

А. В. Иващенко^{1, 2}, Е. С. Головина¹, М. Г. Кадиева¹, В. М. Кисиль², О. Д. Митькин¹**АНТАГОНИСТЫ СЕРОТОНИНОВЫХ 5-НТ₆ РЕЦЕПТОРОВ. IV. СИНТЕЗ И ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРА — АКТИВНОСТЬ АМИНОВ, СОДЕРЖАЩИХ 3-(АРИЛСУЛЬФОНИЛ)-2-(МЕТИЛТИО)ПИРАЗОЛО[1,5-а]ПИРИМИДИНОВЫЙ ФРАГМЕНТ**¹ Исследовательский институт химического разнообразия, Химки, Московской обл., Россия;² ChemDiv, Inc., 6605 Nancy Ridge Drive, San Diego, CA 92121, USA

Синтезированы новые 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидины, содержащие в положении 7 замещенную аминогруппу, и изучена их 5-НТ₆ антагонистическая активность. Установлено, что переход от 7-амино- и 7-диметиламинопроизводных к 7-аминоалкильным производным приводит к значительному снижению активности; аналогичная картина наблюдается при замене метильной группы в положении 5 на фенильный либо тиофен-2-ильный заместители. Наибольшую же пикомолярную активность в изученном ряду соединений проявляют 5-метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амин и *N,N*,5,6-тетраметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амин ($K_i = 700$ пМ). Синтезирован также первый представитель гидрированных пиразоло[1,5-а]птеридинов — 5,6,9-триметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)-6,7,8,9-тетрагидропиразоло[1,5-а]птеридин ($K_i = 14,4$ нМ). Выявленные закономерности взаимосвязи структура — 5-НТ₆ антагонистическая активность подтверждают достоверность предложенной нами фармакофорной модели, что позволяет использовать ее при дальнейшем поиске новых высокоэффективных 5-НТ₆ антагонистов.

Ключевые слова: 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидины; заместители; серотониновые 5-НТ₆ рецепторы; антагонисты; структура — активность; фармакофорная модель.

5-НТ₆ серотониновые рецепторы являются перспективной фармакологической мишенью для разработки новых лекарственных средств нейротропного действия [1 – 7]. Особенностью структуры большинства известных к настоящему моменту 5-НТ₆ антагонистов является наличие сульфонильной группы (в виде сульфона либо сульфонамида) [8 – 10].

В рамках данного направления на основании литературных и патентных данных нами было описано несколько хемотипов сульфонилсодержащих антагонистов 5-НТ₆ рецепторов и предложены соответствующие гипотетические фармакофорные модели (PhM₁) [11]. Наибольший интерес, на наш взгляд, представляет PhM, представленная на рис. 1. Согласно ей, структура 5-НТ₆ антагониста должна содержать 2 гидрофобные области НУD₁ и НУD₂, ароматические (гетероциклические) моно- либо полициклы, разделенные акцептором водородных связей НВА, например, сульфонильной группой.

Обсуждаемая модель (рис. 1) включает также периферийную область PI (положительно-ионизированный атом), представленную аминогруппой, протонирующейся при физиологических значениях pH, и группу ED — донор электронов (метилтио-, метокси- или метиламиногруппы), расположенную по отношению к НВА вициально. При этом ED способен оказывать заметное электронное влияние на НУD₁, на конформацию лиганда и сам участвовать в гидрофобных взаимодействиях с активным центром 5-НТ₆ рецепторов.

В качестве примеров активных 5-НТ₆ антагонистов, структура которых соответствует предложенной PhM₁ (рис. 1), можно привести соединения А, В и С (рис. 2) [11 – 14].

С целью расширения ряда 5-НТ₆ антагонистов — производных 3-(арилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидина [11, 15 – 18], с учетом PhM, нами синтезированы замещенные 2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидины Ia – л и изучена их 5-НТ₆ антагонистическая активность (таблица).

Экспериментальная химическая часть

¹H ЯМР спектры синтезированных соединений получены для соединений, растворенных в ДМСО-d₆ и CDCl₃, на спектрометре Bruker DPX-400 (400 МГц, 27 °С), ¹³C ЯМР двумерные спектры получены на спектрометре Bruker DPX-300 (75 МГц, 27 °С). Хромато-масс-спектры получены с помощью жидкостного хроматографа Shimadzu 10Avp HPLC, с колонкой Waters XBridge C₁₈ 3,5 мкм (4,6 × 150 мм) и API 150 EX масс-спектрометра (λ, 220 и 254 нм). По данным LCMS, чистота всех синтезированных соединений составляла не менее 98,0 %, а данные ¹H и ¹³C ЯМР спектров соответствуют их структуре.

(3-(Арилсульфонил)-5-метил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидин-7-ил)метанаминов гидрохлориды (Ia · HCl, Ib · HCl), общий способ получения. Раствор 0,74 г (3 ммоль) 2-(2,4-диоксопентил)изоин-

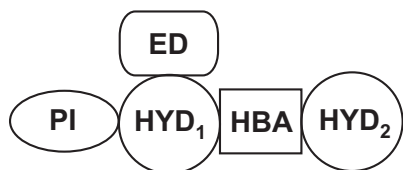


Рис. 1. Гипотетическая PhM₁ 5-HT₆ антагонистов (показана упрощенно, без учета расстояний, векторов и 3D-расположения) [11].

дол-1,3-диона (III) и 1,50 ммоль пирозол-5-иламина (IIa, г) в 12 мл AcOH нагревают при 80 °С в течение 3 ч, кислоту удаляют при пониженном давлении, к остатку прибавляют *i*-PrOH, отфильтровывают сформировавшийся осадок, промывают *n*-гексаном, сушат в вакууме. Полученные 0,63 г (87 %) смеси изомеров IVa и Va (в соотношении 4:1) либо 0,64 г (80 %) смеси изомеров IVб и Vб (в соотношении 3:1) растворяют в 3 мл EtOH, содержащего 0,26 г N₂H₄ · H₂O, раствор кипятят 3 ч, охлаждают до комнатной температуры, фильтруют, упаривают при пониженном давлении, к остатку прибавляют CH₂Cl₂, фильтруют, упаривают досуха. Полученные смеси изомеров I и VI превращают в гидрохлориды растворением в 6 М растворе хлороводорода в EtOH, упаривают. Химически чистые изомеры Ia · HCl (выход 6 %) и Ib · HCl (выход 20 %) выделяют из смеси гидрохлоридов изомеров I · HCl и VI · HCl при помощи ВЭЖХ.

(5-Метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пирозоло[1,5-а]пиримидин-7-ил)метанамина гидрохлорид (Ia · HCl). Здесь и далее — LSMC (M + 1): 348, C₁₅H₁₆N₄O₂S₂; ¹H ЯМР ДМСО-d₆, δ, м.д.: 8,78 (уш. с., 3H), 8,02 (д, J 7,6 Гц, 2H), 7,61 (м, 3H), 7,34 (с, 1H), 4,49 (с, 2H), 2,64 (с, 3H), 2,62 (с, 3H).

5-Метил-2-(метилтио)-3-(3-хлор-4-фторфенилсульфонил)пирозоло[1,5-а]пиримидин-7-ил)метанамина гидрохлорид (Iб · HCl): 401, 403, C₁₅H₁₄ClFN₄O₂S₂; 8,68 (с, 3H), 8,18 (дд, J₁ 6,8 Гц, J₂ 2,0 Гц, 1H), 8,02 (ддд, J₁ 8,8 Гц, J₂ 4,4 Гц, J₃ 2,4 Гц, 1H), 7,67 (т, J 9,2 Гц, 1H), 7,34 (с, 1H), 4,51 (с, 2H), 2,66 (с, 3H), 2,63 (с, 1H).

2-(5-Метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пирозоло[1,5-а]пиримидин-7-ил)этанамин гидрохлорид (Iв · HCl). Смесь 1,56 г этилового эфира 4,6-диоксогептановой кислоты (VII) и 1,5 г пира-

зол-5-иламина (IIa) в 5 мл AcOH перемешивают при 100 °С в течение 12 ч. Реакционную массу охлаждают до комнатной температуры, осадок отфильтровывают, последовательно промывают EtOH и Et₂O, сушат. Получают 1,0 г (43 %) этилового эфира 2-(5-метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пирозоло[1,5-а]пиримидин-7-ил)пропионовой кислоты (VIII): 420, (¹H ЯМР в CDCl₃) 8,22 (д, J 7,2 Гц, 2H), 7,54 (м, 1H), 7,48 (м, 2H), 6,72 (с, 1H), 4,13 (кв, J 6,8 Гц, 2H), 3,36 (т, J 7,2 Гц, 2H), 2,87 (т, J 7,2 Гц, 2H), 2,65 (с, 3H), 2,61 (с, 3H), 1,23 (т, J 6,8 Гц, 3H). К суспензии 1,0 г эфира VIII в 60 мл EtOH прибавляют раствор 0,318 г (5,7 ммоль) KOH в 5 мл воды, смесь перемешивают 3 ч при 80 °С, упаривают при пониженном давлении, к остатку прибавляют 10 мл воды и 0,9 мл 20 % HCl. Осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат на воздухе. Выход 2-(5-метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пирозоло[1,5-а]пиримидин-7-ил)пропионовой кислоты (IX) 0,84 г (89 %).

К суспензии 0,5 г кислоты IX в 10 мл ацетона при 0 °С прибавляют раствор 210 мкл Et₃N в 1 мл ацетона. Перемешивают до полного растворения, затем прибавляют раствор 158 мкл (1,65 ммоль) этилхлорформиата в 1 мл ацетона, перемешивают 30 мин (0 °С), прибавляют раствор 127 мг (2,45 ммоль) NaN₃ (0 °С) в 420 мл воды. После этого реакционную смесь перемешивают 1 ч (0 °С), прибавляют 20 мл воды, отделившийся ацилазид X экстрагируют CH₂Cl₂. Органический слой сушат над безводным Na₂SO₄, растворитель упаривают при пониженном давлении и 30 °С. Полученный таким образом ацилазид X растворяют в смеси 6 мл CH₂Cl₂ и 12 мл диоксана. Прибавляют по каплям в 40 мл кипящего диоксана, смесь кипятят 1 ч, при 70–80 °С прибавляют 450 мл 20 % HCl, через 20–30 мин наблюдают выпадение гидрохлорида амина Ib · HCl. Реакционную смесь перемешивают еще 2 ч при 70–80 °С, охлаждают до комнатной температуры, осадок отфильтровывают, промывают диоксаном, сушат в вакууме. Получают 350 мг (68 %) соединения Ib · HCl: 363, C₁₆H₁₈N₄O₂S₂; 8,09 (уш. с., 3H), 8,03 (д, J 7,2 Гц, 1H), 7,60 (м, 3H), 7,16 (с, 1H), 3,40 (т, J 7,2 Гц, 2H), 3,33 (м, 2H), 2,60 (с, 3H), 2,58 (с, 3H). ¹³C ЯМР-спектр ((ДМСО-d₆), δ, м.д.: 163,19, 154,77, 147,27, 144,80, 143,02, 133,16, 129,19, 126,03, 111,08, 104,99, 35,09, 27,80, 24,69, 12,77.

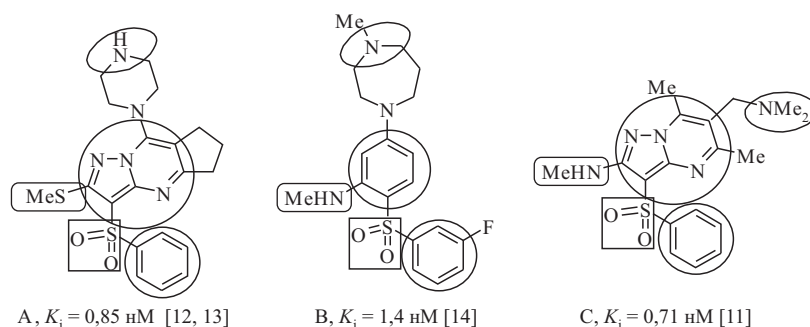


Рис. 2. Примеры 5-HT₆ антагонистов А – С, соответствующих фармакофорной модели PhM.

5-Метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-амин (Iг). Смесь 854 мг (3,2 ммоль) пиразол-5-амина (IIа) и 520 мг (6,3 ммоль) 3-аминокротонитрила (XII) в 3 мл АсОН нагревают 15 ч при 100 °С. Охлаждают до комнатной температуры, осадок отфильтровывают, промывают минимальным количеством смеси АсОН/Et₂O, сушат в вакууме. Получают 222 мг (21 %) соединения Iг: 335, C₁₄H₁₄N₄O₂S₂; 8,00 (м, 2H), 7,99 (уш. с, 2H), 7,60 (м, 1H), 7,55 (м, 2H), 6,14 (с, 1H), 2,57 (с, 3H), 2,39 (с, 3H).

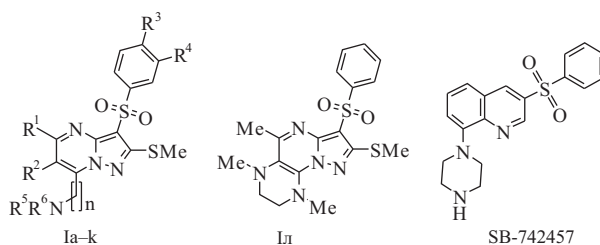
5-Замещенные 2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-аминов гидрохлориды (Iд · HCl и Iе · HCl), общая методика. Смесь 269 мг (1 ммоль) пиразол-5-амина IIа, 2 ммоль 3-оксо-3-фенилпропионитрила (XIIIа) или 3-оксо-3-(тиофен-2-ил)пропионитрила (XIIIб) в 1 мл *i*-PrOH перемешивают 12 ч при 70 °С, затем охлаждают до комнатной температуры. Осадок отфильтровывают, промывают *i*-PrOH, растворяют в СНCl₃, прибавляют 6N раствор HCl в EtOH, затем — EtOAc. Осадок отфильтровывают, промывают последовательно EtOAc и Et₂O, сушат, получают соединения Iд · HCl (выход 37 %) и Iе · HCl (выход 29 %). 2-Метилтио-5-фенил-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-амина гидрохлорид Iд · HCl: 397, C₁₉H₁₆N₄O₂S₂; 11,42 (уш. с), 8,17 (д, J 7,4 Гц, 2H), 7,78 – 7,82 (м, 2H), 7,69 (т, J 7,4 Гц, 1H), 7,57 – 7,64 (м, 5H), 6,28 (с, 1H), 2,52 (с, 3H). 2-(Метилтио)-5-(тиофен-2-ил)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-амина гидрохлорид (Iе · HCl): 371, C₁₇H₁₄N₄O₂S₂; 8,14 (д, J 7,9 Гц, 2H), 7,81 – 7,85 (м, 1H), 7,73 – 7,76 (м, 1H), 7,84 (т, J 7,9 Гц,

1H), 7,58 (т, J 7,9 Гц, 2H), 7,23 – 7,26 (м, 1H), 6,25 (с, 1H), 2,49 (с, 3H). ¹³C ЯМР-спектр (DMCO-d₆), δ, м.д.: 154,42, 151,56, 146,55, 145,11, 142,05, 136,24, 133,40, 130,67, 129,05, 128,91, 128,59, 126,79, 95,34, 12,73.

5-Метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)-7-хлорпиразоло[1,5-*a*]пиримидины (XVIа – в), общая методика. Раствор 0,5 ммоль пиразол-5-амина (IIа, б) и 0,6 ммоль этил-3-оксобутаноата (XIVа – в) в 1 мл АсОН перемешивают 12 ч при 100 °С. Реакционную массу охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат в вакууме, получают 5-метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-ол (XVа – г) с выходом 83 – 86 %. Данные LC-MS: XVа, 336, C₁₄H₁₃N₃O₃S₂; XVб, 350, C₁₅H₁₅N₃O₃S₂; XVв, 370, C₁₄H₁₂ClN₃O₃S₂; XVг, 405, C₁₄H₁₁Cl₂N₃O₃S₂. Смесь 1,7 ммоль соединения XVа – в, небольшого количества PCl₅ и 7 мл POCl₃ кипятят 2 ч, удаляют избыток POCl₃ в вакууме, остаток растворяют в CH₂Cl₂, промывают 10 % водным раствором NaHCO₃. Органический слой сушат безводным Na₂SO₄, фильтруют и упаривают досуха, получают 7-хлорпиразоло[1,5-*a*]пиримидины (XVIа – в) с выходом 39 – 73 %. Данные LC-MS: XVIа, 354, C₁₄H₁₂ClN₃O₂S₂; XVIб, 368, C₁₅H₁₄ClN₃O₂S₂; XVIв, 423, C₁₄H₁₁Cl₂N₃O₂S₂; XVIг, 423, C₁₄H₁₀Cl₃N₃O₂S₂.

(3-(Арилсульфонил)-5-метил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-ил)диметиламины (Iж, з), общий способ получения. Смесь 2,18 ммоль 7-хлорпиразоло[1,5-*a*]пиримидина XVIб, г, 210 мг (2,62 ммоль) гидрохлорида Me₂NH и 1,14 мл (6,53 ммоль) ди-*изо*-пропилэтиламина, суспендиро-

5-НТ₆ антагонистическая активность 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов Ia – л



Соединение	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	n	K _i , нМ
Iа	Me	H	H	H	H	H	1	27,5
Iб	Me	H	F	Cl	H	H	1	102,4
Iв	Me	H	H	H	H	H	2	31,5
Iг	Me	H	H	H	H	H	0	0,7
Iд	Ph	H	H	H	H	H	0	58,9
Iе	Th ^а	H	H	H	H	H	0	64,6
Iж	Me	Me	H	H	Me	Me	0	0,7
Iз	Me	Cl	H	Cl	Me	Me	0	8,3
Iи	Me	H	H	H	R ⁵ R ⁶ N ^б	0		483,7
Iк	Me	H	H	H	R ⁵ R ⁶ N ^в	0		11,6
Il								14,4
Стандарт								0,234

^а Тиофен-2-ил; ^б R⁵R⁶N = 5-(1,1,3,3-тетраметилбутиламино)-6-метил-3,4-дигидро-2H-пиразин-1-ил; ^в R⁵R⁶N = 5-амино-6-метил-3,4-дигидро-2H-пиразин-1-ил.

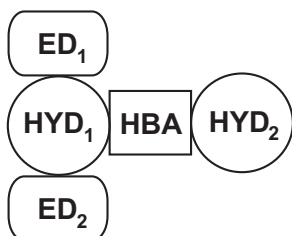


Рис. 3. Гипотетическая PhM₂ 5-НТ₆ антагонистов (показана упрощенно, без учета расстояний, векторов и 3D-расположения).

ванную в растворе 12,6 мл ТГФ и 2,1 мл MeOH, перемешивают 20 ч при 55 °С. Охлаждают, упаривают до суха при пониженном давлении, остаток растворяют в минимальном количестве ацетона, осаждают *n*-гексаном. Получают соединения Iж, з с выходом 38 – 63 %. (3-(Арилсульфонил)-5,6-диметил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-ил)диметиламин (Iж): 377, C₁₇H₂₀N₄O₂S₂; 8,01 (м, 2Н), 7,57 (м, 3Н), 3,10 (с, 6Н), 2,54 (с, 3Н), 2,49 (с, 3Н), 2,18 (с, 3Н). ¹³С ЯМР-спектр ((ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 163,85, 153,00, 148,14, 147,18, 143,40, 132,79, 128,98, 125,93, 108,69, 103,01, 41,87, 24,10, 13,90, 12,66. (5-Метил-2-(метилтио)-6-хлор-3-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-ил)диметиламин (Iз): 432, C₁₆H₁₆Cl₂N₄O₂S₂; 8,25 (с, 1Н), 8,08 (д, J 8,0 Гц, 1Н), 7,48 (д, J 7,6 Гц, 1Н), 7,40 (т, J 8,0 Гц, 1Н), 3,28 (с, 6Н), 2,68 (с, 3Н), 2,60 (с, 3Н). ¹³С ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 161,34, 154,23, 147,21, 146,76, 144,80, 133,65, 133,07, 131,37, 125,92, 124,81, 107,44, 103,07, 42,40, 24,21, 12,81.

3-Метил-4-(5-метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-ил)-*N*-(2,4,4-триметилпентан-2-ил)-3,4,5,6-тетрагидропирозин-2-амин гидрохлорид (Iи · HCl). К раствору, приготовленному из 0,5 мл *N*-метилморфолина и 4 мл СНСl₃, прибавляют 176 мг (0,5 ммоль) 3-(арилсульфонил)-5-метил-2-(метилтио)-7-хлорпиразоло[1,5-*a*]пиримидин (XVIa) и 131 мг (0,5 ммоль) 3-метил-*N*-(2,4,4-триметилпентан-2-ил)-3,4,5,6-тетрагидропирозин-2-амин гидрохлорида (XVII). Смесь перемешивают 1 ч при 60 °С, охлаждают, последовательно промывают 5 % водным раствором NaOH, водой, рассолом, сушат над безводным Na₂SO₄. Полученный раствор обрабатывают избытком 3N раствора хлороводорода в EtOH, разбавляют Et₂O, осадок отделяют центрифугированием, промывают Et₂O, ацетоном, сушат. Получают 210 мг (73 %) соединения Iи · HCl: 543, C₂₇H₃₈N₆O₂S₂; 9,06 (уш. с., 1Н), 8,98 (уш. с., 1Н), 7,99 – 8,02 (м, 2Н), 7,54 – 7,64 (м, 3Н), 6,69 (с, 1Н), 5,73 (кв, J 6,9 Гц, 1Н), 3,94 – 3,99 (м, 1Н), 3,65 – 3,81 (м, 2Н), 3,57 – 3,63 (м, 1Н), 2,64 (с, 3Н), 2,50 (с, 3Н), 1,78 (д, J 15 Гц, 1Н), 1,74 (д, J 15 Гц, 1Н), 1,65 (д, J 6,9 Гц, 3Н), 1,43 (с, 3Н), 1,40 (с, 3Н), 0,96 (с, 9Н).

3-Метил-4-(5-метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-ил)-3,4,5,6-тетрагидропирозин-2-амин гидробромид (Ik · HBr). Смесь 174 мг (0,3 ммоль) соединения XV и 33 % рас-

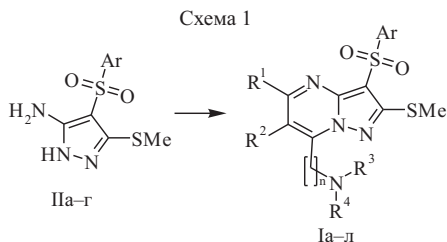
твора HBr в AcOH перемешивают 2 ч при 80 °С, охлаждают, обрабатывают избытком Et₂O. Осадок получают центрифугированием, промывают последовательно Et₂O, AcCN и EtOAc, сушат. Получают 212 мг (83 %) соединения Ik · HBr 431, C₁₉H₂₂N₆O₂S₂; 8,91 (уш.с., 1Н), 8,50 (уш.с., 1Н), 7,99 (д, J 7,4 Гц, 2Н), 7,53 – 7,63 (м, 3Н), 6,73 (с, 1Н), 5,77 (кв, J 7,4 Гц, 1Н), 4,00 – 4,05 (м, 1Н), 3,70 – 3,75 (м, 1Н), 3,59 – 3,67 (м, 1Н), 3,39 – 3,44 (м, 1Н), 2,61 (с, 3Н), 2,49 (с, 3Н), 1,73 (д, J 7,4 Гц, 3Н). ¹³С ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 166,10, 162,99, 154,04, 149,23, 143,31, 133,05, 129,13, 126,02, 103,24, 95,16, 51,24, 24,64, 18,99, 13,00.

5,6,9-Триметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)-6,7,8,9-тетрагидропиразоло[1,5-*a*]птеридина гидрохлорид (Il · HCl). Раствор 194 мг (0,5 ммоль) 6,7-дихлорпиразоло[1,5-*a*]пиримидина (XVIb), 66 мг (0,75 ммоль) *N,N*¹-диметилэтилендиамина, 101 мг (1 ммоль) Et₃N в 4 мл *i*-PrOH кипятят 12 ч. Охлаждают, прибавляют 20 мл СН₂Cl₂, промывают 10 % водным раствором K₂CO₃, сушат над безводным Na₂SO₄, упаривают растворитель. Выделение продукта проводят с помощью ВЭЖХ. К раствору полученного соединения Il прибавляют избыток 3N раствора хлороводорода в EtOH, раствор упаривают, добавляют Et₂O, сформировавшийся осадок отфильтровывают и сушат в вакууме. Выход Il 74 мг (34 %): 404, C₁₈H₂₁N₅O₂S₂; 13,64 (уш. с, 1Н), 7,99 (д, J 7,2 Гц, 2Н), 7,64 (м, 3Н), 4,04 (м, 4Н), 3,01 (с, 6Н), 2,47 (с, 3Н), 2,40 (с, 3Н). ¹³С ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 155,40, 150,94, 143,14, 139,79, 136,61, 133,27, 129,51, 125,99, 101,25, 96,45, 50,65, 35,35, 13,59, 11,73.

Экспериментальная биологическая часть

Функциональный анализ 5-НТ₆ рецепторов. В эксперименте использовали НЕК-293 клетки (Etogen Scientific, США), стабильно экспрессирующие рекомбинантные 5-НТ₆ рецепторы человека, с индуцируемой тетрациклином T-Rex системой (Invitrogen, США). Содержание цАМФ определяли с помощью технологии LANCE в соответствии с протоколами [19]. В качестве стандарта использовали один из наиболее известных 5-НТ₆ антагонистов SB-742457, который многие годы исследуется в клинике в качестве лекарственного кандидата для лечения болезни Альцгеймера [20, 21].

Клетки культивировали в 384 луночных планшетах Corning (Lowell, США) при 37 °С в атмосфере воздух/CO₂ (соотношение, %, 95:5) в среде T-Rex DMEM (ПанЭко, Россия) + 10 % FBS (GIBCO) + пенициллин/стрептомицин (ПанЭко) + бласцитидин (Invitrogen) + флеомицин (Invitrogen). Для активации экспрессии 5-НТ₆ рецепторов, по рекомендации производителя, за 24 ч до начала эксперимента к среде прибавляли гидрохлорид тетрациклина. Клетки рассматривали, как описано в протоколе LANCE (Perkin-Elmer, Waltham, США) для цАМФ и рекомендовано изготовителем. Сигнал LANCE измеряли в белых 384 луночных планшетах Corning, используя многорежимный



IIa: Ar = Ph. IIб: Ar = 3-Cl-C₆H₄.

IIв: Ar = 3-F-C₆H₄. IIг: Ar = 3-Cl-4-F-C₆H₃.

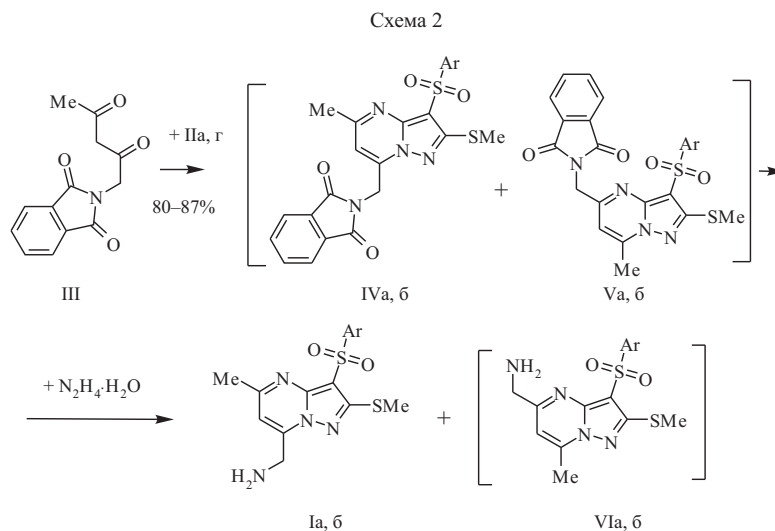
спектрофотометр для прочтения планшетов VICTOR2V (PerkinElmer, США) со встроенными параметрами настройки для обнаружения LANCE.

Для синтезированных соединений установили (таблица) величины $K_i = IC_{50}/(1 + L/KD)$, где IC_{50} — концентрация ингибитора, при которой активность аденилатциклазы составляет 50 % от исходной, L — концентрация серотонина, при которой проводятся измерения (10 нМ) и KD — кажущаяся константа связывания серотонина, количественно соответствующая EC_{50} серотонина и определенная из кривых титрования клеток серотонином как полумаксимальная концентрация стимуляции накопления цАМФ.

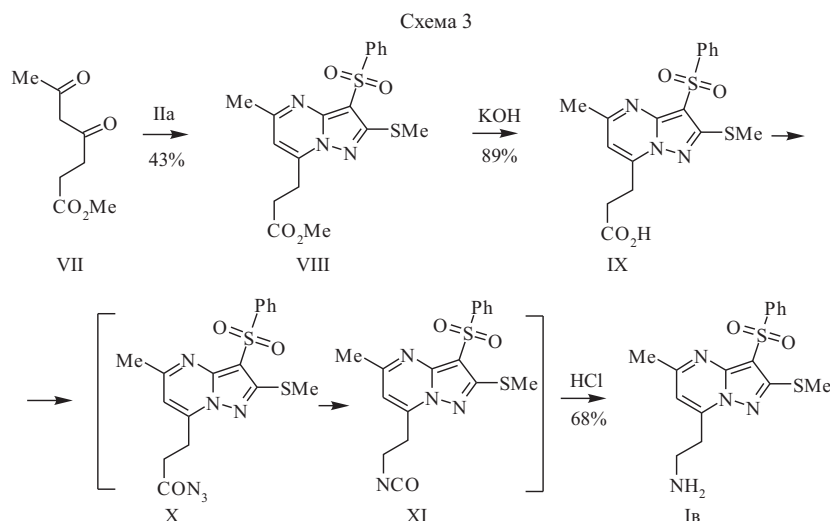
Результаты и их обсуждение

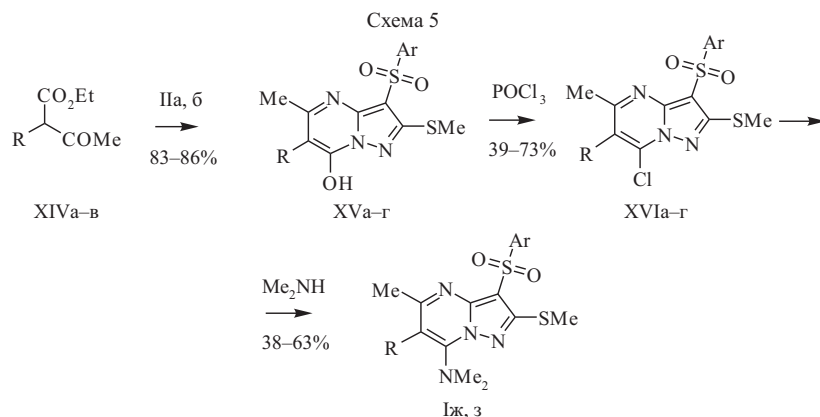
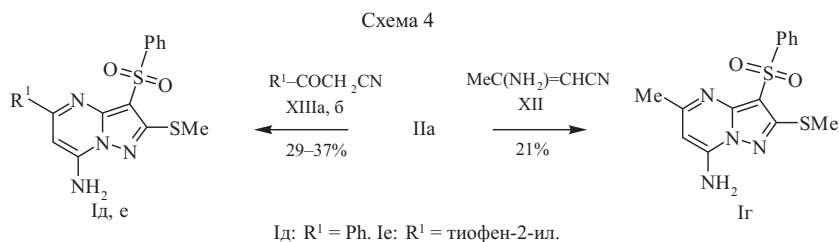
Синтез лигандов Ia – л. В качестве исходных соединений мы использовали 4-(арилсульфонил)-3-(метилтио)-1*H*-пиразол-5-амины (IIa – г) (схема 1).

3-(Арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-илметанамины (Ia, б) были получены конденсацией пиразол-5-аминов IIa, г и 2-(2,4-диоксопентил)изоиндол-1,3-диона (III) (схема 2). На первой стадии, проводимой при нагревании в среде уксусной кислоты, были получены смеси изомеров IV, V (изомеры IVa и Va — в соотношении 6:1; изомеры IVб и Vб — в соотношении 3:1), разделить которые не удалось даже с помощью ВЭЖХ. На следующей стадии при гидразинолизе смеси изомеров IV и V также были получены смеси изомерных 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-илметанаминов (Ia, б) и 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-5-илметанаминов (VIa, б). Впоследствии при многократном повторении процедуры ВЭЖХ в чистом виде удалось выделить лишь лиганды Ia и Ib, выходы — 6 и 20 % соответственно. Получить же индивидуальные лиганды VIa, б нам не удалось.

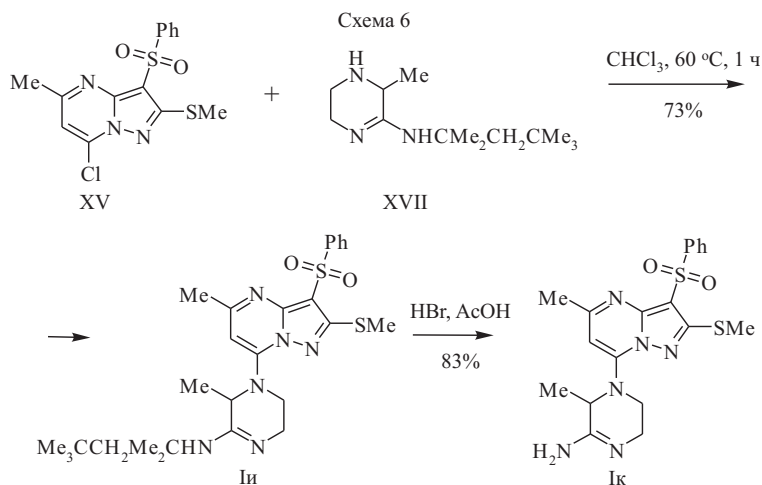


Ia, IVa, Va, VIa: Ar = Ph. Ib, IVб, Vб, VIб: Ar = 3-Cl-4-F-C₆H₃.





XIVa: R = H. XIVб: R = Me. XIVв: R = Cl. XVa, XVIa: Ar = Ph, R = H. XVб, XVIб: Ar = Ph, R = Me. XVв, XVIв: Ar = Ph, R = Cl. XVг, XVIг: Ar = 3-Cl-C₆H₄, R = Cl.
 Иж: Ar = Ph, R = Me. Из: Ar = 3-Cl-C₆H₄, R = Cl.



Для получения лиганда (Iв) была реализована схема 3. Нагреванием пиразол-5-амина (IIa) с метиловым эфиром 4,6-диоксогептановой кислоты (VII) в среде уксусной кислоты синтезирован метиловый эфир 3-[5-метил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-7-ил]пропионой кислоты (VIII), который подвергли щелочному гидролизу с образованием кислоты IX и далее последовательно перевели в ацилазид (X) и изоцианат (XI), из которого был получен лиганд Iв.

Лиганды Iг – е синтезировали взаимодействием пиразол-5-амина IIa с 3-аминокрононитрилом (XII), бензоилацетонитрилом (XIIIa) или 3-оксо-3-(тиофен-2-ил)-пропионитрилом (XIIIб) нагреванием в уксусной кислоте (схема 4).

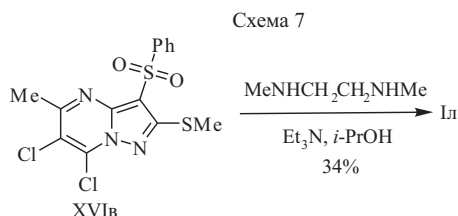
Для синтеза лигандов Iж – к проводили реакцию пиразол-5-аминов (IIa, б) и соответствующих ацетоуксусных эфиров XIVa – в (схемы 5, 6). Далее соедине-

ния XVa – г обрабатывали хлорокисью фосфора с получением 7-хлорпроизводных XVIa – г; взаимодействие с диметиламином (соединения XVIб, г) привело к целевым лигандам Iж, з (схема 5).

Взаимодействием 7-хлорпроизводного XVIa с 3-метил-N-(2,4,4-триметилпентан-2-ил)-3,4,5,6-тетрагидропиразин-2-амином (XVII) в присутствии N-метилморфолина получено производное Iи, которое нагреванием в растворе бромоводорода в уксусной кислоте переведено в лиганд Iк (схема 6).

5,6,9-Триметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)-6,7,8,9-тетрагидропиразоло[1,5-а]птеридин (Iл) синтезирован в результате взаимодействия соединения XVIв с N,N'-диметилендиамином в изопропиловом спирте в присутствии триэтиламина (схема 7).

Взаимосвязь структура — 5-НТ₆ антагонистическая активность. Как следует из таблицы, в исследованном ряду 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразо-



ло[1,5-*a*]-пиримидинов (Ia – л) наибольшую 5-НТ₆ антагонистическую активность проявили соединения Iг и Iж с $K_i = 0,7$ нМ, сравнимую с активностью SB-742457 с $K_i = 0,234$ нМ.

Обнаружено, что введение в положение 7 заместителя, содержащего азот и способного выступать в качестве PI фрагмента, а также увеличение расстояния между аминогруппой и пиразоло[1,5-*a*]пиримидиновым ядром приводит к значительному падению активности. Так, соединение Ia ($K_i = 27,5$ нМ) в 39 раз, а соединение Ib ($K_i = 31,5$ нМ) — в 45 раз менее активны, чем соединения Iг и Iж, а переход от Iг к Iк ($K_i = 11,6$ нМ) и Iи ($K_i = 483,7$ нМ) сопровождается соответственно 17-ти и 690-кратным снижением активности. Отметим, что аналогичную зависимость мы наблюдали [11] и в случае аминов, содержащих 3-(арилсульфонил)-2-(метиламино)пиразоло[1,5-*a*]пиримидиновый фрагмент.

Последние литературные данные [11] свидетельствуют о том, что наличие PI фрагмента в молекуле лиганда не всегда обеспечивает ему повышенную активность по отношению к 5-НТ₆ рецептору. Отметим, что аминогруппа в лигандах Iг, ж заметно менее основна, чем аминогруппа в аминоалкильном заместителе лигандов Ia, в, и, к, и, по-видимому, слабо протонируется при физиологических pH. Эта группа, также как и метилтиогруппа, выполняет роль электронодонорного заместителя, влияющего на гидрофобность гетероциклического фрагмента. В этой связи для субпиколярных лигандов Iг, ж можно предложить гипотетическую фармакофорную модель PhM₂ (рис. 3), содержащую два ED, причем можно предположить, что метилтио- и диметиламино группы лигандов Iг, ж не только выполняют роль электронодонорного заместителя, но и могут принимать участие в гидрофобных взаимодействиях с аминокислотами активного центра 5-НТ₆ рецептора, повышая за счет этого активность этих лигандов.

Введение заместителей в бензольное ядро фенилсульфонильного фрагмента, по аналогии с опубликованными нами ранее данными по 3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-2-иламинам [11], также заметно снижает активность. Например, соединение Ia в 3,7 раза активнее 3-хлор-4-фторфенилсульфонильного аналога Ib. И, наконец, замена 5-метильного заместителя в молекуле соединения Iг на 5-фенильный (соединение Id) либо 5-тиофен-2-ильный заместитель (соединение Ie), также ведет к резкому падению (более чем в 80 раз) активности.

Следует также отметить, что синтезированный нами представитель гидрированных пиразоло[1,5-*a*]птеридинов — 5,6,9-триметил-2-(метилтио)-3-(фенил-

сульфонил)-6,7,8,9-тетрагидропиразоло[1,5-*a*]птеридин (Iл), оказался достаточно активным 5-НТ₆ антагонистом с $K_i = 14,4$ нМ (таблица). Тем не менее он более чем в 20 раз уступает по активности наиболее эффективным производным Iг и Iж.

В результате фармакологического скрининга и изучения взаимосвязи структура — 5-НТ₆ антагонистическая активность в ряду новых 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов (Ia – л) обнаружено, что наличие PI фрагмента в молекуле лиганда, соответствующего фармакофорной модели PhM₁, не всегда обеспечивает ему повышенную активность по отношению к 5-НТ₆, что объясняется, по-видимому, стерическим эффектом заместителей, включающих PI фрагмент. Наиболее высокую пиколярную антагонистическую 5-НТ₆ активность показали соединения Iг и Iж, содержащие в положении 7 электронодонорные PI amino- или диметиламиногруппу, для которых предложена PhM₂. Стерическими эффектами объясняется, по-видимому, и более низкая активность лигандов Ib, д, е, з, содержащих дополнительные заместители (галоген, фенил, тиофен-2-ил). Несмотря на то, что эти заместители способны при связывании лиганда с активным центром рецептора участвовать в дополнительных гидрофобных взаимодействиях с аминокислотами рецептора, активность соединений Ib, д, е, з снижена по сравнению с Iг, ж, не содержащими таких заместителей. Полученные данные позволяют в дальнейшем более эффективно проводить поиск новых антагонистов 5-НТ₆ рецепторов, соответствующих фармакофорным моделям PhM₁ и PhM₂.

ЛИТЕРАТУРА

1. F. J. Monsma, Y. Shen, R. P. Ward, et al., *Mol. Pharmacol.*, **43**(3), 320 – 327 (1993).
2. C. D. Unsworth, P. B. Molinoff, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **269**(1), 246 – 255 (1994).
3. R. Kohen, M. A. Metcalf, N. Khan, et al., *J. Neurochem.*, **66**(1), 47 – 56 (1996).
4. R. A. Glennon, *J. Med. Chem.*, **46**(14), 2795 – 2812 (2003).
5. A. J. Sleight, F. G. Boess, M. Bös, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **124**(3), 556 – 562 (1998).
6. Y. Tsai, M. Dukat, A. Slassi, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **10**(20), 2295 – 2299 (2000).
7. R. A. Glennon, M. Lee, J. B. Rangisetty, et al., *J. Med. Chem.*, **43**(7), 1011 – 1018 (2000).
8. S. L. Davies, *Drug Future*, **30**, 479 – 495 (2005).
9. D. J. Heal, S. L. Smith, A. Fisas, et al., *Pharmacol. Ther.*, **117**(2), 207 – 231 (2008).
10. A. V. Ivachtchenko, Y. A. Ivanenkov, S. E. Tkachenko, *Expert Opin. Ther. Patents*, **20**(7), 1247 – 1257 (2010).
11. A. V. Ivachtchenko, E. S. Golovina, M. G. Kadieva, et al., *J. Med. Chem.*, **54**, 8161 – 8173 (2011).
12. M. Boes, C. Riemer, H. Stadler, Европатент EP941994 (1999), *Chem. Abstr.*, 131:214304 (1999).
13. S.-H. Zhao, J. Berger, R. D. Clark, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **17**, 3504 – 3507 (2007).
14. J. E. Jacobsen, S. J. King, Патент WO 2001 / 98279; *Chem. Abstr.*, 136:53770 (2001).
15. A. V. Ivachtchenko, D. E. Dmitriev, E. S. Golovina, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **20**(7), 2133 – 2136 (2010).

16. A. V. Ivachtchenko, D. E. Dmitriev, E. S. Golovina, et al., *J. Med. Chem.*, **53**(14), 5186 – 5196 (2010).
17. A. V. Ivachtchenko, E. S. Golovina, M. G. Kadieva, et al., *Bio-org. Med. Chem.*, **19**(4), 1482 – 1491 (2011).
18. A. V. Ivachtchenko, D. E. Dmitriev, E. S. Golovina, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **46**, 1189 – 1197 (2011).
19. P. Kasila, H. Harney, http://las.perkinelmer.com/Content/RelatedMaterials/Posters/PST_LANCEcAMPGasGaiCoupled-Receptors.pdf.
20. C. Riemer, E. Borroni, B. Levet-Trafit, et al., *J. Med. Chem.*, **46**(7), 1273 – 1276 (2003).
21. N. Upton, T. T. Chuang, A. J. Hunter, D. J. Virley, *Neurotherapeutics*, **5**(3), 458 – 469 (2008).

Поступила 28.03.11

ANTAGONISTS OF SEROTONIN 5-HT₆ RECEPTORS: IV. AMINES CONTAINING 3-(ARYLSULFONYL)-2-(METHYLTHIO)PYRAZOLO[1,5-*a*]PYRIMIDINE MOIETY

A. V. Ivashchenko^{1,2}, E. S. Golovina¹, M. G. Kadieva¹, V. M. Kasil², and O. D. Mit'kin¹

¹ Chemical Diversity Research Institute, Khimki, Moscow oblast, 141401 Russia;

² ChemDiv Inc., 92121 San Diego, CA, USA

A series of new 3-(arylsulfonyl)-2-(methylthio)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines containing amino substituent in position 7 have been synthesized and their 5-HT₆ receptor antagonist activity has been studied. It is established that the transition from 7-amino and 7-dimethylamino derivatives to 7-aminoalkyl derivatives is accompanied by a significant decrease in the activity, and a similar effect is observed upon replacement of methyl group in position 5 with phenyl or 5-thiophen-2-yl substituents. Maximum (picomolar) activity in the obtained series of compounds was displayed by 5-methyl-2-(methylthio)-3-(phenylsulfonyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine-7-amine and N,N,5,6-tetramethyl-2-(methylthio)-3-(phenylsulfonyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine-7-amine ($K_i = 700$ pM). The first representative of hydrogenated pyrazolo[1,5-*a*]pteridines – 5,6,9-trimethyl-2-(methylthio)-3-(phenylsulfonyl)-6,7,8,9-tetrahydropyrazolo[1,5-*a*]pteridin (with $K_i = 14,4$ nM) was synthesized. The discovered structure – 5-HT₆ antagonist activity relationship and observed regularities confirm the validity of the adopted pharmacophore model, which allows it to be used in the search for effective drug candidates.

Key words: 2-(Methylthio)-3-(arylsulfonyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines, substituents, serotonin 5-HT₆ receptors, antagonists, structure – activity relationship, pharmacophore model