

**БИОАКТИВНЫЕ АЗОЛИПИРИДИНЫ И МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ
С ИЗОТИАЗОЛЬНЫМИ И ПИРИДИНОВЫМИ ЛИГАНДАМИ**

Поткин В.И., Колесник И.А., Акишина Е.А., Хадарович А.А., Дубойская А.В.

Поткин В.И.

*Доктор химических наук, профессор, академик НАН Беларуси,
заведующий лабораторией химии гетероциклических соединений
Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
potkin@ifoch.bas-net.by*

Колесник И.А.

*Кандидат химических наук, старший научный сотрудник
лаборатории химии гетероциклических соединений
Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
irynakolesnik93@gmail.com*

Акишина Е.А.

*Научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соединений
Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
akishinaea@ifoch.bas-net.by*

Хадарович А.А.

*Младший научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соедине-
ний Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
artem.hadarovich@gmail.com*

Дубойская А.В.

*Студентка Химического факультета
Белорусского государственного университета
anastasiadubojaska4@gmail.com*

Разработаны эффективные подходы к синтезу функционализированных производных пиридина, в которых пиридиновый фрагмент связан с изоксазольным, изотиазольным или оксадиазольным гетероциклами. Получены комплексы меди (II) с дихлоризотиазол-3-карбоновой кислотой и N-донорными лигандами, содержащими пиридиновый гетероцикл. В ряду синтезированных веществ выявлены представители с высокой противоопухолевой активностью. Для оксадиазолилпиридинов выполнен молекулярный докинг и определены сайты связывания с белковыми мишенями.

Ключевые слова: пиридины; изоксазолы; изотиазолы; оксадиазолы; противоопухолевая активность; молекулярный докинг.

BIOACTIVE AZOLYL PYRIDINES AND METAL COMPLEXES WITH ISOTHIAZOLE AND PYRIDINE LIGANDS

Potkin V.I.

Doctor of Sciences (Chemistry), Professor, Academician of the National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Laboratory of Chemistry of Heterocyclic Compounds Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
potkin@ifoch.bas-net.by

Kolesnik I.A.

*PhD (Chemistry), Senior Researcher
Laboratory of Chemistry of Heterocyclic Compounds
Institute of Physical Organic Chemistry of
the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*
irynakolesnik93@gmail.com

Akishina E.A.

Researcher, Laboratory of Heterocyclic Chemistry Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
akishinaea@ifoch.bas-net.by

Khadarovich A.A.

Junior Researcher, Laboratory of Heterocyclic Chemistry, Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
artem.hadarovich@gmail.com

Duboiskaya A.

*Student of the Chemical Department
Belarusian State University*
anastasiadubojskaa4@gmail.com

Efficient approaches to the synthesis of functionalized pyridine derivatives with pyridine moiety linked to isoxazole, isothiazole, or oxadiazole heterocycles have been developed. Copper(II) complexes with dichloroisothiazole-3-carboxylic acid and N-donor ligands containing a pyridine heterocycle were obtained. Among the synthesized compounds, representatives with high antitumor activity were identified. Molecular docking was performed for oxadiazolylpyridines, and their binding sites with protein targets were identified.

Key words: *pyridines; isoxazoles; isothiazoles; oxadiazoles; antitumor activity; molecular docking.*

Гетероциклические соединения составляют самую многочисленную группу среди медицинских субстанций. В их ряду широко представлены производные пиридина, а также азолов (изоксазолов, изотиазолов, оксадиазолов и др.), которые являются привилигированными скаффолдами для конструирования биологически активных молекул. Пиридиновый, изоксазольный, изотиазольный и оксадиазольный гетероциклы входят в структуры молекул аналептических, анти-

гистаминных, антигипертензивных, антибактериальных, антиоксидантных, антистрессовых, иммуномодулирующих, противовирусных и противоопухолевых средств [1-3]. Примерами являются антибиотики сульфаметоксазол, сульфизоксазол, оксациллин, противовоспалительные препараты валдекоксиб и лефлуномид, антипсихотики палиперидон, зипразидон, пероспирон и другие. Функциональное окружение гетероцикла имеет большое значение в регулировании биологической активности вещества, поэтому одной из стратегий в разработке новых лекарственных средств, является целенаправленное формирование экзофункциональности гетероциклических молекул с использованием как данных биоскрининга, так и компьютерного моделирования для установления связи структура – активность.

За последние годы разработано большое количество новых фармацевтических препаратов, однако к ряду медицинских субстанций, используемых в клинической практике, развивается множественная лекарственная устойчивость, и обнаруживаются побочные эффекты, сопровождающие их применение. Комбинация двух или более фармакофоров в одной молекуле стала многообещающей стратегией в исследованиях по созданию лекарственных средств. Гибридные противоопухолевые препараты представляют большой терапевтический интерес, поскольку они действуют на разные мишени и потенциально могут преодолеть большинство фармакокинетических недостатков, с которыми сталкиваются обычные терапевтические препараты.

Целью наших работ является синтез функционализированных азагетероциклических соединений, содержащих в одной молекуле фармакофорные пиридиновый и азольный гетероциклы, каждый из которых характеризуется высоким потенциалом биологического действия. Нами разработаны удобные эффективные подходы к конструированию азольных гетероциклов на основе доступного трихлорэтилена. Маршрут синтеза включает несколько легко масштабируемых последовательных стадий, не требующих особых условий и труднодоступных дорогих реактивов (схема 1).

В случае изоксазола это радикальная дегидродимеризация трихлорэтилена, алкоголиз димера с получением трихлорбутеновой кислоты, ацилирование аренов ее хлорангидридом по Фриделю-Крафтсу и гетероциклизация в изоксазольную систему по реакции с гидросиламином, приводящая к 5-арилизоксазолу с оксимной группой в положении 3 (путь А, схема 1). Конструирование изотиазольного гетероцикла включает дегидрохлорирование димера трихлорэтилена, нитрование образующегося 2*H*-пентахлорбутадиена и последующую высокотемпературную гетероциклизацию 2-нитропентахлор-1,3-бутадиена под действием элементарной серы с образованием 4,5-дихлор-3-трихлорметилизотиазола (путь В, схема 1). Дальнейший синтез целевых производных изоксазолов и изотиазолов, в том числе, их конъюгатов с пиридинами и оксадиазолами включал реакции с участием реакционноспособных экзоциклических заместителей.

Одним из наиболее распространенных подходов к формированию дигидропиридинового цикла является реакция Ганча, которая в классическом виде представляет собой конденсацию альдегидов и β -дикарбонильных соединений в присутствии аммиака или аммонийных солей. Изоксазоллил-3-карбальдегиды

получали трансформацией оксимной группы в положении 3 изоксазольного гетероцикла под действием 20%-ной серной кислоты в присутствии параформа. 4,5-Дихлоризотиазол-3-карбальдегид получали трансформацией трихлорметильной группы 3-трихлорметилдихлоризотиазола путем первоначального гидролиза в карбоксильную, с последующим коостановлением диметилсульфидным комплексом борана и окислением образующегося спирта диоксидом марганца.

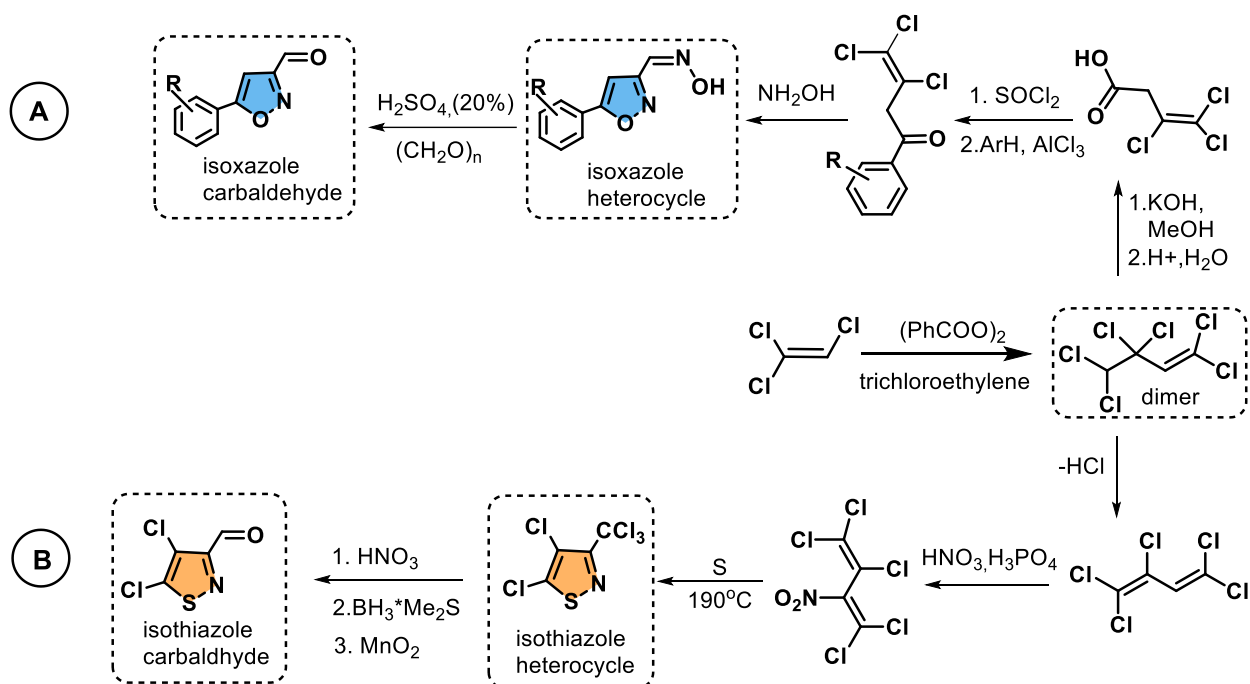


Схема 1

Конденсация 5-арилизоксазолил- и 4,5-дихлоризотиазо-3-карбальдегидов с ацетилацетоном (или ацетоуксусным эфиром) и ацетатом аммония в соотношении 5 : 11 : 11 в этаноле приводила к образованию симметрично замещенных производных 4-азолил-1,4-дигидропиридина. Синтез несимметрично замещенных 4-азолил-1,4-дигидропиридинов проводили в две стадии. Вначале по реакции Кневенагеля осуществляли конденсацию азолил-3-карбальдегидов с ацетилацетоном или ацетоуксусным эфиром, в результате которой получали соответствующие β -дикарбонильные конъюгаты. В случае ацетоуксусного эфира реакцию предпочтительнее проводить в изопропанол, а конденсацию с ацетилацетоном – в трет-бутаноле (схема 2).

Взаимодействием полученных β -дикарбонильных конъюгатов с 3-этиламино-критоноатом были синтезированы 3,5-несимметрично замещенные 4-азолилдигидропиридины. Окисление дигидропиридинов нитритом натрия приводило к соответствующим полизамещенным 4-азолилпиридинам (схема 2).

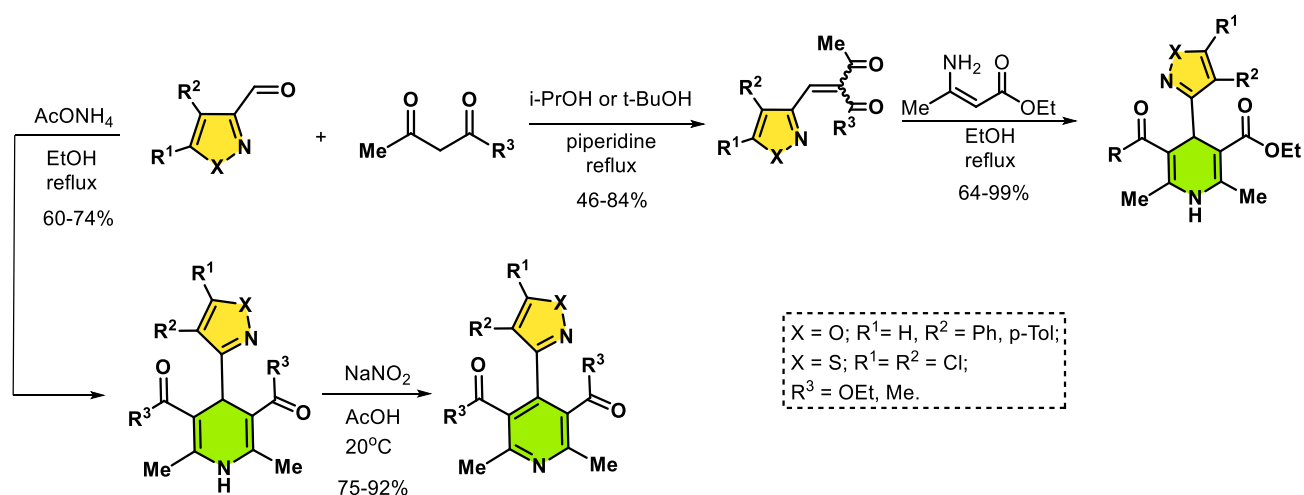


Схема 2

Десять представителей синтезированных производных 4-(5-арилзоксазол-3-ил)-пиридинов и 1,4-дигидропиридинов прошли биотестирование на клеточных линиях меланомы SK-MEL-28, карциномы легких NCI-H460, аденокарциномы DU-145 и HS-5. Оценивали *in vitro* % гибели клеток через 72 ч (Таблица 1). Оказалось, что все вещества обладают высоким цитотоксическим действием. Трансформация дигидропиридинового гетероцикла в пиридиновый, как и замена фенильного фрагмента на *n*-толильный, как правило, приводила к снижению цитотоксической активности. Вместе с тем, приведенных данных недостаточно, чтобы заявлять об установлении взаимосвязи структура-активность. Можно лишь утверждать, что полученные соединения представляют интерес для дальнейшего исследования в качестве перспективных противоопухолевых субстанций.

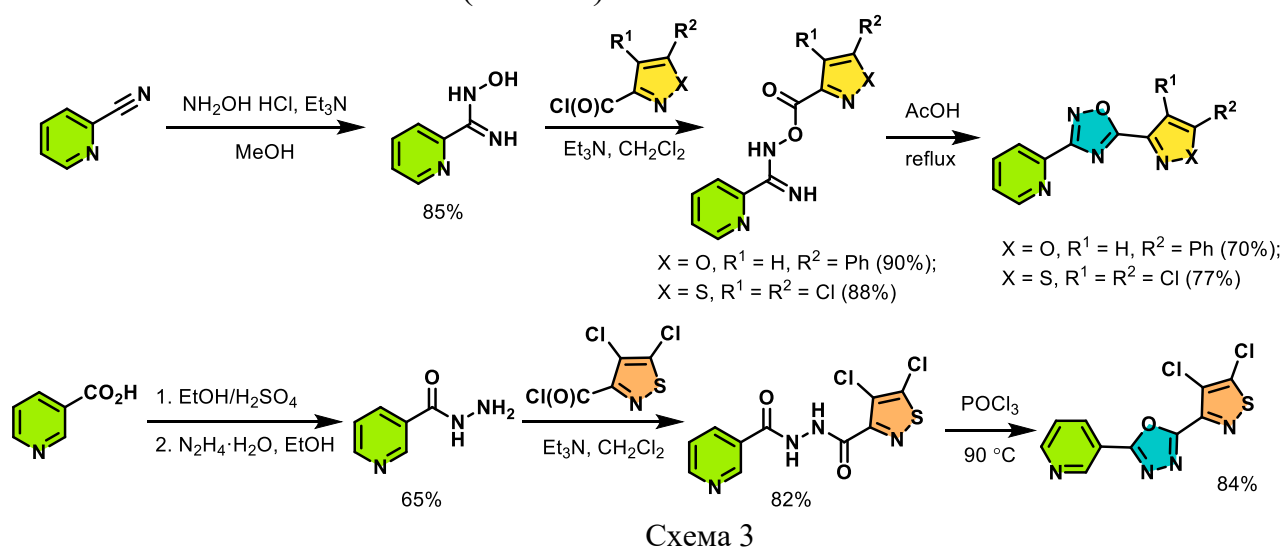
Таблица 1

Результаты испытаний противоопухолевой активности производных 4-(5-арилзоксазол-3-ил)-пиридинов и 1,4-дигидропиридинов

Структура	Клеточная линия	% гибели клеток	Структура	Клеточная линия	% гибели клеток
	SK-MEL-28	100		SK-MEL-28	100
	NCI-H460	100		NCI-H460	95
	DU-145	100		DU-145	100
	HS-5	100		HS-5	100
	SK-MEL-28	98		SK-MEL-28	82
	NCI-H460	100		NCI-H460	100
	DU-145	93		DU-145	86
	HS-5	100		HS-5	100
	SK-MEL-28	72		SK-MEL-28	79
	NCI-H460	86		NCI-H460	95
	DU-145	82		DU-145	80
	HS-5	100		HS-5	100

	SK-MEL-28 NCI-H460 DU-145 HS-5	92 100 79 100		SK-MEL-28 NCI-H460 DU-145 HS-5	100 100 100 73
	SK-MEL-28 NCI-H460 DU-145 HS-5	100 76 88 81		SK-MEL-28 NCI-H460 DU-145 HS-5	84 100 88 49

На основе азолил-3-карбонилхлоридов, пиколинонитрила и никотиновой кислоты нами синтезированы полициклические пиридино-2,4- и 3,4-оксадиазолилзоксазолы и -изотиазолы (схема 3).



С использованием МТТ-тестов оценен противораковый потенциал полученных изоксазолил(изотиазолил)пиридилзамещенных 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазолов на клеточных линиях рака шейки матки человека и глиомы крысы С6. Наиболее выраженный ингибирующий эффект был обнаружен в отношении глиомы С6. С использованием процедуры молекулярного докинга было показано, что синтезированные производные оксадиазола обладают значительным потенциалом для ингибирования взаимодействия с белковыми сайтами НА-CD44.

Совместно с новосибирскими коллегами из Института неорганической химии СО РАН, Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала Института цитологии и генетики, СО РАН, Института молекулярной биологии и биофизики СО РАН и Новосибирского государственного университета синтезированы смешанные комплексы меди (II) с N-донорными лигандами и дихлоризотиазол-3-карбоновой кислотой. В качестве N-донорных лигандов были выбраны 1,10-фенантролин и 4,7-диметил-1,10-фенантролин. Смешанные комплексы меди(II) с лигандами ряда 1,10-фенантролина и родственных соединений представляют интерес благодаря высокому потенциалу биологического действия.

Синтез комплексов осуществляли смешением эвимолярных количеств водного раствора ацетата меди и этанольных растворов лигандов (схема 4). Выход комплекса в случае фенантролина составлял 73%, в случае диметилфенантролина - 41%. Их структура определена методом рентгено-структурного анализа монокристаллов. Изотиазольные лиганды связаны с атомами меди атомами кислорода карбоксильной группы и атомом азота одного из изотиазольных гетероциклов. Фенантролиновый лиганд координирован к атому меди хелатным способом через атомы азота.

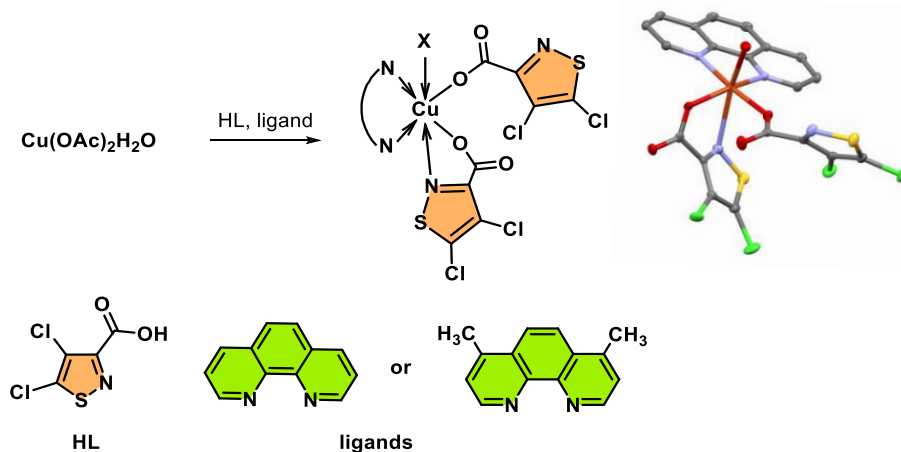


Схема 4

Все комплексы были протестированы *in vitro* на цитотоксическую активность в отношении клеточных линий карциномы гортани человека Нер-2 и аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. Выявлен значительный дозозависимый цитотоксический эффект. Наиболее цитотоксичным оказался изотиазолил-диметилфенантролиновый комплекс [Cu(dmphen)L₂], где L – 4,5-дихлоризотиазол-3-карбоксилатный анион, для которого минимальная ингибирующая концентрация IC₅₀ (μM) составляла 0,97 ± 0,03 на клеточной линии Нер-2 и 1.8 ± 0.3 на клеточной линии MCF-7. Для препаратов первой линии цисплатина и карбоплатина соответствующие значения составляют 9.2 ± 0.5 (Нер-2) и 33.7 ± 1.8.2 (MCF-7) в случае цисплатина и 16.8 ± 0.2 (Нер-2) и 38.9 ± 2.0 (MCF-7) в случае карбоплатина. Таким образом, по данным тестирования *in vitro* цитотоксическая активность новых комплексов меди выше, чем протокольных препаратов, что делает их перспективными для дальнейшего углубленного исследования.

Список литературы

1. Chiacchio, M.A., Iannazzo D., Romeo R., Giofrè S.V., Legnani L. Pyridine and Pyrimidine Derivatives as Privileged Scaffolds in Biologically Active Agents // *Curr. Med. Chem.*, 2019, vol. 26, N 40, p. 7166-7195.
2. Krishna Veni Chikkula, Raja, S Isoxazole – a potent pharmacophore // *Int. J. Pharm. & Pharm. Sci.* 2017, vol. 9, N 7, p. 13-24.
3. Potkin V.I., Kletskov A.V. and Zubkov F.I. Isothiazoles. In: Black, David StC, Cossy, Janine and Stevens, Christian V., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV*. Oxford: Elsevier. 2022, vol. 4, pp. 482-529.