичне відхилення атомів з площини складає від 0.0151 до 0.0360Å, а незалежні молекули фактично не відрізняються одна від одної за конформаційними параметрами. Так орто-флуорофенільний замісник повернутий щодо центральної площини на 38.6-56.5°, а відмінності в орієнтації пара-метилфенільного циклу ще менші і знаходяться в діапазоні 5.8-17.5°.

2-Дихлорометил-7-метил-4-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]три-ази н 3.37. Вихід: 71 %. Т. пл. 128–130 °С (MeCN). ІЧ (KBr, см⁻¹): 2996, 1604, 1529, 1488, 1233, 1156, 1015, 842, 783, 664, 530. ¹H ЯМР: 2.51 (с, 3H, Me-7), 6.78 (с, 1H, H-8), 7.39 (с, 1H, CHCl₂), 7.47–7.51 (м, 2H, H-3',5'), 8.81–8.83 (м, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 15.2 (Me-7), 71.4 (CHCl₂), 98.1 (C-8), 116.3 (д, J = 21.9 Гц, C-3',5'), 126.5 (д, J = 3.0 Гц, C-1'), 134.6 (д, J = 10.0 Гц, C-2',6'), 150.5, 153.3, 157.8, 159.3, 165.7 (д, J = 253.8 Гц, C-4'). MS, m/z 311.0 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-7-феніл-4-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триази н 3.38. Вихід: 76 %. Т. пл. 171–173 °С (MeCN). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3003, 1603, 1482, 1238, 1156, 1011, 845, 767, 745, 692, 662. ¹H ЯМР: 7.44 (с, 1H, H-8 або CHCl₂), 7.48–7.58 (м, 6H, H-8 або CHCl₂, H-3',5',3''–5''), 8.13 (д, J = 6.8 Гц, 2H, H-2'',6''), 8.93–8.96 (м, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 71.4 (CHCl₂), 95.4 (C8), 116.4 (д, J = 22.4 Гц, C-3',5'), 126.5 (д, J = 2.5 Гц, C-1'), 127.4, 129.6, 130.8, 131.7, 134.8 (д, J = 9.5 Гц, C-2',6'), 151.3, 153.8, 158.1, 159.0, 165.8 (д, J = 253.3 Гц, C-4'). MS, m/z 373.2 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-7-(4-метилфеніл)-4-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.39. Вихід: 70 %. Т. пл. 210–212 °С (MeCN+ДМФА, 2:1). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3012, 2920, 1603, 1481, 1449, 1223, 1150, 1013, 837, 783, 746, 661. ¹H ЯМР: 2.39 (с, 3H, Me-4''), 7.36–7.61 (м, 6H, CHCl₂, H-8,3',5',3'',5''), 8.06 (д, J = 8.0 Гц, 2H, H-2'',6''), 8.95–8.98 (м, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 21.5 (Me-4''), 71.4 (CHCl₂), 95.1

(C-8), 116.3 (д, J = 22.0 Гц, C-3',5'), 126.5 (д, J = 2.9 Гц, C-1'), 127.3, 128.9, 130.1, 134.8 (д, J = 9.5 Гц, C-2',6'), 140.5, 151.2, 153.5, 158.0, 159.1, 165.7 (д, J = 253.1 Гц, C-4'). MS, m/z 387.2 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-4,7-біс(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-a][1,3,5]триазин

3.40. Вихід: 79 %. Т. пл. 179–181 °С (MeCN+ДМФА, 2:1). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3101, 2999, 2925, 1600, 1480, 1449, 1229, 1152, 845, 789, 742, 660, 553. ¹H ЯМР: 7.26–7.30 (м, 2H, H-3'',5''), 7.39 (ушир. с, 2H, H-8, CHCl₂), 7.45–7.48 (м, 2H, H-3',5'), 8.08 (ушир. с, 2H, H-2'',6''), 8.86–8.89 (м, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 71.3 (CHCl₂), 95.2 (C-8), 116.2 (д, J = 22.6 Гц, C-3'',5''), 116.4 (д, J = 22.1 Гц, C-3',5'), 126.2 (д, J = 3.0 Гц, C-1''), 128.1 (д, J = 3.0 Гц, C-1'), 129.5 (д, J = 8.5 Гц, C-2'',6''), 134.7 (д, J = 9.5 Гц, C-2',6'), 151.2, 153.4, 157.9, 157.9, 163.7 (д, J = 233.9 Гц, C-4''), 165.6 (д, J = 239.9 Гц, C-4'). MS, m/z 391.0 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-7-метил-4-(4-хлорофеніл)піразоло[1,5-a][1,3,5]триазин

3.41. Вихід: 73 %. Т. пл. 162–164 °С (MeCN). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3000, 1599, 1528, 1480, 1235, 1093, 1014, 842, 789, 739, 664, 531. ¹H ЯМР: 2.52 (3H, s, Me-7), 6.81 (с, 1H, H-8), 7.39 (с, 1H, CHCl₂), 7.74 (д, J = 8.0 Гц, 2H, H-3',5'), 8.74 (д, J = 8.0 Гц, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 14.7 (Me-7), 70.9 (CHCl₂), 97.6 (C-8), 128.3, 128.7, 132.9, 138.5, 149.9, 152.8, 157.2, 158.8. MS, m/z 329.0 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-7-феніл-4-(4-хлорофеніл)піразоло[1,5-a][1,3,5]триазин

3.42. Вихід: 81 %. Т. пл. 179–181 °С (MeCN). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3010, 1597, 1477, 1091, 1012, 839, 768, 744, 689, 662. ¹H ЯМР: 7.42 (с, 1H, H-8 або CHCl₂), 7.51–7.56 (м, 4H, H-8 або CHCl₂, H-3''–5''), 7.79 (д, J = 8.4 Гц, 2H, H-3',5'), 8.14 (д, J = 6.8 Гц, 2H, H-2'',6''), 8.87 (д, J = 8.4 Гц, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 70.9 (CHCl₂), 94.9 (C-8), 126.9, 128.3, 128.8, 129.0, 130.3, 131.1, 133.0, 138.6, 150.7, 153.3, 157.5, 158.5. MS, m/z 391.0 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-7-(4-метилфеніл)-4-(4-хлорофеніл)-піразоло[1,5-a][1,3,5]триазин 3.43. Вихід: 80 %. Т. пл. 197–199 °С (MeCN+ДМФА, 4:1). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3020, 2920, 1599, 1478, 1449, 1094, 1014, 840, 783, 744, 662. ¹H ЯМР

(CDCl₃): 2.42 (с, 3H, Me-4''), 6.73 (с, 1H, H-8), 7.01 (с, 1H, CHCl₂), 7.29 (д, J = 7.8 Гц, 2H, H-3'',5''), 7.57–7.59 (м, 2H, H-3',5'), 7.90 (д, J = 7.8 Гц, 2H, H-2'',6''), 8.99 (д, J = 8.4 Гц, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 21.0 (Me-4''), 70.9 (CHCl₂), 94.6 (C-8), 126.7, 128.3, 128.3, 129.5, 133.0, 138.6, 140.0, 150.6, 153.0, 157.4, 158.6. MS, m/z 405.2 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-7-(4-флуорофеніл)-4-(4-хлорофеніл)піразоло[1,5-а][1,3,5]триазин 3.44. Вихід: 78 %. Т. пл. 191–193 °С (MeCN+ДМФА, 2:1). ІЧ (KBr, см⁻¹): 1605, 1588, 1498, 1476, 1449, 1217, 1158, 1090, 841, 786, 744, 662, 561. ¹H ЯМР: 7.36–7.40 (м, 2H, H-3'',5''), 7.45 (с, 1H, H-8 або CHCl₂), 7.53 (с, 1H, H-8 або CHCl₂), 7.79 (д, J = 8.8, 2H, H-3',5'), 8.18–8.21 (м, 2H, H-2'',6''), 8.84 (д, J = 8.8, 2H, H-2',6'). ¹³C ЯМР: 71.3 (CHCl₂), 95.3 (C-8), 116.5 (д, J = 22.1 Гц, C-3'',5''), 128.2 (д, J = 3.0 Гц, C-1''), 128.7, 129.2, 129.6 (д, J = 8.5 Гц, C-2'',6''), 133.5, 139.1, 151.2, 153.8, 158.0, 158.0, 163.8 (д, J = 248.0 Гц, C-4''). MS, m/z 409.0 [M+H]⁺.

2-Дихлорометил-7-метил-4-(фуран-2-іл)піразоло[1,5-а][1,3,5]триазин 3.45. Вихід: 66 %. Жовта кристалічна речовина. Т. пл. 187–189 °С (MeCN). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3118, 2996, 1606, 1577, 1502, 1459, 1361, 1262, 1143, 1031, 785, 712, 661, 533. ¹H ЯМР: 2.55 (с, 3H, CH₃), 6.79 (с, 1H, CHCl₂ або C-H піразол), 6.98–6.99 (м, 1H, фуран), 7.38 (с, 1H, CHCl₂ або C-H піразол), 8.33 (с, 1H, C-H фуран), 8.44 (д, J = 2.9 Гц, 1H, C-H фуран). ¹³C ЯМР: 15.2, 71.5, 98.1, 114.4, 125.9, 142.9, 144.8, 149.7, 150.4, 157.9, 159.2. MS, m/z 285 [M+H]⁺. Знайдено, %: C, 46.65; H, 2.82; Cl, 25.12; N, 19.70. C₁₁H₈Cl₂N₄O. Розраховано (%): C, 46.67; H, 2.85; Cl, 25.04; N, 19.79.

2-Дихлорометил-7-феніл-4-(фуран-2-іл)піразоло[1,5-а][1,3,5]триазин 3.46. Вихід: 75 %. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 203–205 °С (MeCN+ДМФА, 4:1). ІЧ (KBr, см⁻¹): 3117, 3009, 2924, 1605, 1568, 1494, 1461, 1360, 1265, 1024, 766, 689, 654, 556. ¹H ЯМР: 7.03 (м, 1H, CHCl₂ або C-H піразол), 7.41 (д, J = 1.5 Гц, 1H, CH фуран), 7.50–7.57 (м, 4H, CHCl₂ або C-H піразол, H-3,4,5 Ph), 8.20 (д, J = 7.8 Гц, 2H, H-2,6 Ph), 8.36 (с, 1H, C-H фуран),

8.63 (д, $J = 3.9$ Гц, 1H, C-H фуран). ^{13}C ЯМР: 71.5, 95.3, 114.6, 126.4, 127.4, 129.5, 130.7, 131.7, 142.9, 145.2, 150.5, 150.6, 158.1, 159.0. MS, m/z 345 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 55.65; H, 2.88; Cl, 20.60; N, 16.30. $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$. Розраховано (%): C, 55.67; H, 2.92; Cl, 20.54; N, 16.23.

2-Дихлорометил-7-(4-метилфеніл)-4-(фуран-2-іл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.47. Вихід: 73%. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 209–211 °C (MeCN+ДМФА, 4:1). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3129, 2923, 1605, 1564, 1496, 1448, 1358, 1261, 1228, 1150, 1024, 790, 773, 741, 659. ^1H ЯМР: 2.39 (с, 3H, CH_3 , Ar), 7.02–7.04 (м, 1H, C-H фуран), 7.35 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H, H-3,5 Ar), 7.41 (с, 1H, CHCl_2 або C-H, піразол), 7.45 (с, 1H, CHCl_2 або C-H піразол), 8.09 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H, H-2,6 Ar), 8.36 (с, 1H, C-H фуран), 8.63 (д, $J = 3.4$ Гц, 1H, C-H фуран). ^{13}C ЯМР: 21.5, 71.5, 95.0, 114.6, 126.3, 127.3, 128.9, 130.1, 140.5, 142.9, 145.1, 150.5, 150.5, 158.1, 159.1. MS, m/z 359 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 56.80; H, 3.35; Cl, 19.80; N, 15.55. $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$. Розраховано (%): C, 56.84; H, 3.37; Cl, 19.74; N, 15.60.

2-Дихлорометил-7-(4-флуорофеніл)-4-(фуран-2-іл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.48. Вихід: 66 %. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 191–193 °C (MeCN+ДМФА, 4:1). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3121, 3000, 1609, 1570, 1494, 1449, 1358, 1267, 1234, 1155, 1026, 844, 783, 657, 523. ^1H ЯМР: 7.02–7.03 (м, 1H, фуран), 7.36–7.42 (м, 3H, CHCl_2 або C-H піразол, H-3,5 Ar), 7.50 (с, 1H, CHCl_2 або C-H піразол), 8.24–8.28 (м, 2H, H-2,6 Ar), 8.36 (с, 1H, C-H, фуран), 8.62 (д, $J = 3.4$ Гц, 1H, фуран). ^{13}C ЯМР: 71.5, 95.3, 114.6, 116.6 (д, $J = 21.4$ Гц), 126.5, 128.3 (д, $J = 3.0$ Гц), 129.7 ($J = 8.5$ Гц), 142.8, 145.2, 150.5, 150.6, 158.0, 158.2, 163.8 (д, $J = 247.3$ Гц). MS, m/z 363 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 52.96; H, 2.53; Cl, 19.58; N, 15.50. $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{FN}_4\text{O}$. Розраховано (%): C, 52.92; H, 2.50; Cl, 19.52; N, 15.43.

2-Дихлорометил-7-метил-4-(тієн-2-іл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.49. Вихід: 2.03 g (68 %), Світло жовта кристалічна речовина. Т. пл. 168–170 °C (EtOH+MeCN, 4:1). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3107, 3029, 3107, 1595, 1527, 1475, 1247, 851,

771, 716, 652, 521. ^1H ЯМР: 2.57 (3H, s, CH_3), 6.80 (1H, s, CHCl_2 або CH піразол), 7.38 (1H, s, CHCl_2 або C-H pyrazole), 7.45–7.47 (1H, м, C-H тіофен), 8.28–8.30 (1H, м, C-H, тіофен), 8.92–8.93 (1H, м, C-H тіофен). ^{13}C ЯМР: 15.2, 71.4, 97.9, 129.6, 131.9, 138.0, 138.5, 149.0, 150.0, 157.8, 159.3. MS, m/z 299 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 44.20; H, 2.68; Cl, 23.80; N, 18.77; S, 10.68. $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_4\text{S}$. Розраховано (%): C, 44.16; H, 2.70; Cl, 23.70; N, 18.73; S, 10.72.

2-Дихлорометил-4-(тієн-2-іл)-7-фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.50. Вихід: 70 %. Жовта кристалічна речовина. Т. пл. 189–191 °C (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3102, 2924, 1598, 1524, 1463, 1253, 853, 766, 650, 554. ^1H ЯМР: 7.40 (с, 1H, CHCl_2 або C-H піразол), 7.49–7.59 (м, 5H, CHCl_2 або C-H піразол, C-H тіофен, H-3,4,5 Ph), 8.21 (д, $J = 6.8$ Гц, 2H, H-2,6 Ph), 8.34 (д, $J = 1.6$ Гц, 1H, C-H тіофен), 8.99–9.00 (м, 1H, C-H, тіофен). ^{13}C ЯМР: 71.4, 95.2, 127.4, 129.6, 129.7, 130.8, 131.7, 131.8, 138.1, 139.0, 149.6, 150.8, 158.2, 159.0. MS, m/z 363 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 53.17; H, 2.80; Cl, 19.70; N, 15.56; S, 8.82. $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{S}$. Розраховано (%): C, 53.20; H, 2.79; Cl, 19.63; N, 15.51; S, 8.88.

2-Дихлорометил-7-(4-метил)-4-(тієн-2-іл)фенілпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.51. Вихід: 75 %. Жовта кристалічна речовина. Т. пл. 195–197 °C (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3100, 2917, 1596, 1524, 1448, 1221, 854, 794, 726, 654. ^1H ЯМР: 2.39 (с, 3H, CH_3 , Ar), 7.35–7.49 (м, 5H, CHCl_2 , C-H піразол, C-H тіофен, H-3,5 Ar), 8.08 (д, $J = 7.2$ Гц, 2H, H-2,6 Ar), 8.32–8.33 (м, 1H, C-H тіофен), 8.97 (с, 1H, C-H тіофен). ^{13}C ЯМР: 21.6, 71.5, 94.9, 127.3, 128.9, 129.7, 130.2, 131.8, 138.1, 138.9, 140.6, 149.5, 150.8, 158.2, 159.1. MS, m/z 377 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 54.40; H, 3.24; Cl, 18.95; N, 15.00; S, 8.50. $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{S}$. Розраховано (%): C, 54.41; H, 3.22; Cl, 18.89; N, 14.93; S, 8.54.

2-Дихлорометил-4-(тієн-2-іл)-7-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин 3.52. Вихід: 70 %. Жовта кристалічна речовина. Т. пл. 210–212 °C (MeCN+ДМФА, 3:1). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3100, 2924, 1606, 1584, 1525, 1478, 1451, 1228, 839, 793, 736, 667, 521. ^1H ЯМР: 7.41–7.52 (м, 5H, CHCl_2 , C-H піразол, H

тіофен, H-3,5 Ar), 8.26– 8.35 (м, 3H, H-2,6 Ar, C-H тіофен), 8.99– 9.00 (м, 1H, C-H, тіофен). ^{13}C ЯМР: 70.4, 94.4, 116.1, 127.8, 128.6, 129.0, 131.6, 137.3, 137.7, 150.7, 158.3, 158.6, 162.1, 164.0. MS, m/z 379 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 50.70; H, 2.40; Cl, 18.75; N, 14.82; S, 8.50. $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{FN}_4\text{S}$. Розраховано (%): C, 50.67; H, 2.39; Cl, 18.70; N, 14.77; S, 8.45.

2-Дихлорометил-7-метил-4-(піридин-3-іл)піразоло[1,5-а][1,3,5]триазин

3.53. Вихід: 2.3 g (78 %). Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 119–121 °C (EtOH). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3085, 2995, 1600, 1505, 1469, 1371, 1219, 1126, 1018, 836, 777, 700, 530. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO): 2.53 (с, 3H), 6.85 (с, 1H), 7.43 (с, 1H), 7.69–7.75 (м, 1H), 8.86–8.90 (м, 1H), 8.95–9.00 (м, 1H), 9.75 (с, 1H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMSO): 15.2, 71.3, 98.2, 123.9, 124.0, 138.9, 150.2, 151.8, 153.9, 154.0, 157.9, 159.0. MS, m/z 296 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-Дихлорометил-4-(піридин-3-іл)-7-фенілпіразоло[1,5-а][1,3,5]триазин

3.54. Вихід: 73 %. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 165–167 °C (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3087, 3003, 1604, 1581, 1517, 1460, 1389, 1228, 1192, 1023, 796, 767, 691, 557. ^1H ЯМР: 7.41 (с, 1H, Ph), 7.50–7.54 (м, 4H, Ph), 7.76 (т, $J = 8.0$ Гц, 1H, піридин), 8.12 (с, 1H, CHCl_2 або C-H (піразол)), 8.13 (с, 1H, CHCl_2 або C-H (піразол)), 8.91–8.92 (1H, м, піридин), 9.13 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H, піридин), 9.89 (м, 1H, піридин). ^{13}C ЯМР: 71.3, 95.5, 124.0, 126.4, 127.2, 129.5, 130.7, 131.5, 139.0, 150.9, 151.8, 153.4, 153.9, 158.0, 159.0. MS, m/z 358 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 57.29; H, 3.10; Cl, 19.99; N, 19.78. $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{N}_5$. Розраховано, %: C, 57.32; H, 3.11; Cl, 19.91; N, 19.66.

2-Дихлорометил-7-(4-метилфеніл)-4-(піридин-3-іл)піразоло[1,5-а][1,3,5]

триазин 3.55. Вихід: 78 %. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 184–186 °C (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3009, 2957, 1598, 1583, 1521, 1477, 1386, 1227, 1185, 1023, 838, 787, 692, 555. ^1H ЯМР: 2.39 (с, 3H, CH_3), 7.39–7.46 (м, 4H, Ph), 7.76 (т, $J = 5.4$ Гц, 1H, піридин), 8.01 (с, 1H, CHCl_2 або C-H (піразол)), 8.02 (с, 1H, CHCl_2 або C-H (піразол)), 8.91–8.92 (м, 1H, піридин), 9.11-9.13 (м, 1H,

піридин), 9.88 (с, 1H, піридин). ^{13}C ЯМР: 21.5, 71.3, 95.2, 124.1, 124.3, 127.2, 129.8, 130.1, 130.7, 139.1, 150.9, 151.8, 153.3, 153.9, 159.2, 159.3. MS, m/z 372 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 58.35; H, 3.55; Cl, 19.36; N, 18.99. $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_5$. Розраховано, %: C, 58.39; H, 3.54; Cl, 19.15; N, 18.92.

2-Дихлорометил-4-(піридин-3-іл)-7-(4-флуорофеніл)піразоло[1,5-*a*][1,3,5]тріазин 3.56. Вихід: 78 %. Кристалічна речовина коричневого кольору. Т. пл. 185–187 °C (MeCN). ІЧ (KBr, cm^{-1}): 3079, 3016, 1609, 1589, 1503, 1471, 1369, 1230, 1197, 1027, 841, 746, 562. ^1H ЯМР: 2.39 (с, 3H, CH_3), 7.32–7.40 (м, 3H, Ph), 7.47–7.48 (м, 1H, Ph), 7.74 (т, $J = 5.6$ Гц, 1H, піридин), 8.16 (с, 1H, CHCl_2 або C-H (піразол)), 8.18 (с, 1H, CHCl_2 або C-H (піразол)), 8.90–8.91 (м, 1H, піридин), 9.10–9.12 (м, 1H, піридин), 9.87 (с, 1H, піридин). ^{13}C ЯМР: 71.3, 95.4, 116.4, 116.6, 124.0, 126.3, 128.0, 129.5, 129.6, 139.0, 150.9, 151.8, 153.4, 153.9, 158.0. MS, m/z 374 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Знайдено, %: C, 54.59; H, 2.66, Cl, 18.88; N, 18.79. $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{FN}_5$. Розраховано, %: C, 54.57; H, 2.69, Cl, 18.95; N, 18.72.

4.2. Дослідження протиракової активності

Протиракову активність синтезованих сполук вивчали у рамках міжнародної наукової програми у Національному інституті раку США (National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, USA) на 60 лініях ракових клітин – меланоми (лінії M14, MALME-3M, LOX IMVI, MDA-MB-435, SK-MEL-2, SK-MEL-28, SK-MEL-5, UACC-257, UACC-62), лейкемії (лінії HL-60 (TB), CCRF-CEM, K-562, MOLT-4, SR, RPMI-8226), недрібноклітинного раку легень (лінії A549/ATCC, EKVX, HOP-92, HOP-62, NCI-H23, NCI-H226, NCI-H322M, NCI-H460, NCI-H522), товстого кишечника (лінії COLO 205, HCC-2998, HCT-116, HCT-15, KM12, HT29, SW-620), центральної нервової системи (лінії U251, SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19, SNB-75), нирок (лінії 786-0, A498, ACHN, CAKI-1, RXF 393, SN12C, TK-10, UO-31), яєчників (лінії OVCAR-3, OVCAR-4, OVCAR-5, OVCAR-8, IGROV1, NCI/ADR-RES, SKOV-3), простати (лінії PC-3, DU-145) і молочної залози (лінії BT-549, MCF7,

MDA-MB-231/ATCC, HS 578T, MDA-MB-468, T-47D). Ракові клітини вирощували у середовищі RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium) 1640 з 5% ембріональною сироваткою великої рогатої худоби і 2 ммоль/л L-глутаміну в платах для мікротитрування з 96 лунками. Об'єм середовища у лунці становив 100 мкл, а кількість клітин – від 5000 до 40000 в залежності від часу клітинного поділу конкретної лінії. Після додавання клітин (інокуляція) до плат інкубування проводили при 37 °C 24 год, після чого ріст клітин у певних лунках кожної лінії зупиняли для визначення популяції клітин до моменту додавання досліджуваної речовини (T_z) як описано нижче.

Заздалегідь готували 4 mM розчин однієї із сполук в ДМСО, перед випробуванням його розбавляли середовищем, що містить 50 мкг/мл гентаміцину, до концентрації вдвічі більше необхідної. Додавали 100 мкл такого розчину в лунки з клітинами (поряд з контрольним розчином без сполуки) та плати витримували 48 год при 37 °C. Після цього додавали 50 мкл концентрованого (0.5 г/мл для скоагульованих клітин і 0.8 г/мл для суспендованих) розчину трихлорооцтової кислоти, і плати інкубували при 4 °C протягом 1 год. Надосадову рідину з лунок видаляли, залишок промивали водою.

Для визначення кількості клітин використовували барвник сульфородамін Б. У кожну лунку додавали 100 мкл розчину з концентрацією 4 мг/мл у 1%-ній оцтовій кислоті, плати витримували 10 хв при кімнатній температурі. Лунки промивали п'ять разів 1%-ним розчином оцтової кислоти для видалення незв'язаного барвника і висушували. Для вилучення зв'язаного речовиною клітин барвника в лунки додавали 10 mM розчину Trizma ® Base (2-аміно-2-(гідроксиметил)-1,3-пропандіол) і визначали величину поглинання екстрактом світла довжиною хвилі 515 нм (T_i).

Ступінь пригнічення росту клітин (GI) розраховували за формулами [232, 237]:

$$GI = (T_i - T_z) / (C - T_z) \cdot 100\%, \text{ при } T_i \geq T_z, \quad (4.1)$$

$$GI = (T_i - T_z) / T_z \cdot 100\%, \text{ при } T_i < T_z, \quad (4.2)$$

T_i – поглинання після обробки клітин хімічною сполукою;

T_z – поглинання до обробки речовиною;

C – поглинання лунки з контрольним розчином.

Речовини, які проявили значну протипухлинну активність при однократних дослідженнях були протестовані при п'яти концентраціях (10^{-4} - 10^{-8} М). Результати п'ятикратних досліджень використано для створення графіків залежності активності речовини від концентрації (у логарифмічному вигляді). З цих кривих знайдено три екстрапольовані точки – значення концентрацій для характеристики активності сполуки: GI_{50} (інгібування росту клітин) – це концентрація сполуки, яка викликає пригнічення росту 50% клітин лінії раку, TGI – концентрація сполуки, яка повністю пригнічує ріст клітин, LC_{50} – концентрація сполуки, яка викликає загибель 50% пухлинних клітин).

4.3. Дослідження протівірусної активності

Протівірусна активність досліджуваних сполук вивчалася проти п'яти вірусів ДНК, що належать до сімейств *Herpesviridae* (HSV-1, HCMV та VZV), *Polyomaviridae* (BKV) та *Papillomaviridae* (HPV-11) в університеті Алабами в Бірмінгемі, а також проти трьох РНК вірусів сімейств *Flaviviridae* (DENV, ZIKV) та *Muridae* (TCRV) в Інституті протівірусних досліджень Університету штату Юта.

Протівірусний скринінг проводили в моношарах клітин HFF у 384-лункових планшетах, які зберігалися в середовищі для аналізу, що складається з MEM (мінімальне необхідне середовище) із солями Ерла, 2% FBS (фетальна бичача сироватка) та стандартних концентрацій L-глутаміну, пеніциліну та гентаміцину [238-240]. Коротко кажучи, 5000 клітин висівали в 384-лункові мікропланшети і згодом інкубували (37°C , 5% CO_2) впродовж 24 годин для утворення конфліктних моношарів. Далі проводили розведення

досліджуваних сполук безпосередньо в планшетах у серії 5-кратних розведень у повторних лунках для отримання кінцевих концентрацій. Діапазон концентрацій сполук та контрольного препарату був в межах 0,048-150 мкМ у всіх аналізах. Потім вірус додавали у відповідній кількості MOI (множинність інфекції, для противірусної оцінки) або середовища (для цитотоксичної оцінки), і планшети інкубували протягом 2 - 14 днів (37 ° C, 5% CO₂), відповідно до використовуваного вірусу.

Цитопатичний і цитоксичний ефекти визначали додаванням реагенту CellTiter-Glo (Promega, Madison, WI). Концентрації досліджуваних сполук, достатні для зниження вірусної реплікації на 50% і 90% (EC₅₀ і EC₉₀), а також концентрації сполук, які знижували життєздатність клітин на 50% (CC₅₀) були інтерпольовані з експериментальних даних за допомогою стандартних методів у Microsoft Excel. Індекси селективності, як показники противірусної активності, були розраховані наступним чином: $SI_{50} = CC_{50} / EC_{50}$ і $SI_{90} = CC_{50} / EC_{90}$. Варто зазначити, що чим більші значення індексів селективності SI_{50} і SI_{90} , тим кращу противірусну активність виявляє сполука в поєднанні із меншою цитотоксичністю.

4.4. Дослідження вазодилататорної активності

Дослідження вазодилататорної активності проводилися в Інституті фармакології та токсикології НАМН України.

Методика дослідження. Для вивчення скоротливої активності гладеньких м'язів судин були використані сегменти грудного відділу аорти, що отримували після умертвіння щурів у відповідності до рекомендацій Гельсінської Декларації щодо гуманного відношення до тварин. Мікрохірургічними ножицями грудний відділ аорти ретельно очищався від сполучної тканини та розрізався поперек на сегменти шириною 1,5 – 2 мм. Фрагменти грудної аорти щура монтували у проточній камері об'ємом 0,5 мл на сталевих гачках у ізометричному режимі за вихідного навантаження 10 – 15 мН та перфузували термостабілізованим (36 –

37 °C) стандартним сольовим буферним розчином Кребса (pH – 7,4) із постійною швидкістю 2,5 – 3,0 мл/хв.

Реєстрація скорочувальної активності гладеньких м'язів судин. Реєстрація скорочень м'язових сегментів здійснювалась в ізометричному режимі за допомогою датчиків напруження, у якості яких були застосовані ємкісні датчики власної конструкції. Запис скорочень здійснювався за допомогою аналогово-цифрового перетворювача Lab-Trax 4/16 (World Precision Instruments, USA), з'єднаного з персональним комп'ютером.

Вихідне тонічне скорочення ізольованих фрагментів судин викликали при введенні у перфузуючий розчин фенілефрину (10^{-6} моль/л). Реакції вазодилатації реєстрували після поєднаного додавання фенілефрину (10^{-6} моль/л) та досліджуваних сполук у концентраціях 10^{-8} – 10^{-5} моль/л.

Використані розчини. В експериментах із реєстрацією тону судинних препаратів використовувався буферний розчин Кребса наступного складу (у ммоль/л): 133 NaCl (Sigma, США); 16,3 NaHCO₃ (Sigma, США); 4,7 KCl (Serva, Німеччина); 1,05 MgCl₂ × 6 H₂O (Реахім, Україна); 1,38 NaH₂PO₄ (Sigma, США); 2,75 CaCl₂ (Sigma, США); 7,82 глюкоза (Sigma, США); 10 HEPES (Serva, Німеччина); pH = 7,4.

Математична обробка отриманих результатів. Всі наведені дані подані у вигляді середнього арифметичного ± помилка середнього арифметичного. Порівняння отриманих величин проводилось за методом Ст'юдента для непарних вимірів. Розходження вважались статистично достовірними, якщо величина $p < 0,05$. Усі розрахунки проводили на персональному комп'ютері з використанням програм Origin 9.2 (OriginLab Corporation, USA) та EXEL 5.0 (Microsoft, USA).

ВИСНОВКИ

Результати даної роботи свідчать про те, що синтезовані оксазоло[4,5-*d*]піримідини та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини є цінними з точки зору органічної, біоорганічної і медичної хімії та є зручними об'єктами для встановлення взаємозв'язку «структура-активність».

1. На основі *in silico* досліджень показано ефективність анелювання азольного фрагменту азотистими гетероциклами на їхню біологічну активність: завдяки збільшенню спряженої системи та введенню електронегативних атомів нітрогену зростає стабільність комплексів таких фармакофорів з фрагментами біомолекул за рахунок π-π-стекової взаємодії та ймовірності формування водневих зв'язків з неподіленими парами двохкоординованого атома азоту.
2. На основі доступних 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів синтезовано нові 2-арилзаміщені похідні оксазоло[4,5-*d*]піримідину з різноманітними амініними та арильними замісниками в положенні 7 і арильними та біарильними фрагментами в положенні 5 гетероциклічної системи.
3. Встановлено, що оксазолопіримідини з NH-незаміщеним піперазиновим або 1,4-діазепановим замісником при C(7) проявляють значну рістінгібуючу активність ракових клітин. Заміщення атому гідрогену в NH фрагменті на інші угруповання (алкільні або сульфонільні); введення в положення 7 оксазолопіримідинів фрагменту піперидину або арильних замісників веде до суттєвого зниження або втрати протипухлинної здатності цих сполук.
4. З'ясовано, що оксазоло[4,5-*d*]піримідини та їх функціональноідентичні ізомерні похідні, оксазоло[5,4-*d*]піримідини, володіють близькою рістінгібуючою, цитостатичною і цитотоксичною дією.

5. Серед похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину винайдено новий інгібітор аденозинкінази, який селективно діє на довгу ізоформу даного ферменту – 2,5-дифеніл-7-піперазиноксазоло[4,5-*d*]піримідин.
6. Знайдено, що *N*-(2-морфоліно-2-(тіофен-2-іл)етил)-5-(4-метоксифенетил)-2-фенілоксазоло [4,5-*d*]піримідин-7-амін володіє селективною дією щодо ВК-вірусу із значенням $EC_{50} = 0,22$ мкМ та $SI_{50} = 85$ мкМ, що свідчить про перспективність пошуку сполук з противірусним потенціалом серед даних гетероциклів.
7. На основі циклоконденсації 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами розроблено зручний та оригінальний метод синтезу невідомих раніше похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину з дихлорометильною групою в положенні 2 та алкільними, арильними або гетерильними замісниками в положеннях 4 та 7 гетероциклічної системи.
8. Встановлено критичні чинники для прояву високої протиракової активності похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, а саме наявність в положенні 2 дихлорометильного фрагменту та арильного замісника при C(4), який знаходиться в одній площині з гетероциклічною платформою.
9. Серед похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину знайдено представники з вазодилаторною активністю – 2-дихлорометил-4-(фуран-2-іл)-7-метилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин та 2-дихлорометил-7-метил-4-(піридин-3-іл)-піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин, які є перспективними судинорозширюючими агентами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Kato, T.; Oda, N.; Ito, I., Synthesis of Compounds related to Antitumor Agents. IV. On the Reaction of Aromatic Carboxylates with 2,4-Diamino-5-hydroxy-6-methylpyrimidine. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1976**, *24* (10), 2461-2469.
2. Kato, T.; Oda, N.; Ito, I., Synthesis of Compounds related to Antitumor Agents. V. On the Reaction of Aliphatic Carboxylates with 2,4-Diamino-5-hydroxy-6-methylpyrimidine. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1977**, *25* (3), 491-494.
3. Doise, M.; Dennin, F.; Blondeau, D.; Sliwa, H., Synthesis of novel heterocycles: Oxazolo[4,5-b]pyridines and oxazolo[4,5-d]pyrimidines. *Tetrahedron Letters* **1990**, *31* (8), 1155-1156.
4. Doise, M.; Blondeau, D.; Sliwa, H., Syntheses of Oxazolo[4,5-b]pyridines and [4,5-d]pyrimidines. *Synthetic Communications* **1992**, *22* (20), 2891-2901.
5. Myllymäki, M. J.; Käsänen, H.; Kataja, A. O.; Lahtela-Kakkonen, M.; Saario, S. M.; Poso, A.; Koskinen, A. M. P., Chiral 3-(4,5-dihydrooxazol-2-yl)phenyl alkylcarbamates as novel FAAH inhibitors: Insight into FAAH enantioselectivity by molecular docking and interaction fields. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *44* (10), 4179-4191.
6. Ikeda, K.; Sumi, T.; Yokoi, K.; Mizuno, Y., Conversion of Uridine into Isouramil Nucleosides and Related Reactions. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1973**, *21* (6), 1327-1332.
7. Cmiljanovic, V.; Cmiljanovic, N.; Giese, B.; Wymann, M. Triazine, Pyrimidine and Pyridine Analogs and Their Use as Therapeutic Agents and Diagnostic Probes and Their Preparation. **2010**, WO2010052569A2.

8. Nishigaki, S.; Kanamori, Y.; Senga, K., The Synthesis and Reactions of Some Isoxazolo[3,4-d]pyrimidines. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1978**, 26 (8), 2497-2501.
9. Sviripa, V. M.; Gakh, A. A.; Brovarets, V. S.; Gutov, A. V.; Drach, B. S., Original Approach to New Derivatives of [1,3]Oxazolo[4,5-d]pyrimidine. *Synthesis* **2006**, 3462-3466.
10. Patil, V. D.; Townsend, L. B., The synthesis of certain 2,7-disubstituted oxazolo[5,4-d] pyrimidines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1971**, 8 (3), 503-505.
11. Cai, S. X.; Kemnitzer, W. E.; Sirisoma, N. S.; Zhang, H.-Z. Preparation of NAryl-Isoxazolopyrimidin-4-Amines and Related Compounds as Activators of Caspases and Inducers of Apoptosis Useful in Treating Diseases via Monoand Combination Therapy. **2008**, WO2008057402A2.
12. Temple, C.; Smith, B. H.; Montgomery, J. A., Preparation of 2,5-diamino-4,6-dichloropyrimidine. *The Journal of Organic Chemistry* **1975**, 40 (21), 3141-3142.
13. Sanchez Rodrigo, A.; Rodriguez Melgarejo, C.; Rodriguez Alonso, M.; Nogueras Montiel, M.; Melgarejo Sampedro, M.; Asenjo Asenjo, R., Aminopyrimidines and Derivatives. XVI. Synthesis of 7-Glycosyl-amino-oxazolo(5,4-d)pyrimidines. *Heterocycles* **1984**, 22 (7), 1555–1559.
14. Janssens, F. E.; Guillemont, J. E. G.; Sommen, F. M. Preparation of Substituted HomopiperidinyI Benzimidazole Analogues as Fundic Relaxants. **2001**, WO2001046189A1.
15. Qiao, J. X.; Wang, T. C.; Hiebert, S.; Hu, C. H.; Schumacher, W. A.; Spronk, S. A.; Clark, C. G.; Han, Y.; Hua, J.; Price, L. A.; Shen, H.; Chacko, S. A.; Everlof, G.; Bostwick, J. S.; Steinbacher, T. E.; Li, Y.-X.; Huang, C. S.; Seiffert, D. A.; Reh fuss, R.; Wexler, R. R.; Lam, P. Y. S., 4-Benzothiazole-7-hydroxyindolinyl Diaryl Ureas Are Potent P2Y1 Antagonists with Favorable Pharmacokinetics: Low

Clearance and Small Volume of Distribution. *Chem. Med. Chem.* **2014**, 9 (10), 2327-2343.

16. Hurst, D. T.; Atcha, S.; Marshall, K. L., The Synthesis of Some Thiazolo- and Oxazolo[5,4-d]pyrimidines and Pyrimidinylureas. II. *Australian Journal of Chemistry* **1991**, 44 (1), 129-134.

17. Block, M. H.; Harrison, A.; Hargreaves, R. B. Preparation of Furyl-Substituted Purines, Oxazolopyrimidines and Pteridines as Adenosine Antagonists. **1993**, EP544445A2.

18. Herdewijn, P.; De Jonghe, S.; Gao, L.-J.; Jang, M.-Y.; Vanderhoydonck, B.; Waer, M. J. A.; Lin, Y.; Herman, J. F.; Louat, T. A. M. Preparation of Bicyclic Heterocycles, Especially Thiazolopyrimidines, Oxazolopyrimidines, Thienopyrimidines and Purines for Treating Immune and Autoimmune Disorders Resulting from an Organ or Cells Transplantation. **2010**, WO2010103130A2.

19. Gurenko, A. O.; Shablykin, O. V.; Brovarets, V. S., Synthesis of 2-aryl-6H,7H-[1,3]oxazolo[5,4-d]pyrimidine-7-thione and 2-aryl-6H,7H-[1,3]thiazolo[5,4-d]pyrimidine-7-thione using 2-arylamino malonodiamide. *Russian Journal of General Chemistry* **2013**, 83 (3), 572-576.

20. Holschbach, M. H.; Bier, D.; Stüsgen, S.; Wutz, W.; Sihver, W.; Coenen, H. H.; Olsson, R. A., Synthesis and evaluation of 7-amino-2-(2(3)-furyl)-5-phenylethylamino-oxazolo[5,4-d]pyrimidines as potential A2A adenosine receptor antagonists for positron emission tomography (PET). *European Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 41 (1), 7-15.

21. Bauser, M.; Delapierre, G.; Hauswald, M.; Flessner, T.; D'Urso, D.; Hermann, A.; Beyreuther, B.; De Vry, J.; Spreyer, P.; Reissmüller, E.; Meier, H., Discovery and optimization of 2-aryl oxazolo-pyrimidines as adenosine kinase inhibitors using liquid phase parallel synthesis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14 (8), 1997-2000.

22. Nishiwaki, T., Transacylation of Acetyluramil or Acetylthiouramil; formation of Oxazolo(5,4-d)pyrimidines. *Nature* **1966**, *211* (5050), 737-738.
23. Robertus, J.; Kerwin, S. M.; Yan, X. Ricin Inhibitors and Methods for Use Thereof. **2001**, WO2001073438A1.
24. Barghash, R. F.; Abdou, W. M., Synthesis, characterization and biological activity of some novel pyrimidines fused onto aza-heterocycles derived from violuric acid. *Trends in Heterocyclic Chemistry* **2005**, *10*, 57-65.
25. Akbarzadeh, M.; Bakavoli, M.; Eshghi, H.; Shiri, A., Synthesis of Oxazolo[5,4-d][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrimidines as a New Class of Heterocyclic Compounds. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2016**, *53* (3), 832-839.
26. Claiborne, C. F.; Critchley, S.; Langston, S. P.; Olhava, E. J.; Peluso, S.; Weatherhead, G. S.; Vyskocil, S.; Visiers, I.; Mizutani, H.; Cullis, C. Preparation of Carbocyclic Purine Nucleoside Analogs as Antitumor Agents and Inhibitors of E1 Activating Enzymes. **2008**, WO2008019124A1.
27. Branstetter, B. J.; Breitenbucher, J. G.; Lebsack, A. D.; Liu, J.; Rech, J. C.; Xiao, W. Preparation of Imidazolo-, Oxazolo-, and Thiazolopyrimidine Compounds as Modulators of Transient Receptor Potential Protein Vanilloid Receptor 1 (TRPV1) Activity. **2009**, US20090156599A1.
28. Xu, D.; Sun, L.-P.; You, Q.-D., Facile synthesis of 2,5,7-trisubstituted oxazolo[5,4-d]pyrimidines via copper-catalyzed intramolecular C–O bond formation. *Tetrahedron* **2012**, *68* (22), 4248-4251.
29. Chern, J.-W.; Wise, D. S.; Townsend, L. B., A Convenient Synthesis of 2-N-Methoxycarbonylaminooxazolo[5,4-d]pyrimidines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1984**, *21* (4), 1245-1246.
30. Rodgers, J. D.; Shepard, S.; Arvanitis, A. G.; Wang, H.; Storace, L.; Folmer, B.; Shao, L.; Zhu, W.; Glenn, J. P. Preparation of N-(Hetero)arylpyrrolidine Derivatives of Pyrazol-4-ylpyrrolo[2,3-D]pyrimidines and

Pyrrol-3-ylpyrrolo[2,3-D]pyrimidines as Janus Kinase JAK1 Inhibitors. **2010**, WO2010135650A1.

31. Lemaire, L.; Leleu-Chavain, N.; Tourteau, A.; Abdul-Sada, A.; Spencer, J.; Millet, R., A rapid route for the preparation of pyrimido[5,4-d]- and pyrido[3,2-d]oxazoles. *Tetrahedron Letters* **2015**, 56 (19), 2448-2450.

32. Ioannidis, S.; Lamb, M.; Su, M. N-Pyrazolyl Fused Pyrimidinamine Derivatives as JAK Inhibitors and Their Preparation, Pharmaceutical Compositions and Use in the Treatment of Myeloproliferative Disorders and Cancer. **2009**, WO2009013545A2.

33. Ohtsuka, Y., Study on Oxazolopyrimidines. I. Synthesis and Spectroscopic Properties of 7-Aminooxazolo[5,4-d]pyrimidines. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1970**, 43 (1), 187-191.

34. Ohtsuka, Y., Study on Oxazolopyrimidines. V. Preparation of 9-Substituted Hypoxanthines via 7-Aminooxazolo[5,4-d]pyrimidines. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1970**, 43 (12), 3909-3913.

35. Sekiya, M.; Suzuki, J.; Kakiya, Y., Azole Series. II. Reactions of 2-Acylamino-2-cyanoacetamides leading to 5-Acylaminooxazole-4-carboxamides and to Oxazolo[5,4-d]pyrimidines. *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* **1970**, 18 (6), 1233-1238.

36. Mandal, S.; Li, W. T.; Bai, Y.; Robertus, J. D.; Kerwin, S. M., Synthesis of 2-substituted 9-oxa-guanines {5-aminooxazolo[5,4-d]pyrimidin-7(6H)-ones} and 9-oxa-2-thio-xanthines {5-mercaptooxazolo[5,4-d]pyrimidin-7(6H)-ones}. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2008**, 4 (26).

37. Zeng, G.-P.; Cai, C.-Q.; Tan, F.; Ding, M.-W., New efficient synthesis of 2,5,6-trisubstituted oxazolo[5,4-d]pyrimidin-7(6H)-ones via an oxazolyiminophosphorane. *Chinese Chemical Letters* **2015**, 26 (9), 1158-1160.

38. Kornienko, A. N.; Pil'ov, S. G.; Prokopenko, V. M.; Rusanov, E. B.; Brovarets, V. S., Interaction of 2-aryl-4-cyano-1,3-oxazole-5-sulfonyl chlorides with amidines. *Russian Journal of General Chemistry* **2013**, 83 (7), 1402-1405.
39. Kornienko, A. N.; Pil'ov, S. G.; Prokopenko, V. M.; Brovarets, V. S., Synthesis of methyl 2-aryl-5-chlorosulfonyl-1,3-oxazole-4-carboxylates and their reactions with amines and amidines. *Russian Journal of General Chemistry* **2014**, 84 (8), 1555-1560.
40. Turchi, I. J.; Maryanoff, C. A., A New Synthesis of Oxazolo[5,4-d]pyrimid-7-ones. *Synthesis* **1983**, 1983 (10), 837-839.
41. L'Heureux, A.; Hiebert, S.; Hu, C.; Lam, P. Y. S.; Lloyd, J.; Pi, Z.; Qiao, J. X.; Thibeault, C.; Tora, G. O.; Yang, W.; Wang, Y.; Wang, T. C.; Bowsher, M. S.; Michael, S.; Ruel, R. Preparation of Hydroxyindoline Derivatives for Use as P2Y1 Receptor Antagonists. **2014**, WO2014022343A1.
42. Miller, D. J.; Ravikumar, K.; Shen, H.; Suh, J.-K.; Kerwin, S. M.; Robertus, J. D., Structure-Based Design and Characterization of Novel Platforms for Ricin and Shiga Toxin Inhibition. *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, 45 (1), 90-98.
43. Checchi, S.; Ridi, M., *Gazzetta Chimica Italiana* **1957**, 87.
44. Dolzhenko, A. V.; Dolzhenko, A. V.; Chui, W.-K., Pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines (5-aza-9-deazapurines): synthesis and biological activity. *Heterocycles* **2008**, 75 (7), 1575-1622.
45. Vishwakarma, J. N.; Mofizuddin, M.; Ila, H.; Junjappa, H., A facile synthesis of substituted 4,5,6,7-tetrahydropyrazolo[3,4-d]-pyrimidine and 1,2,3,4-tetrahydropyrazolo[1,5-a]triazine derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1988**, 25 (5), 1387-1390.
46. Dutta, M. C.; Chanda, K.; Vishwakarma, J. N.; Helissey, P., A facile one-pot synthesis of novel substituted 1,2,3,4-tetrahydropyrimidines Part 5 : Synthesis of bis[(1-alkyl/aralkyl)-5-benzoyl-6-methylthio-1,2,3,4-tetrahydropyrimidinyl]alkane and benzene, bis[3-phenyl-7-methyl-4,5,6,7-tetrahydropyrazolo[3,4-d]-pyrimidinyl]alkane

and bis[1-benzyl-7-phenyl-1,2,3,4-tetrahydro-pyrazolo[1,5-a]triazinyl]alkane and benzene. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2005**, 42 (5), 975-978.

47. Graubaum, H.; Schweim, H. G., Zur Reaktion von 3(5)-Aminopyrazol mit Isocyanaten oder Cyanaten und Aceton. *Archiv der Pharmazie* **1991**, 324 (4), 257-258.

48. Lim, F. P. L.; Luna, G.; Dolzhenko, A. V., A new, one-pot, multicomponent synthesis of 5-aza-9-deaza-adenines under microwave irradiation. *Tetrahedron Letters* **2014**, 55 (37), 5159-5163.

49. Lim, F. P. L.; Luna, G.; Dolzhenko, A. V., A one-pot, three-component, microwave-assisted synthesis of novel 7-amino-substituted 4-aminopyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine-8-carbonitriles. *Tetrahedron Letters* **2015**, 56 (50), 7016-7019.

50. Lim, F. P. L.; Luna, G.; Tan, K. C.; Tiekink, E. R. T.; Dolzhenko, A. V., A synthesis of new 7-amino-substituted 4-aminopyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines via a selective three-component triazine ring annulation. *Tetrahedron* **2019**, 75 (15), 2322-2329.

51. Lim, F. P. L.; Halcovitch, N. R.; Tiekink, E. R. T.; Dolzhenko, A. V., A new microwave-assisted, three-component reaction of 5-aminopyrazole-4-carboxylates: Selective synthesis of substituted 5-aza-9-deaza-adenines. *Tetrahedron* **2018**, 74 (15), 1868-1879.

52. Kaddachi, M. T.; Hajjem, B.; Baccar, B., Reaction of N-acyl and N-ethoxycarbonyl imidates on 2-amino-benzimidazols, 3-amino-4-methyl-5-phenyl pyrazols and 3-amino-1,2,4 triazols. *Journal of the Tunisian Chemical Society* **1988**, 2 (7), 17-21.

53. Gilligan, P. J.; Folmer, B. K.; Hartz, R. A.; Koch, S.; Nanda, K. K.; Andreuski, S.; Fitzgerald, L.; Miller, K.; Marshall, W. J., Pyrazolo-[1,5-a]-1,3,5-triazine corticotropin-Releasing factor (CRF) receptor ligands. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2003**, 11 (18), 4093-4102.

54. Strohmeyer, T. W.; Sliskovic, D. R.; Lang Jr, S. A.; Lin, Y.-I., New synthesis of 2,4-dialkyl(or diaryl)pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1985**, 22 (1), 7-10.
55. Demidchuk, B. A.; Brovarets, V. S.; Chernega, A. N.; Howard, J. A. K.; Vasilenko, A. N.; Turov, A. V.; Drach, B. S., Reaction of 1-Aryl-1,3,4,4-tetrachloro-2-azabuta-1,3-dienes with aminoazoles. *Russian Journal of General Chemistry* **2007**, 77 (3), 474-481.
56. Briel, D., Thieno(2',3':3,4)pyrazolo(1,5-a)pyrimidines and -triazines: synthesis of a novel ring system. *Pharmazie* **1995**, 50 (10), 675-678.
57. Tam, S. Y. K.; Hwang, J. S.; De Las Heras, F. G.; Klein, R. S.; Fox, J. J., Nucleosides CV. Synthesis of the 8-((β -D-ribofuranosyl)pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazine isosteres of adenosine and inosine. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1976**, 13 (6), 1305-1308.
58. Lee, C. S.; Du, J.; Chu, C. K., Syntheses of 2'',3''-Dideoxy-L-Glycero-Pentofuranosyl C-Nucleosides. *Nucleosides and Nucleotides* **1996**, 15 (6), 1223-1236.
59. Xiang, Y.; Du, J.; Chu, C. K., Syntheses of 2',3'-dideoxy-d-c-nucleosides from γ -lactone. *Nucleosides and Nucleotides* **1996**, 15 (11-12), 1821-1834.
60. Liang, C.; Ma, T.; Cooperwood, J. S.; Du, J.; Chu, C. K., Synthesis of l-ribofuranosyl C-nucleosides. *Carbohydrate Research* **1997**, 303 (1), 33-38.
61. Ullas, G. V.; Chu, C. K.; Ahn, M. K.; Kosugi, Y., Synthesis of C-nucleoside analog of (S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenine and related acyclonucleosides. *The Journal of Organic Chemistry* **1988**, 53 (11), 2413-2418.
62. Boes, M.; Riemer, C.; Stadler, H. Pyrazolopyrimidines and pyrazolotriazines with 5-HT₆ receptor affinity. **1999**, EP 941994.
63. Cohen, C. Aminoderivate von pyrazol eckige klammer auf 1,5-a eckige klammer zu s-triazin, verfahren zu ihrer herstellung und sie enthaltende arzneimittel. **1979**, DE 2900288.

64. Zahran, M. A.; El-Said, M. Z.; Emam, H. A.; Hassanien, A. A.; Ammar, Y. A., Synthesis of New Pyrazolo[1,5-a]-s-triazine, Pyrazolo[5,1-c]-as-triazines, Pyrazolo[1',5':1,2]imidazo[4,5-b]quinoxaline, and Pyrazolo[1,5-a]pyrimidines. *Croatica Chemica Acta* **1997**, 70 (4), 1039-1045.
65. Tam, S. Y. K.; Klein, R. S.; Wempen, I.; Fox, J. J., Nucleosides. 112. Synthesis of some new pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines and their C-nucleosides. *The Journal of Organic Chemistry* **1979**, 44 (25), 4547-4553.
66. Abbas-Temirek, H. H., Novel synthesis of new bridged nitrogen pyrazolo [1,5-a]pyrimidines and pyrazolo[1,5-a]1,3,5-triazine. *Assiut University Journal of Chemistry* **2006**, 35, 35-43.
67. Ried, W.; Aboul-Fetouh, S., Synthesis of new substituted pyrazolo[1,5-a]-pyrimidines and pyrazolo[1,5-a]1,3,5-triazines. *Tetrahedron* **1988**, 44 (23), 7155-7162.
68. Lübbers, T.; Angehrn, P.; Gmünder, H.; Herzig, S.; Kulhanek, J., Design, synthesis, and structure-activity relationship studies of ATP analogues as DNA gyrase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10 (8), 821-6.
69. Elgemeie, G. H.; El-Ezbawy, S. R.; El-Aziz, H. A., The design and synthesis of structurally related mercaptopurine analogues: reaction of dimethyl n-cyano-dithioiminocarbonate with 5-aminopyrazoles. *Synthetic Communications* **2001**, 31 (22), 3453-3458.
70. Elgemeie, G. H.; Sood, S. A., The Reaction of Dimethyl N-cyanodithioiminocarbonate with Amino- and Oxo-azoles: A New General Synthesis of Methylsulfanylazoloazines. *Journal of Chemical Research* **2001**, 2001 (10), 439-441.
71. Elgemeie, G. H.; Zahran, M. K.; Abbas, E. M.; Abdel Mowla, E. A., Preparation and characterization of novel methylsulfanylpirazolopyrimidine and methylsulfanylpirazolotriazine azo dyes. *Pigment & Resin Technology* **2002**, 31 (5), 297-309.

72. Alqaradawi, S. Y.; Elgemeie, G. H., Novel Mercaptopurine and Thioguanine Analogues: The Reaction of Dimethyl N-Cyanodithioiminocarbonate with Oxo- and Amino-diazoles. *Synthetic Communications* **2004**, *34* (5), 805-815.
73. Caulkett, P. W. R.; Jones, G.; Collis, M. G.; Poucher, S. M. Azole Derivatives, **1991**, EP 459702.
74. de Zwart, M.; Vollinga, R. C.; Beukers, M. W.; Slegers, D. F.; von Frijtag Drabbe Künzel, J. K.; de Groote, M.; Ijzerman, A. P., Potent antagonists for the human adenosine A2B receptor. Derivatives of the triazolotriazine adenosine receptor antagonist ZM241385 with high affinity. *Drug Development Research* **1999**, *48* (3), 95-103.
75. Elgemeie, G. H.; El-Ezbawy, S. R.; Ali, H. A., Reactions of chlorocarbonyl isocyanate with 5-aminopyrazoles and active methylene nitriles: a novel synthesis of pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines and barbiturates. *Synthetic Communications* **2001**, *31* (22), 3459-3467.
76. Gupta, C. M.; Jones, G. H.; Moffatt, J. G., C-glycosyl nucleosides. 9. An approach to the synthesis of purine-related C-glycosides. *The Journal of Organic Chemistry* **1976**, *41* (18), 3000-3009.
77. Cartwright, D.; Urlwin-Smith, P.; Collins, D. J. Pyrazolotriazinedione derivatives, process for their preparation and herbicidal compositions containing them. **1979**, EP 4171.
78. Salem, M. A. I.; Madkour, H. M. F.; Al-Nuaimi, I. S.; Al-qaradawi, S. Y., Study on 3,5-pyrazolidine dione and its derivatives part II. *Journal of the Serbian Chemical Society* **1993**, *58* (2), 89-100.
79. Fischer, E.; Kreutzmann, J.; Rembarz, G.; Rosenthal, S., Preparation and reactions of substituted (1,5-a)pyrazolo(1,3,5)triazines. *Pharmazie* **1976**, *31* (8), 546-548.
80. Fischer, E.; Rosenthal, S.; Kreutzmann, J. Verfahren zur Herstellung von 4-Thioxo-3,4-dihydro-pyrazolo-(2.3.-a)(1.3.5)-triazinen. **1976**, DD 123468.

81. Krueger, M.; Westermann, J.; Arndt, F.; Rees, R.; Hunt, R. G. 6,7-Dihydro-pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine-2-sulfonamides, processes for their preparation and their use as herbicides and plant growth regulators. **1989**, EP 297490.
82. Kalinin, D. V.; Kalinina, S. A.; V., D. A., A New Synthesis of Amino Substituted Azolo[1,3,5]triazines via Reaction of *N,N*-Dimethyl-*N*²-azolyllformamidines with Cyanamide *Heterocycles* **2013**, 87 (1), 147 – 154.
83. Chu, C. K., Synthesis of 3-Amino-2-carbamimidoylpyrazole C-Nucleosides and Its Cyclization to 4-Aminopyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazine C-Nucleosides. *Heterocycles* **1984**, 22 (2), 345-351.
84. Rooney, C. S.; Williams, H. W. R. Pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. **1976**, US 3995039.
85. Vogel, A.; Troxler, F. Verfahren zur herstellung neuer heterocyclischer verbindungen. **1974**, DE 2424334.
86. Kobe, J.; O'Brien, D. E.; Robins, R. K.; Novinson, T., The chemistry of 4-hydrazino-7-phenylpyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1974**, 11 (6), 991-996.
87. Novinson, T.; Senga, K.; Kobe, J.; Robins, R. K.; O'Brien, D. E.; Albert, A. A., Synthesis of unsymmetrical 2,4-dialkylpyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1974**, 11 (5), 691-695.
88. Vogel, A.; Troxler, F., Neue Synthesen von Pyrazolo[1,5-a]-s-triazinen. *Helvetica Chimica Acta* **1975**, 58 (3), 761-771.
89. Peseke, K., [Preparation of substitution 5-amino-3-mercaptopyrazoles. 8. Syntheses with 1,3-dithietanes]. *Pharmazie* **1975**, 30 (12), 802.
90. Yamada, Y.; Yasuda, H.; Yoshizawa, K., A Simple Synthesis of 1-Substituted 5-Aminopyrazoles and Pyrazolo[1,5-s-triazine Derivative. *Heterocycles* **1998**, 48 (10), 2095 - 2102.

91. Chu, C. K.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J., Nucleosides. 117. Synthesis of 4-oxo-8-(β -D-ribofuranosyl)-3H-pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazine (OPTR) via 3-amino-2N-carbamoyl-4-(β -D-ribofuranosyl)pyrazole (ACPR) derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1980**, 17 (7), 1435-1439.
92. Robins, R. K.; Revankar, G. R.; O'Brien, D. E.; Springer, R. H.; Albert, T. N. A.; Senga, K.; Miller, J. P.; Streeter, D. G., Purine analog inhibitors of xanthine oxidase - structure activity relationships and proposed binding of the molybdenum cofactor. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1985**, 22 (3), 601-634.
93. Fujii, S.; Kawamura, H.; Kiyokawa, H.; Yamada, S. Pyrazolotriazine compounds. **1988**, EP 269859.
94. O'Brien, D. E.; Senga, K.; Novinson, T. Pyrazolo(1,5-a)-1,3,5-triazines. **1975**, US 3910907.
95. Kobe, J.; O'Brien, D. E.; Robins, R. K. 2-Aryl-7-substituted pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. **1975**, US 3865824.
96. Kiyokawa, H.; Yamada, S.; Miyajima, K.; Edamatsu, K.; Tatsumi, K.; Yamauchi, T.; Kishi, K.; Kiyono, K. Condensed pyrazole derivatives, method of manufacturing the same, and androgen inhibitor. **1994**, EP 594149.
97. Venkatesan, A. M. Angiotensin II receptor blocking 2,3-substituted pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazin-4(3H)-ones. **1994**, US 5358947.
98. Bernard, P.; Raboisson, P. Nouvelles pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines substituees et leurs analogues, compositions pharmaceutiques les contenant, utilisation a titre de medicament et procedes pour leur preparation. **2004**, FR 2842809.
99. Gilligan, P. J.; Rabel, R. S. R.; Meenan, P. A. Salt and crystalline form thereof of a corticotropin releasing factor receptor antagonist. **2005**, US 2005113375.
100. Gilligan, P.; Chorvat, R.; Arvanitis, A. G. Azolo triazines and pyrimidines. **2000**, US 6060478.
101. He, L.; Gilligan, P. J.; Zaczek, R.; Fitzgerald, L. W.; McElroy, J.; Shen, H. S. L.; Saye, J. A.; Kalin, N. H.; Shelton, S.; Christ, D.; Trainor, G.; Hartig, P.,

4-(1,3-Dimethoxyprop-2-ylamino)-2,7-dimethyl-8-(2,4-dichlorophenyl)pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazine: A Potent, Orally Bioavailable CRF1 Receptor Antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, 43 (3), 449-456.

102. Gilligan, P. J.

4-(2-Butylamino)-2,7-dimethyl-8-(2-methyl-6-methoxypyrid-3-yl)pyrazolo-[1,5-a]-1,3,5-triazine, its enantiomers and pharmaceutically acceptable salts as corticotropin releasing factor receptor ligands. **2002**, WO 2002072202.

103. Jagoda, E.; Contoreggi, C.; Lee, M.-J.; Kao, C.-H. K.; Szajek, L. P.; Listwak, S.; Gold, P.; Chrousos, G.; Greiner, E.; Kim, B. M.; Jacobson, A. E.; Rice, K. C.; Eckelman, W., Autoradiographic Visualization of Corticotropin Releasing Hormone Type 1 Receptors with a Nonpeptide Ligand: Synthesis of [⁷⁶Br]MJL-1-109-2. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, 46 (17), 3559-3562.

104. Arvanitis, A. G.; Chorvat, R. J. Azolo triazines and pyrimidines. **1998**, WO 9803510.

105. He, L.; Gilligan, P.; Chorvat, R.; Arvanitis, A. G. Azolo triazines and pyrimidines. **1999**, WO 9938868.

106. He, L.; Gilligan, P.; Chorvat, R.; Arvanitis, A. G. Tetrazine bicyclic compounds. **2001**, US 6313124.

107. He, L.; Gilligan, P.; Chorvat, R.; Arvanitis, A. G. Azolo triazines and pyrimidines. **2001**, US 6191131.

108. Vicentini, C. B.; Mares, D.; Tartari, A.; Manfrini, M.; Forlani, G., Synthesis of Pyrazole Derivatives and Their Evaluation as Photosynthetic Electron Transport Inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52 (7), 1898-1906.

109. Mares, D.; Romagnoli, C.; Andreotti, E.; Forlani, G.; Guccione, S.; Vicentini, C. B., Emerging antifungal azoles and effects on *Magnaporthe grisea*. *Mycological Research* **2006**, 110 (6), 686-696.

110. Kristen, H.; Goerges, S.; Peseke, K. Verfahren zur herstellung von kondensierten heterocyclen. **1983**, DD 203546.

111. Chu, C. K., A facile synthesis of 8-(β -D-ribofuranosyl)-4-thioxo-3H-pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazine and its α -anomer. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1984**, 21 (2), 389-392.
112. M. Kamal El-Dean, A.; A. Geies, A., Synthesis of Some New Pyrazolotriazines, Pyrazolothiazines and Pyrazolopyrimidines. *Journal of Chemical Research, Synopses* **1997**, (10), 352-353.
113. El-Gaby, M. S. A.; Taha, N. M.; Micky, J. A.; Sh. El-Sharief, M. A. M., Preparation of some novel 3,5-diaminopyrazole, pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine and pyrazolo[1,5-a]-pyrimidine derivatives containing sulfonamido moieties as antimicrobial agents. *Acta Chimica Slovenica* **2002**, 49, 159 -171.
114. Novinson, T.; Bhooshan, B.; Okabe, T.; Revankar, G. R.; Robins, R. K.; Senga, K.; Wilson, H. R., Novel heterocyclic nitrofurfural hydrazones. In vivo antitrypanosomal activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **1976**, 19 (4), 512-516.
115. Olson, R. E.; Fietze, W. E. Pyrazolo[1,5-a]triazine corticotropin releasing factor antagonists. **1999**, WO 9967247.
116. El Khadem, H. S.; Foltz, R. L.; Novinson, T.; Senga, K., Mass spectra of substituted pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1975**, 12 (6), 1255-1263.
117. Senga, K.; O'Brien, D. E.; Scholten, M. B.; Novinson, T.; Miller, J. P.; Robins, R. K., Synthesis and enzymic activity of various substituted pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines as adenosine cyclic 3',5'-phosphate phosphodiesterase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **1982**, 25 (3), 243-249.
118. Almansa, C.; de Arriba, A. F.; Cavalcanti, F. L.; Gómez, L. A.; Miralles, A.; Merlos, M.; García-Rafanell, J.; Forn, J., Synthesis and SAR of a New Series of COX-2-Selective Inhibitors: Pyrazolo[1,5-a]pyrimidines. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, 44 (3), 350-361.
119. Kalinin, D. V.; Kalinina, S. A.; V., D. A., Synthesis of Novel Trichloromethyl Substituted Azolo[1,3,5]triazines. *Heterocycles* **2012**, 85 (10), 2515 - 2522.

120. Darrow, J. W.; De Lombaert, S.; Blum, C.; Tran, J.; Giangiardano, M.; Griffith, D. A.; Carpino, P. A. Certain alkylene diamine-substituted pyrazolo[1,5-a]-1,5-pyrimidines and pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. **2001**, WO 2001023387.
121. Darrow, J. W.; De Lombaert, S.; Blum, C.; Tran, J.; Giangiardano, M.; Griffith, D. A.; Carpino, P. A. Amino substituted pyrazolo[1,5-a]-1,5-pyrimidines and pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. **2001**, WO 2001023388.
122. Raboisson, P.; Schultz, D.; Muller, C.; Reimund, J. M.; Pinna, G.; Mathieu, R.; Bernard, P.; Do, Q. T.; Desjarlais, R. L.; Justiano, H.; Lugnier, C.; Bourguignon, J. J., Cyclic nucleotide phosphodiesterase type 4 inhibitors: evaluation of pyrazolo [1,5-a]-1,3,5-triazine ring system as an adenine bioisostere. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43 (4), 816-29.
123. Griffith, D. A. Cannabinoid receptor ligands and uses thereof. **2004**, US 2004157839.
124. Griffith, D. A. Pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-one derivatives as cb1 receptor antagonists. **2005**, WO 2005049615.
125. Ghosh, A.; Wei, L. Preparation of 3-amino-4,5-disubstituted-pyrazole derivatives. **2006**, WO 2006131807.
126. Su, Y. D.; Zheng, Y. H.; Li, Y. C., Synthesis of Pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4(3H)-one Derivatives. *Chinese journal of synthetic chemistry* **2006**, 14 (4), 380-383.
127. Kobe, J.; Robins, R. K.; O'Brien, D. E., The synthesis and chemical reactions of certain pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1974**, 11 (2), 199-204.
128. Kobe, J.; Springer, R. H.; O'Brien, D. E. Pyrazolo[1,5-a]1,3,5-triazines. **1974**, US 3846423.

129. el-Hawash, S. A.; el-Mallah, A. I., Synthesis of some novel pyrazole derivatives as potential antiinflammatory agents with minimum ulcerogenic activity. *Pharmazie* **1998**, *53* (6), 368-73.
130. Capuano, L.; Schrepfer, H. J., Heterocyclisierungen, IX Darstellung von Pyrazolo-, Triazolo-, Oxazolo- und Thiazolo-s-triazinen mit Brückenkopf-Stickstoff sowie eines N-Äthoxycarbonyl-isopurins. *Chemische Berichte* **1971**, *104* (10), 3039-3047.
131. Sun, L.; Bera, H.; Chui, W. K., Synthesis of pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine derivatives as inhibitors of thymidine phosphorylase. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *65*, 1-11.
132. Ramiz, M. M. M.; Elghandour, A. H. H.; Ibrahim, M. K. A.; Mansour, O. A. E. R., Studies on Amino-Azoles: Synthesis of 3-Methylaminopyrazole Derivatives. *Archiv der Pharmazie* **1989**, *322* (9), 557-560.
133. Insuasty, H.; Estrada, M.; Cortés, E.; Quiroga, J.; Insuasty, B.; Abonía, R.; Nogueras, M.; Cobo, J., Regioselective synthesis of novel 4-aryl-2-ethylthio-7-methyl pyrazolo[1,5-a]-[1,3,5]-triazines. *Tetrahedron Letters* **2006**, *47* (31), 5441-5443.
134. Oudah, K. H.; Najm, M. A. A.; Samir, N.; Serya, R. A. T.; Abouzid, K. A. M., Design, synthesis and molecular docking of novel pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine derivatives as CDK2 inhibitors. *Bioorganic Chemistry* **2019**, *92*, 103239.
135. Nie, Z.; Perretta, C.; Erickson, P.; Margosiak, S.; Almassy, R.; Lu, J.; Averill, A.; Yager, K. M.; Chu, S., Structure-based design, synthesis, and study of pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine derivatives as potent inhibitors of protein kinase CK2. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, *17* (15), 4191-4195.
136. Nie, Z.; Perretta, C.; Erickson, P.; Margosiak, S.; Lu, J.; Averill, A.; Almassy, R.; Chu, S., Structure-based design and synthesis of novel macrocyclic pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine compounds as potent inhibitors of protein kinase CK2 and their anticancer activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18* (2), 619-623.

137. Senga, K.; Kobe, J.; Robins, R. K.; O'Brien, D. E., Synthesis of 1,3-dialkylpyrazolo [1,5-a]-1,3,5-triazine-2,4-diones isomers of 1,3-dialkylxanthines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1975**, 12 (5), 893-898.
138. De Las Heras, F. G.; Chu, C. K.; Tarn, S. Y. K.; Klein, R. S.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J., Nucleosides XCVII. Synthesis of an 8-(d-ribofuranosyl)pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazine. A new type of C-Nucleoside. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1976**, 13 (1), 175-177.
139. Cabon, G.; Gaucher, B.; Gegout, A.; Heulle, S.; Masquelin, T., Novel solution-and solid-phase syntheses of heterocyclic systems. *Chimia International Journal for Chemistry* **2003**, 57 (5), 248-254.
140. Bera, H.; Ojha, P. k.; Tan, B. J.; Sun, L.; Dolzhenko, A. V.; Chui, W.-K.; Chiu, G. N. C., Discovery of mixed type thymidine phosphorylase inhibitors endowed with antiangiogenic properties: Synthesis, pharmacological evaluation and molecular docking study of 2-thioxo-pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-ones. Part II. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 78, 294-303.
141. Guzi, T. J.; Paruch, K. Pyrazolotriazines as kinase inhibitors 2005.
142. Mackenzie, S. M.; Stevens, M. F. G., Triazines and related products. Part VI. Synthesis and properties of 4-amino-2(2H)-imino-s-triazino[1,2-c][1,2,3]-benzotriazines. *Journal of the Chemical Society C: Organic* **1970**, (17), 2298-2308.
143. Stevens, M. F. G.; Bliss, E. A.; Brown, T. B.; Mackenzie, S. M., Triazines and related products. 29. Chemistry, DHFR-inhibitory activity and antitumour activity of substituted 2,4-diamino-6-phenyl-1,3,5-triazines. **1984**, 19, 375-379.
144. Gescher, A.; Stevens, M. F. G.; Turnbull, C. P., Triazines and related products. Part 18. Decomposition of 1,2,3-benzotriazines and related triazenes with sodium azide in acetic acid: a convenient route to azidoarenes. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I* **1977**, (2), 103-106.

145. Mohamed, H.; Ghali, E.; Ramiz, M.; Elnagdi, M., Activated Nitriles in Heterocyclic Synthesis, IV. Synthesis of 1,3,4-Thiadiazole Derivatives. *European Journal of Organic Chemistry* **1985**, 1985, 1962-1968.
146. Elmoghayar, M. R. H.; Abdalla, S. O.; Nasr, M. Y. A.-S., The reaction of isothiocyanates with 2-cyanoethanoic acid hydrazide. A novel synthesis of 1,3,4-thiadiazoles. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1984**, 21 (3), 781-784.
147. Abed, N.; Elagamey, A.; Harb, A., Some reactions with alpha, beta-unsaturated acyl isothiocyanates. *Journal of The Chemical Society of Pakistan* **1988**, 10 (2), 151-157.
148. Smolnikov, S. A.; Gorgopina, E. V.; Lezhnyova, V. R.; Ong, G. E.; Chui, W.-K.; Dolzhenko, A. V., 4-Phenethylthio-2-phenylpyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-7(6H)-one. *Molbank* **2017**, 2017 (4).
149. Chu, C. K.; Suh, J., Pyrazolo[1,5-a]pyrimidines and pyrazolo[1,5-a]triazines: Synthesis of heterocyclic compounds using 1,3-dimethyl-uracil and 1,3-dimethyl-5-azauracil as synthons. *Nucleic Acid Chem.* **1991**, 4, 19-24.
150. Chu, C. K.; Suh, J. J.; Mesbah, M.; Cutler, S. J., Ring transformation reactions of C-nucleosides: Facile synthesis of pyrazolo[1,5-a]pyrimidine and pyrazolo[1,5-a]triazine C-nucleosides. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1986**, 23 (2), 349-352.
151. Nolte, B.; Sucholeiki, I.; Feuerstein, T.; Gallagher JR., B. M.; Wu, X.; Steeneck, C.; Gege, C.; Deng, H.; Van Veldhuizen, J.; Taveras, A. Heterobicyclic metalloprotease inhibitors. **2006**.
152. Danagulyan, G. G.; Tumanyan, A. K., Novel route for construction of a triazine ring. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2010**, 46 (5), 639-640.
153. Zamigailo, L. L.; Petrova, O. N.; Shirobokova, M. G.; Lipson, V. V., Reactions of 4-oxobenz[1,3-e]oxazinium perchlorates with α -aminoazoles. *Russian Journal of Organic Chemistry* **2013**, 49 (2), 288-293.

154. El-Saraf, G. A.; El-Sayed, A. M.; El-Saghier, A. M. M., One-pot PTC synthesis of polyfused pyrazoles. *Heteroatom Chemistry* **2003**, *14* (3), 211-217.
155. Prevost, G.; Lonchamp, M. O.; Kim, S.; Morgan, B.; Ulibarri, G.; Thuriereau, C. Cyclin-dependent kinase (cdk) and glycolene synthase kinase-3 (gsk-3) inhibitors. **2002**, WO 2002050079.
156. Wu, M.; White, H. V.; Boehm, B. A.; Meriney, C. J.; Kerrigan, K.; Frasso, M.; Liang, M.; Gotway, E. M.; Wilcox, M. R.; Johnson, J. W.; Wipf, P.; Meriney, S. D., New Cav2 calcium channel gating modifiers with agonist activity and therapeutic potential to treat neuromuscular disease. *Neuropharmacology* **2018**, *131*, 176-189.
157. Miller, J. P.; Sigman, C. C.; Johnson, H. L.; Novinson, T.; Springer, R. H.; Senga, K.; O'Brien, D. E.; Robins, R. K., Inhibition of cyclic AMP phosphodiesterases by cyclic nucleotide analogs and nitrogen heterocycles. *Adv. Cyclic Nucleotide Protein Phosphor. Res.* **1984**, *16*, 277-290.
158. Sullivan, T. A.; Duemler, B. H.; Kuttesch, N. J.; Keravis, T. M.; Wells, J. N., Irreversible inhibition of calmodulin-sensitive cyclic nucleotide phosphodiesterase. *J Cyclic Nucleotide Protein Phosphor Res* **1986**, *11* (5), 355-64.
159. Hu, X.; Hu, Y.; Vogt, M.; Stumpfe, D.; Bajorath, J., MMP-Cliffs: Systematic Identification of Activity Cliffs on the Basis of Matched Molecular Pairs. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2012**, *52* (5), 1138-1145.
160. Sun, L.; Li, J.; Bera, H.; Dolzhenko, A. V.; Chiu, G. N. C.; Chui, W. K., Fragment-based approach to the design of 5-chlorouracil-linked-pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines as thymidine phosphorylase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *70*, 400-410.
161. Feng, J.; Gwaltney, S. L.; Stafford, J. A.; Wallace, M. B.; Zhang, Z. Heterocyclic dipeptidyl peptidase inhibitors for therapeutic use. **2006**, US 20060135767.

162. Jung, M.; Schuele, R.; Metzger, E.; Spannhoff, A.; Liebscher, J.; Paetzel, M.; Sippl, W. Pharmaceutical composition containing inhibiting agents of protein methyltransferase I and use thereof to treat tumor diseases. **2010**, EP2221053.
163. Vu, C.; Petter, R. C.; Kumaravel, G. Triazolotriazines and pyrazolotriazines useful as a2a adenosine receptor antagonists. **2004**, WO 2004092170.
164. Li, Y.-W.; Fitzgerald, L.; Wong, H.; Lelas, S.; Zhang, G.; Lindner, M. D.; Wallace, T.; McElroy, J.; Lodge, N. J.; Gilligan, P.; Zaczek, R., The Pharmacology of DMP696 and DMP904, Non-Peptidergic CRF1 Receptor Antagonists. *CNS Drug Reviews* **2005**, *11* (1), 21-52.
165. Raboisson, P.; Baurand, A.; Cazenave, J.-P.; Gachet, C.; Schultz, D.; Spiess, B.; Bourguignon, J.-J., A General Approach toward the Synthesis of C-Nucleoside Pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines and Their 3',5'-Bisphosphate C-Nucleotide Analogues as the First Reported in Vivo Stable P2Y1-Receptor Antagonists. *The Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67* (23), 8063-8071.
166. Cao, X.; Liang, L.; Hadcock, J. R.; Iredale, P. A.; Griffith, D. A.; Menniti, F. S.; Factor, S.; Greenamyre, J. T.; Papa, S. M., Blockade of Cannabinoid Type 1 Receptors Augments the Antiparkinsonian Action of Levodopa without Affecting Dyskinesias in 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-Treated Rhesus Monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2007**, *323* (1), 318.
167. Norman, P., A dual CCR2/CCR5 chemokine antagonist, BMS-813160? Evaluation of WO2011046916. *Expert Opin Ther Pat* **2011**, *21* (12), 1919-24.
168. Junien, J. L.; Guillaume, M.; Lakatos, C.; Sterne, J., Bronchodilator and antiallergic properties of LA 2851 (2-4-diamino-7-methyl-pyrazolo(1,5-a)1,3,5-triazine). *Arch Int Pharmacodyn Ther* **1981**, *252* (2), 313-26.

169. Guillaume, M.; Lakatos, C., LA 2851, a new bronchodilator and anti-allergic compound which inhibits slow-reacting substance formation. *Prostaglandins Ser.* **1983**, *3*, 332-337.
170. Ruff, F.; Floch, A.; Chastagnol, D.; Blanc, M.; Santais, M., Anti-allergic properties of 2,4-diamino-7-methyl-pyrazolo(1,5-a)1,3,5-triazine (LA 2851): Possible inhibition of the leukotrienes. *Prostaglandins Ser.* **1983**, *3*, 205-210.
171. Junien, J.; Lakatos, C.; Brohon, J.; Guillaume, M.; Sterne, J., Anti-inflammatory effect of LA 2851 and reference drugs on some models of inflammation. Investigation of the mechanism of action. *Agents and actions* **1982**, *12* (4), 459-465.
172. Popowycz, F.; Schneider, C.; DeBonis, S.; Skoufias, D. A.; Kozielski, F.; Galmarini, C. M.; Joseph, B., Synthesis and antiproliferative evaluation of pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazine myoseverin derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17* (9), 3471-3478.
173. Inoue, N.; Matsushita, M.; Fukui, Y.; Yamada, S.; Tsuda, M.; Higashi, C.; Kaneko, K.; Hasegawa, H.; Yamaguchi, T., Identification of a Varicella-Zoster Virus Replication Inhibitor That Blocks Capsid Assembly by Interacting with the Floor Domain of the Major Capsid Protein. *Journal of Virology* **2012**, *86* (22), 12198.
174. Gudmundsson, K. S.; Johns, B. A.; Weatherhead, J., Pyrazolopyrimidines and pyrazolotriazines with potent activity against herpesviruses. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19* (19), 5689-5692.
175. Guillemont, J. E. G.; Raboisson, P. J.-M. B.; Lounis, N. Preparation of substituted triazinoindazolamines with antibacterial activity against Clostridium. **2012**.
176. Zhou, T.; Ma, S.; Nahra, F.; Obled, A. M. C.; Poater, A.; Cavallo, L.; Cazin, C. S. J.; Nolan, S. P.; Szostak, M., [Pd(NHC)(μ -Cl)Cl]₂: Versatile and Highly Reactive Complexes for Cross-Coupling Reactions that Avoid Formation of Inactive Pd(I) Off-Cycle Products. *iScience* **2020**, *23* (8), 101377.

177. Nolan, S. P.; Saab, M.; Scattolin, T.; Tzouras, N. V.; Van Hecke, K.; Martin, A. R.; Ott, I.; Lippmann, P.; Safir-Filho, M.; Dao, P.; Benhida, R., Straightforward synthetic route to gold(I)-thiolato glycoconjugate complexes bearing NHC ligands (NHC = N-heterocyclic carbene) and their promising anticancer activity. *New Journal of Chemistry* **2021**.
178. Dounchis, H., The Structure of Aroyl Isocyanide Trimers. *Journal of Organic Chemistry* **1972**, 37 (16), 2583-2587.
179. Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J., Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry* **1998**, 19 (14), 1639-1662.
180. Christensen, C.; Bruun Schiødt, C.; Tækker Foged, N.; Meldal, M., Solid Phase Combinatorial Library of 1,3-Azole Containing Peptides for the Discovery of Matrix Metallo Proteinase Inhibitors. *QSAR & Combinatorial Science* **2003**, 22 (7), 754-766.
181. Kachaeva, M. V.; Pilyo, S. G.; Zhirnov, V. V.; Brovarets, V. S., Synthesis, characterization, and in vitro anticancer evaluation of 2-substituted 5-arylsulfonyl-1,3-oxazole-4-carbonitriles. *Medicinal Chemistry Research* **2019**, 28 (1), 71-80.
182. Kachaeva, M. V.; Hodyna, D. M.; Semenyuta, I. V.; Pilyo, S. G.; Prokopenko, V. M.; Kovalishyn, V. V.; Metelytsia, L. O.; Brovarets, V. S., Design, synthesis and evaluation of novel sulfonamides as potential anticancer agents. *Computational Biology and Chemistry* **2018**, 74, 294-303.
183. Velihina, Y.; Kachaeva, M.; Pil'o, S.; Moskvina, V.; Shablykina, O.; Brovarets, V., Synthesis of 4-Hetaryl-2-(dichloromethyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. *Ukrainian Chemistry Journal* **2020**, 86 (5), 53-62.

184. Semenyuta, I.; Kovalishyn, V.; Tanchuk, V.; Pilyo, S.; Zyabrev, V.; Blagodatnyy, V.; Trokhimenko, O.; Brovarets, V.; Metelytsia, L., 1,3-Oxazole derivatives as potential anticancer agents: Computer modeling and experimental study. *Computational Biology and Chemistry* **2016**, *65*, 8-15.
185. Azad, I.; Jafri, A.; Khan, T.; Akhter, Y.; Arshad, M.; Hassan, F.; Ahmad, N.; Khan, A. R.; Nasibullah, M., Evaluation of pyrrole-2,3-dicarboxylate derivatives: Synthesis, DFT analysis, molecular docking, virtual screening and in vitro anti-hepatic cancer study. *Journal of Molecular Structure* **2019**, *1176*, 314-334.
186. Головенко, Н. Я., *Физико - химическая фармакология Физико - химическая фармакология*. Астропринт: Одесса, **2004**, 720.
187. Mortenson, P. N.; Erlanson, D. A.; de Esch, I. J. P.; Jahnke, W.; Johnson, C. N., Fragment-to-Lead Medicinal Chemistry Publications in 2017. *Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *62* (8), 3857-3872.
188. de Souza Neto, L. R.; Moreira-Filho, J. T.; Neves, B. J.; Maidana, R. L. B. R.; Guimarães, A. C. R.; Furnham, N.; Andrade, C. H.; Silva, F. P., In silico Strategies to Support Fragment-to-Lead Optimization in Drug Discovery. *Frontiers in Chemistry* **2020**, *8* (93).
189. Lamoree, B.; Hubbard, Roderick E., Current perspectives in fragment-based lead discovery (FBLD). *Essays in Biochemistry* **2017**, *61* (5), 453-464.
190. Dewar, M. J. S., *The molecular orbital theory of organic chemistry*. McGraw-Hill: New York, **1969**, 484.
191. Pil'o, S. G.; Brovarets, V. S.; Vinogradova, T. K.; Golovchenko, A. V.; Drach, B. S., Synthesis of New 5-Mercapto-1,3-oxazole Derivatives on the Basis of 2-Acylamino-3,3-dichloroacrylonitriles and Their Analogs. *Russian Journal of General Chemistry* **2002**, *72* (11), 1714-1723.
192. Pil'o, S. G.; Brovarets, V. S.; Romanenko, E. A.; Drach, B. S., Reaction of 3,3-Dichloro-2-dichloroacetylaminocrylonitrile with Amines. *Russian Journal of General Chemistry* **2002**, *72* (11), 1724-1729.

193. Kondratyuk, K. M.; Lukashuk, O. I.; Golovchenko, A. V.; Komarov, I. V.; Brovarets, V. S.; Kukhar, V. P., Synthesis of 5-amino-2-aminoalkyl-1,3-oxazol-4-ylphosphonic acid derivatives and their use in the preparation of phosphorylated peptidomimetics. *Tetrahedron* **2013**, *69* (30), 6251-6261.
194. Golovchenko, O. V.; Abdurakhmanova, E. R.; Vladimirov, S. O.; Brusnakov, M. Y.; Krupoder, T. O.; Sukhoveev, V. V.; Rusanov, E. B.; Vydzhak, R. N.; Brovarets, V. S., Interaction of 1-acylamino-2,2-dichloroethenyl(triphenyl)-phosphonium chlorides with alkanolamines. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* **2020**, *195* (10), 848-857.
195. Abdurakhmanova, E. R.; Brusnakov, M. Y.; Golovchenko, O. V.; Pilyo, S. G.; Velychko, N. V.; Harden, E. A.; Prichard, M. N.; James, S. H.; Zhirnov, V. V.; Brovarets, V. S., Synthesis and in vitro anticytomegalovirus activity of 5-hydroxyalkylamino-1,3-oxazoles derivatives. *Medicinal Chemistry Research* **2020**, *29* (9), 1669-1675.
196. Metelytsia, L. O.; Trush, M. M.; Kovalishyn, V. V.; Hodyna, D. M.; Kachaeva, M. V.; Brovarets, V. S.; Pilyo, S. G.; Sukhoveev, V. V.; Tsyhankov, S. A.; Blagodatnyi, V. M.; Semenyuta, I. V., 1,3-Oxazole derivatives of cytosine as potential inhibitors of glutathione reductase of *Candida* spp.: QSAR modeling, docking analysis and experimental study of new anti-*Candida* agents. *Computational Biology and Chemistry* **2021**, *90*, 107407.
197. Kachaeva, M. V.; Pilyo, S. G.; Hartline, C. B.; Harden, E. A.; Prichard, M. N.; Zhirnov, V. V.; Brovarets, V. S., In vitro activity of novel derivatives of 1,3-oxazole-4-carboxylate and 1,3-oxazole-4-carbonitrile against human cytomegalovirus. *Medicinal Chemistry Research* **2019**, *28* (8), 1205-1211.

198. Kachaeva, M.; Pilyo, S.; Demydchuk, B.; Prokopenko, V.; Zhirnov, V.; Brovarets, V., 4-Cyano-1, 3-oxazole-5-sulfonamides as novel promising anticancer lead compounds. *Intern. J. Current Res* **2018**, *10* (5), 69410-69425.
199. Zhuravlova, M. Y.; Obernikhina, N. V.; Pilyo, S. G.; Kachaeva, M. V.; Kachkovsky, O. D.; Brovarets, V. S., In silico binding affinity studies of phenyl-substituted 1, 3-oxazoles with protein molecules. **2020**.
200. Frisch, M.; Trucks, G.; Schlegel, H.; Scuseria, G.; Robb, M.; Cheeseman, J.; Montgomery, J. J.; Vreven, T.; Kudin, K.; Burant, J.; Millam, J., Gaussian 03: Revision B.05. *Inc., Wallingford CT* **2003**.
201. Obernikhina, N.; Kachaeva, M.; Shchodryi, V.; Prostota, Y.; Kachkovsky, O.; Brovarets, V.; Tkachuk, Z., Topological Index of Conjugated Heterocyclic Compounds as Their Donor/Acceptor Parameter. *Polycyclic Aromatic Compounds* **2020**, *40* (4), 1196-1209.
202. Obernikhina, N.; Pavlenko, O.; Kachkovsky, A.; Brovarets, V., Quantum-Chemical and Experimental Estimation of Non-Bonding Level (Fermi Level) and π -Electron Afinity of Conjugated Systems. *Polycyclic Aromatic Compounds* **2020**, 1-10.
203. Kachaeva, M. V.; Obernikhina, N. V.; Veligina, E. S.; Zhuravlova, M. Y.; Prostota, Y. O.; Kachkovsky, O. D.; Brovarets, V. S., Estimation of biological affinity of nitrogen-containing conjugated heterocyclic pharmacophores. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2019**, *55* (4), 448-454.
204. Murugan, M.; Fedele, D.; Millner, D.; Alharfoush, E.; Vegunta, G.; Boison, D., Adenosine kinase: An epigenetic modulator in development and disease. *Neurochemistry International* **2021**, *147*, 105054.
205. Boison, D.; Yegutkin, G. G., Adenosine Metabolism: Emerging Concepts for Cancer Therapy. *Cancer Cell* **2019**, *36* (6), 582-596.
206. Boison, D., Adenosine kinase, epilepsy and stroke: mechanisms and therapies. *Trends in Pharmacological Sciences* **2006**, *27* (12), 652-658.

207. Studer, F. E.; Fedele, D. E.; Marowsky, A.; Schwerdel, C.; Wernli, K.; Vogt, K.; Fritschy, J. M.; Boison, D., Shift of adenosine kinase expression from neurons to astrocytes during postnatal development suggests dual functionality of the enzyme. *Neuroscience* **2006**, *142* (1), 125-137.
208. Shen, H.-Y.; Lusardi, T. A.; Williams-Karnesky, R. L.; Lan, J.-Q.; Poulsen, D. J.; Boison, D., Adenosine kinase determines the degree of brain injury after ischemic stroke in mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **2011**, *31* (7), 1648-1659.
209. Annes, J. P.; Ryu, J. H.; Lam, K.; Carolan, P. J.; Utz, K.; Hollister-Lock, J.; Arvanites, A. C.; Rubin, L. L.; Weir, G.; Melton, D. A., Adenosine kinase inhibition selectively promotes rodent and porcine islet β -cell replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**, *109* (10), 3915.
210. Bleeker, F. E.; Molenaar, R. J.; Leenstra, S., Recent advances in the molecular understanding of glioblastoma. *Journal of neuro-oncology* **2012**, *108* (1), 11-27.
211. Hartono, C.; Muthukumar, T.; Suthanthiran, M., Immunosuppressive drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2013**, *3* (9), a015487.
212. Holt, C. D., Overview of Immunosuppressive Therapy in Solid Organ Transplantation. *Anesthesiol Clin* **2017**, *35* (3), 365-380.
213. Sepkowitz, K. A., Opportunistic infections in patients with and patients without Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Clin Infect Dis* **2002**, *34* (8), 1098-107.
214. Okesli, A.; Khosla, C.; Bassik, M. C., Human pyrimidine nucleotide biosynthesis as a target for antiviral chemotherapy. *Curr Opin Biotechnol* **2017**, *48*, 127-134.
215. Sanjiv, K.; Aakash Deep and Balasubramanian, N., A Review on Synthesis, Anticancer and Antiviral Potentials of Pyrimidine Derivatives. *Current Bioactive Compounds* **2019**, *15* (3), 289-303.
216. Kachaeva, M.; Pilyo, S.; Kornienko, A.; Prokopenko, V.; Zhirnov, V.; Prichard, M.; Keith, K.; Yang, G.; Wang, H.-K.; Banerjee, N.; Chow, L.; Broker,

- T.; Brovarets, V., In vitro activity of novel 1,3-oxazole derivatives against human papillomavirus. *Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences* **2017**, 9 (4), 111-118.
217. Zhirnov, V. V.; Velihina, Y. S.; Mitiukhin, O. P.; Brovarets, V. S., Intrinsic drug potential of oxazolo[5,4-d]pyrimidines and oxazolo[4,5-d]pyrimidines. *Chemical Biology & Drug Design* **2021**.
218. Diehl, N.; Schaal, H., Make Yourself at Home: Viral Hijacking of the PI3K/Akt Signaling Pathway. *Viruses* **2013**, 5 (12).
219. Altman, A. M.; Mahmud, J.; Nikolovska-Coleska, Z.; Chan, G., HCMV modulation of cellular PI3K/AKT/mTOR signaling: New opportunities for therapeutic intervention? *Antiviral Res* **2019**, 163, 82-90.
220. Thomson, B. J., Viruses and apoptosis. *International journal of experimental pathology* **2001**, 82 (2), 65-76.
221. Brune, W.; Andoniou, C. E., Die Another Day: Inhibition of Cell Death Pathways by Cytomegalovirus. *Viruses* **2017**, 9 (9).
222. Yu, X.; He, S., The interplay between human herpes simplex virus infection and the apoptosis and necroptosis cell death pathways. *Virology Journal* **2016**, 13 (1), 77.
223. Kennedy, P. G.; Graner, M. W.; Gunaydin, D.; Bowlin, J.; Pointon, T.; Yu, X., Varicella-Zoster Virus infected human neurons are resistant to apoptosis. *J Neurovirol* **2020**, 26 (3), 330-337.
224. Prado, J. C. M.; Monezi, T. A.; Amorim, A. T.; Lino, V.; Paladino, A.; Boccardo, E., Human polyomaviruses and cancer: an overview. (1980-5322 (Electronic)).
225. Shimada, M.; Yamashita, A.; Saito, M.; Ichino, M.; Kinjo, T.; Mizuki, N.; Klinman, D. M.; Okuda, K., The human papillomavirus E6 protein targets apoptosis-inducing factor (AIF) for degradation. *Sci Rep* **2020**, 10 (1), 14195.
226. Sochacka-Ćwikła, A.; Regiec, A.; Zimecki, M.; Artym, J.; Zaczyńska, E.; Kocięba, M.; Kochanowska, I.; Bryndal, I.; Pyra, A.; Mączyński, M., Synthesis and

Biological Activity of New 7-Amino-oxazolo[5,4-d]Pyrimidine Derivatives. *Molecules* **2020**, *25* (15).

227. Nainu, F.; Shiratsuchi, A.; Nakanishi, Y., Induction of Apoptosis and Subsequent Phagocytosis of Virus-Infected Cells As an Antiviral Mechanism. *Front Immunol* **2017**, *8*, 1220.

228. Trott, O.; Olson, A. J., AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry* **2010**, *31* (2), 455-461.

229. Camps, M.; Rückle, T.; Ji, H.; Ardisson, V.; Rintelen, F.; Shaw, J.; Ferrandi, C.; Chabert, C.; Gillieron, C.; Françon, B.; Martin, T.; Gretener, D.; Perrin, D.; Leroy, D.; Vitte, P. A.; Hirsch, E.; Wymann, M. P.; Cirillo, R.; Schwarz, M. K.; Rommel, C., Blockade of PI3Kgamma suppresses joint inflammation and damage in mouse models of rheumatoid arthritis. *Nat Med* **2005**, *11* (9), 936-43.

230. Freeman-Cook, K. D.; Autry, C.; Borzillo, G.; Gordon, D.; Barbacci-Tobin, E.; Bernardo, V.; Briere, D.; Clark, T.; Corbett, M.; Jakubczak, J.; Kakar, S.; Knauth, E.; Lippa, B.; Luzzio, M. J.; Mansour, M.; Martinelli, G.; Marx, M.; Nelson, K.; Pandit, J.; Rajamohan, F.; Robinson, S.; Subramanyam, C.; Wei, L.; Wythes, M.; Morris, J., Design of Selective, ATP-Competitive Inhibitors of Akt. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53* (12), 4615-4622.

231. Yang, H.; Rudge, D. G.; Koos, J. D.; Vaidialingam, B.; Yang, H. J.; Pavletich, N. P., mTOR kinase structure, mechanism and regulation. *Nature* **2013**, *497* (7448), 217-23.

232. Boyd, M. R.; Paull, K. D., Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug Development Research* **1995**, *34* (2), 91-109.

233. Longley, D. B.; Harkin, D. P.; Johnston, P. G., 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer* **2003**, *3* (5), 330-8.

234. Sheldrick, G. M., A short history of SHELX. *Acta Crystallogr A* **2008**, *64* (Pt 1), 112-22.
235. Velihina, Y.; Scattolin, T.; Bondar, D.; Pil'o, S.; Obernikhina, N.; Kachkovskyi, O.; Semenyuta, I.; Caligiuri, I.; Rizzolio, F.; Brovarets, V., Synthesis, in silico and in vitro Evaluation of Novel Oxazolopyrimidines as Promising Anticancer Agents. *Helvetica Chimica Acta* **2020**, *103* (12), e2000169.
236. Vinogradova, T.; K; Mis'kevich, G. N.; Drach, B. S., Reaction of functional derivatives of 3,3-dichloro-2-acylaminoacrylic acids with benzamidine. *Zhurnal Organicheskoi Khimii* **1980**, *16* (9), 1869-1874.
237. Shoemaker, R. H., The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. In *Nat Rev Cancer*, England, 2006; Vol. 6, pp 813-23.
238. Hartline, C. B.; Keith, K. A.; Eagar, J.; Harden, E. A.; Bowlin, T. L.; Prichard, M. N., A standardized approach to the evaluation of antivirals against DNA viruses: Orthopox-, adeno-, and herpesviruses. *Antiviral Res* **2018**, *159*, 104-112.
239. Keith, K. A.; Hartline, C. B.; Bowlin, T. L.; Prichard, M. N., A standardized approach to the evaluation of antivirals against DNA viruses: Polyomaviruses and lymphotropic herpesviruses. *Antiviral Res* **2018**, *159*, 122-129.
240. Beadle, J. R.; Valiaeva, N.; Yang, G.; Yu, J.-H.; Broker, T. R.; Aldern, K. A.; Harden, E. A.; Keith, K. A.; Prichard, M. N.; Hartman, T.; Buckheit, R. W.; Chow, L. T.; Hostetler, K. Y., Synthesis and Antiviral Evaluation of Octadecyloxyethyl Benzyl 9-[(2-Phosphonomethoxy)ethyl]guanine (ODE-Bn-PMEG), a Potent Inhibitor of Transient HPV DNA Amplification. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (23), 10470-10478.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Ye.S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pilyo, O.P. Mitiukhin, V.V. Zhirnov, V.S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and In Vitro Anticancer Evaluation of 7-(1,4-Diazepan)-substituted [1,3]oxazolo[4,5-d]pyrimidines. *Chemistry Research Journal* **2018**, 3(5), 81-93 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, планування експерименту, аналіз результатів та підготовка статті).
2. Ye.S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pilyo, V.V. Zhirnov, V.S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and In Vitro Anticancer Evaluation of 7-Piperazin-Substituted [1,3]Oxazolo[4,5-D]Pyrimidines. *Der Pharma Chemica* **2018**, 10(9), 1-10 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті).
3. M.V. Kachaeva, N.V. Obernikhina, E.S. Veligina, M.Yu. Zhuravlova, Ya. O. Prostota, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. Estimation of Biological Affinity of Nitrogen-Containing Conjugated Heterocyclic Pharmacophores. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2019**, 55(4/5), 448–454 (Особистий внесок здобувача: комп'ютерні розрахунки, аналіз розрахункових даних та підготовка статті).
4. Ye.S. Velihina, S.G. Pil'о, V.S. Zybrev, V.S. Brovarets. Synthesis and Evaluation of the Antiviral Activity of 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, **2019**, 7, 75-80 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті).
5. Ye. S. Velihina, S. G. Pil'о, V. S. Zybrev, V. S. Moskvina, O. V. Shablykina, V.

- S. Brovarets. 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines: synthesis and anticancer activity. *Biopolymers and Cell* **2020**, 36(1), 61–74 (*Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті*).
6. Ye. S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pil'о, V.S. Moskvina, O.V. Shablykina, V.S. Brovarets. Synthesis of 4-Hetaryl-2-(dichloromethyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. *Ukrainian Chemistry Journal* **2020**, 86(5), 53-62 (*Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та підготовка статті*).
 7. Ye. Velihina, T. Scattolin, D. Bondar, S. Pil'о, N. Obernikhina, O. Kachkovskyi, I. Semenyuta, I. Caligiuri, F. Rizzolio, V. Brovarets, Y. Karpichev, S. P. Nolan. Synthesis, *In silico* and *In vitro* Evaluation of Novel Oxazolopyrimidines as Promising Anticancer Agents. *Helvetica Chimica Acta* **2020**, 103(12), e2000169 (*Особистий внесок здобувача: літературний пошук, хімічний синтез, аналіз спектральних даних та результатів біологічних випробувань і підготовка статті*).
 8. Ye.S. Velihina, N.V. Obernikhina, S.G. Pilyo, M.V. Kachaeva, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. *In silico* study of binding affinity of nitrogenous bicyclic heterocycles: fragment-to-fragment approach. *Ukrainica Bioorganica Acta* **2020**, 15(2), 49-59 (*Особистий внесок здобувача: комп'ютерні розрахунки, аналіз розрахункових даних та підготовка статті*).
 9. V. V. Zhirnov, Ye. S. Velihina, O. P. Mitiukhin, V. S. Brovarets. Intrinsic drug potential of oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines and oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. *Chemical Biology & Drug Design* **2021**, 98, 561– 581 (*Особистий внесок здобувача: літературний пошук та написання розділів огляду*).
 10. E. S. Velihina, N. V. Obernikhina, S. G. Pilyo, O. D. Kachkovsky, V.

- S.Brovarets. Synthesis, Electronic Structure and Anti-Cancer Activity of the Phenyl Substituted Pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. *Current Organic Chemistry* **2021**, 25(12), 1441-1454, DOI: 10.2174/1385272825666210607004536 (*Особистий внесок здобувача: хімічний синтез, аналіз спектральних даних і біологічних результатів та підготовка статті*).
11. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В.М. Прокопенко, О.П. Мітюхін, В.С. Броварець. Застосування 7-піперазин-1-іл[1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідинів як антиракових препаратів., **2021**, пат. на винахід № 122925 Україна (*Особистий внесок здобувача: патентний пошук, проведення експериментальних досліджень та оформлення патенту*).
 12. Є. С. Велігіна, Е. Р. Абдурахманова, М. В. Качаєва, С. Г. Пільо. Взаємодія 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами. І Міжнародна (ХІ Українська) наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення», 27-29 березня 2018 року, Вінниця, 2018. С. 135.
 13. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, Н.В. Оберніхіна, С.Г. Пільо, В.М. О.Д. Качковський, В.С. Броварець. Квантово-хімічна оцінка донорно-акцепторних властивостей азотовмісних спряжених гетероциклів. V Міжнародна заочна науково-практична конференція молодих вчених, 12 квітня 2018 року, Ніжин, 2018. С. 35-38.
 14. N. Obernikhina, M. Kachaeva, E. Veligina, O. Kachkovsky, V. Brovarets. π -Electron Affinity of Nitrogenous Conjugated Heterocycles. 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov, November 12-16, Kharkiv, 2018. P. 117.
 15. Ye. S. Velihina, M. V. Kachaeva, S. G. Pilyo, O. D. Kachkovsky, V. S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and *in vitro* Anticancer Evaluation of 7-Piperazin-Substituted Oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. 8th International Conference

- “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov, November 12-16, Kharkiv, 2018. P. 149.
16. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, О. П. Мітюхін, А. О. Гуренко, В.С. Броварець. 7-(1,4-Діазепан)-заміщені [1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідини: синтез та *in vitro* скринінг протиракової активності. III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи», 17 квітня 2019 року, Житомир, 2019. С. 257-259.
17. Е.Р. Абдурахманова, Є.С. Велігіна, С.Г. Пільо, В.С. Броварець. 7-Піперазин-1-іл[1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідини як нові антиракові агенти. III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи», 17 квітня 2019 року, Житомир, 2019. С. 316-318.
18. Ye. Velihina, D. Bondar, M. Kachaeva, S. Pil'o, Y. Karpichev, V. Brovarets. Scaffold Hopping Approach for Designing New 7-Piperazin and 7-(1,4-Diazepan)-substituted [1,3]Oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines as Prospective Anticancer Agents. 10th International Conference Kiev-Toulouse, June 3-5, Toulouse, France 2019. P. 27.
19. Ye. Velihina, M. Kachaeva, S. Pil'o, V. Zybrev, Ye. Karpichev, V. Brovarets. Synthesis, Characterization, and *In vitro* Antiviral and Anticancer Evaluation of a Series of New 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. 10th International Conference Kiev-Toulouse, June 3-5, Toulouse, France, 2019. P. 25.
20. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В.С. Броварець. Синтез нових 7-заміщених [1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідинів, які містять фрагменти природнього походження». Ювілейна XXV Українська конференція з органічної та біоорганічної хімії, присвячена 80-річчю ІОХ НАН України та 30-річчю ІБОНХ ім. В.П. Кухаря НАН України, 16-20 вересня 2019 року, Луцьк, 2019. С. 113.
21. E.S. Veligina, N.V. Obernikhina, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. Energy of

- the Rotation Barriers Phenyl Substituents in Pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines as a Factor the Stabilization of [Pharmacofore-Biomolecule] Complex. 12th International Conference «Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials», June 1-5, Kamianets-Podilskyi, 2020. С. 26.
22. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В. В. Жирнов, В.С. Броварець. Розробка, синтез та *in vitro* протівірусний скринінг похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину. XXXV Наукова конференція з біоорганічної хімії та нафтохімії, 17-18 червня 2021 року, Київ, 2021.
23. Ye. Velihina, M. Kachaeva, S. Pilyo, V. Brovarets. Synthesis and anticancer activity of new 4-(2-(dichloromethyl)-pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-yl)-*N*-alkylbenzenesulfonamide. XVIII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021» присвячена 360-річчю Львівського Університету, 31 травня – 2 червня 2021 року, Львів, 2021. С. 368.
24. Є. Велігіна, В. Жирнов, В. Зябров, В. Броварець. Синтез та властивості нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. Всеукраїнська конференція наукових дослідників, 19 – 25 вересня 2021 року, Львів, 2021. С. 31.