

А. В. Иващенко^{1, 2}, Е. С. Головина¹, М. Г. Кадиева¹, В. М. Кисиль²,
О. Д. Митькин¹, И. М. Окунь²

АНТАГОНИСТЫ СЕРОТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПОДТИПА 5-HT₆. II. СИНТЕЗ И ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРА — АКТИВНОСТЬ 3-АРИЛСУЛЬФОНИЛ-2-МЕТИЛТИОПИРАЗОЛО[1,5-*a*]ПИРИМИДИНОВ, СОДЕРЖАЩИХ В ПОЛОЖЕНИИ 6 ЗАМЕСТИТЕЛЬ, ВКЛЮЧАЮЩИЙ АМИНОГРУППУ

¹ Исследовательский институт химического разнообразия, г. Химки, Московской обл., Россия;
e-mail: mod@chemdiv.com;

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

Синтезированы 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидины, содержащие в положении 6 заместители, включающие аминогруппу, изучена связь их структуры с антагонистической активностью по отношению к серотониновым 5-HT₆ рецепторам. Показано, что наиболее активными пиколярными лигандами являются 2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)- и 2-(метилтио)-3-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-амины, активность которых сопоставима с описанными ранее 3-(арилсульфонил)-2-(метиламино)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-аминами, 3-(арилсульфонил)-2-(метиламино)- и 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-аминами.

Ключевые слова: пиразолопиримидины, заместители, серотониновые 5-HT₆ рецепторы, антагонисты, структура — активность, фармакофорная модель.

Серотониновые рецепторы подтипа 5-HT₆ были впервые описаны в 1993 г. (крысиные) [1], 1994 г. (мышинные) [2] и 1996 г. (человеческие) [3]. Они практически полностью локализованы в центральной нервной системе (ЦНС) и поэтому являются весьма привлекательной терапевтической мишенью для лечения многих заболеваний ЦНС [1–4]. В настоящее время 2 селективных антагониста рецепторов 5-HT₆: SAM-531 (PF-5212365, Pfizer) [5] и AVN-322 (Avineuro Pharm.) [6] находятся в фазе II клинических исследований для лечения болезни Альцгеймера (БА). Lu-AE-5804 (Lundbeck, Lilly) успешно прошел фазу II КИ для лечения БА [7], а AVN-211 (Avineuro Pharm.) успешно прошел фазу III КИ для лечения шизофрении [8]. Следует также отметить, что антагонисты SB-742457 (GlaxoSmithKline) для лечения БА и Lu-AE-58054 (Lundbeck) для лечения шизофрении в фазе II КИ показали весьма скромные результаты по эффективности [9, 10].

Первые селективные антагонисты рецепторов 5-HT₆ были открыты в результате случайного скрининга [11–13] среди соединений, содержащих в своей структуре сульфонильную группу. Позднее было доказано, что введение сульфонильного или сульфамидно-

го фрагмента способствует повышению антагонистической активности и селективности по отношению к рецепторам 5-HT₆ [4, 14–18].

Основываясь на структурном анализе 45 сульфонил/сульфамид содержащих соединений, обладающих антагонистической активностью по отношению к рецепторам 5-HT₆, была предложена первая фармакофорная модель PhM₁ антагонистов рецепторов 5-HT₆, представленная на рис. 1 [14, 19].

На основании PhM₁ разработано множество антагонистов рецепторов 5-HT₆, как средств для лечения когнитивных расстройств [14], ожирения [14] и БА [20]. Некоторые антагонисты, содержащие сульфамидный (I–III) [13, 21, 22] и сульфонильный (IV, V) [23–25] фрагменты, представлены на рис. 2.

Недавно мы описали [26–29] несколько серий замещенных 3-фенилсульфонилпиразоло[1,5-*a*]пиримидинов, в частности, соединения VI–XV (рис. 3). Несмотря на отсутствие в их структуре положительно ионизирующихся аминогрупп (PI), данные соединения характеризуются высокой антагонистической активностью и селективностью по отношению к рецепторам 5-HT₆. Это свидетельствует о том, что для проявления антагонистической активности по отношению

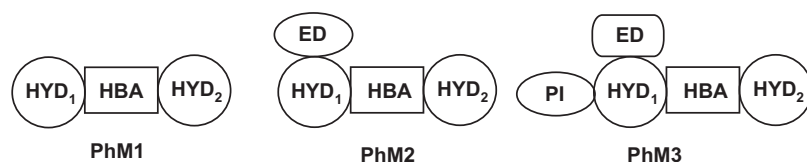


Рис. 1. Гипотетические фармакофорные модели антагонистов рецепторов 5-HT₆ (показаны упрощенно, без учета расстояний, векторов и 3D-расположения). HYD₁ и HYD₂ – гидрофобные области, HBA – акцептор водородных связей, PI – положительно ионизированный атом азота, ED – электронодонорный заместитель.

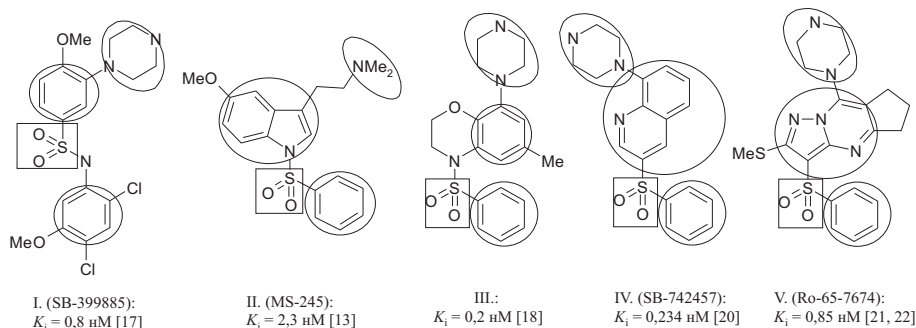


Рис. 2. Структуры некоторых антагонистов по отношению к 5-НТ₆ рецепторам, соответствующие фармакофорной модели PhM₁.

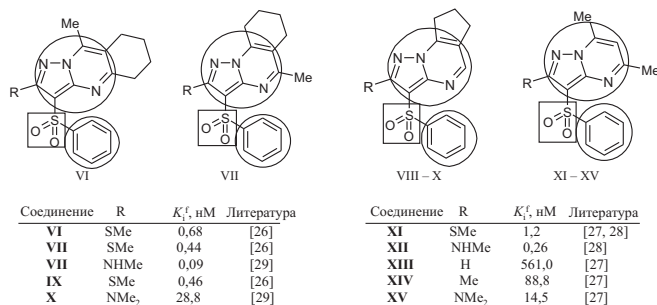


Рис. 3. Антагонисты по отношению к 5-НТ₆ рецепторам — производные 3-фенилсульфонилпиразоло[1,5-а]пиримидина.

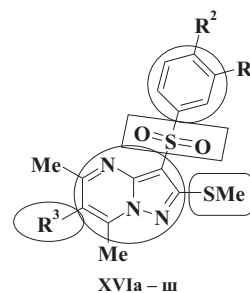
к рецепторам 5-НТ₆ наличие фрагмента PI в структуре лигандов не является обязательным. Аналогичные результаты наблюдались ранее на примере замещенных триптамина [30].

В результате фармакологического скрининга соединений VI – XV установлено, что наименее активным антагонистом с $K_1 = 561$ нМ является незамещенный по положению 2 5,7-диметил-3-фенилсульфонилпиразоло[1,5-а]пиримидин (XIII). Переход к 2-метилпроизводному XIV сопровождается заметным повышением активности ($K_1 = 88,8$ нМ). Наиболее активными же оказались 2-метилтио- VI, VII, IX, XI ($K_1 = 0,44 - 1,2$ нМ) и 2-метиламинопроизводные VIII, XII с $K_1 = 0,09$ нМ и $K_1 = 0,26$ нМ соответственно. Представленные данные свидетельствуют о повышении активности в данном ряду соединений с увеличением электронодонорных свойств заместителя в положении 2. Исключением являются диметиламинопроизводные X, XV с $K_1 = 28,8$ нМ и $K_1 = 14,5$ нМ соответственно, которые, несмотря на более сильные электронодонорные свойства диметиламиногруппы по сравнению с метиламино- или метилтиогруппами, сильно уступают по активности метиламино- VIII, XII и метилтиопроизводным VI, VII, IX, XI. По-видимому, стерическая громоздкость диметиламиногруппы нивелирует положительное влияние ее электронодонорных свойств на энергию связывания с активным центром рецептора 5-НТ₆.

Полученные результаты позволили нам предложить новую фармакофорную модель PhM₂ для антагонистов рецепторов 5-НТ₆ (рис. 1). Данная модель, наряду с

НВА, НУD₁ и НУD₂, содержит группу ED — донор электронов (метилтио- или метиламиногруппу), расположенную по отношению к НВА вициально. При этом ED способен оказывать заметное электронное влияние на НВА и конформацию лиганда, а следовательно, и на взаимодействие с рецепторами 5-НТ₆.

Представляло интерес синтезировать и исследовать взаимосвязь структура — активность в ряду антагонистов рецепторов 5-НТ₆, структура которых содержала бы одновременно фрагменты PI и ED, то есть соответствовала бы фармакофорной модели PhM₃ (рис. 1). В этой связи мы осуществили синтез неизвестных ранее 3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидинов XVIa – ш и изучили их антагонистическую активность по отношению к рецепторам НТ₆ в условиях функционального клеточного теста (табл. 1).

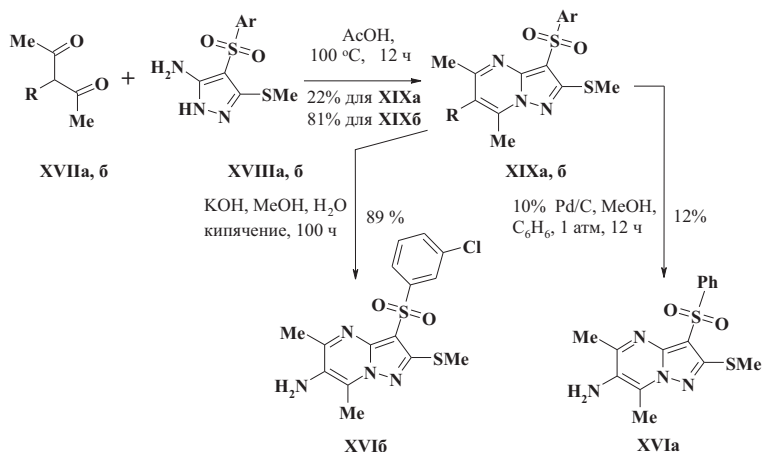


Для построения пиразоло[1,5-а]пиримидинового цикла была использована реакция конденсации замещенных ацетилацетонов XVII и (3-метилтио)-4-(фенилсульфонил)-1H-пиразол-5-амина (XVIII) в среде уксусной кислоты (схема 1). Простейший представитель рассматриваемой серии соединений XVIa был получен с низким выходом гидрированием промежуточного азосоединения XIXa (схема 1).

При получении 2-амино-3-хлорфенилсульфонильного аналога XVIб мы исходили из N-(1-ацетил-2-оксопропил)ацетамида XVIIб и соответствующего пиразол-5-амина XVIIIб. Образующийся в результате этой реакции N-(5,7-диметил-2-(метилтио)-3-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил)ацетамид XIXб гидролизировали в щелочной среде в соединение XVIб (схема 1). В этом случае выход промежуточного и конечного продуктов превышал 80 %.

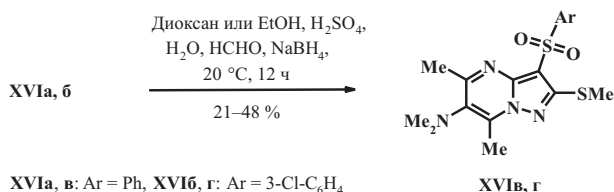
Метилирование аминопроизводных XVIa, б осуществляли методом восстановительного аминирования (схема 2).

Схема 1



XVIIa, XIXa: R = Ph-N=N. XVIIIб, XIXб: R = AcHN.
 XVIIIa: Ar = Ph. XVIIIб: Ar = 3-Cl-C₆H₄.

Схема 2



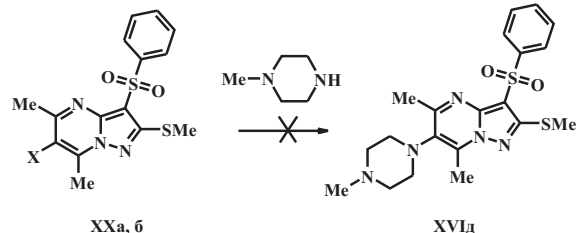
XVIa, в: Ar = Ph, XVIб, г: Ar = 3-Cl-C₆H₄

Соединение XVIд получить не удалось ни путем реакции Бухвальда, ни в результате применения медного катализа в среде *N*-метилпирролидона (схема 3). Исходные соединения XXa, б были получены по вышеописанному методу.

Для введения в положение 6 аминоалкильного заместителя была использована реакция Шмидта (схема 4). Продукт гидролиза этил-2-[5,7-диметил-2-(метилтио)-3-(4-фтор-3-хлорфенилсульфонил)пиразоло-[1,5-*a*]пиримидин-6-ил]ацетата (XXIг), кислота XXIIг, содержала до 15 % 2-[5,7-диметил-2-(метилтио)-3-

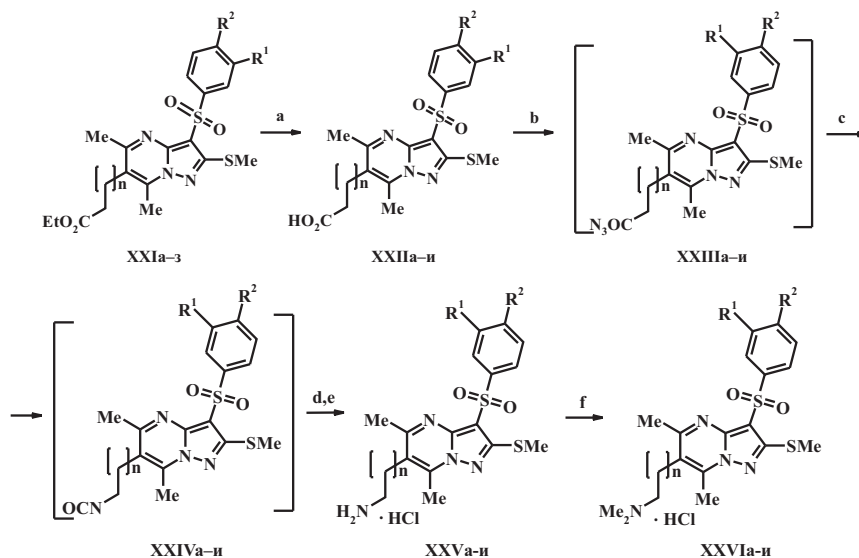
(3-хлор-4-этоксифенилсульфонил)пиразоло-[1,5-*a*]пиримидин-6-ил]уксусной кислоты (XXIIи) — побочного продукта замещения, протекающего в водно-этанольном растворе.

Схема 3



XXa: X = Cl, XXб: X = Br.

Схема 4

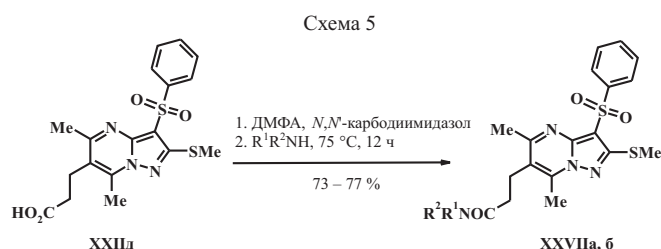


а: KOH, EtOH, H₂O, 20 °C, 12 ч. б: ацетон, Et₃N, ClCO₂Et, 0 °C, 30 мин. с: NaN₃, H₂O, 0 °C, 1 ч. д: диоксан, Δ, 1 ч. е: HCl, H₂O, 20 °C, 2 ч. ф: CH₂Cl₂, NaBH(OAc)₃, HCHO, 20 °C, 12 ч.

XXI, XXII – XXVIa: *n* = 0, R¹=R²=H. б: *n* = 0, R¹=Cl, R²=H. в: *n* = 0, R¹=F, R²=H. г: *n* = 0, R¹=Cl, R²=F. д: *n* = 1, R¹=R²=H. е: *n* = 1, R¹=Cl, R²=H. ж: *n* = 1, R¹=F, R²=H. з: *n* = 1, R¹=Cl, R²=F. и: *n* = 0, R¹=Cl, R²=OEt.

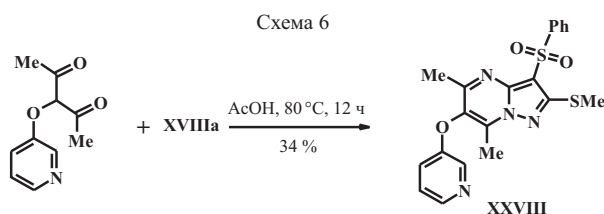
гидрохлоридов, с выходом 48 и 8 % соответственно. Первичные амины XXVa – и путем восстановительного аминирования с выходом 83 – 92 % были превращены в соответствующие диметиламинопроизводные XXVIa – и (схема 4).

Для синтеза амидов 3-(2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-ил)пропионовой кислоты XXVIIa,б исходили из кислоты XXIIд и вторичных аминов (схема 5).



XXVIIa: $R^1=Me$, $R^2=CH_2CH_2NMe_2$. XXVIIб: $NR^1R^2=4$ -метилпиперазин-1-ил.

5,7-Диметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)-(6-пиридин-3-илокси)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин (XXVIII), содержащий в качестве фрагмента Р1 пиридиновый цикл, был получен взаимодействием 3-(пиридин-3-илокси)пентан-2,4-диона с пиразол-5-амином XVIIIа (схема 6).



Антагонистическую активность синтезированных соединений по отношению к рецепторам 5-НТ₆ изучали на клетках НЕК-293, стабильно экспрессирующих рекомбинантные человеческие 5-НТ₆ рецепторы. Значения K_i были рассчитаны по формуле, указанной в [31]. Результаты фармакологического скрининга представлены в таблице.

Как следует из таблицы, в исследованном ряду 2-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов (XVIa – э) наиболее активными антагонистами оказались 5,6-диметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)- (XVIa) и 5,6-диметил-2-(метилтио)-3-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-амин (XVIб, $K_i^f = 0,4$ и $0,2$ нМ соответственно). Переход от аминов XVIa, б к диметиламинам XVIв, г (таблица) сопровождается некоторым снижением активности (XVIв, $K_i^f = 1,0$ нМ; XVIг, $K_i^f = 0,7$ нМ).

При замене аминогруппы аминоалкильным фрагментом (соединения XXVa – и) активность снижается, причем аминоэтильные производные XXVд – и ($K_i^f = 1,1 – 8,4$ нМ) менее эффективны, чем их аминометильные аналоги (XXVa – г, $K_i^f = 3,9 – 10,6$ нМ). Что же касается влияния алкилирования аминогруппы на 5-НТ₆ антагонистическую активность, то, как следует из таблицы, диметиламинометильные производ-

ные XXVIa – в ($K_i^f = 1,6 – 3,8$ нМ) примерно в 2 раза более активны, нежели их аминометильные аналоги XXVa – в ($K_i^f = 3,9 – 10,0$ нМ). В ряду аминоэтильных соединений зависимость обратная: соединения XXVe – з, содержащие первичную аминогруппу, эффективней ($K_i^f = 0,9 – 8,4$ нМ), чем замещенные производные XXVIe – з ($K_i^f = 2,5 – 16,0$ нМ).

Значительное падение активности наблюдается при введении в положение 6 объемных заместителей (соединения XXVIIa,б, $K_i^f = 1760,7$ и $1676,2$ нМ соответственно; XXVIII, $K_i^f = 229,6$ нМ, см. таблицу).

В результате изучения антагонистической активности по отношению к 5-НТ₆ промежуточных продуктов XXa – в, XXIa,г,д и XXIIa,д выявлено, что 6-хлорпроизводные XXa,в являются достаточно активными антагонистами ($K_i^f = 3,5$ и $2,0$ нМ, соответственно). 6-Бромпроизводное XXб ($K_i^f = 33,6$ нМ) на порядок уступает по активности хлорсодержащему аналогу XXa (таблица).

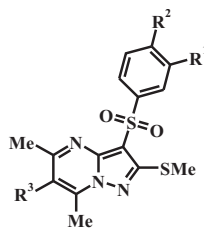
Сложные эфиры XXIa – з и кислоты XXIIa – и не проявили значимой активности по отношению к рецепторам 5-НТ₆, но могут быть учтены при изучении закономерностей взаимосвязи структура — активность. В этой связи отметим, что этил-2-(5,7-диметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-ил)ацетат XXIa ($K_i^f = 39,0$ нМ) в 2,5 раза активнее соответствующего пропионата XXIд ($K_i^f = 90,5$ нМ), и в 12 раз — соответствующей кислоты XXIIa ($K_i^f = 494,8$ нМ).

Что же касается влияния заместителя фенилсульфонильного фрагмента на антагонистическую активность по отношению к рецепторам 5-НТ₆, то наиболее целесообразным оказалось использование 3-хлорфенилсульфонильного заместителя (соединения XVIб, XVIг, XXVIб, XXVe, XXVIб, XXв в 1,2 – 2,0 раза активнее соответствующих незамещенных производных XVIa, XVIв, XXVa, XXVд, XXVIa, XXa); наличие же атома фтора в фенилсульфонильном фрагменте существенно снижает эффективность (фторфенилсульфонильные производные XXVв, XXVж, XXVIв и фторхлорфенилсульфонильные производные XXVг, XXVз, XXVIг).

Наименее активным среди аминов оказалось соединение XXVi ($K_i^f = 74,1$ нМ), в 19 раз уступавшее своему аналогу XXVб ($K_i^f = 3,9$ нМ), не содержащему этокси группы.

Таким образом, можно сделать вывод, что среди замещенных 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов наиболее мощным антагонистическим действием по отношению к рецепторам 5-НТ₆ характеризуются соединения, структура которых соответствует фармакофорной модели PhM₃, причем в качестве фрагмента Р1 наиболее эффективна амино- или диметиламиногруппа в положении 6, непосредственно связанная с гетероциклом. Целесообразно также использовать в качестве арилсульфонильного фрагмента фенил- или 3-хлорфенилсульфонильный заместитель.

Антагонистическая активность 3-(арилсульфонил)-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидинов XVI, XXIII, XXVII, XXVIII по отношению к рецепторам 5-HT₆



Соединение	R ¹	R ²	R ³	K _i ^f , нМ	K _i 95 % доверительные интервалы, М	Диапазоны концентраций, М
XVIa	H	H	NH ₂	0,4	3,670e-010 – 4,340e-010	1e-06 – 1e-10
XVIб	Cl	H	NH ₂	0,2	1,724e-010 – 2,067e-010	1e-05 – 1e-09
XVIв	H	H	NMe ₂	1,0	8,563e-010 – 9,933e-010	1e-06 – 1e-10
XVIг	Cl	H	NMe ₂	0,7	5,993e-010 – 7,343e-010	1e-06 – 1e-10
XXVa	H	H	CH ₂ NH ₂	4,5	4,077e-009 – 5,068e-009	3e-06 – 3e-10
XXVб	Cl	H	CH ₂ NH ₂	3,9	3,504e-009 – 4,316e-009	3e-06 – 3e-10
XXVв	F	H	CH ₂ NH ₂	9,8	7,575e-009 – 1,261e-008	3e-05 – 3e-09
XXVг	Cl	F	CH ₂ NH ₂	10,9	9,883e-009 – 1,191e-008	3e-05 – 3e-09
XXVд	H	H	CH ₂ CH ₂ NH ₂	1,1	9,984e-010 – 1,280e-009	3e-06 – 3e-10
XXVe	Cl	H	CH ₂ CH ₂ NH ₂	0,9	8,263e-010 – 9,370e-010	1e-06 – 1e-10
XXVж	F	H	CH ₂ CH ₂ NH ₂	2,1	1,625e-009 – 2,642e-009	3e-06 – 3e-10
XXVз	Cl	F	CH ₂ CH ₂ NH ₂	8,0	6,616e-009 – 9,794e-009	3e-05 – 3e-09
XXVi	Cl	OEt	CH ₂ NH ₂	74,1	6,386e-008 – 8,605e-008	3e-05 – 3e-09
XXVIa	H	H	CH ₂ NMe ₂	2,4	2,166e-009 – 2,707e-009	3e-06 – 3e-10
XXVIб	Cl	H	CH ₂ NMe ₂	1,6	1,427e-009 – 1,740e-009	3e-06 – 3e-10
XXVIв	F	H	CH ₂ NMe ₂	3,6	2,992e-009 – 4,271e-009	3e-06 – 3e-10
XXVIг	Cl	F	CH ₂ NMe ₂	11,0	9,239e-009 – 1,307e-008	3e-05 – 3e-09
XXVIe	Cl	H	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	2,5	2,253e-009 – 2,828e-009	3e-06 – 3e-10
XXVIж	F	H	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	4,1	3,739e-009 – 4,430e-009	3e-06 – 3e-10
XXVIз	Cl	F	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	16,0	1,330e-008 – 1,871e-008	3e-06 – 3e-10
XXVIIa	H	H	CH ₂ CH ₂ CON(Me)CH ₂ CH ₂ NMe ₂	1760,7	1,662e-006 – 1,870e-006	3e-05 – 3e-09
XXVIIб	H	H		1676,2	1,574e-006 – 1,789e-006	3e-05 – 3e-09
XXVIII	H	H		229,0	2,050e-007 – 2,572e-007	1e-05 – 1e-09
XXa	H	H	Cl	3,5	3,019e-009 – 4,071e-009	1e-05 – 1e-09
XXб	H	H	Br	33,1	2,917e-008 to 3,748e-008	3e-05 – 3e-09
XXв	Cl	H	Cl	2,0	1,844e-009 to 2,133e-009	1e-06 – 1e-10
XXIa	H	H	CH ₂ CO ₂ Et	39,0	3,570e-008 to 4,358e-008	3e-05 – 3e-09
XXIг	Cl	F	CH ₂ CO ₂ Et	99,3	8,798e-008 – 1,113e-007	3e-05 – 3e-09
XXId	H	H	CH ₂ CH ₂ CO ₂ Et	90,5	8,437e-008 – 9,698e-008	3e-05 – 3e-09
XXIIa	H	H	CH ₂ CO ₂ H	494,8	4,602e-007 – 5,320e-007	3e-05 – 3e-09
XXIIд	H	H	CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	775,6	7,230e-007 – 8,325e-007	3e-05 – 3e-09

Экспериментальная химическая часть

¹H ЯМР спектры соединений записаны в растворах ДМСО-d₆ либо CDCl₃ на спектрометре Bruker DPX-400 (400 МГц, 27 °С), а ¹³C ЯМР двумерные спектры получены на спектрометре Bruker DPX-300 (75 МГц, 27 °С). Хроматомасс-спектры получены с помощью жидкостного хроматографа Shimadzu 10Avr HPLC с колонкой Waters XBridge C₁₈ 3,5 мкм (4,6 × 150 мм) и API 150 EX масс-спектрометром (λ, 220 и 254 нм). По данным LC-MS, чистота всех соединений составляет не менее 98,0 %, а ¹H и ¹³C ЯМР спектры соответствуют их химической структуре.

Все процессы упаривания растворов либо сушки твердых образцов проводили при пониженном давлении. Очистку и выделение целевых продуктов осуше-

ствляли с помощью ВЭЖХ либо колоночной хроматографии (КХ).

5,7-Диметил-2-(метилтио)-3-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-амин (XVIa). Смесь 330 мг (1,6 ммоль) XVIIa и 405 мг (1,5 ммоль) амина IXXVIIa в 3,0 мл AcOH перемешивают 12 ч (100 °С), охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают AcOH, сушат, получают 146 мг (22 %) 5,7-диметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)-6-(фенилдиазенил)пиразоло[1,5-а]пиримидина (XIXa). Здесь и далее — LS-МС (M + 1): 438, C₁₅H₁₆N₄O₂S₂; ¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆ либо CDCl₃), δ, м.д.: 8,26 (м, 2H), 7,91 (м, 2H), 7,48 – 7,59 (м, 6H), 2,97 (с, 3H), 2,87 (с, 3H), 2,67 (с, 3H). Раствор 276 мг (0,63 ммоль) соединения XIXa в смеси 9 мл MeOH и 3 мл C₆H₆ гидрируют (1 атм, 12 ч) над 30 мг 10 % Pd/C, с помощью

ВЭЖХ выделяют 27 мг (12 %) амина XVIa. 350; 7,52 – 7,61 (м, 3Н), 4,10 (уш. с, 2Н), 2,58 (с, 3Н), 2,54 (с, 3Н), 2,50 (с, 3Н).

5,7-Диметил-2-(метилтио)-3-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-амин (XVIb). Смесь 568 мг (3,62 ммоль) *N*-(2,4-диоксопентан-3-ил)ацетамида и 1 г (3,29 ммоль) 4-(3-хлорфенилсульфонил)-5-(метилтио)-1*H*-пиразол-3-амина в 6,25 мл AcOH перемешивают 12 ч (100 °С), охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают небольшим количеством Et₂O, сушат. Получают 1,14 г (81 %) *N*-[5,7-диметил-2-(метилтио)-4-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил]ацетамида (V). LC-MS (M + H)⁺ 425. К 1,14 г (2,68 ммоль) ацетамида XIXб прибавляют 11,5 мл MeOH и раствор 1,35 г (24 ммоль) KOH в 3,84 мл воды, реакционную массу кипятят 5 сут, ход реакции контролируют при помощи LC-MS. Охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают смесью MeOH : H₂O = 3:1 до pH = 7, кипятят с EtOH, отфильтровывают, сушат в вакууме, получают 920 мг (89 %) продукта XVIb: 383, C₁₅H₁₅ClN₄O₂S₂; 8,00 (с, 1Н), 7,91 (д, J 7,6 Гц, 1Н), 7,68 (д, J 8,0 Гц, 1Н), 7,59 (т, J 8,0 Гц, 1Н), 5,13 (с, 2Н), 2,57 (с, 3Н), 2,55 (с, 3Н), 2,49 (с, 3Н). ¹³C ЯМР-спектр ((DMCO-d₆), δ, м.д.: 152,82, 152,22, 145,24, 140,77, 133,50, 132,68, 131,23, 130,96, 127,13, 125,45, 124,37, 102,27, 22,14, 12,52, 11,15.

***N,N*,5,7-Тетраметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-амин (XVIв).** К суспензии 82 мг (0,236 ммоль) амина XVIa в 3,5 мл диоксана прибавляют 0,275 мл 3 М раствора H₂SO₄ и 0,17 мл 37 % водного раствора формалина. К полученной реакционной массе в течение 2 ч при перемешивании прибавляют небольшими порциями 92 мг (2,42 ммоль) NaBH₄. Выливают в 100 мл 10 % раствора K₂CO₃, экстрагируют CH₂Cl₂, экстракт сушат над безводным Na₂SO₄, упаривают досуха. Очистку целевого продукта проводят методом флэш-хроматографии, элюент — смесь CH₂Cl₂ : EtOAc : Et₃N = 3:3:0,1, получают 23 мг (21 %) продукта XVIв: 378, C₁₇H₂₀N₄O₂S₂; 8,01 (м, 2Н), 7,55–7,64 (м, 3Н), 2,77 (с, 6Н), 2,66 (с, 3Н), 2,57 (с, 6Н).

***N,N*,5,7-Тетраметил-2-(метилтио)-3-(3-хлорфенилсульфонил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-амин (XVIг).** Суспензию 880 мг (2,3 ммоль) амина XVIb в смеси 45 мл EtOH и 3 М раствора H₂SO₄ (780 мг конц. H₂SO₄ и 2,66 мл воды) нагревают до 90 °С, охлаждают до 20 °С, прибавляют 1,37 г 37 % раствора формалина. Реакционную массу перемешивают 30 мин (20 °С), порциями прибавляют 568 мг (15 ммоль) NaBH₄, перемешивают 12 ч (20 °С), ход реакции контролируют LC-MS. При необходимости добавляют последовательно такое же количество 3 М раствора H₂SO₄, 50 % от первоначальной порции раствора формалина, через 30 мин — порциями, 2–3 экв. NaBH₄. Осадок отфильтровывают, дважды промывают водой, спиртовый фильтрат упаривают отдельно, осадок промывают водой. Осадки объединяют, сушат, разделяют с помощью КХ, элюент – *n*-гексан : EtOAc = от 7:1 до 1:1, получают 547 мг (48 %) продукта XVIг: 411, C₁₇H₁₉ClN₄O₂S₂; 8,03 (с, 1Н), 7,95 (д, J 8,0 Гц, 1Н), 7,70

(д, J 8,4 Гц, 1Н), 7,61 (т, J 8,0 Гц, 1Н), 2,77 (с, 6Н), 2,66 (с, 3Н), 2,58 (с, 6Н). ¹³C ЯМР-спектр (DMCO-d₆), δ, м.д.: 164,49, 154,64, 145,43, 144,77, 144,46, 133,89, 133,58, 132,98, 131,34, 125,70, 124,63, 103,57, 42,25, 22,91, 12,95, 12,61.

Этил-2-[3-(арилсульфонил)-5,7-диметил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил]ацетаты (XXIa – г) и 3-[3-(арилсульфонил)-5,7-диметил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил]пропиононаты (XXIд – и). **Общий способ получения.** Смесь 5 ммоль соответствующего [3-(метилтио)-4-(фенилсульфонил)пиразол-3-ил]амина и 6 ммоль этил-4-ацетил-5-оксопентаноата либо 4-ацетил-5-оксогексаноата в 5 мл ледяной AcOH перемешивают 12 ч при 90 °С, охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают водой, эфиром. Выходы целевых соединений составляют 63–85 %, содержание основного вещества (LC-MS) > 95 %.

XXIa: 420, C₁₉H₂₁N₃O₄S₂; 8,02 (д, J 7,6 Гц, 2Н), 7,63 (т, J 7,6 Гц, 1Н), 7,58 (т, J 7,6 Гц, 2Н), 4,10 (кв, J 7,2 Гц, 2Н), 3,90 (с, 2Н), 2,71 (с, 3Н), 2,58 (с, 3Н), 2,57 (с, 3Н), 1,19 (т, J 7,2 Гц, 3Н). ¹³C ЯМР спектр (DMCO-d₆), δ, м.д.: 169,69, 162,71, 154,61, 145,51, 142,99, 133,10, 129,14, 125,97, 115,36, 106,15, 104,82, 60,88, 33,11, 23,80, 13,93, 13,52, 12,62. **XXIб:** 472, C₁₉H₂₀ClN₃O₄S₂; 8,10 (дд, J₁ 8,8 Гц, J₂ 4,4 Гц, J₃ 2,4 Гц, 1Н), 7,22 (т, J 8,8 Гц, 1Н), 4,19 (к, J 7,2 Гц, 2Н), 3,73 (с, 2Н), 2,77 (с, 3Н), 2,68 (с, 3Н), 2,63 (с, 3Н), 1,28 (т, J 7,2 Гц, 3Н). **XXIв:** 434, C₂₀H₂₃N₃O₄S₂; 8,02 (д, J 6,8 Гц, 2Н), 7,62 (т, J 7,2 Гц, 1Н), 7,57 (т, J 7,6 Гц, 2Н), 4,06 (кв, J 6,8 Гц, 2Н), 2,96 (т, J 7,6 Гц, 2Н), 2,71 (т, 3Н), 2,63 (т, 3Н), 2,57 (т, 3Н), 2,54 (т, J 7,6 Гц, 2Н), 1,15 (т, J 6,8 Гц, 3Н). ¹³C ЯМР спектр (DMCO-d₆), δ, м.д.: 171,78, 162,39, 154,22, 145,27, 144,62, 143,12, 133,01, 129,11, 125,95, 119,90, 104,44, 60,05, 32,40, 23,54, 22,72, 13,96, 13,23, 12,59.

[3-(Арилсульфонил)-5,7-диметил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил]уксусные (XXIIa – г, и) и 3-[3-(арилсульфонил)-5,7-диметил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил]пропиононовые (XXIIд – з) кислоты. **Общий способ получения.** К раствору 4,2 ммоль эфира XXIa – з в 100 мл EtOH прибавляют раствор, приготовленный из 530 мг (8,4 ммоль) 85 % твердого KOH и 40 мл воды. Реакционную массу перемешивают в течении ночи при 20 °С, упаривают досуха, к остатку прибавляют воду до объема 400 мл, подкисляют HCl до pH = 4–5. Осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат в вакууме, с выходом 85–95 % получают кислоты XXIIa – з, содержащие > 95 % (LC-MS) основного вещества, которые используют в дальнейших превращениях без дополнительной очистки. Исключение — кислота XXIIг, содержащая до 10 % примеси кислоты XXIIи.

Соединение XXIIa: 392, C₁₇H₁₇N₃O₄S₂; 12,76 (уш. с, 1Н), 8,02 (м, 2Н), 7,55–7,65 (м, 3Н), 3,81 (с, 2Н), 2,70 (с, 3Н), 2,58 (с, 3Н), 2,57 (с, 3Н). ¹³C ЯМР спектр (DMCO-d₆), δ, м.д.: 171,18, 162,78, 154,51, 145,45, 145,28, 143,00, 133,09, 129,15, 125,95, 115,95, 104,72, 33,26, 23,79, 13,47, 12,63. **Соединение XXIIд:** 406, C₁₈H₁₉N₃O₄S₂; 12,28 (уш. с, 1Н), 8,02 (м, 2Н), 7,55–7,64 (м, 3Н), 2,94 (т, J 8,0 Гц, 2Н), 2,71 (с, 3Н),

2,63 (с, 3Н), 2,57 (с, 3Н), 2,47 (т, J 8,0 Гц, 2Н). ¹³С ЯМР спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 173,35, 162,40, 154,17, 145,26, 144,55, 143,12, 133,02, 129,12, 125,94, 120,17, 104,38, 32,62, 23,55, 22,85, 13,22, 12,59.

[3-(Арилсульфонил)-5,7-диметил-2-(метилтио)-пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил]алкиламины (XXVa – и). Общий способ получения. К раствору 1 ммоль кислоты XXIIa – и в 10 мл ацетона последовательно по каплям прибавляют раствор 139 мкл (101 мкг, 1,18 ммоль) Et₃N в 1 мл ацетона и раствор 109 мкл (123 мг, 1,29 ммоль) этоксикарбонилхлорида в 1 мл ацетона. Реакционную смесь перемешивают 30 мин при 0 °С, по каплям прибавляют раствор 109 мг (1,53 ммоль) азида натрия в 0,35 мл воды, перемешивают 1 ч при 0 °С, выливают в 30 мл ледяной воды. Продукт экстрагируют холодным CH₂Cl₂, растворитель упаривают до объема 2 – 3 мл при температуре не выше 20 °С. Полученный раствор ацилазида XXIIIa – и прибавляют по каплям к 10 мл кипящего диоксана, кипятят 1 ч, получают раствор изоцианата XXIVa – и, который охлаждают до 70 °С, прибавляют 0,5 мл 20 % раствора HCl, перемешивают 3 ч при 80 °С до полного (контроль LS-MS) гидролиза изоцианата. Целевые амины XXVa – и с выходами 35 – 52 % кристаллизуются в виде гидрохлоридов при охлаждении реакционной массы. Смесь аминов XXVг и XXVi разделяют ВЭЖХ, выход соли XXVг·HCl 48 %, соли XXVi·HCl — 8 %.

Соединение XXVa·HCl: 363, C₁₆H₁₈N₄O₂S₂ HCl; 8,15 (с, 3Н), 8,02 (м, 2Н), 7,60 (м, 3Н), 4,23 (с, 2Н), 2,82 (с, 3Н), 2,72 (с, 3Н), 2,60 (с, 3Н). ¹³С ЯМР спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 163,10, 155,37, 147,53, 145,94, 142,82, 133,23, 129,23, 126,03, 114,28, 105,30, 35,49, 23,75, 13,71, 12,66. **Соединение XXVб·HCl:** 397, C₁₆H₁₇ClN₄O₂S₂ HCl; 8,41 (ш, 3Н), 8,15 (с, 1Н), 8,04 (с, 1Н), 7,96 (д, J 7,2 Гц, 1Н), 7,73 (д, J 8,0 Гц, 1Н), 7,63 (т, J 7,6 Гц, 1Н), 4,21 (с, 2Н), 2,86 (с, 3Н), 2,76 (с, 3Н), 2,61 (с, 3Н). **Соединение XXVв·HCl:** 409, C₁₆H₁₇FN₄O₂S₂·HCl; 10,33 – 10,23 (уш., 1Н), 7,86 (д, J 7,6 Гц, 1Н), 7,78 (м, 1Н), 7,66 (дт, J₁ 8,4 Гц, J₂ 5,6 Гц, 1Н), 7,52 (дт, J₁ 8 Гц, J₂ 2 Гц, 1Н), 4,53 (д, J 5,6 Гц, 2Н), 2,88 (с, 3Н), 2,84 (с, 3Н), 2,82 (с, 6Н), 2,61 (с, 3Н). **Соединение XXVг·HCl:** 415 C₁₆H₁₆ClFN₄O₂S₂·HCl; 8,49 (уш. с, 3Н), 8,19 (дд, J₁ 6,6 Гц, J₂ 1,4 Гц, 1Н), 8,01 (м, 1Н), 7,65 (д, J 9,2 Гц, 1Н), 4,21 (с, 2Н), 2,87 (с, 3Н), 2,76 (с, 3Н), 2,61 (с, 3Н). **Соединение XXVi·HCl:** 441, C₁₈H₂₁ClN₄O₃S₂ HCl; 8,44 (уш. с, 3Н), 8,04 (д, J 2,2 Гц, 1Н), 7,91 (дд, J₁ 8,6 Гц, J₂ 2,2 Гц, 1Н), 7,32 (д, J 8,6 Гц, 1Н), 4,20 (с, 2Н), 4,18 (к, J 7,0 Гц, 2Н), 2,86 (с, 3Н), 2,75 (с, 3Н), 2,60 (с, 3Н), 1,34 (т, J 7,0 Гц, 3Н). **Соединение XXVд·HCl:** 377, C₁₇H₂₀N₄O₂S₂·HCl; 8,26 – 8,10 (уш. с, 3Н), 8,01 (д, J 7,2 Гц, 2Н), 7,59 (м, 3Н), 3,04 (м, 2Н), 2,92 (м, 2Н), 2,74 (с, 3Н), 2,65 (с, 3Н), 2,58 (с, 3Н). ¹³С ЯМР спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 162,56, 154,31, 145,54, 145,47, 143,08, 133,07, 129,15, 117,05, 104,47, 37,47, 25,42, 23,73, 13,59, 12,61. **Соединение XXVe·HCl:** 411, C₁₇H₁₉ClN₄O₂S₂·HCl; 8,04 (с, 1Н), 7,96 (д, J 0,01 Гц, 1Н), 7,72 (д, J 0,01 Гц, 1Н), 7,63 (т, J 0,01 Гц, 1Н), 2,99 – 3,07 (уш. м, 2Н), 2,88 – 2,98 (уш. м, 2Н), 2,75 (с, 3Н), 2,66 (с, 3Н), 2,60 (с, 3Н). ¹³С ЯМР спектр

(ДМСО-d₆), δ, м.д.: 162,81, 154,45, 145,80, 145,54, 144,69, 133,59, 133,05, 131,38, 125,70, 124,64, 117,35, 103,63, 37,44, 25,43, 23,71, 13,63, 12,61. **Соединение XXVж·HCl:** 395, C₁₇H₁₉FN₄O₂S₂·HCl; 8,27 – 7,97 (уш. м, 3Н), 7,85 (д, J 6,8 Гц, 1Н), 7,78 (д, J 8 Гц, 1Н), 7,65 (м, 1Н), 7,52 (т, J 8 Гц, 1Н), 3,09 – 3,00 (уш. м, 2Н), 2,98 – 2,88 (уш. м, 2Н), 2,75 (с, 3Н), 2,66 (с, 3Н), 2,59 (с, 3Н). ¹³С ЯМР спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 163,11, 162,83, 159,81, 154,50, 145,74, 144,97, 131,78, 122,18, 120,43, 117,31, 113,04, 103,67, 37,45, 25,43, 23,73, 13,62, 12,61. **Соединение XXVз·HCl:** 429, C₁₇H₁₈ClFN₄O₂S₂·HCl; 8,17 – 8,20 (м, 1Н), 8,14 (уш. с, 3Н), 7,98 – 8,02 (м, 1Н), 7,62 (т, J 0,011 Гц, 1Н), 3,03 – 3,07 (м, 2Н), 2,90 – 2,96 (м, 2Н), 2,75 (с, 3Н), 2,66 (с, 3Н), 2,59 (с, 3Н). ¹³С ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 162,87, 161,47, 158,11, 154,36, 145,81, 140,26, 128,72, 127,57, 120,63, 118,27, 117,41, 103,59, 37,44, 25,41, 23,71, 13,63, 12,61.

[3-(Арилсульфонил)-5,7-диметил-2-(метилтио)-пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-ил]-N,N-диметилалкиламины XXVIa – ж. Общий способ получения. К раствору 1 ммоль амина XXV в 10 мл CH₂Cl₂ прибавляют 0,25 мл (3 ммоль) формалина и 530 мг (2,5 ммоль) NaBH(OAc)₃, перемешивают 3 ч при 20 °С. При необходимости для полной конверсии субстрата (контроль LC-MS) прибавляют такое же количество формалина и NaBH(OAc)₃ и перемешивают в течение 12 ч. Разбавляют водой, органический слой экстрагируют CH₂Cl₂, промывают 10 % раствором K₂CO₃, сушат над безв. Na₂SO₄, отфильтровывают и упаривают досуха, продукт выделяют КХ (элюент — ТГФ : MeOH = 9:1). Выход аминов XXVIa – ж 83 – 92 %, соответствующие гидрохлориды получают прибавлением избытка раствора HCl в диоксане к раствору амина XXVIa – ж в ацетоне, продукты при необходимости осаждают Et₂O, отфильтровывают и сушат в вакууме.

Соединение XXVIa·HCl: 391, C₁₈H₂₂N₄O₂S₂·HCl; 9,67 – 9,28 (уш. с, 1Н), 8,03 (д, J 7,6 Гц, 2Н), 7,64 (т, J 7,2 Гц, 1Н), 7,58 (т, J 8 Гц, 2Н), 4,60 – 4,47 (уш. м, 2Н), 2,92 – 2,80 (уш. м, 6Н), 2,83 (с, 3Н), 2,75 (с, 3Н), 2,60 (с, 3Н). ¹³С ЯМР спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 163,48, 155,37, 149,02, 146,16, 142,86, 133,21, 129,18, 126,06, 111,56, 105,30, 52,86, 42,38, 24,15, 14,69, 12,65. **Соединение XXVIб·HCl:** 425, C₁₈H₂₁ClN₄O₂S₂·HCl; 10,04 (уш. с, 1Н), 8,03 (м, 1Н), 7,97 (м, 1Н), 7,73 (м, 1Н), 7,64 (т, J 0,01 Гц, 1Н), 4,53 (д, J 0,007 Гц, 2Н), 2,87 (с, 3Н), 2,85 (с, 3Н), 2,84 (с, 3Н), 2,61 (с, 3Н). **Соединение XXVIв·HCl:** 409, C₁₈H₂₁FN₄O₂S₂·HCl; 10,33 – 10,23 (уш., 1Н), 7,86 (д, J 7,6 Гц, 1Н), 7,78 (м, 1Н), 7,66 (дт, J₁ 8,4 Гц, J₂ 5,6 Гц, 1Н), 7,52 (дт, J₁ 8 Гц, J₂ 2 Гц, 1Н), 4,53 (д, J 5,6 Гц, 2Н), 2,88 (с, 3Н), 2,84 (с, 3Н), 2,82 (с, 6Н), 2,61 (с, 3Н). **Соединение XXVIг·HCl:** 443, C₁₈H₂₀ClFN₄O₂S₂·HCl; 10,29 (уш. с, 1Н), 8,19 (дд, J₁ 6,8 Гц, J₂ 2,4 Гц, 1Н), 8,10 (ддд, J₁ 8,4 Гц, J₂ 4,4 Гц, J₃ 2,4 Гц, 1Н), 7,66 (т, J 9,0 Гц, 1Н), 4,54 (д, J 5,6 Гц, 2Н), 4,18 (к, J 7,0 Гц, 2Н), 2,88 (с, 3Н), 2,84 (с, 3Н), 2,82 (с, 6Н), 2,61 (с, 3Н). **Соединение XXVIе·HCl:** 439, C₁₉H₂₃ClN₄O₂S₂·HCl; 10,9 (уш. с, 1Н), 8,04 (м, 1Н), 7,95 (д, J 0,01 Гц, 1Н), 7,72 (д, J 0,01 Гц, 1Н), 7,62 (т, J

0,01 Гц, 1 Н), 3,16 (с, 4Н), 2,84 (с, 6Н), 2,77 (с, 3Н), 2,70 (с, 3Н), 2,59 (с, 3Н). ^{13}C ЯМР спектр (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 162,69, 154,61, 145,78, 145,61, 144,64, 133,60, 131,38, 125,73, 124,66, 116,58, 103,80, 53,91, 41,84, 23,67, 22,73, 13,45, 12,63. **Соединение XXVIж·HCl**: 423, $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{FN}_4\text{O}_2\text{S}_2\cdot\text{HCl}$; 10,95 – 10,82 (уш. с, 1Н), 7,84 (тд, J_1 7,6 Гц, J_2 0,8 Гц, 1Н), 7,77 (тд, J_1 8,4 Гц, J_2 2,4 Гц, 1Н), 7,65 (дт, J_1 8,4 Гц, J_2 6 Гц, 1Н), 7,51 (дт, J_1 8,4 Гц, J_2 1,6 Гц, 1Н), 3,15 (м, 4Н), 2,83 (д, J 4,8 Гц, 6Н), 2,77 (с, 3Н), 2,69 (с, 3Н), 2,59 (с, 3Н). **Соединение XXVIз·HCl**: 457, $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClFN}_4\text{O}_2\text{S}_2\cdot\text{HCl}$; 10,9 (с, 1Н), 8,18 – 8,20 (м, 1Н), 7,98 – 8,03 (м, 1Н), 7,65 (т, J 0,011 Гц, 1Н), 3,16 (с, 4Н), 2,84 (с, 6Н), 2,78 (с, 3Н), 2,70 (с, 3Н), 2,60 (с, 3Н).

Гидрохлориды 3-[5,7-диметил-2-(метилтио)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-ил]-пропионамидов (XXVIIа, б). Общий способ получения. К раствору 405 мг (1 ммоль) кислоты XXIIIд в 5 мл ДМФА прибавляют 178 мг (1,1 ммоль) карбодимидазола, перемешивают 1 ч при 75 °С. Прибавляют 1,1 ммоль N,N',N' -триметилэтилендиамина либо 1-метилпиперазина, перемешивают 12 ч при 75 °С (контроль по LC-MS), выливают в 20 мл 5 % раствора Na_2CO_3 , экстрагируют CH_2Cl_2 , органический слой сушат над безв. Na_2SO_4 , отфильтровывают, упаривают досуха. Амиды XXVIIа, б получены с выходом 73 – 77 %, гидрохлориды XXVIIа·HCl, XXVIIб·HCl получают, как описано выше.

Соединение XXVIIа·HCl: 490, $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}_2\cdot\text{HCl}$; 10,17 (уш. с, 1Н), 8,02 (д, J 7,2 Гц, 2Н), 7,61 (м, 3Н), 3,64 (м, 2Н), 3,17 (м, 2Н), 2,93 (с, 3Н), 2,90 (м, 2Н), 2,76 (с, 6Н), 2,73 (с, 3Н), 2,65 (с, 3Н), 2,58 (м, 2Н), 2,57 (с, 3Н). ^{13}C ЯМР спектр (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 172,08, 162,52, 154,07, 145,24, 144,43, 143,14, 133,01, 129,13, 125,93, 120,88, 104,30, 53,44, 42,40, 41,64, 34,41, 31,90, 23,71, 22,80, 13,31, 12,60. **Соединение XXVIIб·HCl**: 488, $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}_2\cdot\text{HCl}$; 8,10 (д, J 7,2 Гц, 2Н), 7,58 (т, J 8,0 Гц, 1Н), 7,51 (т, J 7,6 Гц, 2Н), 4,81 – 4,53 (уш. м, 2Н), 4,25 – 3,98 (уш. м, 2Н), 3,63 – 3,38 (уш. м, 2Н), 3,10 – 2,94 (уш. м, 2Н), 3,09 (т, J 7,6 Гц, 2Н), 2,93 (с, 3Н), 2,79 (с, 3Н), 2,70 (с, 3Н), 2,69 (т, J 8,0 Гц, 2Н), 2,62 (с, 3Н). ^{13}C ЯМР спектр (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 169,78, 162,48, 154,14, 145,22, 144,42, 143,10, 133,05, 129,13, 125,94, 120,71, 104,35, 52,02, 51,86, 41,90, 41,52, 37,99, 30,99, 23,66, 22,75, 13,27, 12,61.

5,7-Диметил-2-(метилтио)-6-(пиридин-3-илокси)-3-(фенилсульфонил)пиразоло[1,5-*a*]пиримидин (XXVIII). Раствор 93 мг (0,35 ммоль) амина XVIIIа и 67 мг (0,35 ммоль) 3-(пиридин-3-илокси)пентан-2,4-диона в 2 мл АсОН перемешивают в течение ночи при 100 °С, контролируя (LC-MS) ход реакции. Кристаллизующийся при охлаждении продукт XXVIII отфильтровывают, промывают Et_2O , сушат в вакууме, гидрохлорид получают, как описано выше, выход соли XXVIII·HCl 50 мг (34 %), 427, $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}_2$; 8,72 (с, 1Н), 8,53 (м, 1Н), 8,02 (м, 3Н), 7,74 (м, 1Н), 7,61 (м, 3Н), 2,58 (с, 3Н), 2,53 (с, 3Н), 2,40 (с, 3Н). ^{13}C ЯМР спектр (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 157,45, 155,42, 154,48, 145,17, 142,96, 141,39, 135,91, 133,70, 133,19, 129,22, 127,82, 126,81, 126,04, 105,28, 20,52, 12,69, 11,28.

3-Арилсульфонил-6-галоген-5,7-диметил-2-(метилтио)пиразоло[1,5-*a*]пиримидины (XXа, б). Общий способ получения. Раствор 1,1 ммоль 1Н-пиразол-5-амина XVIIIа и 1,3 ммоль 3-галогенпентан-2,4-диона в 5 мл АсОН перемешивают в течение 12 ч при 100 °С, охлаждают, осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат в вакууме, выход пиримидинов XXа, б составляет 63 и 86 % соответственно. LC-MS ($M + 1$): XXа, 368, $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}_2$; ^{13}C ЯМР спектр (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 159,91, 155,32, 144,88, 144,57, 142,79, 133,21, 129,19, 126,01, 118,08, 103,42, 23,98, 14,48, 12,63. XXб, 413, $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}_2$.

Экспериментальная биологическая часть

Функциональный тест на 5-НТ₆ рецепторе. 5-НТ₆ рецептор был суб-клонирован в вектор T-Rex (Invitrogen, Carlsbad, CA), который, в свою очередь экспрессирован в клетках НЕК-293 (5-НТ₆R-НЕК). Клетки выращивали в инкубаторе при 37 °С в атмосфере 5 %:95 % CO_2 :воздух (100 % влажность) в Т-175 культуральных флаконах в среде ДМЕМ с добавлением 10 % FBS, 1 % AAS, blasticidine S, zeocin (все реагенты были приобретены в Invitrogen, Carlsbad, CA). Экспрессия 5-НТ₆ рецепторов активировалась добавлением раствора тетрациклина (1 мкг/мл) в соответствии с рекомендациями производителя T-Rex вектора. Тетрациклин добавляли за 1 сут до начала экспериментов.

В день экспериментов клетки переводили в суспензию с помощью кратковременной обработки (5 – 10 мин) 6 мМ ЭДТА, промывали HBSS солевой средой и осаждали центрифугированием при 1000 об/мин в течение 6 мин. К образовавшемуся осадку клеток добавляли ДМЕМ среду без сыворотки, и количество клеток определялось с помощью камеры Горяева. Клетки ресуспендировали до концентрации $0,67 \cdot 10^6$ в СБ2 буфере, состоящем из HBSS с добавлением 5 мМ HEPES, pH 7,4, 0,05 % BSA, 1 мМ IBMX (SigmaAldrich, St. Louis, MO) и Alexa Fluor 647-anti cAMP antibody (PerkinElmer, Waltham, MA). По 6 мкл клеточной суспензии (≈ 4000 клеток/лунку) было перенесено в лунки 384-луночной плашки (PerkinElmer White OptiPlate).

Испытуемые соединения в разных концентрациях предварительно смешали с серотонином (Sigma, MO), и эти растворы (6 мкл) были добавлены с помощью BIOMEK NX в ячейки, содержащие клеточную суспензию в среде СБ2 (конечные концентрации: серотонин — 10 нМ, ДМСО — 0,32 %, IBMX — 500 мкМ). Каждая плашка, кроме того, содержала наборы разных концентраций серотонина и цАМФ для посторения калибровочных кривых. После 2 ч инкубации со смесями серотонин/тест-соединение, клетки обрабатывали в соответствии с протоколом, прилагаемым к набору cAMP LANCE (PerkinElmer, Waltham, MA). LANCE сигнал измеряли с помощью мультимодального плашечного ридера VICTOR 3 (PerkinElmer, Waltham, MA), используя встроенный алгоритм для LANCE детекции.

Обработка кривых и статистический анализ. Зависимости клеточных ответов на серотонин в присутствии разных концентраций тест-соединений и вычисления концентраций полумаксимального ингибирования (IC_{50}) проводили на основе 4-параметрического уравнения, используя Prism 5 (Graph-Pad, CA). Все эксперименты проводили в дубликатах. Стандартные отклонения (SD) рассчитывались с помощью встроенного в Prism статистического анализа.

Определение констант ингибирования (K_i). Величины K_i для блокирования 5-HT₆ рецепторов в функциональном тесте вычисляли с помощью модифицированного уравнения Ченг-Пруссова [31]: $K_i = IC_{50} / (1 + [Ag] / EC_{50})$, где IC_{50} — концентрация антагониста, вызывающая 50 % блокаду вызванного серотонином клеточного ответа; $[Ag]$ — концентрация серотонина (10 нМ), при которой измерялась клеточная реакция, и EC_{50} — концентрация серотонина, вызывающая 50 % от максимального клеточного сигнала, вычисляемая по калибровочной серотониновой кривой. По данным 4 независимых экспериментов, проведенных в различные дни в 4–5 повторностях (разные плашки, измеряемые каждый день), средняя величина EC_{50} в 5-HT₆-НЕК клетках была равна $1,91 \pm 0,13$ нМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. F. J. Monsma, Y. Shen, R. P. Ward, et al., *Mol. Pharmacol.*, **43**, 320–327 (1993).
2. C. D. Unsworth, P. B. Molinoff, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **269**, 246–255 (1994).
3. R. Kohen, M. A. Metcalf, N. Khan, et al., *J. Neurochem.*, **66**, 47–56 (1996).
4. R. A. Glennon, *J. Med. Chem.*, **46**, 2795–2812 (2003).
5. D. Macauley, *American Chemical Society-239th national meeting-Investigating new therapeutic candidates*, part 1, 21–25 March 2010, San Francisco, CA, USA; *Drugs*, **13**(5), 289–291 (2010).
6. <http://www.avineuro.com/avineuro-pharmaceuticals-inc-reports-positive-phase-i-clinical-trial-results-on-avn-322-potent-small-molecule-for-treatment-of-alzheimer's-disease> (date of access-4/13/2011)
7. Thomson Reuters Drug News. December 1, 2009. Lu AE58054 added to donepezil for the treatment for moderate Alzheimer's disease (NCT01019421) ClinicalTrials.gov Web Site 2009, November 30.
8. <http://www.avineuro.com/avineuro-pharmaceuticals-inc-reports-positive-phase-2a-clinical-proof-of-concept-trial-results-on-avn-211-potent-small-molecule-for-treatment-of-schizophrenia> (date of access — 4 / 13 / 2011)
9. G. Maher-Edwards, R. Dixon, J. Hunter, et al., *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, 24 Sep. (2010). DOI:10.1002 / gps.2562.
10. <http://www.lundbeck.com/investor/releases/ReleaseDetails/Release1412413EN.asp> (date of access — 4 / 13 / 2011)
11. A. J. Sleight, F. G. Boess, M. Bös, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **124**, 556–562 (1998).
12. Y. Tsai, M. Dukat, A. Slassi, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **10**, 2295–2299 (2000).
13. R. A. Glennon, M. Lee, J. B. Rangisetty, et al., *J. Med. Chem.*, **43**, 1011–1018 (2000).
14. J. Holenz, P. J. Pauwels, J. L. Díaz, et al., *Drug Discovery Today*, **11**(7/8), 283–299 (2006).
15. K. G. Liu, A. J. Robichaud, *Drug Devel. Res.*, **70**, 145–168 (2009).
16. S. L. Davies, *Drug Future*, **30**, 479–495 (2005).
17. D. J. Heal, S. L. Smith, A. Fisas, et al., *Pharmacology & Therapeutics*, **117**, 207–231 (2008).
18. A. V. Ivachtchenko, Y. A. Ivanenkov, S. E. Tkachenko, *Expert Opin Ther. Pat.*, **20**, 1171–1196 (2010).
19. M. L. López-Rodrigues, B. Benhamú, T. de la Fuente, et al., *J. Med. Chem.*, **48**, 4216–4219 (2005).
20. W. J. Geldenhuys, C. G. Van der Schyf, *Carr. Top. Med. Chem.*, **8**, 1035–1048 (2008).
21. W. D. Hirst, *33rd Annu. Meet., Soc. Neurosci*, Nov. 8–12, New Orleans (2003).
22. J. Berger, R. D. Clark, S-H. Zhao, WO / 2003 / 095434 (2003); <http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?WO=2003095434&IA=EP2003004671&DISPLAY=STATUS> (accessed 10 / 26 / 2010).
23. N. Upton, T. T. Chuang, A. J. Hunter, D. J. Virley, *Neurotherapeutics*, **5**, 458–469 (2008).
24. M. Boes, C. Riemer, H. Stadler, Eur. Pat. Appl. EP941994 (1999).
25. S.-H. Zhao, J. Berger, R. D. Clark, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **17**, 3504–3507 (2007).
26. A. V. Ivachtchenko, D. E. Dmitriev, E. S. Golovina, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **20**, 2133–2136 (2010).
27. A. V. Ivachtchenko, E. S. Golovina, M. G. Kadieva, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **46**, 1189–1197 (2011).
28. A. V. Ivachtchenko, E. S. Golovina, M. G. Kadieva, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 1482–1491 (2011).
29. A. V. Ivachtchenko, D. E. Dmitriev, E. S. Golovina, et al., *J. Med. Chem.*, **53**, 5186–5196 (2010).
30. M. R. Pullagurla, T. Bondareva, R. Young, R. A. Glennon, *Bioorg. Med. Chem. Let.*, 5298–5302 (2005).
31. Y. Cheng, W. H. Prusoff, *Biochem Pharmacol.*, **22**, 3099–3108 (1973).

Поступила 18.05.11

SEROTONIN 5-HT₆ RECEPTOR ANTAGONISTS: II. 3-(ARYLSULFONYL)-2-(METHYLTHIO)PYRAZOLO[1,5-a]PYRIMIDINES WITH AMINO-GROUP-CONTAINING SUBSTITUENTS IN POSITION 6. SYNTHESIS AND STRUCTURE – ACTIVITY RELATIONSHIP

A. V. Ivashchenko^{1,2*}, E. S. Golovina¹, M. G. Kadieva¹, V. M. Kisil², O. D. Mit'kin¹, and I. M. Okun²

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

² ChemDiv Inc., 6605 Nancy Ridge Drive, 92121 San Diego, CA, United States;

* e-mail: mod@chemdiv.com

3-Arylsulfonyl-2-(methylthio)pyrazolo[1,5-a]pyrimidines with amino-group-containing substituents in position 6 have been synthesized and the relationship between their structure and antagonist activity with respect to serotonin 5-HT₆ receptors has been studied. It is established that the most active picomolar ligands are 2-(methylthio)-3-(phenylsulfonyl)- and 2-(methylthio)-3-(3-chlorophenylsulfonyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-6-amines, the activity of which is comparable to this of the previously described 3-(arylsulfonyl)-2-(methylamino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-6-amines, 3-(arylsulfonyl)-2-(methylamino)- and 3-(arylsulfonyl)-2-(methylthio)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-amines.

Key words: Pyrazolopyrimidines, substituents, serotonin 5-HT₆ receptors, antagonists, structure – activity relationship, pharmacophore model