

Посвящается 60-летию академика В. Н. Чарушина

Е. Н. Уломский^{а*}, Н. Р. Медведева^а, А. В. Щепочкин^а, О. С. Ельцов^а,
В. Л. Русинов^{а,б}, О. Н. Чупахин^{а,б}, Э. Г. Деева^б, О. И. Киселев^б

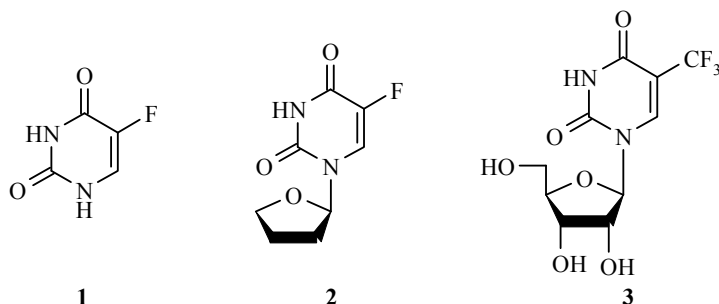
ФТОРСОДЕРЖАЩИЕ [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-*a*]ПИРИМИДИНЫ И [1,2,4]ТРИАЗОЛО[5,1-*c*][1,2,4]ТРИАЗИНЫ

Взаимодействием 3-*R*-5-амино-1,2,4-триазолов с этиловым эфиром 2-фторацетоуксусной кислоты получены 2-*R*-6-фтор[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-оны. Реакция 3-*R*-1,2,4-триазолил-5-диазония с этиловым эфиром 2-фторацетоуксусной кислоты и последующая циклизация триазолилгидразонов приводят к 7-*R*-3-фтор[1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин-4(1*H*)-онам.

Ключевые слова: [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-оны, [1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин-4(1*H*)-оны, фторированные азины.

Исследования в области создания фторсодержащих азинов обусловлены, прежде всего, выраженной химиотерапевтической активностью представителей этого ряда соединений, среди которых наиболее яркими являются 5-фторурацил (**1**) [1], фторафур (**2**) [2], трифтортимидин (**3**) [3]. Наиболее известно противоопухолевое действие фторсодержащих азинов [3], однако в последнее время выявлено их противомикробное [4], фунгицидное [4], антикандидозное [5], антиандрогенное [6], а также противовирусное действие [7–10]. Биологическую активность этих фторгетероциклов объясняют структурным сходством с природными пиримидиновыми основаниями – урацилом, цитозином, тиминном.

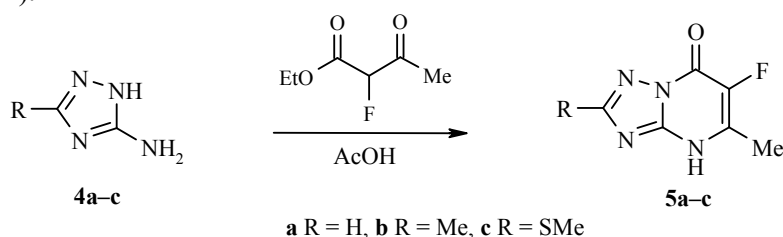
Несмотря на очевидную актуальность расширения структурных модификаций фторпиримидинов, разнообразие подходов для решения этой проблемы всё-таки ограничивается, в основном, синтезом разнообразных аномальных нуклеозидов на основе фторурацила и фторцитозина.



Анализ литературы показывает, что весьма ограниченное количество работ посвящено такому важному способу структурной модификации, как аннелирование гетероциклических структур. Среди немногочисленных литературных примеров конденсированных фторированных азолопирими-

динов встречаются азоло[1,2-*c*]пиримидины [11–13], пиразоло[1,5-*a*]пиримидины [14, 15], тиadiaзоло[3,2-*a*]пиримидины [16]. Настоящая работа является продолжением изучения возможностей структурных модификаций фторурацила и посвящена синтезу [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидинов и [1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов. Некоторые из них обладают эффективной противовирусной активностью [17, 18] и могут рассматриваться в качестве структурных аналогов как пиримидинов, так и пуринов.

Для синтеза фторсодержащих [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-онов и [1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин-4(1*H*)-онов в качестве ключевого исходного соединения в настоящей работе использовали доступный и безопасный, по сравнению с этилфторацетатом, этил-2-фторацетоацетат. Нагреванием 3-*R*-5-амино-1,2,4-триазолов **4a–c** с фторацетоуксусным эфиром в уксусной кислоте получены соответствующие [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-оны **5a–c** с хорошими выходами (табл. 1).



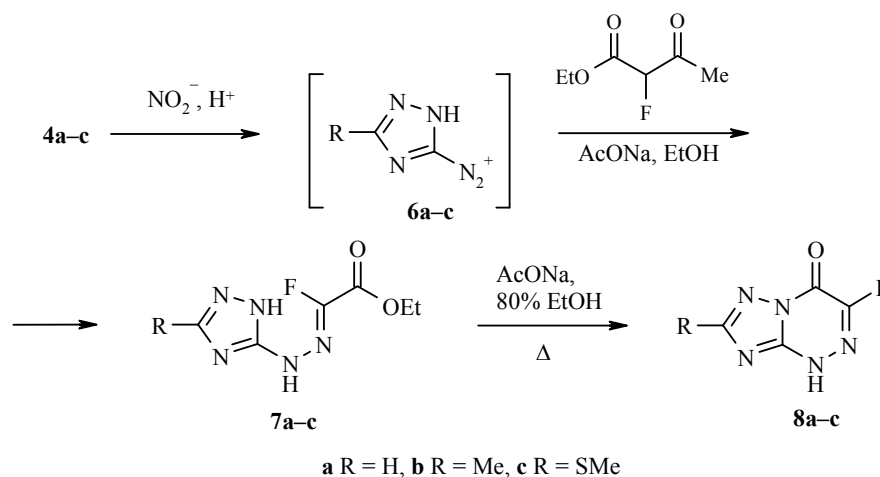
В спектрах ЯМР ^1H триазолопиримидинов **5a–c** присутствуют сигналы протонов соответствующих групп *R* (табл. 2), уширенный однопротонный сигнал группы NH в области 13.30–13.50 и характерный дублет в области 2.30–2.36 м. д., соответствующий протонам метильной группы пиримидинового цикла. В спектрах ЯМР ^{13}C фтортриазолопиримидинов **5a–c** наиболее характеристичны сигналы атомов C(5), C(6) и C(7), проявляющиеся в виде дублетов за счёт спин-спинового взаимодействия с атомом фтора (табл. 3). Особенностью является расположение сигнала атома C(7). Традиционно считается, что резонансный сигнал карбонильного атома углерода размещается в самом слабом поле, однако в спектрах ЯМР ^{13}C фтортриазолопиримидинов **5a–c** химический сдвиг сигнала атома C(7) существенно уступает сигналу триазольного атома. В ИК спектрах присутствуют интенсивные полосы валентных колебаний карбонильной группы и связи C–F (табл. 1).

Синтез [1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин-4(1*H*)-онов **8a–c** был осуществлён с использованием реакции Яппа–Клингеманна [19] – азосочетанием солей 1,2,4-триазолил-5-дiazония **6a–c** с этиловым эфиром 2-фторацетоуксусной кислоты с последующими дезацетилированием и циклизацией. Собственно алкилфторацетаты не вступают в реакции азосочетания из-за пониженной СН-кислотности, поэтому нами был использован метод активации фторсодержащего синтона ацетильной группой, легко уходящей в условиях азосочетания.

Стадия азосочетания протекает с образованием [1,2,4]триазолилгидразонов **7a–c** в присутствии ацетата натрия. Структуру синтезированных соединений **7a–c** подтверждают присутствующие в спектрах ЯМР ^1H сигналы протонов заместителей *R*, уширенные сигналы протонов групп NH и мультиплеты этоксикарбонильной группы.

Характеристики соединений 5, 7–9

Соединение	Брутто-формула	Найдено, % Вычислено, %			Т. пл., °С	ИК спектр, ν , см^{-1}		Выход, %
		C	H	N		C=O	C–F	
5a	C ₆ H ₅ FN ₄ O	<u>42.77</u>	<u>3.17</u>	<u>33.35</u>	272	1681	1229	73
		42.86	3.00	33.32				
5b	C ₇ H ₇ FN ₄ O	<u>46.05</u>	<u>3.91</u>	<u>30.96</u>	320	1677	1236	75
		46.16	3.87	30.76				
5c	C ₇ H ₇ FN ₄ OS	<u>39.33</u>	<u>3.32</u>	<u>26.22</u>	300	1684	1261	76
		39.25	3.29	26.15				
7a	C ₆ H ₈ FN ₅ O ₂	<u>35.96</u>	<u>4.24</u>	<u>34.68</u>	190	1726	1155	49
		35.83	4.01	34.81				
7b	C ₇ H ₁₀ FN ₅ O ₂	<u>39.24</u>	<u>4.85</u>	<u>32.78</u>	196	1742	1120	45
		39.07	4.68	32.55				
7c	C ₇ H ₁₀ FN ₅ O ₂ S	<u>34.16</u>	<u>4.23</u>	<u>28.54</u>	180	1739	1167	42
		34.00	4.08	28.32				
8a	C ₄ H ₂ FN ₅ O	<u>31.12</u>	<u>1.24</u>	<u>45.24</u>	207	1621	1304	58
		30.98	1.30	45.16				
8b	C ₅ H ₄ FN ₅ O	<u>35.28</u>	<u>2.50</u>	<u>41.63</u>	198	1652	1294	55
		35.51	2.38	41.41				
8c	C ₅ H ₄ FN ₅ OS	<u>30.04</u>	<u>2.18</u>	<u>34.64</u>	200	1690	1301	63
		29.85	2.00	34.81				
9a	C ₉ H ₆ N ₆ O	<u>50.63</u>	<u>3.06</u>	<u>39.47</u>	> 350 (разл.)	1673	–	57
		50.47	2.82	39.24				
9c	C ₁₀ H ₈ N ₆ OS	<u>46.32</u>	<u>3.27</u>	<u>32.46</u>	265	1661	–	53
		46.15	3.10	32.29				



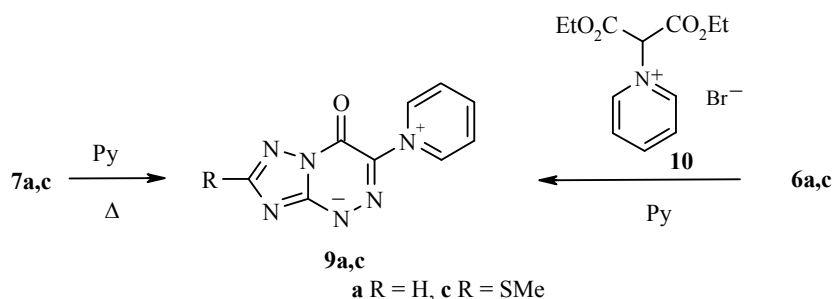
Для циклизации гидразонов **7a–c** оказалось недостаточно выдержки в растворе карбоната натрия – условий, характерных для превращений тригидразонов, полученных с участием ацетоуксусного и малонового эфиров [20]. Гидразоны **7a–c** остаются практически неизменными и в более жёстких условиях, например, при нагревании в спиртовом растворе гидроксида

Спектры ЯМР ^1H и ^{19}F соединений **5**, **7**–**9**

Соединение	ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Hz)	ЯМР ^{19}F , δ , м. д.
5a	2.34 (3H, д, $J = 3.5$, 5-CH ₃); 8.34 (1H, с, Н-2); 13.43 (1H, уш. с, NH)	-170.00
5b	2.30 (3H, д, $J = 3.5$, 5-CH ₃); 2.36 (3H, с, 2-CH ₃); 13.45 (1H, уш. с, NH)	-169.58
5c	2.36 (3H, д, $J = 3.3$, 5-CH ₃); 2.60 (3H, с, SCH ₃); 13.31 (1H, уш. с, NH)	-171.00
7a	1.27 (3H, т, $J = 7.2$, CH ₃); 4.26 (2H, к, $J = 7.2$, CH ₂); 8.10 (1H, с, Н-3); 11.58 (1H, уш. с, NH); 13.28 (1H, уш. с, NH)	-82.41
7b	1.34 (3H, т, $J = 7.2$, CH ₃); 2.27 (3H, с, 3-CH ₃); 4.28 (2H, к, $J = 7.2$, OCH ₂); 10.88 (1H, уш. с, NH); 12.68 (1H, уш. с, NH)	-82.64
7c	1.35 (3H, т, $J = 7.1$, CH ₃); 2.58 (3H, с, SCH ₃); 4.31 (2H, к, $J = 7.1$, OCH ₂); 11.60 (1H, уш. с, NH); 13.07 (1H, уш. с, NH)	-81.84
8a	8.23 (1H, с, Н-7); 12.20 (1H, уш. с, NH)	-115.66
8b	2.38 (3H, с, CH ₃); 12.34 (1H, уш. с, NH)	-114.98
8c	2.61 (3H, с, SCH ₃); 12.46 (1H, уш. с, NH)	-114.32
9a	8.31 (2H, м, <i>m</i> -H Py); 8.40 (1H, с, Н-7); 8.76 (1H, м, <i>p</i> -H Py); 9.44 (2H, м, <i>o</i> -H Py)	–
9c	2.66 (3H, с, SCH ₃); 8.29 (2H, м, <i>m</i> -H Py); 8.74 (1H, м, <i>p</i> -H Py); 9.48 (2H, м, <i>o</i> -H Py)	–

натрия, уксусной кислоте, ДМФА и ДМСО. Удобным методом превращения фторсодержащих гидразонов **7a–c** в 3-фтор[1,2,4]триазоло-[5,1-*c*][1,2,4]-триазин-4(1*H*)-оны **8a–c** оказалось кипячение в водно-спиртовом растворе ацетата натрия. Спектры ЯМР ^1H полученных продуктов, приведённые в табл. 2, подтверждают структуру соединений **8a–c**. В спектрах ЯМР ^{19}F присутствует сигнал, свидетельствующий о наличии в молекуле синтезированных соединений атома фтора. Обращает на себя внимание существенное различие химических сдвигов сигналов в спектрах ЯМР ^{19}F триазолопиримидинов **5a–c** (–169 – –171 м. д.) и триазолотриазинов **8a–c** (–114 – –115 м. д.), обусловленное, вероятно, электроноакцепторным влиянием триазинового атома N-5, смещающим положение резонансного пика фтора в слабое поле.

Попытка получить соединения **8a,c** из гидразонов **7a,c** кипячением в пиридине [18] привела к получению продукта двух процессов – нуклеофильного замещения фтора и циклизации с образованием 7-*R*-3-(пиридиний-1-ил)[1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазин-1-идов **9a,c**.



Спектры ЯМР ^{13}C соединений **5a–c**

Соединение	δ , м. д. ($J^{13}\text{C}-^1\text{H}$, Гц), [$J^{13}\text{C}-^{19}\text{F}$, Гц]						
	R	5-CH ₃	C-2	C-3a	C-5	C-6	C-7
5a	–	13.77 ($J = 130.6$)	151.23 ($J = 209.8$)	148.30	139.58 ($J = 6.7$) [$J = 25.7$]	138.01 ($J = 3.6$) [$J = 223.0$]	150.05 [$J = 27.9$]
5b	14.57 ($J = 116.9$)	13.34 ($J = 120.6$)	158.31	147.93	140.82 ($J = 6.4$) [$J = 25.8$]	139.03 ($J = 3.4$) [$J = 225.6$]	149.49 [$J = 27.7$]
5c	12.69 ($J = 142.3$)	13.40 ($J = 131.3$)	164.16 ($J = 5.7$)	149.91	136.61 ($J = 6.6$) [$J = 28.6$]	137.43 ($J = 3.7$) [$J = 222.3$]	149.20 [$J = 28.1$]

Цвиттерионы **9a,c** также были получены встречным синтезом – взаимодействием солей триазолилдиазония **6a,c**, синтезированных диазотированием 3-аминотриазолов **4a,c**, с бромидом диэтилового эфира пиридиний-малоновой кислоты (**10**) в присутствии пиридина.

Исследование цитотоксичности и противовирусного действия синтезированных соединений **5**, **8**, **9** в отношении вируса гриппа A/Brisbane/59/07 (H1N1) было проведено *in vitro* на первичной культуре клеток почек собаки (MDCK). Наблюдалось снижение инфекционной активности в Ig ИД₅₀/20мкл для соединения **8b** на 1.0, для соединений **5a,c**, **8c**, **9a** – 0.5, а в случаях соединений **5b**, **8a**, **9c** – 0. Полученные результаты свидетельствуют о том, что фторсодержащие триазолопиримидины **5**, триазолотриазины **8** и пиридиниевые производные **9** являются малотоксичными соединениями (минимальная токсическая доза составляет 100 мкг/мл), и некоторые из них при использовании рабочей концентрации 50 мкг/мл обладают слабым противовирусным действием.

Таким образом, разработаны методы синтеза фторсодержащих [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидинов и [1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинонов – триазолоаннелированных аналогов 5-фторурацила.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК спектры зарегистрированы на спектрометре Specord IR-75 в таблетках КВт. Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{19}F получены на приборе Bruker DRX-400 (400, 100 и 376 МГц соответственно) в ДМСО- d_6 , внутренний стандарт для спектров ЯМР ^1H – ТМС, для ЯМР ^{19}F – трифторхлорметан (δ 0 м. д.). Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ^{13}C осуществлено по остаточным сигналам растворителя ДМСО- d_6 ($\delta = 39.52$ м. д.). Элементные анализы проведены на автоматическом CHNO анализаторе Carlo Erba 1108. Контроль за ходом реакций и чистотой синтезированных соединений осуществлялся с помощью ТСХ на пластинках Sorbfil (фирма ЗАО "Сорбполимер") в системах этилацетат, этилацетат–этанол, 3:1. Для препаративной колоночной хроматографии использовались тот же элюент и силикагель Sigma-Aldrich.

Этиловый эфир 2-фторацетоуксусной кислоты и 3-R-5-амино-1,2,4-триазолы **4a-c** приобретены у фирмы Aldrich.

2-R-5-Метил-6-фтор[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиримидин-7(4H)-оны 5a-c (общая методика). Раствор 10 ммоль соответствующего 3-R-5-амино-1,2,4-триазола **4a-c** и этилового эфира 2-фторацетоуксусной кислоты кипятят 12 ч в 10 мл уксусной кислоты, окончание реакции контролируют с помощью ТСХ. По окончании реакции уксусную кислоту упаривают, остаток промывают эфиром, перекристаллизовывают из водного этанола (1:10).

3-R-1H-1,2,4-Триазолилгидразоны этилфторглиоксалата 7a-c (общая методика). К раствору 10 ммоль соответствующего соединения **4a-c** в 2.0 мл воды добавляют 2.2 мл (20 ммоль) конц. HCl. Реакционную массу охлаждают до -10 °C и прибавляют раствор 0.7 г (10 ммоль) нитрита натрия в 1 мл воды при температуре от -10 до -5 °C. Реакционную массу выдерживают 15-30 мин, затем добавляют к раствору 1.25 мл (10 ммоль) этилового эфира 2-фторацетоуксусной кислоты, 7.3 мл (22 ммоль, 3 моль/л) ацетата натрия и 10 мл этанола, охлажденного до 0 °C. Реакционную массу выдерживают 1 ч при 5 °C и 2 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и перекристаллизовывают из этанола.

7-R-3-Фтор[1,2,4]триазоло[5,1-c][1,2,3]триазин-4(1H)-оны 8a-c (общая методика). Раствор 1 ммоль гидразона соответствующего соединения **7a-c** и 0.164 г (2 ммоль) ацетата натрия в 10 мл 80% водного этанола кипятят 5 ч. Окончание реакции определяют с помощью ТСХ. По окончании реакции растворитель упаривают при пониженном давлении, соединение очищают хроматографически.

7-R-4-Оксо-3-(пиридиний-1-ил)-4H-[1,2,4]триазоло[5,1-c][1,2,4]триазин-1-иды 9a,c (общая методика). А. Раствор 1 ммоль соответствующего гидразона **7a,c** в 1 мл пиридина кипятят 2 ч. Реакционную массу охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и перекристаллизовывают из этанола.

Б. К раствору 10 ммоль соответствующего соединения **4a,c** в 2 мл воды добавляют 2.2 мл (20 ммоль) конц. HCl. Реакционную массу охлаждают до -10 °C и прибавляют раствор 0.7 г (10 ммоль) нитрита натрия в 1 мл воды при температуре от -10 до -5 °C. Реакционную массу выдерживают 15 мин при той же температуре и добавляют к раствору, полученному выдерживанием при комнатной температуре раствора 1.7 мл (10 ммоль) диэтилброммалоната, 2.5 мл (30 ммоль) пиридина в 10 мл этанола в течение 12 ч. Реакционную массу выдерживают при температуре 5 °C и перемешивании 1 ч, оставляют при комнатной температуре на ночь, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и перекристаллизовывают из этанола.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 10-03-96083-р_урал_a, АДТП "Развитие научного потенциала высшей школы" 2.1.1/5811 и Министерства образования и науки РФ (Государственный контракт 02.740.11.0260).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая Волна, Москва, 2008.
2. С. А. Гиллер, Р. А. Жук, М. Ю. Лидак, *ДАН*, **176**, 332 (1967).
3. *Химиотерапия злокачественных опухолей*, под ред. Н. Н. Блохина, Медицина, Москва, 1977, с. 29.
4. R. Andruszkiewicz, H. Chmara, S. Milewski, E. Borowski, *J. Med. Chem.*, **30**, 1715 (1987).

5. J.-S. Ti, A. S. Steinfeld, F. Naider, A. Gulumoglu, S. V. Lewis, J. M. Becker, *J. Med. Chem.*, **23**, 913 (1980).
6. H. Kiyokawa, S. Yamada, K. Miyajima, K. Hashimoto, M. Inai, M. Inoue, K. Tatsumi, T. Yamauchi, K. Kurisu, Y. Chone, US Pat. Appl. 5420128 (1995).
7. J. Kennedy-Smith, Z. K. Sweeney, J. Wu, WO Pat. Appl. 2008145562 (2008).
8. J. Shi, J. J. McAtee, S. S. Wirtz, P. Tharnish, A. Juodawlkis, D. C. Liotta, R. F. Schinazi, *J. Med. Chem.*, **42**, 859 (1999).
9. T. Nitz, K. Salzwedel, C. Finnigan, C. Wild, S. Brunton, S. Flanagan, C. Montalbetti, T. S. Coulter, M. Kimber, F. Magaraci, D. Johnston, WO Pat. Appl. 2008134035 (2008).
10. J. Beres, W. G. Bentrude, G. Kruppa, P. A. McKernan, R. K. Robins, *J. Med. Chem.*, **28**, 418 (1985).
11. J. A. Orvik, D. Shiang, US Pat. 5461153 (1995).
12. D. L. Pearson, J. J. Tai, T. J. Adway, US Pat. 6162915 (2000).
13. W. R. Carling, S. C. Goodacre, M. G. N. Russel, L. J. Street, WO Pat. Appl. 2004065388 (2004).
14. B. Kenda, Y. Quesnel, A. Ates, P. Michel, L. Turet, J. Mercier, WO Pat. Appl. 2006128692 (2006).
15. B. Nolte, I. Sucholeiki, T. Feuerstein, B. Gallagher, X. Wu, C. Steeneck, C. Gege, H. Deng, J. van Veldhuisen, A. Taveras, WO Pat. Appl. 2008063671 (2008).
16. G. Doria, C. Passarotti, A. Buttinoni, US Pat. Appl. 4537962 (1985).
17. В. Л. Русинов, Е. Н. Уломский, О. Н. Чупахин, В. Н. Чарушин, *Изв. АН, Сер. хим.*, 967 (2008).
18. S. L. Deev, M. V. Yasko, I. L. Karpenko, A. N. Korovina, A. L. Khandzhinskaya, V. L. Andronova, G. A. Galegov, E. N. Ulomskii, M. K. Kukhanova, *Bioorg. Chem.*, **38**, 265 (2010).
19. *Органические реакции*, пер. с англ. под ред. И. Ф. Луценко, Изд-во иностр. лит., Москва, 1963, т. 10, с. 148.
20. E. J. Gray, M. F. G. Stevens, G. Tennant, R. J. S. Vevers, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1496 (1976).

^aУральский федеральный университет,
ул. Мира, 19, Екатеринбург 620002, Россия
e-mail: ulomsky@yandex.ru

Поступило 21.03.2011

^bИнститут органического синтеза
им. И. Я. Постовского УрО РАН,
ул. Академическая/С. Ковалевской, 22/20,
Екатеринбург 620019, Россия
e-mail: chupakhin@ios.uran.ru

^cНИИ группа РАМН,
ул. проф. Попова, 15/17,
Санкт-Петербург 197376, Россия
office@influenza.spb.ru