

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА»**

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Красновская Ольга Олеговна



**СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ Co(II), Cu(II), Cu(I) НА ОСНОВЕ
ИМИДАЗОЛИН-4-ОНОВ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

02.00.03 – органическая химия

02.00.16 – медицинская химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научные руководители:
проф., д.х.н. Белоглазкина Е.К.
доц., д.х.н. Мажуга А.Г.

Москва – 2016

Оглавление

| | | |
|-------|--|----|
| | Оглавление | 2 |
| | Введение | 5 |
| 1. | Обзор литературы. Координационные соединения меди как противоопухолевые терапевтические агенты | 9 |
| 1.1 | Введение | 9 |
| 1.2 | Типы координационных соединений меди | 11 |
| 1.2.1 | S-донорные системы | 11 |
| 1.2.2 | O-донорные системы | 15 |
| 1.2.3 | N,O-донорные системы | 18 |
| 1.2.4 | N-донорные системы | 19 |
| 1.3 | Механизмы действия и предполагаемые биомишени | 30 |
| 1.3.1 | Координационные соединения меди как ДНК – оперирующие агенты | 30 |
| 1.3.2 | Координационные соединения меди как ингибиторы топоизомераз I,II | 31 |
| 1.3.3 | Координационные соединения меди – ингибиторы протеасом | 32 |
| 1.4 | Исследования in vivo | 33 |
| 1.4.1 | Доклинические испытания препаратов Casiopeínas | 38 |
| 2. | Обсуждение результатов | 41 |
| 2.1 | Синтез производных 2-тиогидантоинов | 42 |
| 2.1.1 | Синтез 2-тиогидантоинов с алкильными и арильными заместителями в 3 положении | 42 |
| 2.1.2 | Синтез 3-замещенных 5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиогидантоинов | 42 |
| 2.1.3 | Алкилирование производных 2-тиогидантоинов | 45 |
| 2.2 | Получение производных 2-аминоимидазолин-4-онов | 46 |
| 2.2.1 | Получение 2-аминоимидазолин-4-онов из S-метилированных производных | 47 |
| 2.3 | Синтез производных 2-тиогидантоинов, содержащих векторный фрагмент | 50 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 2.3.1 | Синтез модельных соединений с углеводными фрагментами | 54 |
| 2.3.2 | Синтез векторных фрагментов | 54 |
| 2.3.3 | Проведение клик-реакций с углеводными векторами | 55 |
| 2.4 | Получение координационных соединений | 59 |
| 2.5 | Электрохимическое исследование полученных лигандов и координационных соединений | 73 |
| 2.6 | Изучение биологической активности координационных соединений | 77 |
| 2.7 | Исследование механизма действия координационных соединений | 78 |
| 2.7.1 | Исследование распределения координационных соединений в клеточном объеме | 78 |
| 2.7.2 | Исследование механизма цитотоксичности координационного соединения 35a | 80 |
| 2.8 | Исследования in vivo | 84 |
| 2.8.1 | Исследования распределения координационного соединения 35a в организме мыши | 84 |
| 2.8.2 | Доклинические исследования координационного соединения 35a | 87 |
| 3. | Экспериментальная часть | 88 |
| 4. | Выводы | 135 |
| 5. | Список литературы | 136 |

Введение

На сегодняшний день онкологические заболевания являются одной из магистральных проблем современной медицины. Поиск препаратов, обладающих противоопухолевой активностью – одна из основных задач современной медицинской химии.

Одной из важнейших проблем при терапии опухолевых заболеваний является токсичность терапевтических агентов. Широко используемые в клинической практике доксорубицин, цисплатин, метотрексат обладают низкой селективностью по отношению к здоровым тканям, что приводит к тяжелым побочным эффектам, необходимости снижать терапевтические дозы препаратов и, как следствие, развитию резистентности к терапии. На сегодняшний день известно несколько сотен эффективных терапевтических агентов, применяемых при различных злокачественных патологиях, и практически все применяемые в клинической практике препараты являются высокотоксичными и неселективными. Таким образом, за последнее десятилетие наряду с задачей поиска новых противоопухолевых препаратов возникла задача повышения селективности и снижения токсичности уже используемых терапевтических агентов, а также поиска стратегий синтеза селективных по отношению к опухолевым тканям препаратов.

Один из путей снижения общей токсичности противоопухолевых препаратов – это введение в молекулу фрагмента, отвечающего за направленную доставку терапевтического агента к опухолевым клеткам. Повышение селективности к опухолевым тканям возможно несколькими путями: путем повышения аффинности препарата к фолатному [1] или биотинному [2] рецептору, экспрессирующимся на поверхности большинства опухолей, введения в структуру препарата пептидных фрагментов, аффинных к интегринам, экспрессия которых повышена на поверхности некоторых опухолей, а также связана с процессом ангиогенеза и метастазирования [3], а также синтез препаратов, содержащих специфические антитела, способные распознавать опухолевые клетки [4].

Цисплатин, несмотря на его нейро- и нефротоксичность [5], является одним из наиболее эффективных препаратов для лечения некоторых типов рака. Предполагается, что противоопухолевые препараты на основе эндогенных металлов (Co, Cu, Zn, Fe) будут менее токсичны по сравнению с платиновыми аналогами. В последние годы увеличилось число публикаций, связанных с разработкой новых типов неплатиновых металлосодержащих лекарств с целью получения соединений, действующих по

альтернативному механизму, и, следовательно, обладающих низкой токсичностью и широким спектром действия.

Медь - важный микроэлемент, который играет центральную роль в биохимии и физиологии каждого живого организма [6]. Медь необходима для нормальной клеточной активности в качестве кофактора во многих ферментах. В настоящее время активно исследуются комплексы меди, обладающие цитотоксической активностью, в условиях *in vitro* и *in vivo*. Наибольшее внимание ученых привлекают комплексы на основе бис-тиосемикарбазонов [7] и смешаннолигандные комплексы на основе фенантролина и аминокислот [8].

Кобальт, один из основных компонентов витамина B12, регулирующего синтез ДНК, играет важную роль во многих биологических процессах [9]. Координационные соединения Co(II) обладают противомикробной [10], противогрибковой [11], противовирусной [12], противоопухолевой [13] активностью.

Производные 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов (2-тиогидантоинов), 2-алкилтиоимидазолин-4-онов (2-алкилтиогидантоинов), 2-аминоимидазолин-4-онов имеют широкий спектр применения и разнообразную фармакологическую активность. Анализ литературных данных показывает, что производные имидазолин-4-онов обладают противоопухолевой [14, 15], антималярийной [16], иммуномодулирующей [17], анти-ВИЧ [18] антибактериальной [19], противомикробной [20] активностью.

Данная работа посвящена синтезу координационных соединений кобальта и меди с лигандами ряда 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов, в том числе содержащих векторные фрагменты, потенциально обладающих противоопухолевой активностью.

Актуальность темы. Открытие цисплатина в 1965 году привело к разработке широкого спектра металлосодержащих препаратов для терапии злокачественных новообразований. Успех в клинической практике цисплатина и его производных сделал химию координационных соединений одним из перспективных направлений медицинской химии. Однако, применение платиносодержащих препаратов ограничено дозозависящими побочными эффектами, а также наследственной или приобретенной устойчивостью к терапии. Предполагается, что координационные соединения на основе эндогенных металлов, таких как Cu(II), Co(II), Zn(II), Fe(II) будут менее токсичными по сравнению с платиновыми аналогами.

Известно, что свойства координационных соединений сильно зависят от природы и типа лигандного окружения, координирующего ион металла. Производные имидазолин-4-

онов являются перспективными лигандами для получения биологически активных координационных соединений, в связи с их разнообразной фармакологической активностью.

Таким образом, разработка методов получения координационных соединений на основе функционализированных производных 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов, а также исследование их физико-химических свойств и биологической активности, является актуальной задачей.

Цели и задачи работы. (1) Разработка синтетических подходов к получению производных 2-аминоимидазолин-4-онов; (2) Получение серии координационных соединений Cu(II), Cu(I), Co(II) с органическими лигандами - ряда 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов; (3) Исследование биологической активности координационных соединений Cu(II), Cu(I), Co(II) с лигандами указанных структурных типов *in vitro* и *in vivo*. (4) Установление механизма цитотоксичности препаратов на основе медь- и кобальтсодержащих производных 2-тиогидантоинов.

Научная новизна Предложены новые и оптимизированы известные методы направленного синтеза 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов. Исследованы координационные свойства ряда 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов.

Показана цитотоксичность координационных соединений на 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов.

Впервые исследовано внутриклеточное распределение координационного соединения Cu(II),(I) на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов.

Впервые изучено биораспределение координационные соединений Co(II) на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, в организме мыши.

Практическая значимость Впервые проведены click-реакции производных 2-алкилтио-5-(пиридилметилени)имидазолин-4-онов.

Предложен метод синтеза 2-аминоимидазолин-4-онов на основе реакций 2-алкилтио-5-пиридилметиленимидазолин-4-онов с вторичными аминами в присутствии каталитических количеств трифлата иттербия (III).

Показано, что конъюгат координационного соединения Co(II) на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-она с меченным флуоресцентной меткой олигонуклеотидом проникает через клеточную мембрану, что делает его перспективным для доставки терапевтических олигонуклеотидов.

Показана способность биядерного координационного соединения Cu(II),(I) на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-она проникать сквозь клеточную мембрану и накапливаться в клеточном ядре. Данный результат открывает возможности для получения селективных ДНК – взаимодействующих препаратов.

На защиту выносятся следующие положения:

- Оптимизированные подходы к получению 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов. Результаты изучения физико-химических свойств и биологической активности полученных лигандов.
- Новые подходы к синтезу лигандов и координационных соединений на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих векторные фрагменты, отвечающие за направленную доставку к опухолевым клеткам печени и молочной железы.
- Новые и оптимизированные подходы к получению 2-аминоимидазолин-4-онов. Результаты изучения физико-химических свойств и биологической активности полученных лигандов.
- Оптимизированные подходы к синтезу координационных соединений Cu(II), (I), Co(II) на основе 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов. Результаты изучения физико-химических свойств и биологической активности полученных координационных соединений.

Апробация работы

Результаты работы докладывались I и II Всероссийской научной конференции «Успехи синтеза и комплексообразования», Москва, Россия, 2012 и 2014; кластере конференции по органической химии «Оргхим-2013», Санкт-Петербург, Россия, 2013; VI молодежной конференции ИОХ РАН, Москва, Россия, 2014; международном конгрессе «Кост-2015», Москва, Россия, 2015; VI международной конференции по гетероциклической и биоорганической химии «Bioheterocycles-2015», Метц, Франция, 2015; VIII Российской конференция по радиохимии «Радиохимия 2015», Железногорск, Россия, 2015.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 3 статьи (в журналах из списка ВАК и/или WOS), 11 тезисов докладов.

1. Обзор литературы.

Координационные соединения меди как противоопухолевые терапевтические агенты

1.1 Введение

Координационные соединения на основе металлов использовались в качестве лекарственных препаратов с самых ранних этапов развития фармакологии. С момента открытия в 1965 году цисплатина было синтезировано и испытано в качестве клинически эффективных противоопухолевых препаратов большое количество координационных соединений на основе металлов, таких как платина, рутений, золото или медь [21]. В настоящее время описан ряд цитостатических комплексов металлов, причем наиболее перспективные соединения находятся на стадии доклинических и клинических испытаний.

Цисплатин, в настоящее время использующийся в клинической практике, обладает широким спектром тяжелых побочных эффектов, включая нефро- и нейротоксичность. Это стимулирует поиск альтернативных подходов к лечению опухолевых заболеваний с использованием более селективных и менее токсичных координационных соединений различных металлов. Предполагается, что эндогенные металлы обладают меньшей токсичностью по отношению к здоровым клеткам; поэтому была протестирована противоопухолевая активность ряда медьсодержащих координационных соединений, и получены обнадеживающие результаты [22].

Медь входит в состав ферментов большинства аэробных организмов и задействована в ряде метаболических путей [23]. Многие медь-зависимые ферменты, такие как супероксиддисмутаза, цитохром С-оксидаза, дофамин б-монооксигеназа участвуют в нейтрализации активных форм кислорода [21]. Тем не менее, медь может быть токсичной по причине окислительно-восстановительной активности и сродства к сайтам связывания, которые должны быть заняты другими металлами. Измененный метаболизм опухолевых клеток и отличающаяся от нормальных клеток реакция на ионы меди являются основой для разработки координационных соединений меди с противоопухолевыми свойствами.

Во многих ex-vivo опухолевых тканях (простата, молочная железа, легкие, мозг), концентрация меди превосходит среднее значение в нормальных тканях [24]. Так, в сыворотке крови пациентов с опухолями молочной железы уровень меди может достигать 1.67 мг/мл, что значительно превышает нормальное значение 0.98 мг/мл [25]. Однако, детально механизмы накопления меди в опухолевых тканях неизвестны. Существует

мнение, что они связаны с важной ролью меди в ангиогенезе – критичном процессе для роста опухоли и метастазирования [26].

В последние годы значительно возрос интерес к координационным соединениям меди в качестве противоопухолевых препаратов (Рис. 1):

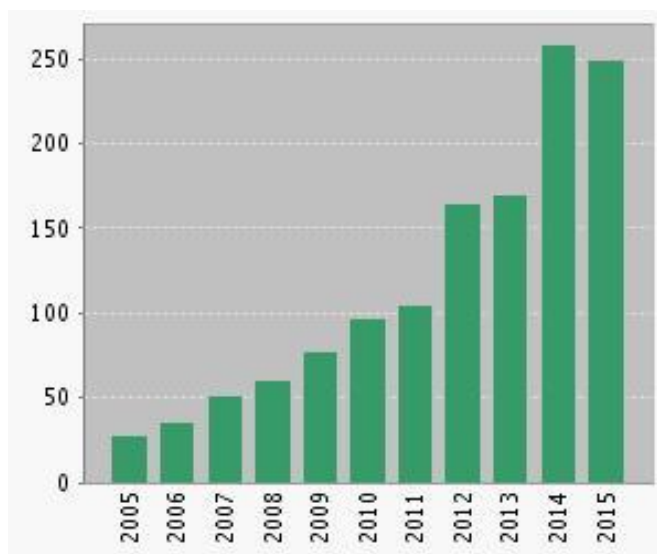


Рис. 1. Число публикаций, посвященных противоопухолевым препаратам – координационным соединениям меди (по данным Web of Science)

Несмотря на то, что большое количество медьсодержащих комплексов было предложено в качестве перспективных цитотоксичных соединений на основе инвитро-анализа, данные о механизмах действия подобных соединений крайне малочисленны.

Медь образует координационные соединения в степенях окисления +2 и +1, и редко +3 [27]. Наиболее развита координационная химия соединений Cu(II). Поскольку координационные соединения меди (I/II) являются редокс-активными, часто лабильными и в ряде случаев образуют нетипичные координационные полиэдры, они намного менее структурно предсказуемы, чем другие переходные металлы. Медь(I) обычно предпочитает лиганды с мягкими донорными атомами (P, S, тиоэфирная S и ароматические амины). Чаще всего координационные соединения меди(I) обладают тетраэдрической геометрией, хотя известны двухкоординированные линейные комплексы, а также комплексы с треугольной геометрией. Для меди(II) координационное число меняется от 4 до 6, включая плоско-квадратную, треугольно-бипирамидальную и октаэдрическую геометрии. Такое разнообразие геометрий позволяет использовать широкий спектр лигандов (от моно- до гексадентатных) и донорных атомов (N, O, S, галогены). Окислительно-восстановительный потенциал физиологически доступной пары Cu(I)/Cu(II) может значительно изменяться в зависимости от лигандного окружения,

набора донорных атомов, геометрии, электронных и стерических эффектов заместителей, хелатирования [28].

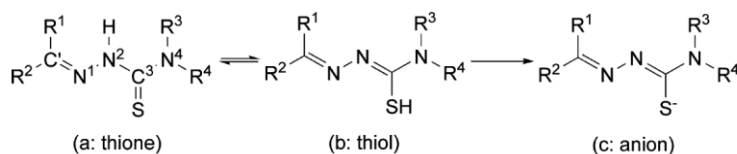
В обзоре литературы описаны координационные соединения меди (II) с противоопухолевой активностью, сгруппированные в соответствии с типом лигандов.

1.2 Типы координационных соединений меди

1.2.1 S-донорные системы

1.2.1.1 Тиосемикарбазоны

Данный класс лигандов имеет общую формулу $R^1R^2C=N-NH-(C=S)-NR^3R^4$. Тиосемикарбазоны существуют в виде таутомерных тионной и тиольной форм и могут связываться с атомом металла в форме тиона или тиолят-аниона:



Изучение различной биологической активности производных тиосемикарбазонов привело к рассмотрению их как потенциальных противоопухолевых агентов [29]. Модификация положения N5 и/или C4 тиосемикарбазона приводит к увеличению противоопухолевой активности [30]. Также известно, что биядерные комплексы меди обладают более высокой биологической активностью по сравнению с моноядерными [31].

В работе [32] были синтезированы биядерные координационные соединения меди, обладающие противоопухолевой активностью в случае гепатоцеллюлярной карциномы

(Рис. 2).

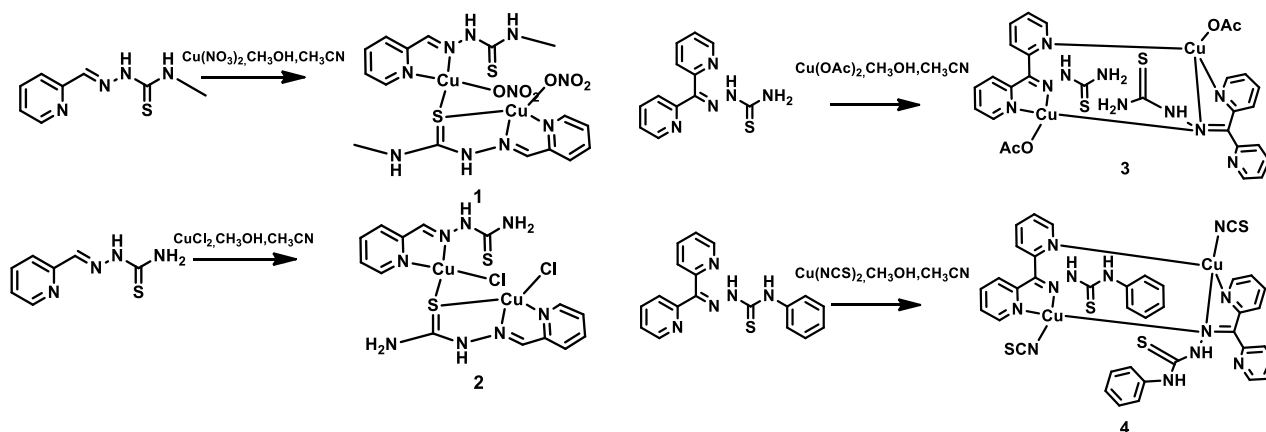


Рис.2. Синтез координационных соединений 1-4

Полученные координационные соединения проявили цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам печени BEL-7404, HL-7702, а также рака легких A549 и NCI H460 (Таблица 1).

Таблица 1. Цитотоксичность координационных соединений **1-4** и соответствующих лигандов по отношению к клеточным линиям BEL-7404, HL-7702, A549, NCI H460

| IC ₅₀ , μM | BEL-7404 | A549 | NCI H460 | HL-7702 |
|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| CuCl₂ | >60 | >60 | >60 | >60 |
| L1 | 18,756 ± 0,751 | 14,614 ± 0,233 | 17,753 ± 0,551 | 19,561 ± 0,122 |
| L2 | 6,266 ± 0,452 | 8,267 ± 0,524 | 5,262 ± 0,594 | 7,126 ± 0,245 |
| L3 | 5,266 ± 0,264 | 6,255 ± 0,745 | 6,355 ± 0,745 | 7,26 ± 0,425 |
| L4 | 3,256 ± 0,020 | 3,152 ± 0,544 | 3,294 ± 0,554 | 5,134 ± 0,254 |
| 1 | 2,532 ± 0,052 | 2,665 ± 0,214 | 3,462 ± 0,112 | 4,216 ± 0,145 |
| 2 | 1,232 ± 0,011 | 1,256 ± 0,064 | 2,236 ± 0,222 | 2,256 ± 0,123 |
| 3 | 1,261 ± 0,010 | 1,612 ± 0,010 | 1,424 ± 0,221 | 3,241 ± 0,045 |
| 4 | 0,486 ± 0,010 | 0,507 ± 0,021 | 0,235 ± 0,010 | 0,754 ± 0,011 |
| Цисплатин | 10,324 ± 0,520 | 17,364 ± 0,125 | 8,235 ± 0,010 | 9,166 ± 0,010 |

Методом флуоресцентной микроскопии было показано, что данные координационные соединения способны вызывать клеточный апоптоз путем образования активных форм кислорода, а также способны ингибировать синтез антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-x1 и стимулировать синтез проапоптотических протеинов. Кроме того, соединения **1-4** способны стимулировать высвобождение цитохрома C, также приводящее к клеточному апоптозу.

Открытие роли свободных радикалов в возникновении злокачественных опухолей привело к активному изучению соединений, предотвращающих их образование – антиоксидантов. Известно, что тиосемикарбазоновые производные гликозила или хитозана обладают схожей антиоксидантной активностью из-за способности NH и C=S группы тиосемикарбазонов реагировать со свободными радикалами [33]. Также активность тиосемикарбазонов связывают с их хелатообразующей способностью [34].

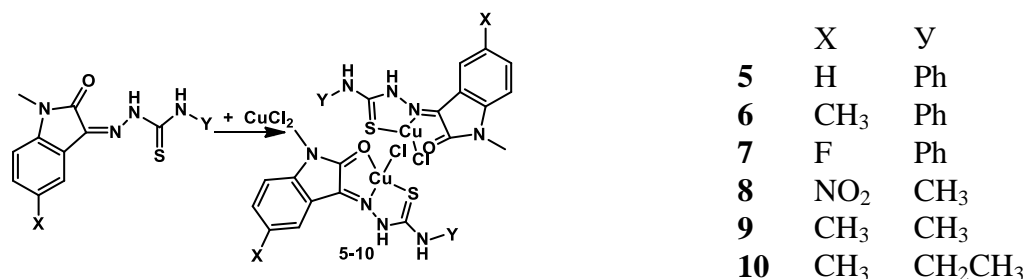


Рис.3. Синтез координационных соединений **5-10**

В работе [35] были синтезированы координационные соединения меди (II) а основе тиосемикарбазонов (Рис. 3):

Показано, что координационные соединения **5-10** проявляют цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам рака толстой кишки HCT116 (Таблица 2).

Таблица 2. Цитотоксическая активность координационных соединений **5-10** по отношению к опухолевым клеткам HCT116

| HCT-116 | IC ₅₀ , μM |
|--------------|-----------------------|
| 5 | 1,9 |
| 6 | 3,1 |
| 7 | 0,08 |
| 8 | 3,6 |
| 9 | 8,6 |
| 10 | 5,7 |
| 5-фторурацил | 7,3 |

Как видно из полученных данных, некоторые тиосемикарбазоновые комплексы Cu(II) проявляют более высокую цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам HCT116 по сравнению с используемым в клинической практике 5-фторурацилом.

Методом флуоресцентной микроскопии была показана способность

координационных соединений **5-10** связываться с ДНК, а методом электрофореза показана способность координационных соединений расщеплять плазмидную ДНК.

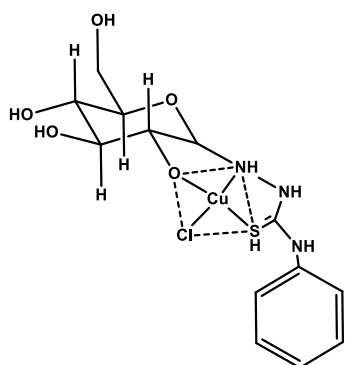


Рис. 4. Координационное соединение Cu(II) на основе тиосемикарбазида + с гликозидным фрагментом

1.2.1.2. Тиосемикарбазиды

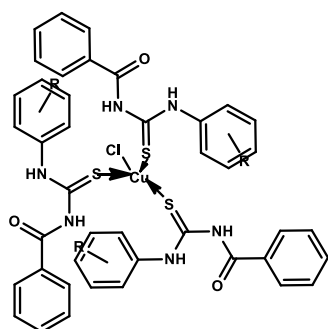
Координационные соединения на основе тиосемикарбазидов и 1,4-дизамещенных тиосемикарбазидов перспективными для исследования цитотоксичности [36]. В работе [37] описано получение координационных соединений на основе тиосемикарбазидов с гликозидными фрагментами (Рис.

4): хорошая комплексообразующие свойства тиосемикарбазидного фрагмента и способность углеводного остатка принимать участие в метаболизме делает полученное соединение перспективным для биологического изучения.

Полученное координационное соединение **11** обладает цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам карциномы Эрлиха.

1.2.1.3 Тиомочевины

Серия координационных соединений 12-20 (Рис. 5) была протестирована на цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам A498, EVSAT, H226, IGROV, M19, MCF-7 и WiDr.



- 12**, R - H
13, 2 - Cl
14, 3 - Cl
15, 4 - Cl
16, 2,3 - Cl₂
17, 2,4 - Cl₂
18, 2,6 - Cl₂
19, 3,4 - Cl₂
20, 3,5 - Cl₂

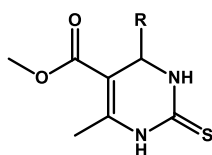
Рис. 5. Координационные соединения меди на основе *N,N'*-дизамещенных тиомочевин

Обнаруженная цитотоксичность сравнима с цитотоксичностью используемого в клинической практике цисплатина (Таблица 3) [38].

Таблица 3. Цитотоксическая активность координационных соединений **12-20** по отношению к опухолевым клеткам A498, EVSA-T, MCF-7.

| | A498 | EVSA-T | MCF-7 |
|-----------------------|-------|--------|-------|
| 12 | 2,643 | 2,643 | 3,134 |
| 13 | 1,303 | 1,303 | 1,961 |
| 14 | 1,102 | 1,102 | 2,364 |
| 18 | 2,794 | 2,794 | 3,412 |
| 19 | 2,676 | 2,676 | 3,161 |
| 20 | 1,423 | 1,423 | 2,564 |
| 5 - фторурацил | 0,143 | 0,447 | 0,750 |
| Цисплатин | 1,44 | 0,472 | 0,612 |

Также известны координационные соединения Cu(I) – циклические тиомочевины, проявляющие цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам MCF7 и HCC1806 (Рис. 6).



- L21**: R = C₆H₅
L22: R = C₁₀H₇
L23: R = 2-BrC₆H₄
L24: R = 2-ClC₆H₄

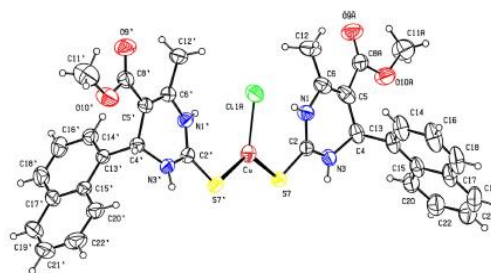


Рис. 6. Молекулярная структура координационных соединений **21-24** и структура соответствующих лигандов

Данные по цитотоксичности координационных соединений **21-24** и соответствующих лигандов представлены в Таблице 4. Как видно из полученных данных, координационные соединения являются более цитотоксичными по сравнению с соответствующими лигандами.

Таблица 4. Данные цитотоксичности (IC_{50}) координационных соединений **21-24** и соответствующих лигандов

| $IC_{50}, \mu M$ | MCF- | HCC1 |
|------------------|-------|------|
| L21 | >100 | >100 |
| L22 | >100 | >100 |
| L23 | 89,92 | >100 |
| L24 | 80,72 | 25,0 |
| 21 | 19,62 | 5,51 |
| 22 | 24,44 | 6,21 |
| 23 | 22,53 | 5,30 |
| 24 | 25,96 | 7,96 |
| Доксетацел | 11,9 | 8,4 |
| Доксорубицин | 71,8 | - |

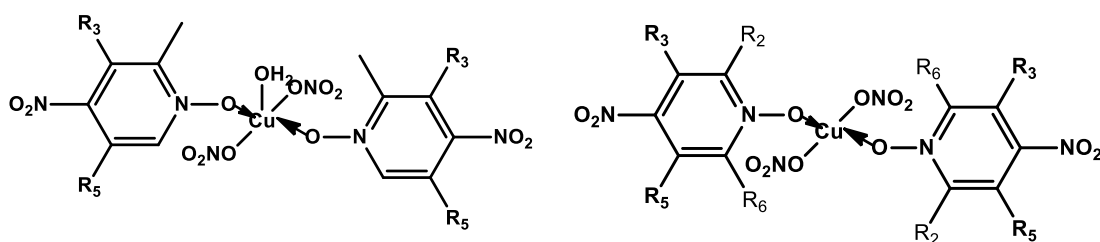
Полученные IC_{50} сравнимы с IC_{50} используемых в клинической практике для терапии тройного негативного рака молочной железы HCC1806 препаратов доксорубицин и доцетаксел [39].

1.2.2 О-донорные системы

1.2.2.1 Пиридин-N-оксиды

Гетероциклические амины, N-оксиды и их производные принадлежат к классу органических соединений, обладающих разнообразной фармакологической активностью. Недавно была показана противоопухолевая активность замещенных пиридин-N-оксидов [40,41].

Комплексы нитрата меди (II) с замещенным пиридин-N-оксидом (Рис. 7) обладают цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам рака прямой кишки P-388 [42]:



25: $Cu(NO_3)_2 \cdot (H_2O)(L_2)$; $R_3=Me$; $R_5=H$

26: $Cu(NO_3)_2 \cdot (H_2O)(L_2)$; $R_3=H, R_5=Me$

27: $Cu(NO_3)_2 \cdot (H_2O)(L_2)$; $R_3=H, R_5=H$

28: $Cu(NO_3)_2 \cdot (H_2O)(L_2)$; $R_2=H$; $R_3=Me$; $R_5=Me$; $R_6=H$

29: $Cu(NO_3)_2 \cdot (H_2O)(L_2)$; $R_2=Me$; $R_3=H$; $R_5=H$; $R_6=Me$

30: $Cu(NO_3)_2 \cdot (H_2O)(L_2)$; $R_2=Me$; $R_3=Me$; $R_5=H$; $R_6=Me$

Рис. 7. Структура координационных соединений **25-30**

Таблица 5. Данные цитотоксичности (IC_{50}) координационных соединений 25-30

| $IC_{50}, \mu M$ | MCF-7 | SW-707 | P 388 |
|------------------|-------------|-------------|------------|
| | 9,38±2,05 | 11,50±4,24 | 6,54±2,12 |
| | 19,41±9,06 | 7,50±0,71 | 7,83±2,48 |
| | 62,04±24,13 | 53,33±9,03 | 11,30±4,73 |
| | 1,77±5,84 | - | 1,77±5,84 |
| | 67,95±5,32 | 98,78±75,24 | 14,34±4,48 |
| | 54,60±8,68 | 34,02±15,41 | 11,46±6,77 |

Из полученных данных (Таблица 5) видно, что наилучшими данными цитотоксичности обладают соединения, не содержащие заместителей в альфа-положении пиридинового заместителя.

1.2.2.2 O,O-донорные системы

Плюмбагин (5-гидрокси-2-метил-1,4-нафтохинон) – лиганд, проявляющий противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo* [43]. Также описана антипролиферативная активность плюмбагина и его производных по отношению к опухолевым клеткам шейки матки [44]. В работе [45] были синтезированы координационные соединения меди на основе плюмбагина с фенантролином и бипиридином (Рис. 8), и изучена их цитотоксичность и механизм действия.

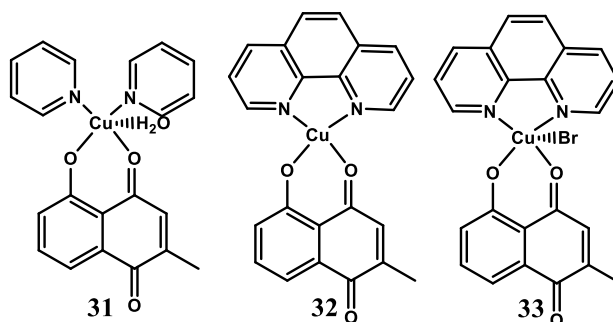


Рис. 8. Структура комплексов 31-33

Полученные координационные соединения проявляют цитотоксичность на клеточных линиях рака молочной железы MCF-7, рака шейки матки HeLa, а также рака легкого WI-38.

Человеческий сывороточный альбумин является одним из наиболее изученных белков плазмы крови. В 1990х годах были начаты исследования по использованию альбумина как средства доставки лекарств к воспаленным и опухолевым тканям. Основное направление использования человеческого сывороточного альбумина – это диабет и онкология.

Альбумин является главным белком – носителем в кровеносной системе человека. Он действует как солюбилизирующий агент для длинноцепочечных жирных кислот, выводит ионы тяжелых металлов, такие как свинец, платина, золото. Также этот белок

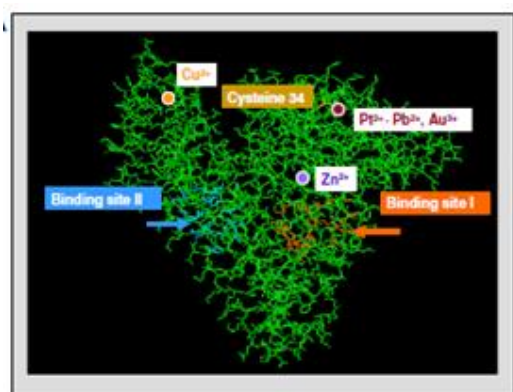


Рис. 9. Сайты связывания человеческого сывороточного альбумина

связывается с медью, никелем, кальцием и связывает терапевтические препараты - антикоагулянты, противовоспалительные препараты, анестетики. Человеческий сывороточный альбумин – один из самых маленьких белков крови. Факт переноса большинства препаратов этим белком объясняют размером и доступностью. Сайты связывания этого белка также хорошо изучены (Рис. 9).

Много исследований проведено по получению препаратов, высокоаффинных к фолатному рецептору. Фолатный рецептор в избытке экспрессируется на поверхности многих опухолей, таких как опухоли мозга, почек, и практически не экспрессируется на поверхности нормальных тканей. Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) содержит несколько функциональных групп, которые могут легко связать фолиевую кислоту. Таким образом, адресная система, состоящая из конъюгата фолиевой кислоты и человеческого сывороточного альбумина, является перспективной для получения селективных нетоксичных лекарственных препаратов.

Было предложено модифицировать полученные координационные соединения Cu(II) на основе плюмбагина вектором на основе конъюгата фолиевой кислоты и человеческого сывороточного альбумина. Координационные соединения **31-33** были модифицированы предложенным вектором. Цитотоксическая активность для координационных соединений **31-33**, а также координационных соединений, модифицированных конъюгатом фолиевой кислоты и ЧСА (**31-33-HSA-FA**), была оценена методом МТТ. Результаты приведены в Таблице 6.

Все полученные координационные соединения имеют цитотоксичность выше, чем у используемого в клинической практике цисплатина. Показано, что координационные соединения **31-33**, а также их модифицированные аналоги способны вызывать клеточный апоптоз путем образования активных форм кислорода.

Также из полученных данных видно, что координационные соединения, модифицированные конъюгатом фолиевой кислоты и ЧСА, проявляют цитотоксичность более высокую по сравнению с немодифицированными аналогами.

Таблица 6. Цитотоксичность (IC_{50}) координационных соединений **31-33** и **31-33-HSA-FA** по отношению к опухолевым клеткам MCF-7, HeLa, WI-38

| $IC_{50}, \mu M$ | MCF-7 | HeLa | WI-38 |
|------------------|--------------|--------------|--------------|
| PLN | 14,15 ± 1,22 | 18,36 ± 1,75 | 23,10 ± 2,56 |
| PLN-HSA-FA | 6,75 ± 0,59 | 8,25 ± 0,84 | 24,45 ± 1,86 |
| 31 | 3,86 ± 0,35 | 4,68 ± 0,47 | 3,88 ± 0,34 |
| 31-HSA-FA | 1,39 ± 0,16 | 1,45 ± 0,15 | 3,95 ± 0,31 |
| 32 | 3,32 ± 0,31 | 3,71 ± 0,27 | 3,42 ± 0,36 |
| 32-HSA-FA | 1,24 ± 0,13 | 0,98 ± 0,11 | 4,25 ± 0,53 |
| 33 | 3,22 ± 0,29 | 3,68 ± 0,15 | 3,39 ± 0,27 |
| 33-HSA-FA | 1,21 ± 0,16 | 1,01 ± 0,03 | 4,28 ± 0,23 |
| Цисплатин | 20,15 ± 1,91 | 10,62 ± 1,12 | 12,17 ± 1,35 |
| Цисплатин-HSA-FA | 45,64 ± 4,62 | 38,29 ± 2,47 | 42,19 ± 4,78 |

Для исследования селективности полученных модифицированных координационных соединений по отношению к опухолевым клеткам было изучено накопление координационных соединений **31-33**, а также координационных соединений, модифицированных конъюгатом фолиевой кислоты и ЧСА, в здоровых клетках WI-38, а также в опухолевых клетках HeLa. Из полученных данных (Рис.10) видно, что модифицированные системой доставки FA-HSA координационные соединения **31-33** накапливаются в опухолевых клетках HeLa в большей степени как по сравнению со здоровыми клетками WI-38, так и по сравнению с немодифицированными координационными соединениями **31-33**.

Данный подход открывает путь к синтезу селективных, низкотоксичных противоопухолевых препаратов.

1.2.3 N,O-донорные системы

1.2.3.1 Фенольные аналоги 8-гидроксихинолина

8-Гидроксихинолин – бидентантный хелатирующий агент, образующий с медью бис-лигандные координационные соединения, способные ингибировать активность

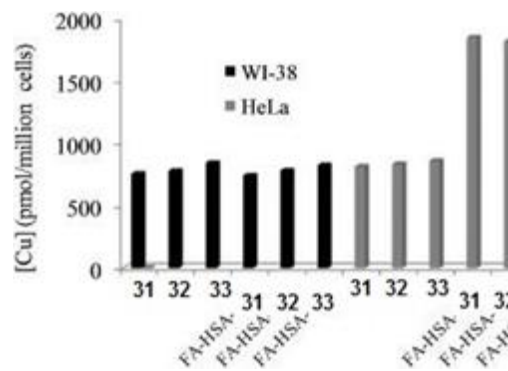


Рис. 10. Исследование накопления **31-33** и **FA-HSA-31-33** в здоровых клетках WI-38 и опухолевых клетках HeLa.

протеасом, что приводит к цитотоксической активности по отношению к опухолевым клеткам рака молочной железы и рака простаты [46,47].

Ацетамидные производные 8-гидроксихинолина (Рис. 11) образуют с медью координационные соединения **34-36**, которые потенциально являются селективными противоопухолевыми препаратами, обладающими цитотоксическим действием по отношению к опухолевым клеткам рака груди MDA-MB-231 [48]:

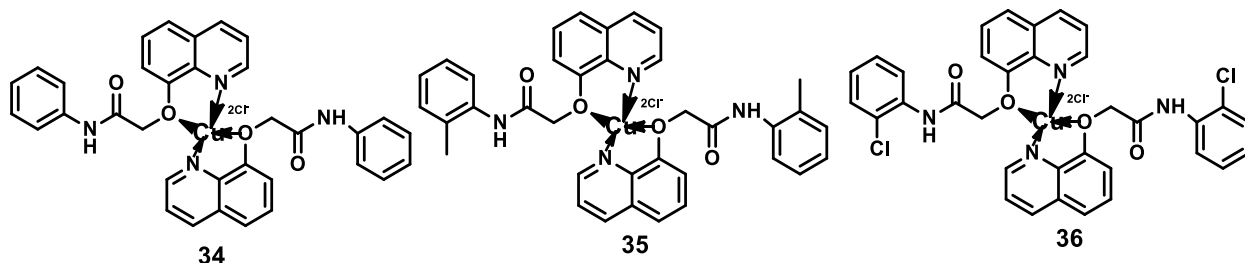


Рис 11. Структура координационных соединений **34-36**

Координационное соединение **35** проявляет селективную антипролиферативную активность к опухолевым клеткам MDA-MB-231, не проявляя цитотоксичности по отношению к здоровым клеткам MCF-10. Исследование способности координационного соединения ингибировать протеасомную активность показало селективное ингибирование в опухолевых клетках MDA-MB-231 и резистентность здоровых клеток по отношению к препарату.

1.2.3.2 Нафтохиноны

Производные 1,2 и 1,4-нафтохинонов проявляют различную биологическую активность, в том числе противоопухолевую [49]. Такие свойства обусловлены их способностью участвовать в электронном транспорте, образуя семихинонные радикалы и гидрохинон-анион [50, 51].

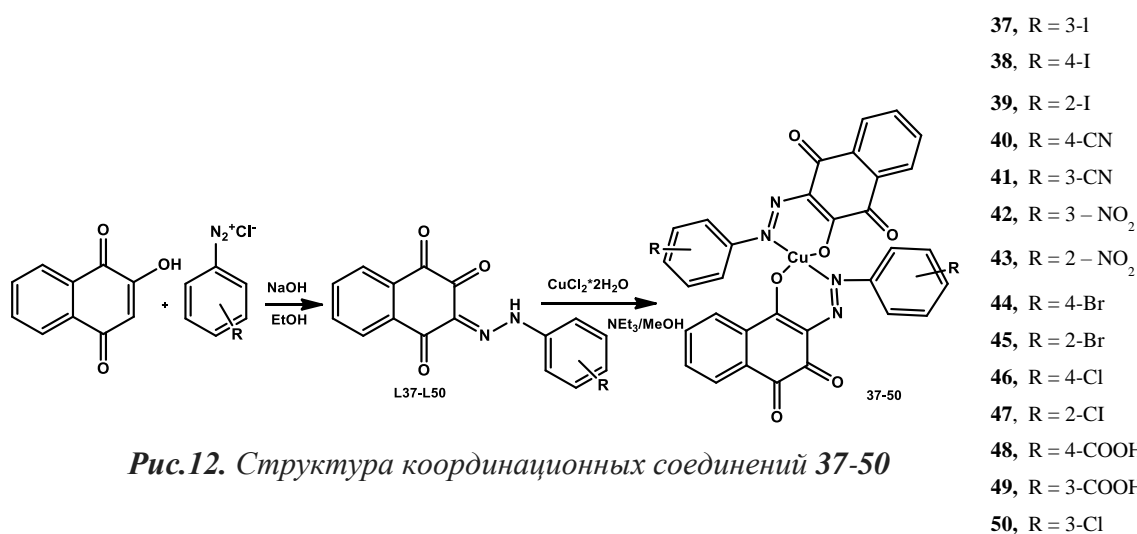


Рис.12. Структура координационных соединений **37-50**

Введение азо–группы в структуру 2-гидрокси–1,4-нафтохинона (Рис. 12) приводит к биологически активным производным **L37-L50**, цитотоксичным по отношению к нескольким клеточным линиям, таким как рак SF295, НСТ- 8 и MDA-MB-435 [52]

Координационные соединения Cu(II) **37-50** на основе полученных лигандов (Рис. 12) обладают цитотоксичностью ниже по сравнению со свободными лигандами; однако, их цитотоксичность сравнима с цитотоксичностью используемого в клинической практике цисплатина.

1.2.4 N-донорные системы

1.2.4.1 Пиразолы

Полиидентатные азотсодержащие донорные лиганды, полученные из поли(пиразол-1-ил)метана, достаточно хорошо изучены [53]. Введение в структуру этих лигандов различных по природе функциональных групп позволяет варьировать их биологические свойства.

В работе [54] были синтезированы (пиразол-1-ил)метановые лиганды - конъюгаты нитроимидазола и глюкозамина, а также соответствующие координационные соединения **51, 52** (Рис. 13).

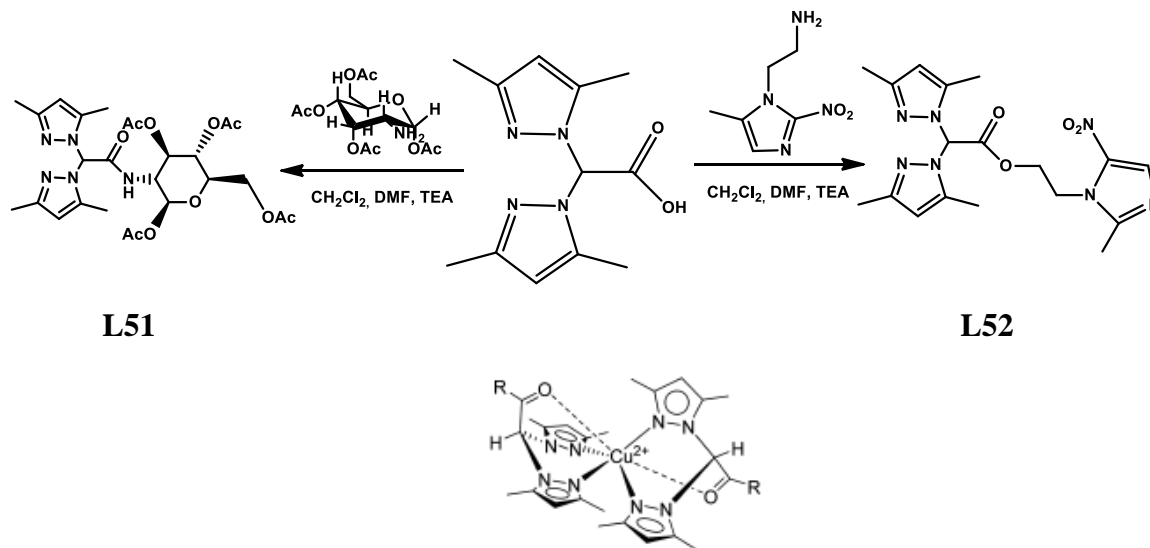


Рис. 13. Структура лигандов L51, L52 и координационных соединений 51, 52

Полученные координационные соединения проявляют цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам A431, НСТ-15, А549, Саран-1, MCF-7 и А375. Также было показано, что они цитотоксичны по отношению к 2008/C13· - опухолевым клеткам яичника, устойчивым к цисплатину, что свидетельствует о различных механизмах действия препаратов.

1.2.4.2 Имидазолы

Координационные соединения Cu(II) на основе имидазолов **53-60** (Рис. 14) обладают цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам PC3, MCF-7, HCT-15, HeLa, SKLU-1, и U373.

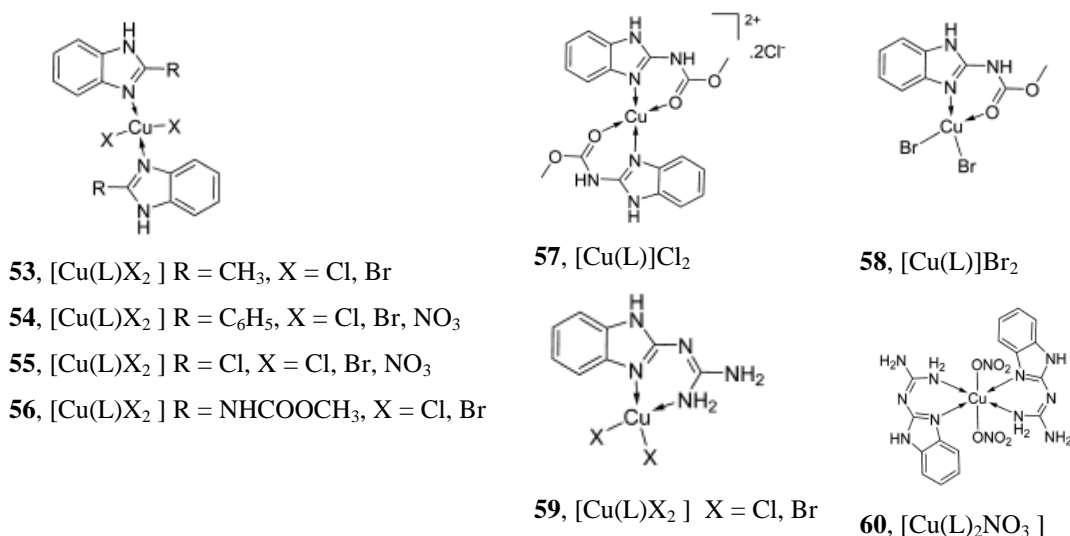


Рис. 14. Координационные соединения Cu(II) на основе имидазолов

Наибольшей цитотоксичностью обладают соединения **59, 60**, из чего следует, что цитотоксичность зависит от геометрии координационного окружения меди в комплексном соединении [55].

1.2.4.3 Триазолы

В литературе описано небольшое число координационных соединений Cu(II) на основе 1,2,4-триазолов, проявляющих различную биологическую активность [56,57]. В

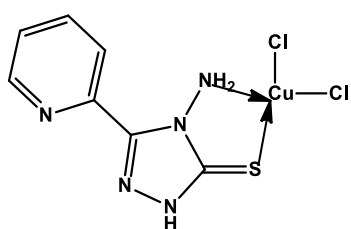


Рис. 15. Структура координационного соединения **61**

частности, координационное соединение Cu(II) состава [Cu(L)Cl₂] **61** (Рис. 15) способно ингибировать каспазы-3, нарушая апоптоз и изменяя механизм клеточной смерти на альтернативный (параптоз) [58]. Координационное соединение **61** обладает цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам фибросаркомы.

Также описаны [59] координационные соединения Cu(II) на основе триазолов **62, 63** (Рис. 16), способные интеркалировать ДНК.

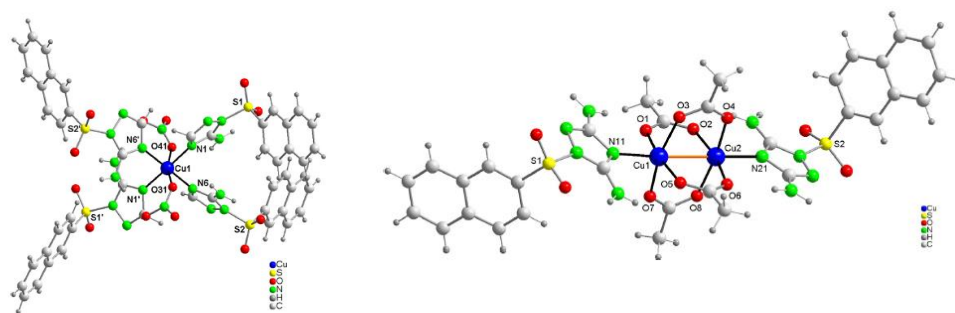


Рис. 16. Молекулярная структура координационных соединений **62**, **63**

Показано, что координационное соединение **62**, содержащее 4 монодентантных триазольных лиганда, не может интеркалировать ДНК по стерическим причинам. В противоположность этому, биядерное координационное соединение **63** способно интеркалировать ДНК. Также координационное соединение **63** способно расщеплять ДНК, образуя активные формы кислорода.

1.2.5 Координационные соединения с основаниями Шиффа

Координационные соединения на основе оснований Шиффа, получаемые путем конденсации карбонильных соединений с аминами, обладают различной биологической активностью. Среди них известны комплексы, обладающие антибактериальной, противомалярийной, антипролиферативной, противовоспалительной, противовирусной, противоопухолевой активностью [60].

Известно, что основания Шиффа способны стабилизировать различные металлы в различных степенях окисления, и комплексы на основе этих лигандов хорошо изучены [61, 62]. Например, комплекс $[\text{CuCl}(\text{PPh}_3)\text{L}]$ **64** (Рис. 17) проявляет цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам шейки матки, печени и молочной железы (Таблица 7):

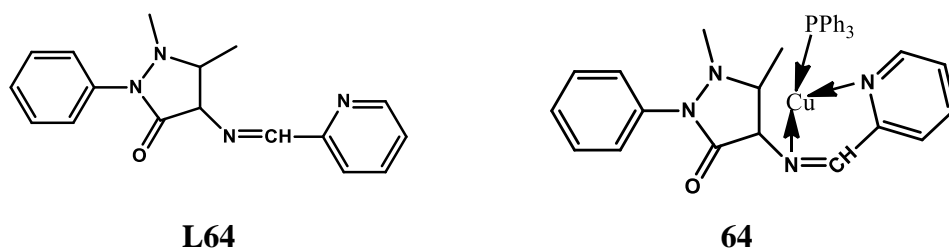


Рис. 17. Структура лиганда **L64** и его координационного соединения $[\text{CuCl}(\text{PPh}_3)\text{L}]$ **64**

Таблица 7. Данные цитотоксичности координационного соединения $[\text{CuCl}(\text{PPh}_3)\text{L}]$ **64** и соответствующего лиганда

| IC ₅₀ , μM | HeLa | HEp-2 | MCF-7 |
|---|-------|-------|-------|
| L64 | > 100 | > 100 | > 100 |
| 64 $[\text{CuCl}(\text{PPh}_3)\text{L}]$ | 3,04 | 19,25 | 4,34 |
| Цисплатин | 12,52 | 13,84 | 12,75 |

В работе [63] был синтезирован ряд координационных соединений на основе хинолиноновых оснований Шиффа (Рис. 18). Хинолиноны являются структурным фрагментом биологически активных хинолиновых алкалоидов.

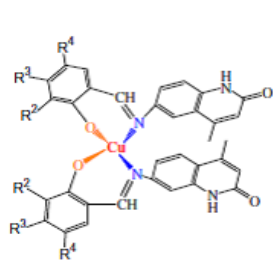


Рис. 18. Структура

координационных соединений 65-75

| | R1 | R2 | R3 | R4 |
|-----------|-----------|--------------------------------|------------------|-----------|
| 65 | ОН | Н | ОН | Н |
| 66 | ОН | Н | Н | Н |
| 67 | ОН | ОН | Н | Н |
| 68 | ОН | OC ₂ H ₅ | Н | Н |
| 69 | ОН | OCH ₃ | Н | Н |
| 70 | ОН | Н | OCH ₃ | Н |
| 71 | ОН | t-Bu | Н | t-Bu |
| 72 | ОН | Н | Н | Br |
| 73 | ОН | Н | Н | Cl |
| 74 | ОН | Н | Н | J |
| 75 | ОН | Н | Н | F |

Цитотоксичность полученных соединений по отношению к клеточной линии НЕР-G2 (гепатокарцинома) приведена в Таблице 8. Все полученные лиганды, за исключением **L71** и **L65**, обладают высокой токсичностью. Соответствующие координационные соединения имеют цитотоксичность, сравнимую с используемым в клинической практике цисплатином.

Таблица 8. Цитотоксичность по отношению к клеточной линии НЕР-G2 лигандов **L65-L71** и соответствующих координационных соединений **65-71**

| Лиганд | IC ₅₀ ,μМ | Комплекс | IC ₅₀ ,μМ |
|------------|----------------------|-----------|----------------------|
| L65 | 39,67±5,24 | 65 | 47,00±9,54 |
| L66 | 411,66±7,26 | 66 | 74,83±8,91 |
| L67 | >1000 | 67 | 129±16,26 |
| L68 | 398,33±33,21 | 68 | 17,90±3,75 |
| L69 | 175,67±12,20 | 69 | 105,33±25,41 |
| L70 | 521,67±41,26 | 70 | 53,17±1,59 |
| L71 | 44,33±4,70 | 71 | 39,67±10,18 |
| Цисплатин | 15,00±2,65 | - | - |

Также известны [64] координационные соединения меди(II) с основаниями Шиффа и фенатролином, показавшие антипролиферативный эффект на клеточной линии рака груди MDA-MB-231.

Координационные соединения Cu(II) **72-75** (Рис. 19) способны расщеплять ДНК [65]. Показана способность этих координационных соединений вызывать образование активных форм кислорода, что приводит к апоптозу [66].

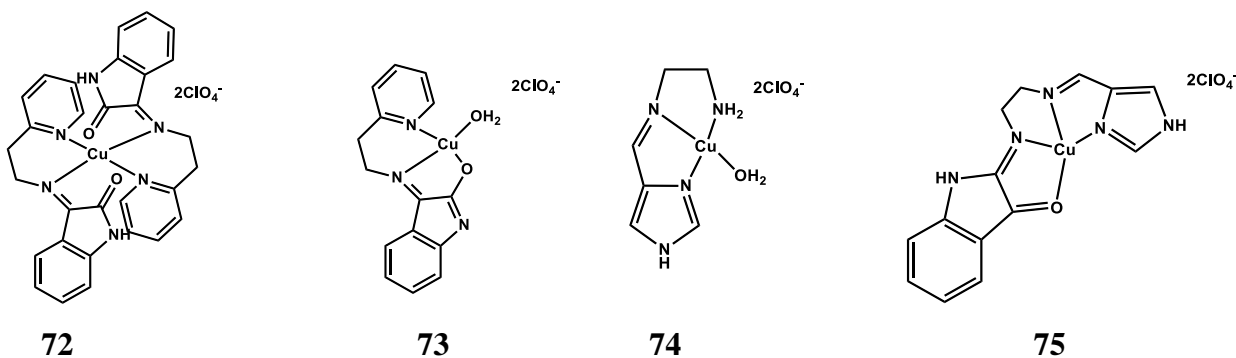


Рис. 19. Структура координационных соединений 72-75

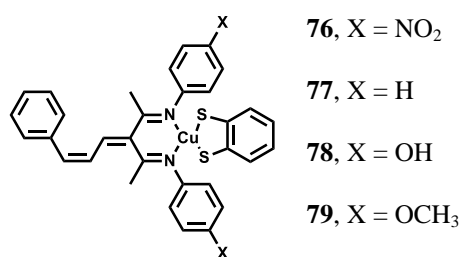


Рис.20. Структура координационных соединений 76-79

Координационные соединения **76-79** (Рис. 20), способные связываться с ДНК, обладают нуклеазной активностью в присутствии пероксида водорода, образуя активные формы кислорода. *In vitro* исследования подтверждают цитотоксическую активность координационных соединений **76-79** по отношению к опухолевым клеткам ЕАС (значения IC_{50} в диапазоне микромолярных концентраций) [67].

1.2.6 N,N-дииминовые системы

1.2.6.1 Системы N,N-лиганд/аминокислота

Ruiz-Azuara и соавторы разработали новый класс противоопухолевых препаратов - катионные комплексы Casiopeinas $[Cu(N-N)(\alpha-L\text{-aminoacidato})]NO_3$ и $[Cu(N-N)(O-O)]NO_3$, где N-N – ароматический диимин (фенатролин, бипиридин и т.п.), а O-O – ацетилацетонат или производное салицилового альдегида [68-71]. Среди множества синтезированных препаратов наиболее перспективными оказались соединения **80** Cas II-gly и **81** Cas III (Рис. 21).

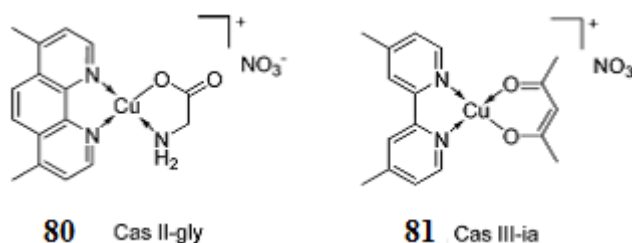


Рис.21. Структура координационных соединений **80** и **81**

Цитотоксичность соединений **80**, **81** была оценена на клеточной линии медуллобластомы DAYO (Цисплатин 25 мкг/мл, Cas IIgly 16 мкг/мл, Cas IIIa 10 мкг/мл

[70]). Предполагаемый механизм цитотоксического действия этих соединений – фрагментация ДНК под действием образующихся при восстановлении Cu(II) до Cu(I) активных форм кислорода [71,72].

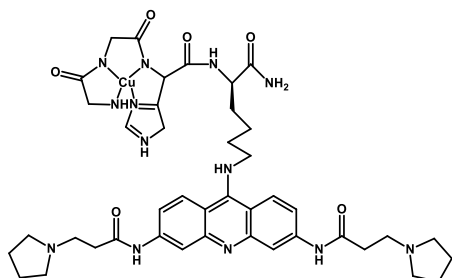


Рис. 22. Структура комплекса **82**

Путем варьирования N-N заместителя и аминокислот (L-Val [73], L-Phe [74], L-Tyr [75],[76] другими исследователями также было доказано расщепление ДНК координационными соединениями типа Casioreina через образование активных форм кислорода.

Теломерные фрагменты ДНК (теломеры) представляют собой перспективную мишень для разработки противоопухолевых препаратов. В работе [77] был синтезирован медьсодержащий препарат **82** на основе акридин-аминокислотного лиганда (GGNK пептид, ATCUN) [58], способный эффективно связываться с G-квадруplexами теломеров и расщеплять их (Рис. 22). Пептидный фрагмент отвечает за связывание ионов меди, акридиновый фрагмент препарата связывается с G4 теломерой ДНК и способствует доставке препарата к ДНК. Известно, что на стадии репликации G4 ДНК образуется больше, чем на стадиях G0/G1 деления клетки [78,79], следовательно, опухолевые клетки более уязвимы для G4-селективных препаратов. В качестве исследуемого фрагмента ДНК был выбран меченый флуоресцеином G4-олигонуклеотид человеческой теломерной ДНК 22G4 (5'-FAM-d(AGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG)). Механизм расщепления был исследован при помощи MALDI-TOF масс-спектрометрии. Изучалась способность комплекса укорачивать теломеры и снижать продолжительность жизни клеточной линии рака молочной железы MCF7. Анализ продуктов расщепления на 3'-конце (3'-гидрокси, 3'-фосфат, 3'-фосфогликоат, 3'-фосфогликальдегид) позволяет утверждать, что механизмами расщепления являются как гидролиз, так и окисление. Важно отметить, что в обоих случаях необходимо присутствие окислителя. Сайтами связывания препарата в модельном G-квадруplexном олигонуклеотиде являются A1-G2 и T6-A7 нуклеотиды. Исследования цитотоксичности показали увеличение токсичности при введении в состав препарата меди.

В работе [80] представлены координационные соединения Cu(II) – производные фенантролина и аминокислот, способные интеркалировать ДНК и обладающие цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам A549, Hca109 и SGC7901.

Описана [81] серия полимерных координационных соединений Cu(II) на основе фенатролина и тирозина, обладающих низкой цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам MCF-7, но способных связываться с ДНК.

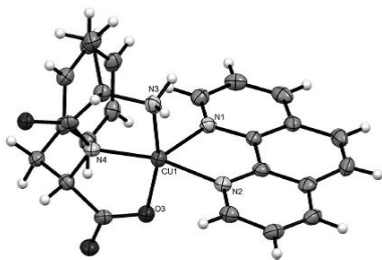


Рис. 23. Молекулярная структура комплекса **85** $Cu(Ala-Phe)(phen)] \cdot 4H_2O$

Известны также [82] биядерные координационные соединения Cu(II) на основе фенатролина и алкинилглутамина, а также L-аланина, способные индуцировать образование активных форм кислорода, и также вызывать апоптоз опухолевых клеток.

1.2.6.2 *Clip*-фенантролиновые системы

Одними из наиболее изученных биологически активных координационных соединений меди являются комплексы меди с фенатролином. Подтверждена возможность связывания таких соединений с ДНК [83]. В работе [84] была синтезирована серия координационных соединений меди на основе фенатролина и дипептидов Gly-Val, Ala-Gly, Ala-Phe, Phe-Ala, Phe-Val или Phe-Phe (Рис. 23). Полученные координационные соединения были протестированы на серии клеточных линий рака молочной железы MCF-7, клетках легочной аденокарциномы A549, а также клетках эндотелия матки HeLa (Таблица 9).

Из представленных данных видно, что все координационные соединения на основе фенатролина и дипептидов показывают цитотоксичность более высокую по сравнению с комплексом меди с фенатролином.

Таблица 9. Данные по цитотоксичности координационных соединений **83-89**

| IC ₅₀ , μM | (MCF-7) | (A548) | (HeLa) |
|---|---------|--------|--------|
| 83 , [Cu(GlyVal)(phen)] | 15 | 18 | 14 |
| 84 , [Cu(AlaGly)(phen)] | 7,5 | 16 | 9,5 |
| 85 , [Cu(Ala-Phe)(phen)] | 2,2 | 1,0 | 1,0 |
| 86 , [Cu(Phe-Ala)(phen)] | 7,7 | 13 | 9,9 |
| 87 , [Cu(Phe-Val)(phen)] | 3,1 | 7,4 | 7,1 |
| 88 , [Cu(Phe-Phe)(phen)] | 5,2 | 9,6 | 7,8 |
| 89 , [Cu(phen) ₂]Cl ₂ | 16 | 14 | 19 |

ДНК обладает несколькими сайтами связывания, как ковалентного, так и нековалентного. Большинство металлокомплексов связывается с ДНК нековалентно, путем интеркаляции, электростатических взаимодействий и водородных связей.

Цитотоксические свойства, а также механизм связывания терапевтического агента с ДНК можно варьировать путем введения в фенатролиновый фрагмент различных заместителей. В работе [85] были синтезированы координационные соединения меди на основе 1,10-фенатролин-5,6-диона и 1,10-фенатролина-5,6-диола (Рис. 24):

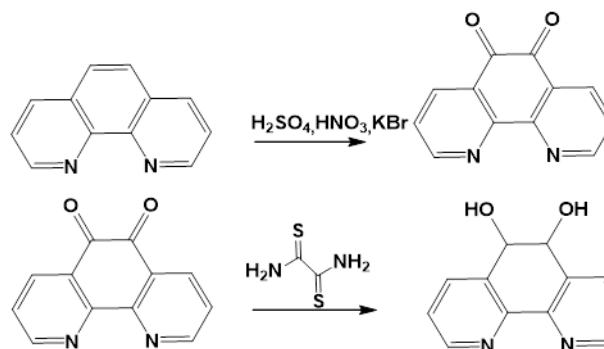


Рис. 24. Синтез 1,10-фенатролин-5,6-диона и 1,10-фенатролина-5,6-диола

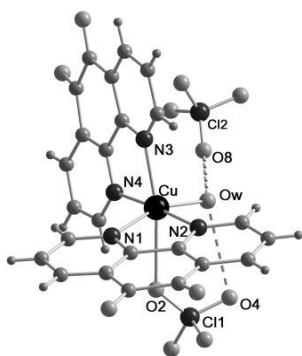


Рис. 25. Молекулярная структура комплекса **90**

Полученные координационные соединения $\text{Cu}(\text{phen})(\text{OH}_2)_2(\text{ClO}_4)_2$ **90** (Рис. 25) и $[\text{Cu}(\text{phendione})_2(\text{OH}_2)(\text{OCIO}_3)](\text{ClO}_4)$ **91** были протестированы на различных опухолевых клетках. Результаты приведены в Таблице 10. Показано, что цитотоксичность полученных координационных соединений сравнима с цитотоксичностью координационных соединений меди на основе фенатролина, фендиона и фендиола, а также используемого в клинической

практике цисплатина.

Таблица 10. Цитотоксическая активность соединений **90**, **91**

| Соединение | IC ₅₀ , μM | | | | | |
|------------|-----------------------|--------|--------|----------|----------|---------|
| | CRL-7065 | DU-145 | HEP-G2 | SK-MES-1 | CCRF-CEM | CCRF-SB |
| Фенатролин | 2,3 | 2,30 | 1,7 | 2,60 | 2,70 | 1,20 |
| Фендион | 1,90 | 2,16 | 1,60 | 1,90 | 2,90 | 0,95 |
| Фендиол | 1,80 | 0,79 | 2,90 | 0,47 | 0,15 | 0,14 |
| 90 | 6,30 | 4,10 | 1,70 | 3,10 | 3,80 | 1,21 |
| 91 | 2,47 | 1,16 | 0,67 | 1,20 | 0,80 | 0,42 |
| Цисплатин | — | 2,0 | 12,0 | 20,0 | 0,95 | 1,38 |

Схожие координационные соединения на основе фендиона [86] также проявляют цитотоксическую активность по отношению к опухолевым клеткам HT-29, MCF-7, A-549 (Рис. 26, Таблица 11):

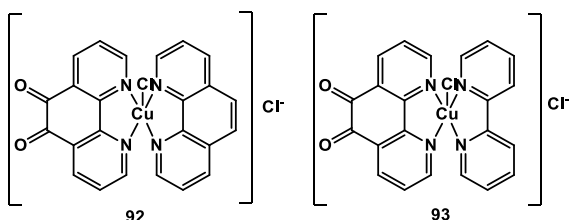


Рис. 26. Структура координационных соединений **92**, **93**

Таблица 11. Цитотоксичность координационных соединений **92**, **93** по отношению к опухолевым клеткам HT-29, MCF-7, A-549, DPSC

| IC ₅₀ , μM | HT-29 | MCF-7 | A-549 | DPSC |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| 92 | 1,75 | 83,40 | 94,00 | 85,50 |
| 93 | 69,30 | 45,22 | 167,0 | 62,00 |

Спектрофотометрические данные, полученные при титровании координационных соединений **92**, **93** раствором ДНК в буферном растворе трис/хлорид натрия (pH = 7,2), показали способность **92,93** образовывать устойчивые комплексы с ДНК (Рис. 27, 28).

Исходя из полученных данных, для координационных соединений **92**, **93** были рассчитаны константы устойчивости образующихся комплексов с ДНК (Таблица 12).

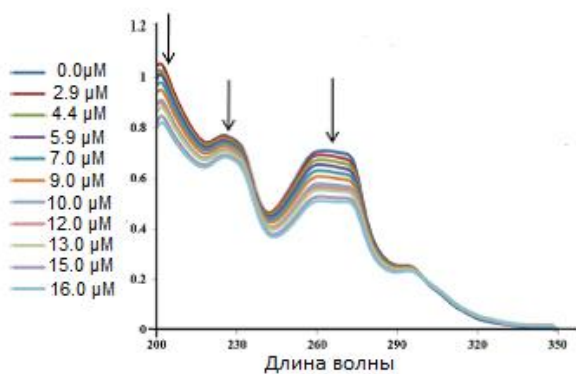


Рис. 27. Спектр поглощения комплекса **92** (20,0 μM) в присутствии ДНК (0,0 – 16,0 μM)

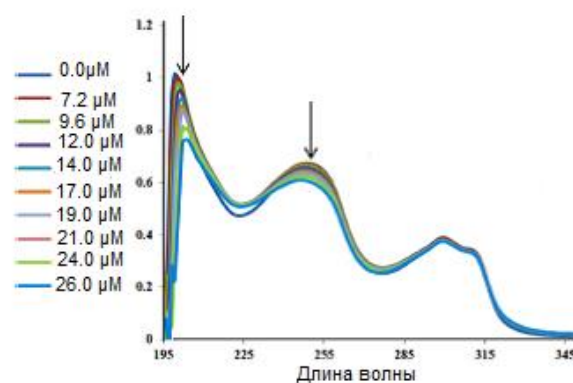


Рис. 28. Спектр поглощения комплекса **93** (15,0 μM) в присутствии ДНК (0,0 – 26,0 μM)

Таблица 12. K_b комплексов **92**-ДНК и **93**-ДНК

| | λ макс | Изменения в | K _b |
|-----------|--------|--------------------|----------------|
| 92 | 263 | Гипохромизм (28%) | – |
| | 225 | Гипохромизм (11%) | 0,3 |
| | 202 | Гипохромизм (19%) | 0,4 |
| 93 | 300 | Гипохромизм (1,3%) | – |
| | 249 | Гипохромизм (9,5%) | – |
| | 199 | Гипохромизм (33%) | 0,2 |

Также известны [87] координационные соединения Cu(II) с лигандами на основе фенантролина и β-дикетонов, обладающие, однако, низкой цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам K562.

1.2.6.3 Биридиновые комплексы

Среди координационных соединений меди, проявляющих противоопухолевую активность, многие действуют по механизму интеркаляции ДНК. Показано, что большую активность проявляют комплексы, в лигандном окружении металла в которых присутствует гетероцикл, содержащий донорный атом азота [88].

В работе [89] был синтезирован комплекс на основе 1,10-бипиридина и пикрина **99**, проявляющий умеренную цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам гепатоклеточной карциномы человека SMMC-7721, клеткам легочной аденокарциномы A549, а также культуры клеток печени Hep-G2 (Рис. 29, Таблица 13).

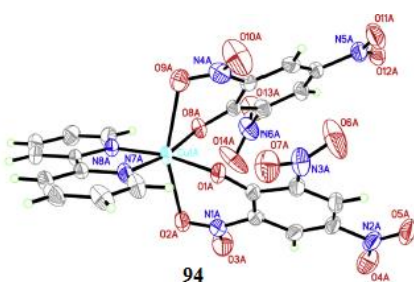


Рис. 29. Молекулярная структура координационного соединения **94**

Таблица 13. Цитотоксичность координационного соединения **94** по отношению к опухолевым клеткам SMMC-7721, A549, A-549, Hep-G2

| Координационное соединение | IC ₅₀ , μM | | |
|----------------------------|-----------------------|----------|----------|
| | SMMC | A549 | Hep-G2 |
| 94 | 8,4±0,5 | 10,2±1,1 | 4,5±0,3 |
| Цисплатин | 3,6±0,2 | 5,8±0,5 | 10,8±0,1 |

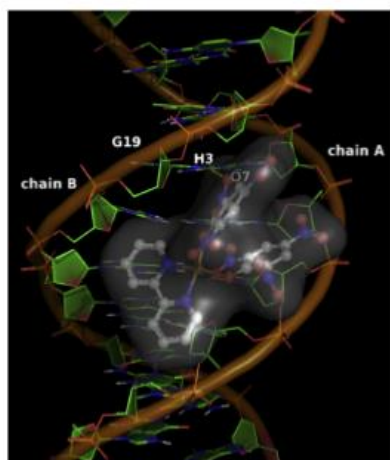


Рис. 30. Молекулярный докинг соединения **94** с ДНК

Используя метод молекулярного докинга, были оценены различные пути взаимодействия ДНК с комплексом **94** (Рис. 30). Исходя из рассчитанных свободных энергий связывания, наиболее вероятным путем взаимодействия координационного соединения **94** с ДНК является интеркаляция, а не электростатические взаимодействия.

Способность координационного соединения **94** связываться с ДНК была оценена спектрофотометрически, путем титрования раствора комплекса растворами ДНК различных концентраций. Также, используя конъюгат ДНК-бромистый этидий, была показана способность координационного соединения **94** интеркалировать ДНК.

1.3 Механизмы действия и предполагаемые биомишени

1.3.1 Координационные соединения меди как ДНК – оперирующие агенты

В 1969 г. было впервые показано, что медь обладает высокой аффинностью к ДНК [90]. Аналогично связыванию цисплатина с ДНК [91], в 1991 г. была опубликована кристаллическая структура аддукта CuCl_2 и ДНК, в которой медь связана с остатком гуанина N7 [92]. Такое связывание приводит к необратимому изменению в конформационной структуре ДНК.

В настоящее время большое число координационных соединений меди тестируются на способность связываться с ДНК, и для некоторых классов производных такая способность доказана и подтверждена. Производные меди способны связываться с двойной спиралью ДНК нековалентно. Нековалентные взаимодействия включают в себя интеркаляцию и электростатические взаимодействия. Координационные соединения Cu(II) с N–донорными лигандами из-за их хорошей способности связываться с ДНК потенциально цитотоксичны.

Было показано, что важную роль для способности координационного соединения меди связываться с ДНК играют такие его свойства, как планарность, гидрофобность и размер лиганда, а также геометрия координационного окружения металла.

Так, в работе [93] показано, что плоские незамещенные диминовые лиганды могут взаимодействовать с ДНК путем интеркаляции, и расширение сопряженной системы способствует лучшему стекингу. В работе [94] показано, что неплоские ароматические гетероциклические системы обладают намного меньшей способностью к интеркаляции.

Было установлено, что, хотя ключевую роль в интеркаляции ДНК играет планарность комплекса, аффинность координационных соединений меди можно тонко настраивать введением лигандов, способных к π – π стекингу [95-97].

Во многих случаях, интеркаляция ДНК приводит к деформации структуры ДНК, а также ее расщеплению. В целом, координационные соединения меди ведут себя как «химические нуклеазы», вызывая окисление нуклеотидов, гидролиз фосфатных фрагментов и окисление дезоксирибозы. Комплексы Cu(II) часто используются также как реагенты для окислительного расщепления ДНК.

Показано, что в большинстве случаев деградация ДНК под действием координационных соединений меди протекает в результате реакции Фентона. В этой реакции образуются активные формы кислорода, такие как гидроксильный радикал или другие интермедиаты (CuOH_2^+ или CuO^+), которые, в свою очередь, вызывают окисление и расщепление ДНК [98].

Предполагается также, что Cu(II) в биологических системах находится в равновесии с Cu(I). Электростатические взаимодействия между Cu(I) и фосфатными фрагментами также обеспечивают хорошее связывание с ДНК. Активная форма Cu-O атакует C1'-N сайт дезоксирибозы, вызывая разрыв ДНК. Однако, точно участок взаимодействия ионов меди с ДНК пока не определен [99].

С другой стороны, существует несколько примеров координационных соединений Cu(II), которые способны вызывать разрыв ДНК по гидролитическому механизму [100]. Было показано [101], что координационные соединения Cu(II) способны расщеплять ДНК по механизму гидролиза и в аэробных, и в анаэробных условиях. Важно подчеркнуть, что окислительные ДНК-расщепляющие агенты приводят к образованию фрагментов ДНК, которые, в отличие от продуктов гидролаз, не могут быть переработаны ферментативно. В этом отношении, синтетические ДНК-гидролизующие агенты предпочтительны по сравнению с окислительными.

Координационные соединения меди, называемые «молекулярные ножницы», могут активировать разрыв ДНК или по одной цепи, или по двойной спирали. Разрыв ДНК стимулирует клеточный ответ - различные механизмы ее восстановления, однако, двухцепочечный разрыв ДНК практически всегда ведет к гибели клетки [102].

1.3.2 Координационные соединения меди как ингибиторы топоизомераз I,II

Недавние исследования, посвященные способности координационных соединений меди ингибировать фермент топоизомеразы, расширяют спектр биологических мишеней этих молекул. Топоизомеразы - ферменты, влияющие на топологию ДНК, облегчая расплетание цепей ДНК в двойной спирали, и играющие важную роль в репликации и транскрипции ДНК. Топоизомеразы или вносят одноцепочечные разрывы без затрат АТФ (Топоизомераза I) или осуществляют АТФ-зависимое расщепление обеих цепей ДНК с последующим переносом цепей через разрыв и его лигирование (Топоизомераза II), тем самым превращая ДНК в топологические изомеры [103].

Ядерная топоизомераза I и топоизомераза II были идентифицированы как клинически важные цели для химиотерапии злокачественных новообразований, и их ингибирование является центральной задачей многих терапевтических схем. Действующие на топоизомеразы агенты можно подразделить на две группы: топографические яды и каталитические ингибиторы. Топографические яды способны стабилизировать комплекс топоизомеразы-ДНК; каталитические ингибиторы действуют на стадии каталитического цикла без образования комплекса.

В настоящее время растет интерес к разработке новых типов химиотерапевтических агентов – ингибиторов топоизомераз. В отличие от взаимодействия с ДНК, взаимодействие координационных соединений меди с топоизомеразой является относительно новой областью исследований. В одной из первых работ, посвященных ингибированию топоизомеразы, было показано, что координационное соединение меди на основе 2-фуральдегидоксима блокирует фосфорилирующую активность топоизомеразы [104].

В работе [105] была показана цитотоксическая топоизомеразная активность координационных соединений на основе хинолинов [106], оснований Шиффа [107], аминоксидов [108].

1.3.3 Координационные соединения меди – ингибиторы протеасом

Протеасомы - большие мультипротеиновые комплексы, расположенные в ядре и цитоплазме, которые избирательно модулируют и разрушают внутриклеточные белки. Деградация 80-90% внутриклеточных белков происходит при участии протеасом. Чтобы белок мог быть распознан протеасомой, протеиновый субстрат должен быть связан с убиквитином [109]. После распознавания белок передается в ядро, которое содержит несколько пептидаз, в том числе химотрипсинподобные, трипсиноподобные и каспазы [110]. Протеасомы участвуют в сложном комплексе реакций, которым клетки регулируют концентрацию и стабильность определенных протеинов и разлагают поврежденные белки. Протеасомозависимая деградация является составной частью многих клеточных процессов, таких как пролиферация, апоптоз, ангиогенез [111].

Было показано, что опухолевые клетки более чувствительны к ингибированию протеасом по сравнению с обычными клетками. Таким образом, убиквитин-протеасомная система является одной из мишеней в терапии опухолевых опухолей.[112]

В 2004 году были описаны «медные смеси», состоящие из CuBr_2 , CuCl_2 и бидентатных органических лигандов в качестве потенциальных ингибиторов СТ-L протеасомной активности [113]. Такие «медные смеси» селективно вызывали апоптоз опухолевых клеток. Эти исследования доказали, что повышенная протеасомная активность и концентрация меди по сравнению со здоровыми клетками - уникальные особенности опухолевых клеток, которые могут быть использованы как мишени в противоопухолевой терапии [114].

Эти исследования подтвердили, что ион меди играет основную роль в ингибировании протеасомной активности, однако не было получено достаточной информации о составе образующихся координационных соединений. Ингибирующая

способность «медных смесей» блокировалась полидентантным хелатирующим агентом – ЭДТА, следовательно, координационное соединение, в котором медь целиком окружена лигандом, не может выступать в качестве ингибитора протеасомы.

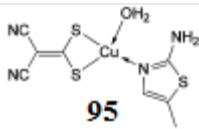
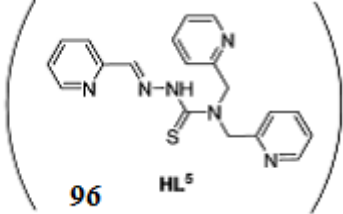
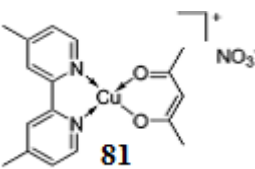
Также были проведены исследования, сравнивающие ингибирующую способность Cu(II) и Cu(I). Было показано, что ингибирующая способность не зависит от степени окисления меди. Для объяснения этого факта было высказано предположение о том, что Cu(I) способна непосредственно взаимодействовать с протеасомой, тогда как ингибирующая способность Cu(II) объясняется тем, что 20S протеасомы белка способны восстанавливать Cu(II) до Cu(I) [115].

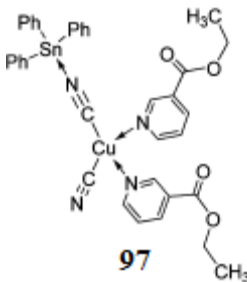
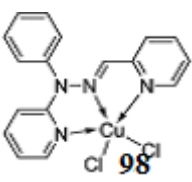
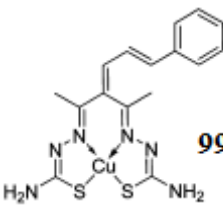
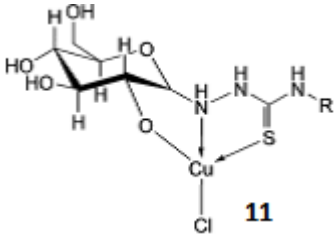
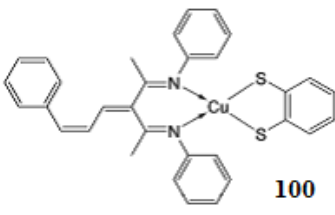
Описаны также другие координационные соединения меди с различными по природе лигандами, способными ингибировать протеасомы [116]: фосфиновыми [117], фенатролиновыми [118], тиоксотриазольными [119].

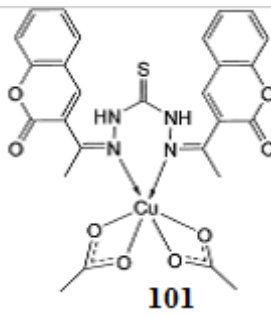
1.4 Исследования *in vivo*

Несмотря на интерес к координационным соединениям меди как низкотоксичным высокоактивным противоопухолевым агентам, в настоящее время имеются лишь немногочисленные исследования, посвященные противоопухолевому действию данных препаратов *in vivo* (Таблица 14).

Таблица 14. Координационные соединения Cu(II), прошедшие исследования на противоопухолевую активность *in vivo*

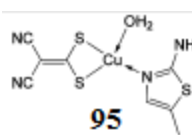
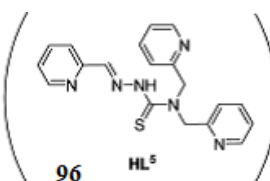
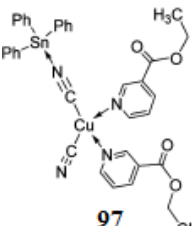
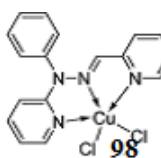
| Координационное соединение | Вид опухоли | Источник |
|---|--------------------------|----------|
|  <p>95</p> | Лейкемия P380 | [120] |
|  <p>96 HL⁵</p> | Лейкемия HL60 | [121] |
|  <p>81 NO₃⁻</p> | Рак толстой кишки HCT 15 | [122] |

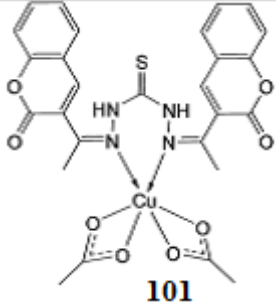
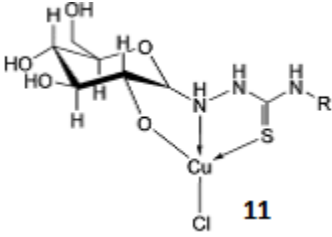
| | | |
|---|---|---------------|
|  <p style="text-align: center;">97</p> | <p>Аденокарцинома молочной железы MNU</p> | <p>[123]</p> |
|  <p style="text-align: center;">98</p> | <p>Аденокарцинома молочной железы MNU</p> | <p>[124],</p> |
|  <p style="text-align: center;">99</p> | <p>Карцинома Эрлиха</p> | <p>[125]</p> |
|  <p style="text-align: center;">11</p> | <p>Карцинома Эрлиха</p> | <p>[36]</p> |
|  <p style="text-align: center;">100</p> | <p>Карцинома Эрлиха</p> | <p>[75]</p> |

| | | |
|---|------------------|-------|
|  <p style="text-align: center;">101</p> | Карцинома Эрлиха | [126] |
|---|------------------|-------|

Ниже (Таблица 15) представлены результаты доклинических испытаний некоторых из этих препаратов.

Таблица 15. Данные доклинических испытаний некоторых координационных соединений Cu(II)

| Координационное соединение | LD ₅₀ мг/кг | Терапевтическая доза | Т/К% |
|---|------------------------|---|-------|
|  <p style="text-align: center;">95</p> | 40 | 10 | 164 |
| $5 = HL^5/Cu^{2+}$  <p style="text-align: center;">96</p> | - | 15 мг / кг внутривенно или 3 мг / кг внутрибрюшинно | 154 |
|  <p style="text-align: center;">97</p> | - | 2 | 152,3 |
|  <p style="text-align: center;">98</p> | 24 | 1 | 156 |

| | | | |
|---|---|----|--------|
|  <p style="text-align: center;">101</p> | - | 50 | 141,67 |
|  <p style="text-align: center;">11</p> | - | 50 | 152 |

Исследование противолейкемийной активности серии нейтральных смешаннолигандных цианокомплексов Cu(II) проводилось с целью изучения влияния липофильности на антипролиферативные свойства путем варьирования азотсодержащих лигандов [100]. *In vivo* исследования на мышах с привитой лейкемией P388 показали, что наиболее эффективным является координационное соединение **96** (увеличение времени жизни мыши на 64%, выход лечение/контроль 164%). Противоопухолевую активность координационного соединения **95** связывают с высокой полярностью комплекса. Тиосемикарбазоновые координационные соединения меди являются одним из наиболее изученных классов медьсодержащих противоопухолевых препаратов, однако практически нет данных об изучении цитотоксической активности данных комплексов *in vivo*. Описано цитотоксическое действие хелатных координационных соединений на основе 2-пиридинкарбальдегидного производного тиосемикарбазона при терапии лейкемии HL 60. Мыши с привитой лейкемией HL60 получали комплекс **97** дважды в день по 15 мг/кг внутривенно или 3 мг/кг внутрибрюшинно в течении 5 дней. Комплекс **97** легко переносился животными (ни одно животное не погибло из-за токсичности препарата), снижение веса не превышало 20%, наблюдалось торможение роста опухоли. Ни при терапии координационным соединением **97**, ни при терапии соответствующим лигандом не было достигнуто полного излечения; однако, следует отметить, что торможение роста опухоли (ТРО) для координационного соединения **97** было значительно больше, чем для

соответствующего лиганда. Серия координационных соединений Casiopeinas представляет собой смешаннохелатные соединения Cu(II). Более 100 препаратов группы Casiopeinas, проявивших различную биологическую активность, в настоящее время запатентованы [127-129]. Механизм цитотоксического действия данных препаратов точно не установлен; было показано, что препараты нарушают дыхательные процессы клетки, взаимодействуя с сукцинатным и 2-оксоглутаратным остатком дегидрогеназы [130, 131]. Известно также, что Casiopeinas способны связываться с ДНК посредством образования аддуктов с азотсодержащими функциональными группами [132]. Наиболее перспективными для *in vivo* изучения препаратами являются Casiopeina IIgly и Casiopeina-III-ia. Casiopeina-III-ia проявляет цитотоксичность по отношению к раку прямой кишки НСТ-15. При исследовании данного препарата *in vivo* на серии мышей с привитым раком толстой кишки в терапевтической дозе 0,06 г /кг (каждые 4 дня, 6 введений) было отмечено пятикратное уменьшение размера опухоли по сравнению с контрольной группой (неподвергающейся терапии). Однако, гистологический анализ выявил хронический раздражающий эффект, вызванный координационным соединением.

Координационное соединение **92** было исследовано на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы (Рис. 31). Максимально переносимая доза препарата составила 4,3 мг/кг, исследование ТРО показало, что препарат эффективен по отношению

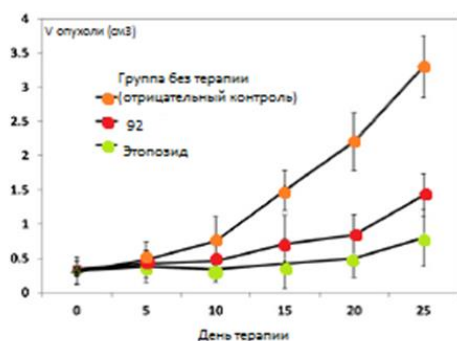


Рис. 31. Результаты следования соединения **92** *in vivo* (сравнение с группой отрицательного контроля и клиническим препаратом Этопозид)

к аденокарциноме молочной железы (ТРО 54% по сравнению с группой отрицательного контроля), однако менее эффективен, чем используемый в клинической практике препарат Этопозид (ТРО 74%).

Изучение *in vivo* координационного соединения **99** на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы в терапевтической дозой 1 мг/кг, 1 месяц, дважды в неделю, привело к уменьшению роста опухоли в

2,5 раза по сравнению с контрольной группой, получавшей терапию цисплатином. Комплекс **99** вызывает апоптоз клеток аденокарциномы молочной железы, главным образом, по каспазному механизму. При исследовании не было отмечено потери веса, гистологический анализ печени и почек не выявил следов токсического воздействия.

In vivo исследования координационного соединения с лигандом на основе бис(3-ацетилкумарин)-тиогидраза были проведены на серии мышей с аденокарциномой

Эрлиха. Координационное соединение **102** продлевало жизнь опытной партии животных, однако эффективность их оказалась гораздо ниже, чем у цисплатина. Позднее, те же авторы исследовали координационное соединение **11** – 4-фенилтиосемикарбазидный комплекс Cu(II), используя аналогичную животную модель. Введение терапевтической дозы 50 мг/кг (каждые 2 дня после прививки опухоли) вызвало торможение роста опухоли, сравнимое с контрольной группой (терапия цисплатином, 30 мг/кг каждые 2 дня после прививки опухоли).

Координационное соединение **101** было протестировано на серии мышей с аденокарциномой Эрлиха. Терапевтическая доза 100 мг/кг/день (перорально) увеличивала время жизни мышей в 2 раза по сравнению с контрольной группой. Анализ гематологических параметров показал минимальный токсический эффект координационного соединения.

Ингибирующий эффект соединения **98** был показан на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы. Терапевтическая доза 4,3мг/кг привела к торможению роста опухоли на 52,3% по сравнению с контрольной группой.

1.4.1 Доклинические испытания препаратов Casiopeinas

1.4.1.1 Исследования острой токсичности препаратов Casiopeina Pgly и Casiopeia III ia

In vivo исследования острой токсичности указанных комплексов показали, что токсичность напрямую зависит от скорости ввода препарата. Исследования сердца после проведения терапии показали, что Casiopeinas способны вызывать сердечную аритмию и снижение сердечного ритма. Исследования острой токсичности на мышах и крысах, а также на собаках, показали значение максимально переносимой дозы в 10 раз превышающее терапевтическую (200 мг/м² для Casiopeina III-ia и 160 мг/м² для Casiopeina Pgly). Летальная доза вызывала легочную/сердечную недостаточность.

Определение LD 99 для Casiopeina III-ia и Casiopeina Pgly были проведены для определения физиопатологических реакций на терапию препаратом.

Определение летальной дозы проводились на собаках (42 особи). Необходимая доза препарата была рассчитана из массы каждой особи, 4мг/кг внутримышечно. Посмертные патологические гистологические исследования проводились у всех собак.

При исследовании соотношения летальная доза–ответ для обоих препаратов стало ясно, что побочные эффекты и летальный исход не наступают во время введения

препарата, однако в течении 30-50 минут после инфузии наступают спонтанные задержки дыхания, тахипноэ с последующей артериальной гипертензией, после чего в течении 10 минут наступает отек легких.

Данные множественного регрессионного анализа с использованием модели Больцмана показали значения LD99 для CasIII-ia 200мг/м^2 (10 мг/кг), и для Cas-Пgly 160мг/м^2 (8мг/кг) [133].

1.4.1.2 Исследования распределения Casiopeina Пgly в крови и плазме

Важными факторами при проведении клинических и доклинических испытаний являются соотношение распределения препарата в крови/плазме, оценка связывания препарата с протеинами плазмы, фармакокинетический профиль.

Ранее проведенные исследования препарата Casiopeina Пgly на крысах [134] и собаках [135] показали быстрое выведение препарата после внутривенного введения.

Исследования стабильности препарата в крови проводили с использованием образцов крови человека, крыс и биглей при 37 °С в течении 6 часов. Во всех случаях было обнаружено сохранение 88-100% координационного соединения. Следовательно, быстрый период выведения препарата не связан с нестабильностью в крови.

Время установления равновесных концентраций препарата в крови и плазме было определено в предварительных экспериментах, и составляло 30 минут - этот период был взят для формального расчета. Результаты показывают, что Casiopeina Пgly преимущественно накапливается в крови по сравнению с плазмой. Кроме того, наблюдалась значительное связывание с эритроцитами, что объясняет токсикологические данные, полученные ранее – гемолитическую анемию и снижение концентрации красных кровяных телец после внутривенного введения Casiopeina Пgly [136]. Связывание координационного соединения с красными кровяными тельцами приводит к повреждению эритроцитов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что Casiopeina Пgly сильно связывается с белками плазмы крысы, собаки и человека. Поэтому необходима корректировка схемы использования препарата Casiopeina Пgly, чтобы избежать острой токсичности.

Для получения профиля выведения препарата после внутривенного введения терапевтической дозы 2мг/кг использовались бигли. Согласно фармакокинетическому профилю, период полураспада соединения составляет 47 минут. Полученные данные подтверждают нелинейную кинетику распада препарата, и для получения достоверной информации о периоде полураспада Casiopeina Пgly – параметре, который влияет на

предполагаемый режим дозирования в доклинических и клинических испытаниях - нужны дальнейшие, более подробные исследования [137].

1.4.1.3 Исследования препарата *Casiopeia*III-ia на серии мышей с привитым НСТ-15

Исследования препарата проводились на серии из 25 6-недельных мышей. Всем животным была подкожно привиты клетки 1·10⁶ НСТ-15 (рак толстого кишечника) в левую бедренную мышцу. Когда опухоль достигла 0.3 см в диаметре, мыши были в случайном порядке распределены на следующие группы: контроль (10 особей, получали дистиллированную воду), CDDP (5 особей, 4 4 мг/кг, 13,5 ммоль/кг, 7 дней, 4 дозы); Cas III-IA (5 особей, 3,0 мг / кг, 6,74 ммоль/ кг, каждый 4 дней, 6 доз); Cas III-IA (5 особей, 6,0 мг/кг, 13,5 ммоль/кг, каждые 4 дня, 6 доз). Препараты вводили внутривентриально. Ежедневно проводилось взвешивание животных и измерение размера опухоли. Результаты исследований приведены в Таблице 16.

Таблица 16. Результаты исследований *in vivo* препарата *Casiopeia* III-ia

| Исследуемые группы | Число мышей в исследуемой группе | Относительный объем опухоли | День увеличения объема опухоли в 2 раза | Митотический индекс | Апоптотический индекс |
|--|----------------------------------|-----------------------------|---|---------------------|-----------------------|
| Дистиллированная вода (отрицательный контроль) | 10 | 3527,88 ± 819,8 | 5,1 ± 1,0 | 8,5 ± 0,7 | 4,2 ± 1,1 |
| CDDP (Позитивный контроль) | 5 | 2755,2 ± 342,9 | 5,4 ± 0,5 | 8,4 ± 2,1 | 17,6 ± 1,9 |
| <i>Casiopeia</i> III-ia 3,0мг/кг | 5 | 2709,5 ± 1324,2 | 9,0 ± 3,5 | 4,8 ± 2,2 | 18,91 ± 06 |
| <i>Casiopeia</i> III-ia 6,0мг/кг | 5 | 661,3 ± 241,5 | 12,2 ± 3,6 | 3,5 ± 1,1 | 20,26 ± 6,4 |

Как видно из приведенных данные, в случае терапии препаратом *Casiopeia*III-ia наблюдается относительное снижение роста опухоли по отношению к группам позитивного и негативного контроля. В случае терапии дозой 3,0мг/кг результаты были статистически равноценны результатам, полученным в группе позитивного контроля. В случае терапии дозой 6,0мг/кг результаты были значительно лучше.

Также, в случае терапией препаратом *Casiopeia* III-ia наблюдается закономерное понижение митотического индекса, и повышение апоптотического индекса по сравнению с группами позитивного и негативного контроля.

Полученные данные подтверждают, что препарат *Casiopeia* III-ia способен оказывать противоопухолевое действие *in vivo* путем индукции апоптоза [138].

2. Обсуждение результатов

Поиск и синтез низкотоксичных препаратов для терапии злокачественных новообразований является центральной задачей современной медицинской химии. Широко применяемые в клинической практике цисплатин его производные, несмотря на доступность и эффективность, являются высокотоксичными и неселективными химиотерапевтическими агентами.

В последние годы большое число публикаций посвящено поиску координационных соединений на основе эндогенных металлов – Cu и Co, обладающих разнообразной фармакологической активностью. Несколько препаратов – координационных соединений меди – находятся на стадии доклинических и клинических испытаний как эффективные и низкотоксичные химиотерапевтические агенты.

При поиске цитотоксичных координационных соединений, обладающих противоопухолевой активностью, ключевым фактором является лигандное окружение иона металла. В данной работе уделено внимание синтезу лигандов и координационных соединений Cu и Co(II) на основе различных производных имидазолин-4-онов: 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов. В литературе описана разнообразная фармакологическая активность перечисленных производных [139,140], однако, число работ, посвященных исследованию координационных соединений на их основе, весьма ограничено.

За последнее десятилетие задача поиска новых химиотерапевтических агентов во многом утратила первостепенное значение. В терапевтической практике используется большое число препаратов, различных по природе и механизму действия, однако, тяжелые побочные эффекты ограничивают их применение. Зачастую, терапия злокачественных новообразований ограничивается несколькими курсами химиотерапии, и дальнейшее применение классических доступных препаратов становится невозможным из-за высокой вероятности летального исхода. Также, качество жизни пациентов в ремиссии значительно падает из-за необратимого действия токсичной химиотерапии. Таким образом, первостепенной задачей становится поиск путей снижения токсичности уже известных препаратов, а также дизайн новых молекул, обладающих высокой селективностью к опухолевым клеткам по отношению к здоровым тканям.

Один из путей снижения токсичности противоопухолевых препаратов – это направленная доставка препаратов к опухолевым клеткам. Данная задача может быть достигнута несколькими путями: путем изменения формуляции (мицеллообразование),

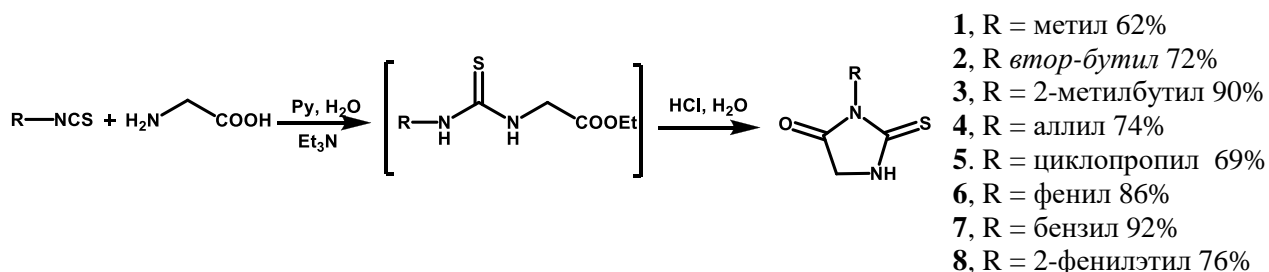
механической доставки (с помощью магнитных наночастиц), а также путем изменения структуры препарата – введения фрагмента, отвечающего за направленную доставку препарата к опухолевым тканям. Только за последние несколько месяцев множество публикаций посвящено различным способам направленной доставки широко используемого в клинической практике доксорубина [141-144], доцетаксела [145-147], цисплатина [148,149]. В нашей работе мы использовали 2 классических подхода для синтеза таргентных молекул: введение фрагмента биотина [150], и углеводов [151, 152].

Таким образом, целью нашей работы являлся синтез координационных соединений Co(II) и Cu(II), (I) с лигандами на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов, в том числе содержащих векторные фрагменты, потенциально обладающих противоопухолевой активностью.

2.1 Синтез производных 2-тиогидантоинов

2.1.1 Синтез 2-тиогидантоинов с алкильными и арильными заместителями в 3 положении

Наиболее препаративно удобным методом для синтеза 2-тиогидантоинов является реакция алкил- или арилизоцианатов с глицином в смеси пиридин-вода в присутствии триэтиламина [153]. При этом изначально были получены замещенные тиомочевины, которые затем циклизовали в целевые продукты **1-8** действием соляной кислоты:



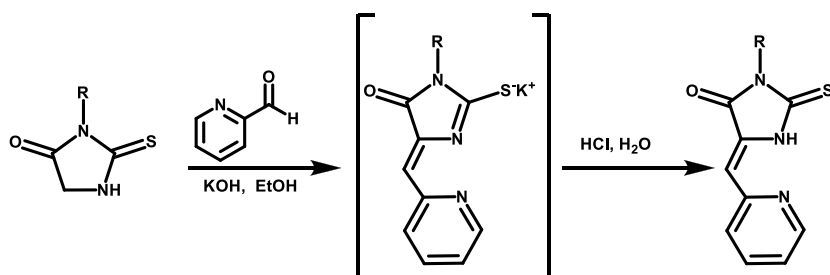
Отметим, что описанный ранее классический метод синтеза тиогидантоинов предусматривал использование в качестве основания гидроксида натрия.[154]

Все полученные 2-тиогидантоины были охарактеризованы данными ЯМР ¹H и ИК спектроскопии, состав подтвержден данными элементного анализа.

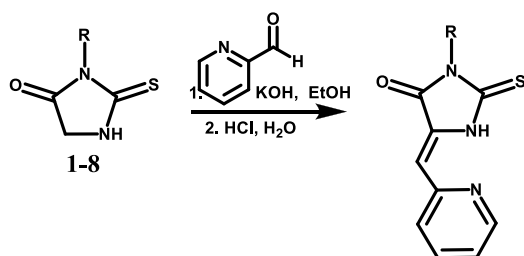
2.1.2 Синтез 3-замещенных 5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиогидантоинов

Введение заместителя в пятое положение имидазолонового цикла позволяет получать 5-арилметилден-замещенные 2-тиогидантоины с дополнительными донорными атомами. В настоящей работе нами были синтезированы производные, содержащие 5-(2-

пиридил)метиленовый заместитель, с дополнительным донорным атомом азота, обеспечивающим образование хелатного координационного соединения:



Для получения 5-Z-пиридилметилен-3-алкил- и 3-арил-2-тиогидантоинов в реакцию конденсации с 2-пиридинкарбальдегидом были введены соответствующие 2-тиогидантоины **1-8**. Промежуточно образующаяся калиевая соль превращается в соответствующий тион действием соляной кислоты:



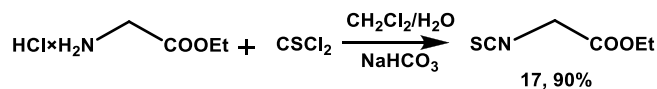
- 9**, R = метил, 85%
- 10**, R = втор-бутил, 79%
- 11**, R = 2-метилбутил, 85%
- 12**, R = аллил, 74%
- 13**, R = циклопропил, 69%
- 14**, R = фенил, 95%
- 15**, R = бензил, 95%
- 16**, R = 2-фенилэтил, 90%

Однако, данный подход к синтезу 5-Z-пиридилметилензамещенных 2-тиогидантоинов ограничен доступностью исходных изотиоцианатов, а также наличием на первой стадии синтеза кипячения с соляной кислотой, что ограничивает возможность введения кислоточувствительных функциональных группировок в третье положение тиогидантоинового цикла.

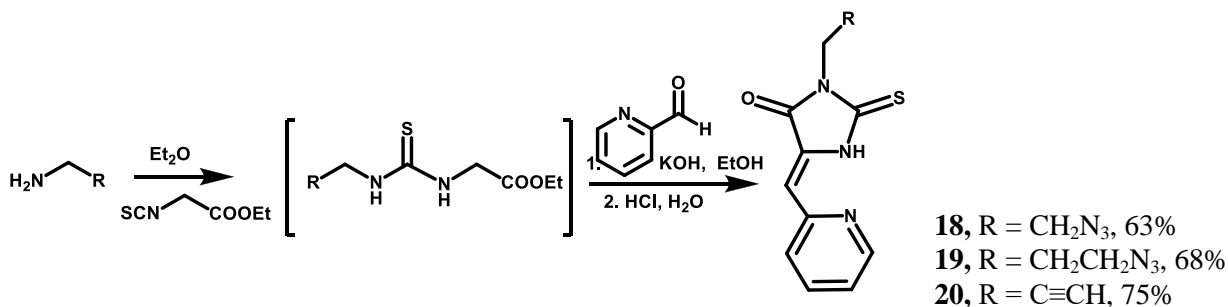
Альтернативный метод синтеза 5-Z-пиридилметилензамещенных 2-тиогидантоинов заключается в разработанной в нашей научной группе one-pot процедуре конденсации с альдегидом не 2-тиогидантоинов, а их синтетических предшественников – тиомочевин.

Данный подход значительно снижает время синтеза по сравнению с классическим подходом, упрощает проведение реакции, а также открывает путь к синтезу 5-Z-пиридилметилензамещенных 2-тиогидантоинов, содержащих в третьем положении тиогидантоинового цикла кислоточувствительные функциональные группировки. Также, данный подход позволяет заменить труднодоступные изотиоцианаты на коммерчески доступные амины.

Тиомочевины могут быть получены путем взаимодействия амина с изотиоцианатоэтилацетатом. Исходный изотиоцианатоэтилацетат **17** был получен по реакции гидрохлорида этилового эфира глицина с тиофосгеном:



Как было отмечено выше, одной из целей данной работы является синтез лигандов, содержащих векторные фрагменты, отвечающие за направленную доставку к опухолевым тканям. Было предложено вводить векторные фрагменты в 3-е положение тиогидантоинового цикла, а в качестве метода их введения использовать препаративно удобную click-реакцию между азидом и алкином. Для этой цели, используя модифицированную методику синтеза, нами были получены 5 (*Z*)-пиридилметилзамещенные-2-тиогидантоины **18–20**, содержащие в третьем положении тиогидантоинового цикла алкилазидные и пропаргильные фрагменты:



Все полученные 5-арилметиленовые производные 2-тиогидантоинов теоретически могут образовываться в виде двух изомеров с *Z*- или *E*-конфигурацией экзоциклической C=C связи; однако, во всех реакциях продуктом был единственный геометрический *Z*-изомер. Ранее [155] было проведено отнесение сигналов винильных протонов в спектрах ЯМР ¹H *E*- и *Z*-изомеров производных 2-тиогидантоинов, содержащих в 5 положении пиридилметиленовый фрагмент. Было установлено, что сдвиги винильных протонов в спектрах ЯМР ¹H *Z*- или *E*-изомеров лежат в диапазонах 6,40-6,85 и 6,10-6,35 соответственно. Исходя из этого, все полученные нами соединения являются *Z*-изомерами (Таблица.1).

Таблица 1. Химические сдвиги протона при связи C=C в спектрах ЯМР ¹H соединений **9-16, 18-20** (растворитель – CDCl₃)

| № | δ, м.д. | № | δ, м.д. |
|-----------|---------|-----------|---------|
| 9 | 6,72 | 15 | 6,76 |
| 10 | 6,67 | 16 | 6,53 |
| 11 | 6,72 | 18 | 6,56 |
| 12 | 6,75 | 19 | 6,54 |
| 13 | 6,65 | 20 | 6,54 |
| 14 | 6,81 | | |

В спектрах ЯМР ^1H соединений **9-16**, **18-20** присутствует сигнал тиоамидного протона при ~ 11 м.д., набор сигналов в ароматической области, соответствующих пиридиновому фрагменту, сигнал винильного протона при $\sim 6,5$ м.д. и набор алифатических сигналов в области $\sim 1-4$ м.д. Полученные соединения были охарактеризованы также данными ИК спектроскопии. В ИК спектре соединений **18**, **19** наблюдается характерная для азидо-группы полоса поглощения в области 2100 см^{-1} , в спектре соединения **20** имеется полоса поглощения в области 3100 см^{-1} (колебания $\text{C}\equiv\text{CH}$).

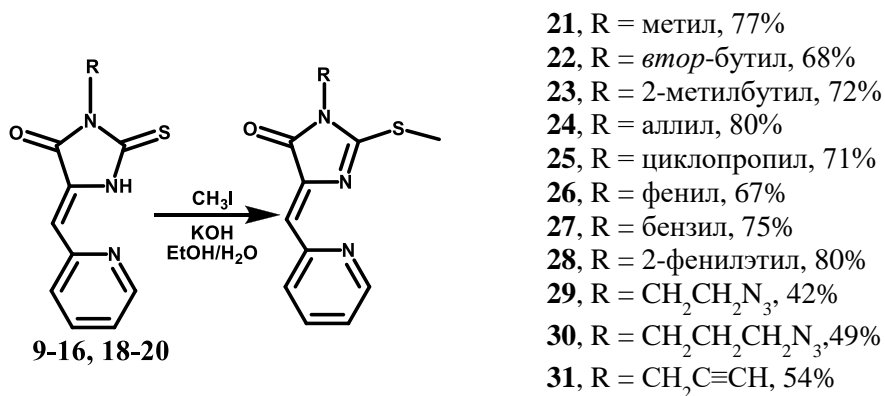
2.1.3 Алкилирование производных 2-тиогидантоинов

Наличие в молекуле 2-тиогидантоина тионной группировки позволяет модифицировать молекулу, алкилируя ее алкилгалогенидами [156,157].

Данная реакция значительно изменяет координационные свойства тиогидантоиновых лигандов. Из литературных данных известно, что 2-тиогидантоины могут вступать в реакции алкилирования как по атому серы, так и по атому азота [158].

2.1.3.1 Алкилирование соединений **9-16**, **18-20** иодистым метилом

Для получения координационных соединений, содержащих в своем составе один тиогидантоиновый фрагмент, была выбрана реакция алкилирования 5-Z-пиридилметиленазамещенных 2-тиогидантоинов иодистым метилом. Замещенные в 3-положении 2-тиогидантоины **9-16**, **18-20** вводились нами в реакции алкилирования в присутствии гидроксида калия в качестве основания:

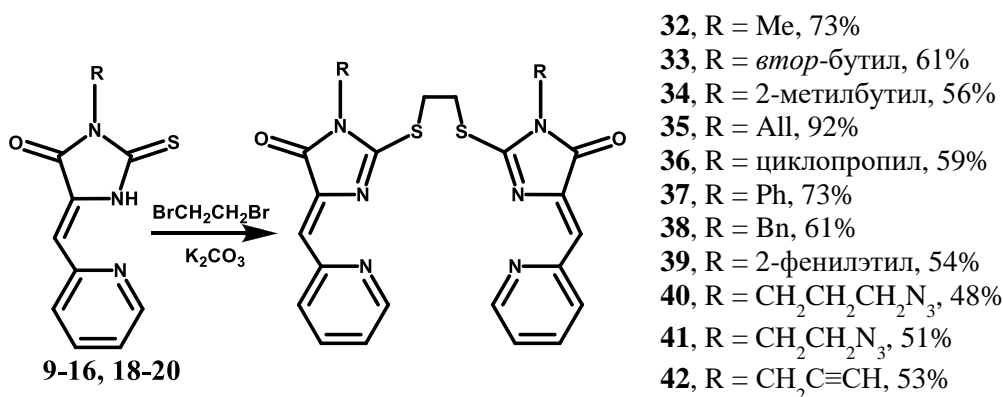


При этом были выделены продукты S-алкилирования, структура которых подтверждена данными ЯМР, ИК спектроскопии и элементного анализа.

Полученные соединения **21-31** являются потенциальными лигандами для реакций комплексообразования и последующего исследования биологической активности.

2.1.3.2 Алкилирование соединений 9-16, 18-20 1,2-дибромэтаном

При алкилировании 5-(Z)-пиридилметиленамещенных 2-тиогидантоинов **9-16, 18-20** 1,2-дибромэтаном были получены имидазолы **32-42** с двумя донорными хелатирующими фрагментами, соединенными двухуглеродным линкером. Реакцию проводили в диметилформамиде в присутствии карбоната калия:



Для увеличения выходов продуктов реакции алкилирования нами были оптимизированы условия выделения и очистки полученных лигандов. После завершения реакции (контроль по ТСХ) реакционную смесь смешивали с равным по объему количеством льда, перемешивали 10 минут, выпавший осадок отфильтровывали, промывали раствором щелочи и затем большим количеством воды. Данный подход позволил получить чистые продукты реакции алкилирования, не требующие хроматографической очистки, а также не загрязненные неорганическими примесями. Состав полученных соединений подтвержден данными элементного анализа, а строение - данными ЯМР ¹H и ИК спектроскопии. В спектрах ЯМР ¹H соединений **32-42** исчезает имеющийся в спектрах исходных соединений сигнал NH групп при ~11 м.д. и появляются сигналы протонов группы CH₂S при ~4 м.д. Во всех спектрах наблюдается типичный набор сигналов α-замещенного пиридинового фрагмента в области 7,20-8,80 м.д.

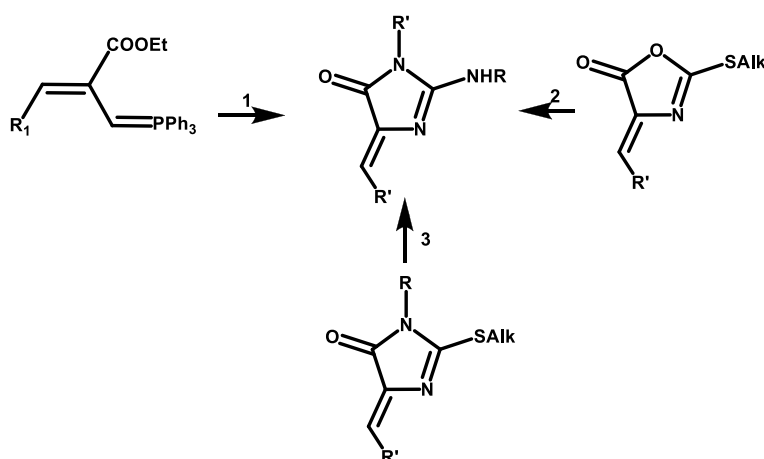
Таким образом, нами были синтезированы соединения ряда 2-тиогидантоинов и 2-алкилтиогидантоинов, которые перспективны для изучения их биологических свойств, а также являются потенциальными лигандами для исследования в реакциях комплексообразования.

Следующим этапом нашей работы была модификация структуры полученных лигандов путем замены атома серы на атом азота, а также введения векторных фрагментов, отвечающих за направленную доставку к опухолевым клеткам, получение их координационных соединений с Cu и Co и изучение соотношения структура-активность для лигандов и комплексов.

2.2 Получение производных 2-аминоимидазолин-4-онов

2-Аминоимидазолин-4-оновый цикл представляет собой фармакофорный фрагмент, присутствующий в ряде алкалоидов и биологически активных органических соединений. Анализ литературных данных [159-161] свидетельствует о том, что 2-аминоимидазолин-4-оны могут проявлять различные типы биологической активности.

Из литературных данных известно, что 2-аминоимидазолин-4-оны могут быть получены реакцией Аза-Виттига иминофосфоранов с ароматическими изотиоцианатами [162], взаимодействием S-замещенной изотиомочевины с соответствующим оксазолин-4-оном [163], а также из производных 2-тиогидантоинов [164]:



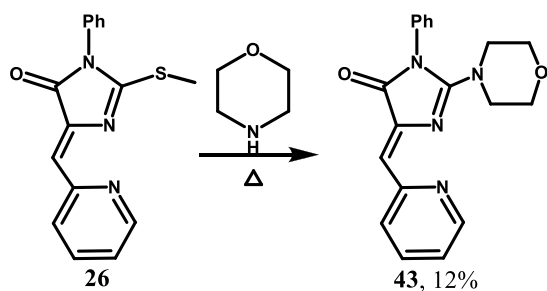
Ввиду доступности исходных 2-тиогидантоинов в данной работе нами был выбран последний подход.

2.2.1 Получение 2-аминоимидазолин-4-онов из S-метилированных производных

Как было показано ранее, при синтезе 2-аминоимидазолин-4-онов из S-алкилированных производных 2-тиогидантоинов возможны два варианта проведения реакций: с применением микроволнового излучения [165] и совместным кипячением реагентов в органических растворителях [166].

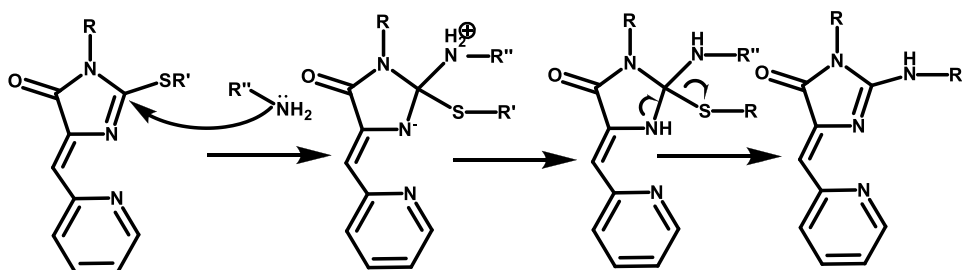
2.2.1.1 Получение 2-аминоимидазолин-4-онов реакциями в растворе

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что замена атома серы на атом азота в S-алкилированных производных 2-тиогидантоинов осуществляется при длительном кипячении S-алкилированных производных 2-тиогидантоина в чистом амине. Мы провели модельные реакции 5-пиридилметилзамещенных 2-тиогидантоинов **21**, **24**, **26** с морфолином при длительном кипячении. Однако, в результате удалось выделить лишь производное морфолина **43**:



Также нами были проведены реакции соединений **21**, **24**, **26** с пиперидином, однако, несмотря на длительное кипячение и варьирование соотношения исходных реагентов, целевые продукты также выделить не удалось.

Из-за низких выходов целевых соединений и длительного протекания реакции данный метод оказался малопригоден для получения целевых аминоимидазолонов. В работе [166] было показано, что данные реакции протекают по механизму присоединения – отщепления, и уходящей группой является алкилмеркаптан:



Исходя из приведенного механизма, в котором ключевой стадией является нуклеофильное присоединение по атому углерода, связанного с атомом серы, мы предположили возможность использования кислот Льюиса для катализа данных реакций.

В качестве жесткой кислоты Льюиса был протестирован хлорид алюминия $AlCl_3$, хлорид цинка $ZnCl_2$ - в качестве кислоты Льюиса средней жесткости, и трифлат иттербия $Yb(OTf)_3$ как мягкая кислота Льюиса. Вначале были проведены модельные реакции 5-(Z)-2-метилтио-3-фенил-5-пиридилметилден-имидазолин-4-она с морфолином в присутствии 10 мольных % кислот Льюиса. Полученные результаты представлены в Таблице 2.

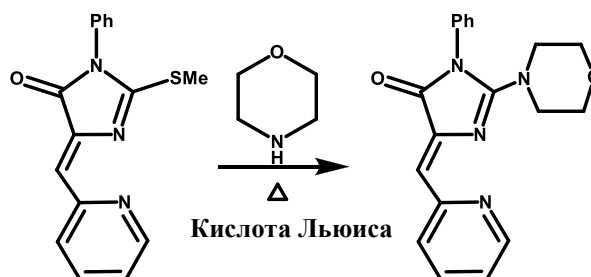


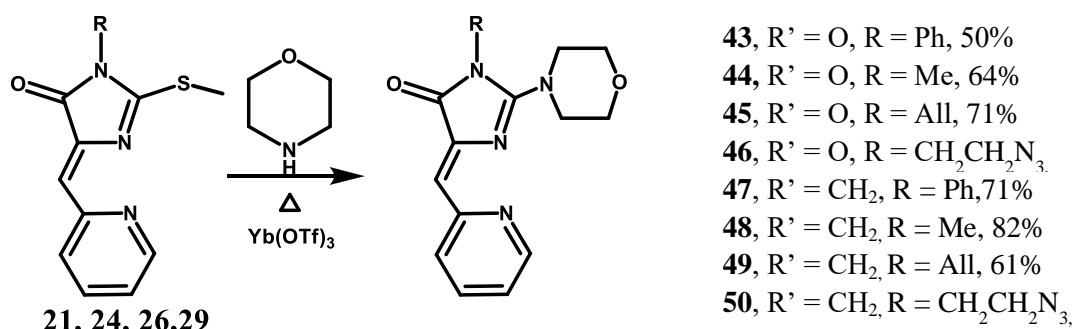
Таблица 2. Исследование каталитических свойств кислот Льюиса в реакции 5 (Z)-2-метилтио-3-фенил-5-пиридилметилден-имидазолин-4-она с морфолином

| Кислота Льюиса | AlCl ₃ | ZnCl ₂ | Yb(OTf) ₃ |
|---|--|--|--|
| Условия проведения реакции и ее результат | Кипячение в течении трех дней; реакция не идет | Кипячение в течении трех дней; выход 10% | Кипячение в течении 2 часов; выход 50% |

Как видно из приведенных данных, лучшие результаты были получены при использовании трифлата иттербия в качестве кислоты Льюиса.

Таким образом, впервые была показана возможность катализа реакции нуклеофильного замещения в 2-алкилтиоимидазолин-4-онов на аминогруппу действием кислот Льюиса. Данная методика не требует длительного кипячения реагентов, а полученный аминокимидазолон может быть выделен в чистом виде без хроматографической очистки.

Используя данный метод, мы синтезировали серию 2-аминоимидазолин-4-онов **43-50** с хорошими выходами:



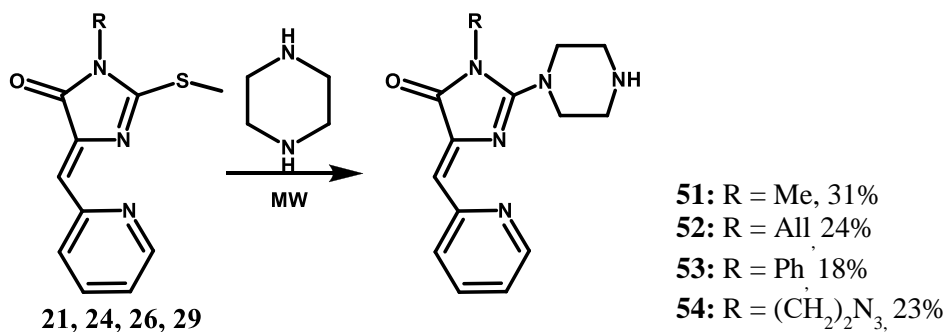
Таким образом, нами были синтезированы целевые производные 2-аминоимидазолин-4-онов с использованием кислот Льюиса в качестве катализаторов реакций замещения серосодержащей группы на амино-группу в производных 2-тиогидантоинов.

2.2.1.2 Получение 2-аминоимидазолин-4-онов с использованием микроволнового облучения.

Синтез 2-аминоимидазолин-4-онов с использованием микроволнового излучения согласно литературным данным [167] протекает гораздо быстрее по сравнению с реакциями в традиционных органических растворителях.

Мы использовали этот метод для синтеза 3,3'-замещенных (5Z,5'Z)-2,2'-(пиперазин-1,4-диил)бис(5-(пиридил-2-метилден)-4Н-имидазол-4-онов. Реакции

проводились в расплаве пиперазина. Однако во всех случаях, несмотря на большой избыток пиперазина (5 экв), в реакционной смеси оставался непрореагировавший исходный 5-(Z)-пиридилметиленазамещенный-2-тиогидантоин. Полученные продукты очищались хроматографически. Во всех случаях реакция протекала с образованием продуктов монозамещения **51-54**:



Несмотря на увеличение количества в реакционной смеси исходного S-алкилированного производного тиогидантоина, а также на увеличение мощности излучения и времени протекания реакции, продуктов замещения по обеим NH группам пиперазина в реакционной смеси зафиксировано не было.

Попытки получить бис-имидазолоновый лиганд 2-алкилтиоимидазолин-4-онов с продуктом моно-аминирования также не привели к успеху.

Таким образом, нами были получены 5-(Z)-пиридилметиленазамещенные 2-аминоимидазолин-4-оны, представляющие собой перспективных лиганды для изучения их биологической активности, а также введения в реакции комплексообразования.

Далее мы приступили к синтезу лигандов, содержащих векторные фрагменты, отвечающие за направленную доставку препарата к опухолевым клеткам.

2.3 Синтез производных 2-тиогидантоинов, содержащих векторный фрагмент

Высокие уровни селективной токсичности, характерные для противовирусных и антибактериальных препаратов, недостижимы для противоопухолевых препаратов, поскольку опухолевые клетки практически идентичны здоровым клеткам. Почти все используемые в настоящее время химиотерапевтические препараты имеют небольшую селективность по отношению к опухолевым клеткам только по причине постоянного деления. Это приводит к высокой токсичности препаратов по отношению ко всем тканям, в особенности к тем, в которых постоянно происходит деление клеток (ЖКТ, волосяные фолликулы, костный мозг). Тяжелые побочные эффекты приводят к необходимости снижения терапевтической дозы, что часто сопровождается развитием резистентности к химиотерапии. Селективную токсичность препарата можно увеличить при помощи либо

увеличения дозы препарата, которая достигает опухолевые ткани, либо снижения дозы, которую получают нормальные ткани [168]. Доступными путями одновременного достижения этих целей является применение адресной доставки лекарств.

Гепатоклеточная карцинома является одним из самых опасных видов злокачественных новообразований, при этом она поражает только определенный вид клеток – гепатоциты. Одним из лучших рецепторов-целей для создания лекарств с векторным фрагментом является асиалогликопротеиновый рецептор ASGPR, экспрессирующийся на поверхности гепатоцитов.

Основной задачей ASGPR в клетке является удаление из циркуляции десилированных гликопротеинов с концевыми остатками в виде D-галактозы (Gal) или N-ацетилгалактозы (GalNAc). Поглощение клеточного фибронектина, протромбических компонентов, гепатических липопротеинов и сывороточного иммуноглобулина А также входит в круг задач ASGPR. Он присутствует в больших количествах на поверхности гепатоцитов (порядка 500 000 ед/гепатоцит), при этом его экспрессия на других видах клеток минимальна, что предоставляет большое преимущество для ASGPR-опосредованной доставки препаратов в гепатоциты.

Как было сказано ранее, ASGPR проявляет высокую аффинность к галактозе и N-ацетилгалактозе (Рис. 1).

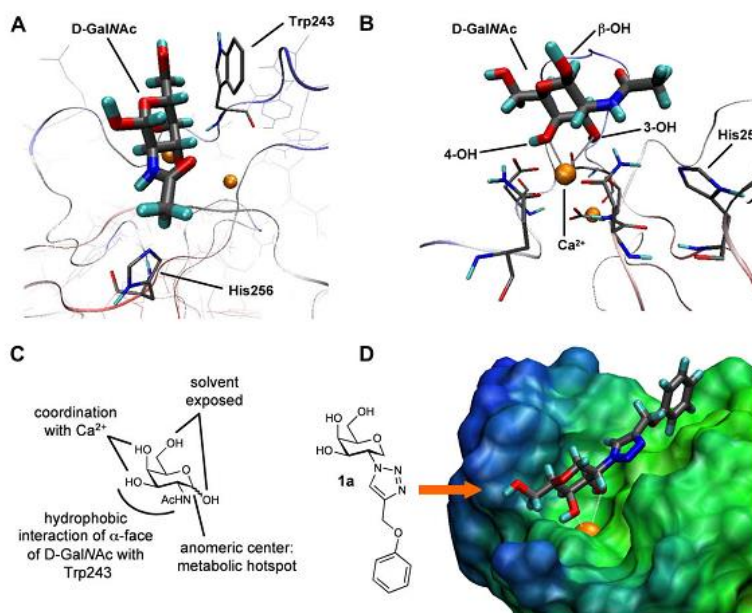


Рис. 1. Молекулярный докинг галактозы в H1-CRD домен ASPGR. (B) Координация экваториальной 3- и аксиальной 4-гидроксильных групп галактозы с ионом кальция. (C) Схематическое изображение важных взаимодействий галактозы со связывающим сайтом H1-CRD. (D) Модель взаимодействия H1-CRD с галактозосодержащим лигандом [169]

Функционализированные углеводы с невосстанавливающими фрагментами Gal и GalNAc показывают высокую степень связывания с асиалогликопротеиновым рецептором, причем степень связывания GalNAc в 10-50 раз выше, чем Gal [170].

Таким образом, конъюгация производных 2-тиогидантоинов с остатками галактозы или N-ацетилгалактозы должно увеличивать его аффинность к асиалогликопротеиновому рецептору, что в перспективе может позволить использовать препараты на их основе для терапии гепатокарциномы.

Другой мишенью для адресной доставки препаратов является SMVT-рецептор, связывающийся с биотином (витамином H, витамином B₇).

Витамины необходимы для множества жизненно важных метаболических процессов в клетках всех млекопитающих, поэтому все здоровые клетки обладают особыми механизмами активного их накопления. Раковые же клетки требуют значительно больших количеств витаминов для поддержания высоких темпов их роста [171], что создает предпосылки к потенциальному использованию витаминов в качестве векторов адресной доставки. Кроме того, существует строгая корреляция между уровнем экспрессии рецептора SMVT и стадией роста опухоли, с наибольшими значениями на терминальной стадии.

Водорастворимый витамин биотин (витамин H, витамин B₇) необходим для нормального клеточного функционирования, роста и развития. Он является кофактором карбоксилаз в процессе биосинтеза жирных кислот и катаболизма некоторых аминокислот с развитой боковой цепочкой, а также жирных кислот с нечетным количеством углеродов в цепи [172]. Дефицит биотина приводит к спектру клинических отклонений, таким как неврологические расстройства, задержка в развитии и болезни кожи. К синтезу биотина способны только бактерии, дрожжи, водоросли и некоторые растения. Ввиду того, что млекопитающие, в том числе человек, неспособны синтезировать биотин, он должен поступать из внешних источников [173].

Основной системой связывания биотина в клетках эпителия кишечника человека является натрий-зависимый мультивитаминный транспортер (SMVT). SMVT является белком (635 аминокислот) кодируемым геном SLC5A6, который, как было найдено, активирован во множестве линий опухолевых клеток [171].

Использование SMVT в качестве цели для направленной доставки лекарств основывается на функциональном и транслокационном аспектах транспортного белка. Функциональность SMVT определяет его способность к узнаванию и связыванию

биотинилированных молекул, в то время как расположение рецептора и уровень его экспрессии являются подходящими для доставки лекарств.

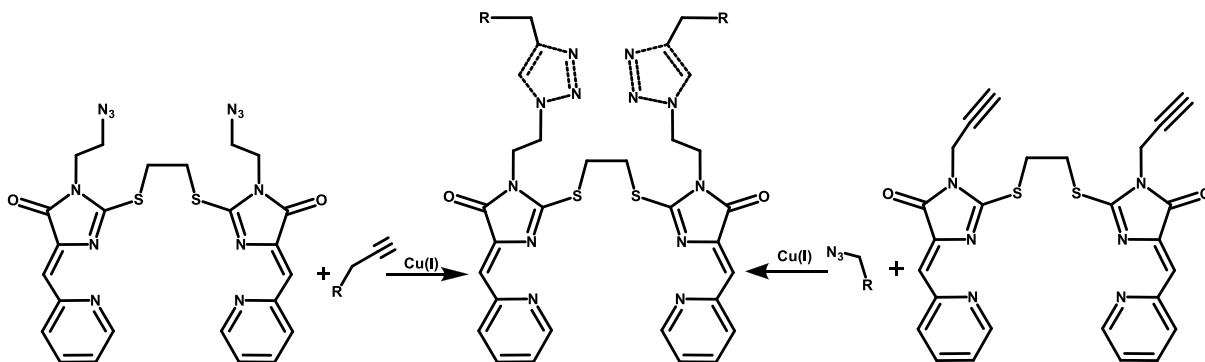
Таким образом, введение в молекулу цитотоксичного агента на основе производных 2-тиогидантоинов остатка биотина должно увеличивать аффинность молекулы к SMVT-рецептору, экспрессия которого повышена на поверхности большинства опухолей, что делает возможным в перспективе использовать данный препарат для терапии злокачественных новообразований.

Целью данного этапа работы было получение соединений на основе производных 2-тиогидантоинов, в состав которых входит векторный фрагмент: Для введения векторной группировки в качестве наиболее препаративно удобной была выбрана click-реакция между азидом и алкином, приводящая к образованию триазольного цикла. Образующийся триазольный цикл является биоизостерой неустойчивой в физиологических условиях пептидной связи (Рис. 2), что открывает широкие перспективы для синтеза аналогов лекарственных препаратов.



Рис 2. Основные структурные параметры транс-дизамещенных амидов и 1,2,3 – триазолов.

Для введения в производные 2-тиогидантоинов векторных фрагментов возможны два пути. Первый - синтез лигандов на 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих в третьем положении цикла алкилазидный фрагмент, и его дальнейшее введение в click-реакции с различными пропаргильными производными. Второй путь - синтез лигандов на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих при атоме N(3) пропаргильный фрагмент, и их дальнейшие click-реакции с азидными производными векторов:



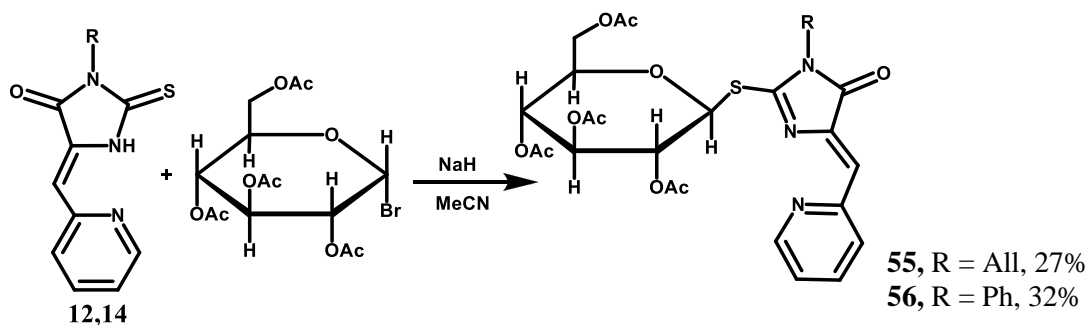
В нашей работе мы исследовали возможность обоих вариантов модификации.

Для click-реакции между азидом и алкином описаны различные условия проведения реакции. Реакции в водной среде чаще всего проводят в присутствии CuSO_4 и аскорбата натрия. Другим возможным источником одновалентной меди являются её соли (CuBr , CuI). При этом реакцию можно проводить в органических растворителях.

2.3.1 Синтез модельных соединений с углеводными фрагментами

Удобным способом введения остатка углеводов в производные 2-тиогидантоинов является реакция алкилирования по атому серы тиогидантоина тетраацетатом 1-бром- α -D-глюкопиранозы.

В качестве модельных соединений нами были получены производные **55**, **56** реакцией алкилирования 5-(Z)-пиридилметиленамещенных 2-тиогидантоинов **12**, **14** тетраацетатом 1-бром- α -D-глюкопиранозы. Реакция проводилась в ацетонитриле в присутствии гидрида натрия:

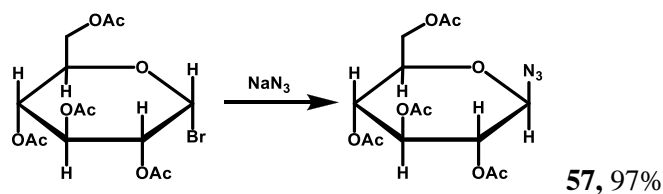


Полученные лиганды **55**, **56** были исследованы методом ИК, ЯМР, масс-спектрометрии и введены в реакции комплексообразования.

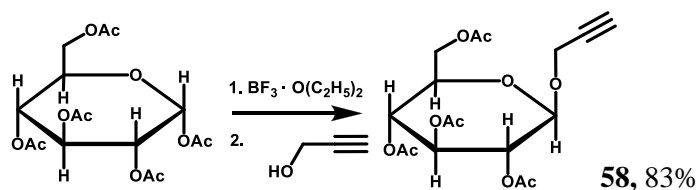
Реакция на схеме выше протекает по механизму $\text{S}_{\text{N}}2$, при этом происходит обращение конфигурации гликозидного углеродного атома фрагмента глюкопиранозы с α на β .

2.3.2 Синтез векторных фрагментов

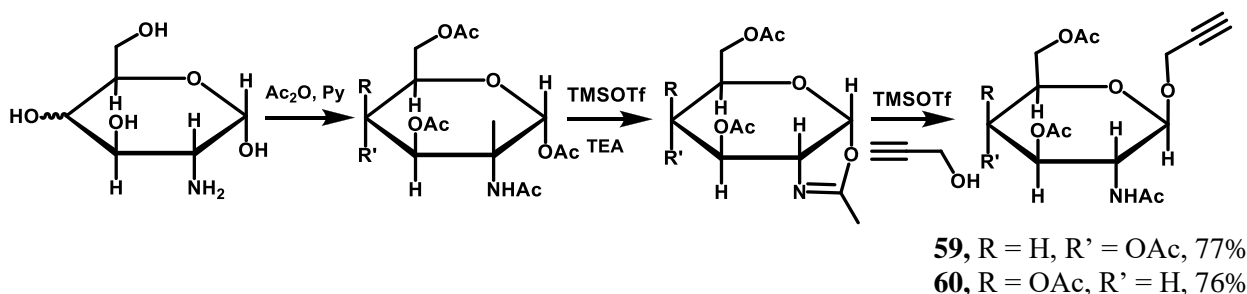
В качестве модельного векторного фрагмента для отработки методики проведения реакции нами первоначально было синтезировано азидопроизводное β -D-глюкопиранозы **57** из соответствующего гликозилбромиды. Реакция протекала под действием азиды натрия в диметилформамиде:



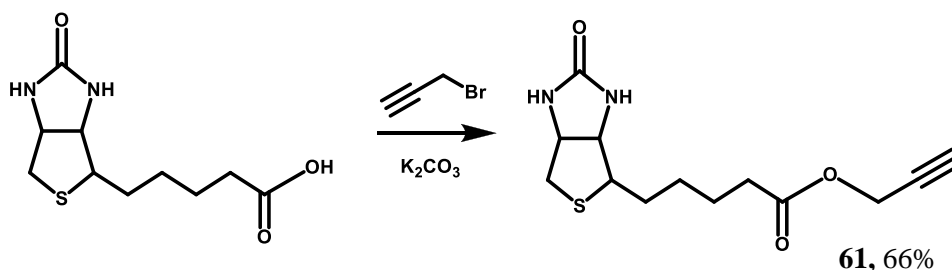
Для альтернативного способа введения векторного фрагмента было синтезировано пропаргильное производное β -D-глюкопиранозы **58**. Реакция проводилась в присутствии эфира трехфтористого бора в качестве кислоты Льюиса. Производное **58** было выделено методом колоночной хроматографии:



Производное N-ацетиламино-D-глюкопиранозы было синтезировано в качестве более доступного модельного аналога. Реакция с производным галактозы проводилась по аналогичной схеме с промежуточным образованием оксазолина, который далее претерпевал нуклеофильное раскрытие цикла в реакции с пропаргильным спиртом:



Пропаргильный эфир биотина **61** был получен реакцией биотина с пропаргилбромидом в присутствии безводного карбоната калия:

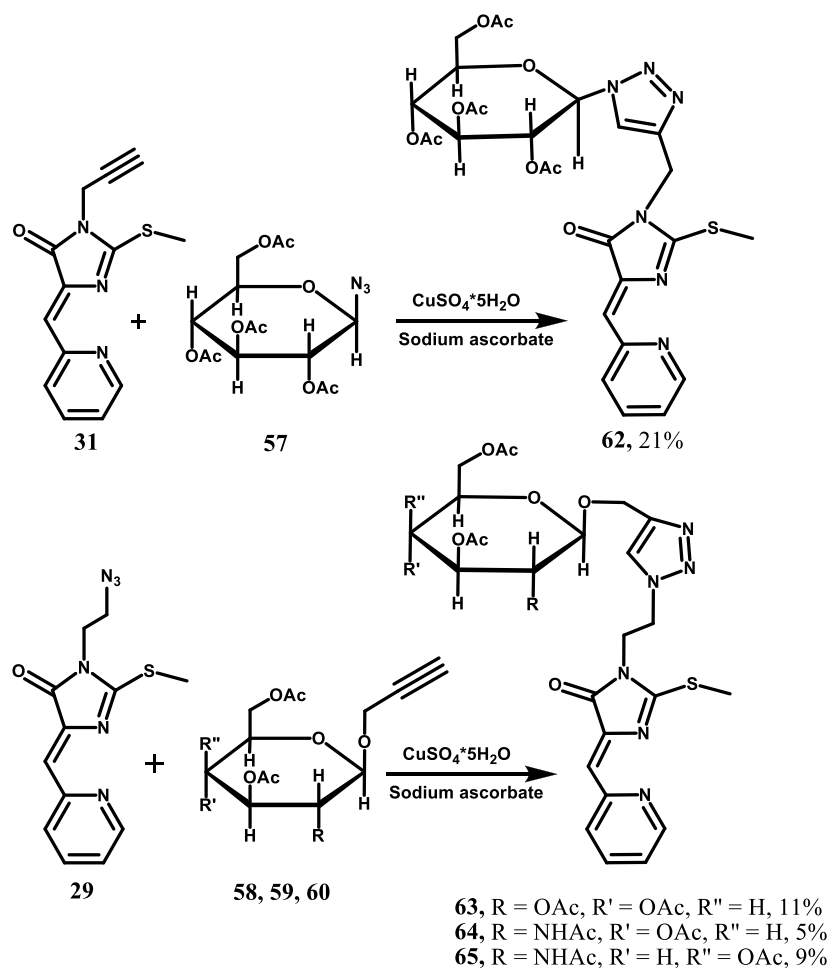


Все полученные соединения были охарактеризованы данными ЯМР ^1H , ИК спектроскопии и масс-спектрометрии.

2.3.3 Проведение click-реакций с углеводными векторами

2.3.3.1 Проведение модельных click-реакций с лигандами **29**, **31**

Для изучения возможности введения векторных фрагментов путем click-реакции, а также для сравнения двух путей введения векторного фрагмента, мы провели click-реакции имидазолонов **29**, **30** с азидопроизводным и пропаргильным производным глюкозы и пропаргильным производным N-ацетиламиногалактозы.

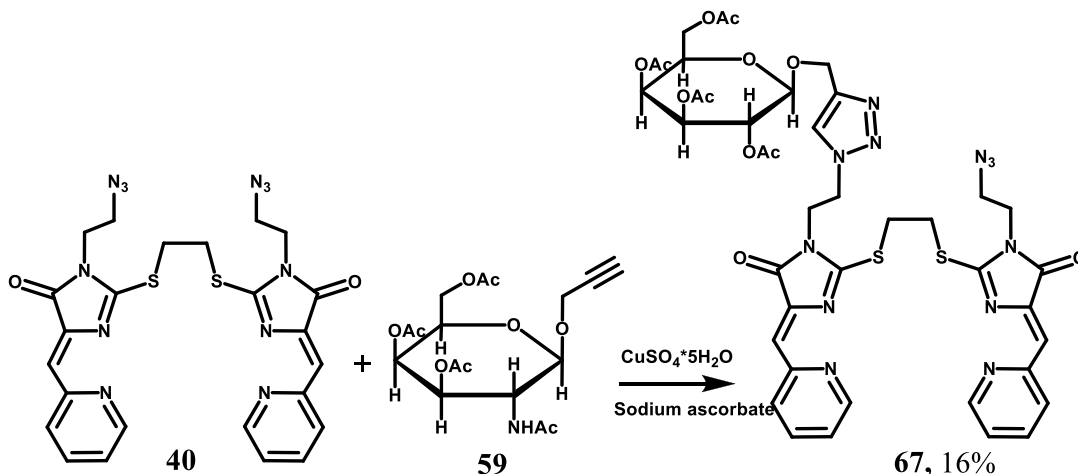
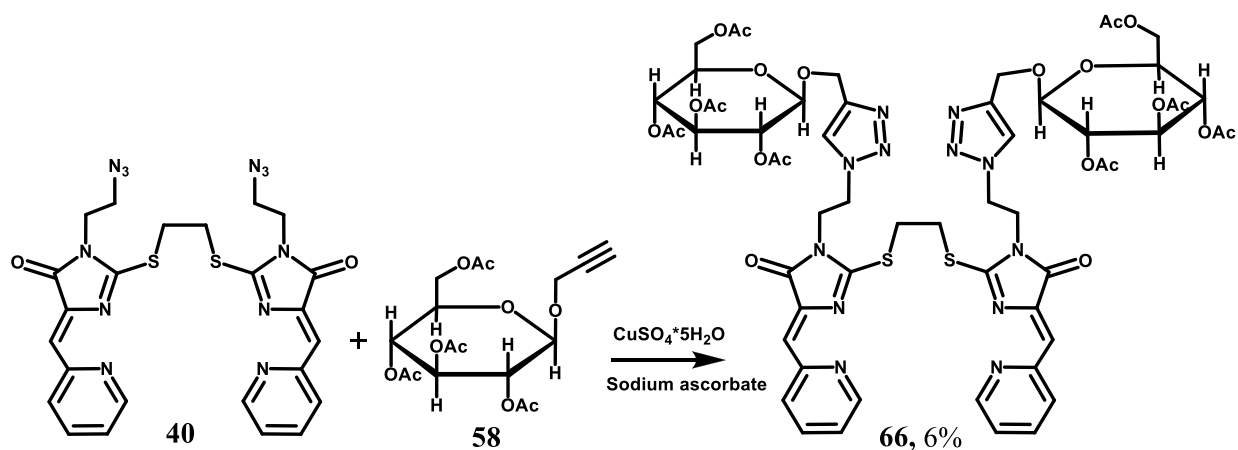


Полученные продукты **62-65** были выделены путем многократной колоночной хроматографии, чем объясняется невысокий выход продуктов в данных реакциях. Выделенные соединения охарактеризованы методами ЯМР ^1H и ИК спектроскопии, а также данными масс-спектрометрии высокого разрешения.

2.3.3.2 Проведение *click*-реакций с лигандами **40**, **42**

При попытке получения целевых лигандов реакцией азидсодержащего производного **57** с лигандом **42** продуктов *click*-реакции выделить не удалось.

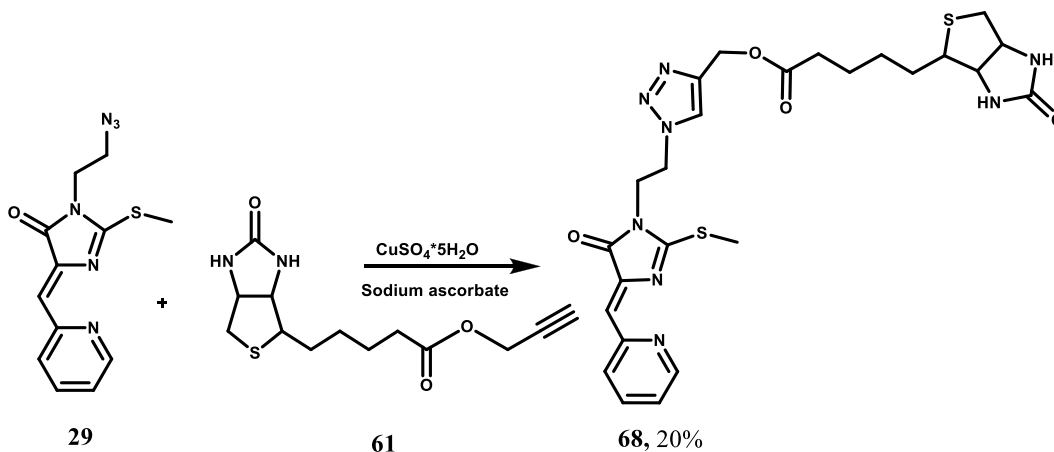
При проведении *click*-реакции азидсодержащего лиганда **40** с пропаргильными эфирами глюкозы и галактозы путем многократной колоночной хроматографии удалось выделить триазолы **66** и **67**:

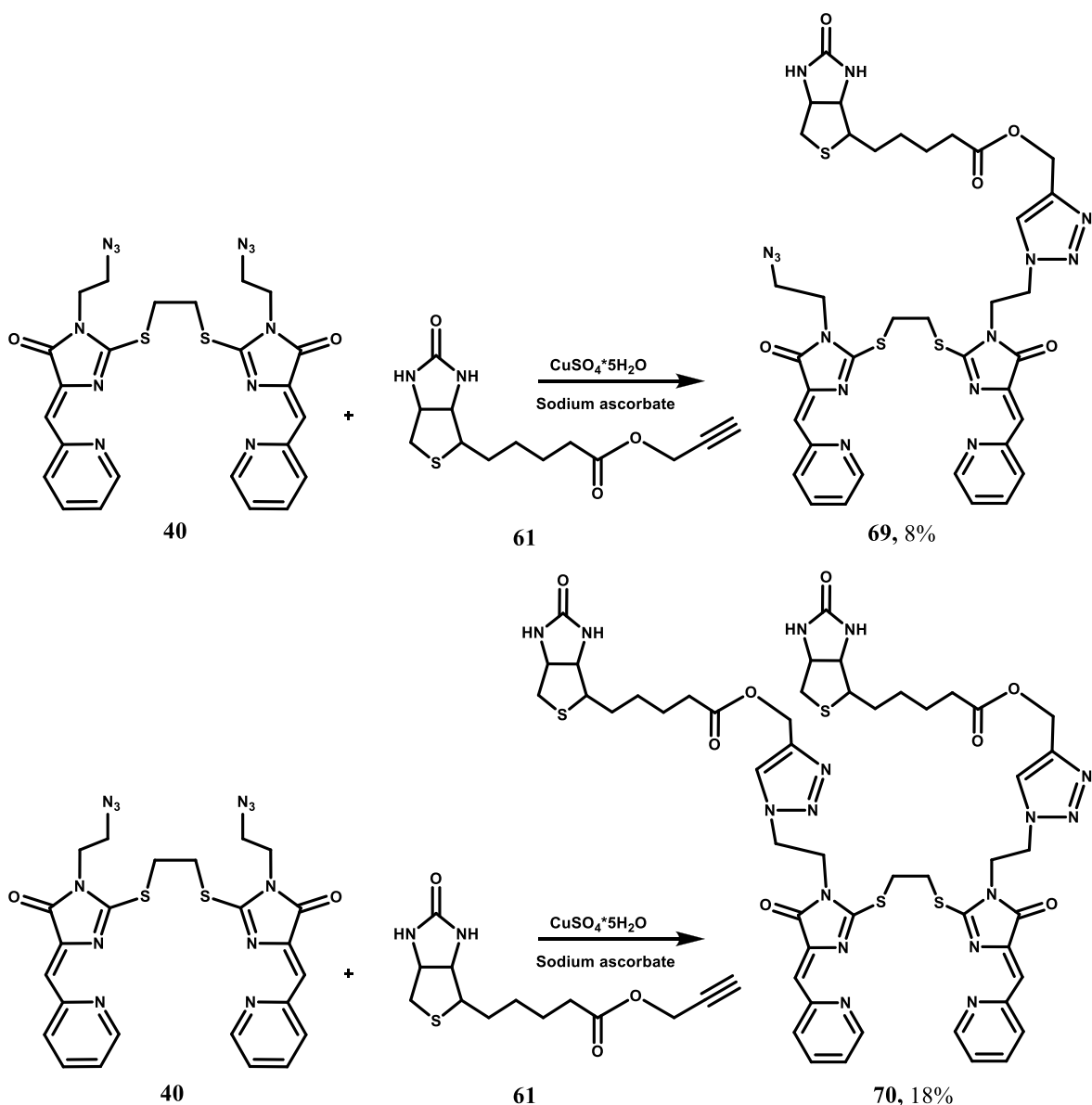


Полученные продукты охарактеризованы данными ЯМР ^1H и ИК- спектроскопии, а также масс-спектрометрии высокого разрешения. Синтезированные соединения представляют собой перспективные лиганды для введения в реакции комплексообразования и изучения биологической активности, а также для изучения связывания с ASGP-рецептором.

2.3.4 Проведение click-реакций с пропаргильным эфиром биотина

При введении в click-реакции пропаргильного эфира биотина нам удалось получить модельное соединение **68**, а также бис-имидазолон **69** и **70**:





Синтезированные продукты перспективны для получения координационных соединений, исследования биологической активности, а также для изучения связывания с SMVT-рецептором.

Таким образом, нами была получена серия лигандов на основе 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов, а также модифицированные лиганды на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих векторные группировки. Следующим этапом было введение полученных лигандов в реакции комплексообразования.

2.4 Получение координационных соединений

Синтезированные лиганды исследовались нами в реакциях комплексообразования с солями Cu(II) и Co(II). На основании результатов исследований, полученные лиганды можно разделить на 3 типа (Таблица 3).

Таблица 3. Типы полученных лигандов в соответствии со строением образуемых ими координационных соединений.

| Тип 1 | Тип 2 | | Тип 3 |
|---|---|---|--|
| | | | |
| <p>9, R = Me 10, R = втор-бутил 11, R = 2-метилбутил 12, R = All 13, R = циклопропил 14, R = Ph 15, R = Bn 16, R = 2-фенилэтил 18, R = CH₂CH₂N₃ 19, R = CH₂CH₂CH₂N₃ 20, R = CH₂C≡CH</p> | <p>21, R = Me, R' = Me 22, R = втор-бутил, R' = Me 23, R = 2-метилбутил, R' = Me 24, R = All, R' = Me 25, R = циклопропил 26, R = Ph, R' = Me 27, R = Bn, R' = Me 28, R = 2-фенилэтил, R' = Me 29, R = CH₂CH₂N₃, R' = Me 30, R = CH₂CH₂CH₂N₃, R' = Me 31, R = CH₂C≡CH, R' = Me 55, R = All, R' = β-пентаацетилглюкоза 56, R = Ph, R' = β-пентаацетилглюкоза Продукты клик-реакций, 62, 63, 64, 65, 68</p> | <p>43, R = Ph, R' = O 44, R = Me, R' = O 45, R = All, R' = O 46, R = CH₂CH₂N₃, R' = O 47, R = Ph, R' = CH₂ 48, R = Me, R' = CH₂ 49, R = All, R' = CH₂ 50, R = CH₂CH₂N₃, R' = CH₂ 51, R = Me, R' = NH 52, R = All, R' = NH 53, R = Ph, R' = NH 54, R = CH₂CH₂N₃, R' = NH</p> | <p>32, R = Me 33, R = втор-бутил 34, R = 2-метилбутил 35, R = All 36, R = циклопропил 37, R = Ph 38, R = Bn 39, R = 2-фенилэтил 40, R = CH₂CH₂N₃ 41, R = CH₂CH₂CH₂N₃ 42, R = CH₂C≡CH Продукты клик-реакций, 66, 67, 69, 70</p> |

Лиганды типа 1 образуют биядерные комплексы состава (L-H)₂M₂Cl. При этом они координируют ионы металлов атомами азота тиогидантоинового и пиридинового циклов, а также атомом серы.

Лиганды типа 2 образуют моноядерные координационные соединения состава LMCl₂ с образованием хелатных комплексов, в которых атом меди координирован атомами азота пиридинового и тиогидантоинового циклов.

Лиганды типа 3, содержащие в своем составе два алкилированных тиогидантоиновых фрагмента, образуют биядерные комплексы типа LM₂Cl₃ или LM₂Cl₄. Координация ионов металла осуществляется по двум пиридиновым атомам азота и двум атомам азота N(1) тиогидантоинового цикла.

2.4.1 Получение координационных соединений с лигандами типа 1

Лиганды типа 1 в реакциях с солями меди(II) дают биядерные комплексы типа (L-H)₂Cu₂Cl, в которых ионы металлов координированы пиридиновым атомом азота, атомом азота N(1) тиогидантоинового цикла а также атомом серы. Были получены

координационные соединения **18a**, **19a**. Структура координационного соединения **18a** подтверждена данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 3).

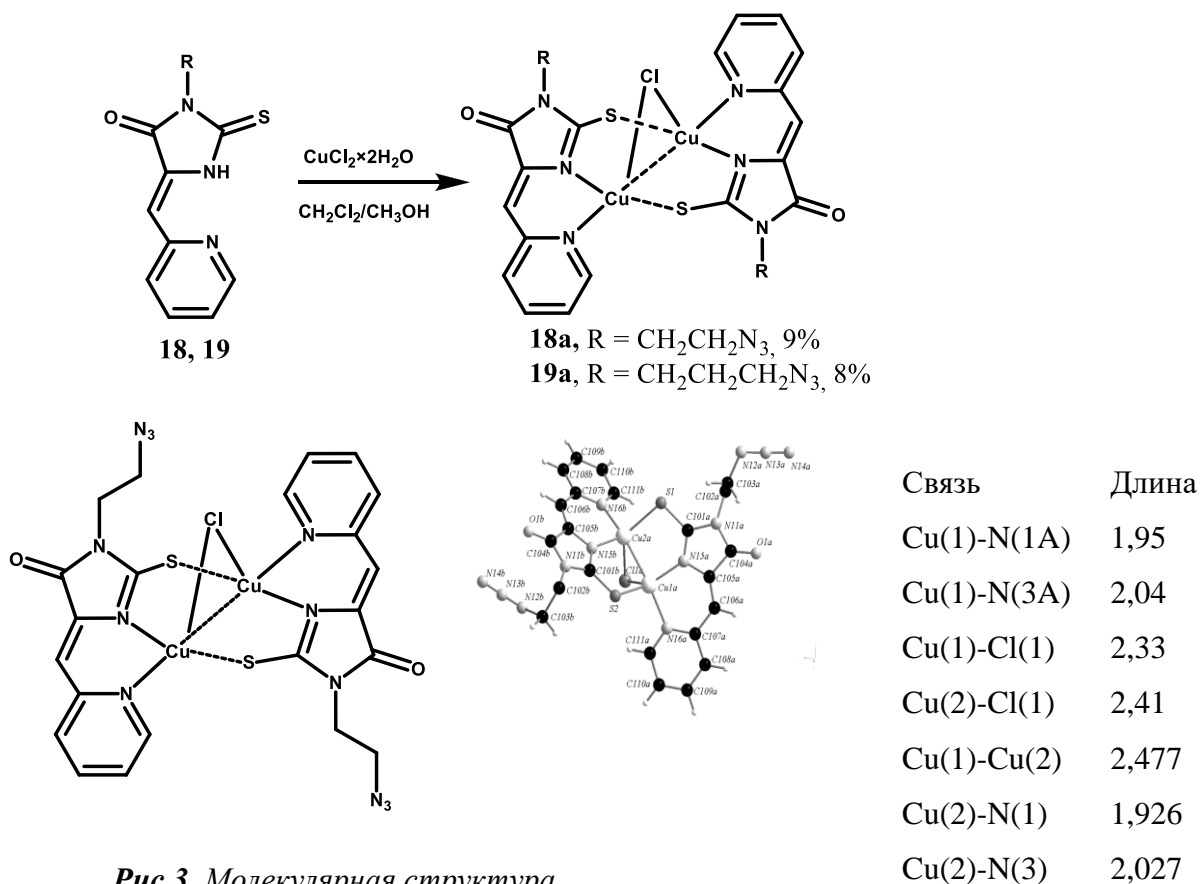


Рис.3. Молекулярная структура координационного соединения **18a**

Координационные соединения представляет собой димер с расстоянием Cu–Cu 2,477 Å и одним мостиковым атомом хлора, расположенным практически на одинаковом расстоянии (в пределах ошибок) по отношению к обоим атомам металла (2,41 Å и 2,33 Å). Плоские органические лигандные фрагменты не копланарны друг другу.

Идентичная геометрия координационной сферы обоих атомов меди в соединении **28** позволяет предположить, что оно представляет собой делокализованный смешанновалентный комплекс тип [Cu^{+1,5}Cu^{+1,5}], являющийся моделью ряда природных металлоферментов [174].

По-видимому, восстановителем является используемый в качестве растворителя метанол. Подобные реакции восстановления меди(II) в реакциях комплексообразования под действием спирта или дитионита натрия [175] описаны в литературе.

При введении в реакции комплексообразования лигандов **55**, **56** также образуются координационные соединения типа 1 **55a**, **56a** состава (L-H)₂Cu₂Cl. Состав комплекса **55a** подтвержден данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 4, Таблица 4). В процессе

комплексообразования происходит S-деалкилирование органического лиганда с образованием анионного тиогидантоинового фрагмента.

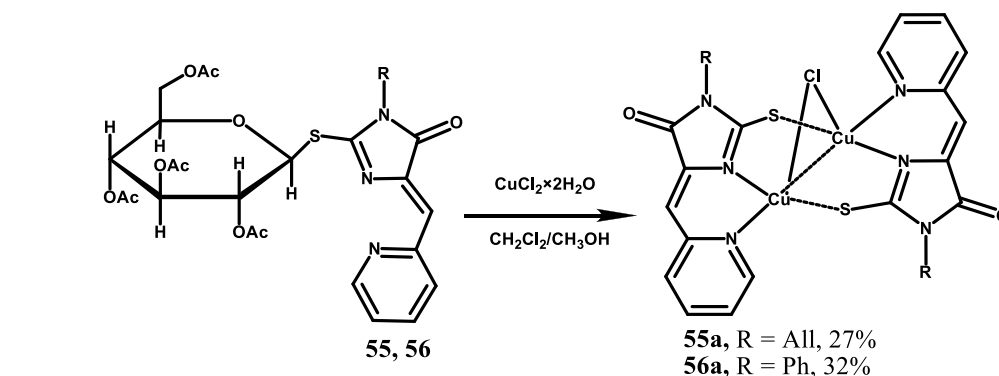


Таблица 4. Избранные длины связей в соединении 55a

| Связь | Длина |
|-------------|-------------|
| Cu(1)-N(1A) | 1,9298 (14) |
| Cu(1)-N(3A) | 2,0520 (15) |
| Cu(1)-Cl(1) | 2,4205 (5) |
| Cu(2)-Cl(1) | 2,4205 (5) |
| Cu(1)-Cu(2) | 2,5645 (3) |
| Cu(2)-N(1) | 1,9385 (14) |
| Cu(2)-N(3) | 2,0794 (15) |

Рис.4. Молекулярная структура координационного соединения 55a

Аналогичная 18a, 55a структура комплексов 56a, 17a была подтверждена данными электронной спектроскопии. В электронном спектре комплексов 56a, 18a, 17a (Рис. 5) наблюдаются полосы при 420-425 нм, соответствующая переносу заряда S-Cu, и полоса при 300-310 нм, относимая к взаимодействию N-Cu [176].

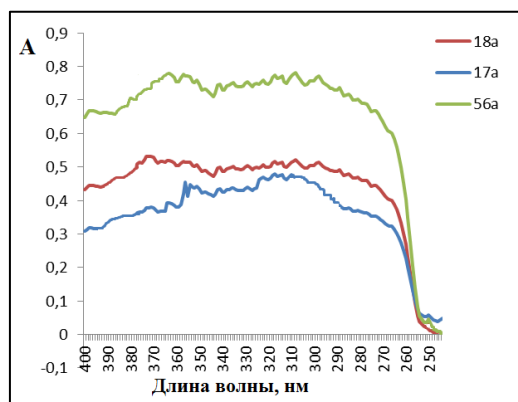


Рис.5. Электронные спектры координационных соединений 17a, 18a, 56a в УФ и видимой области

Аналогичный вид электронного спектра был зафиксирован ранее для комплексов аналогичного типа $(L-H)_2Cu_2Cl$ [177].

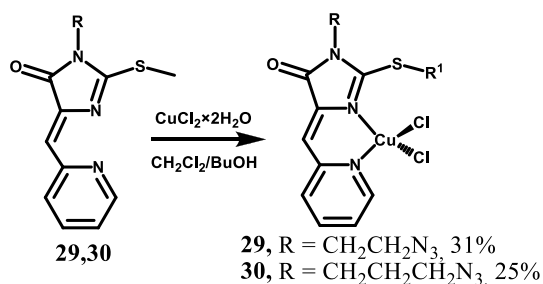
На основании данных элементного анализа и электронной спектроскопии, геометрия координационного окружения меди в соединениях **17a**, **18a** и **56a** идентична.

Таким образом, нами были получены биядерные координационные соединения меди с тиогидантоиновыми лигандами, представляющие интерес для изучения их биологической активности.

2.4.2 Получение координационных соединений с лигандами типа 2

2.4.2.1 Получение координационных соединений с лигандами типа 2 – производными 2-алкилтио-имидазолин-4-онов

В случае лигандов **30**, **31** в реакциях с дигидратом хлорида меди образуются координационные соединения $Cu(II)$ с тетраэдрическим лигандным окружением иона металла. Координация иона меди осуществляется двумя атомами азота (пиридинового и тиогидантоинового цикла) и двумя атомами хлора.



Состав комплексов **30a**, **31a** подтвержден данными элементного анализа, строение - данными электронной спектроскопии (Рис. 6).

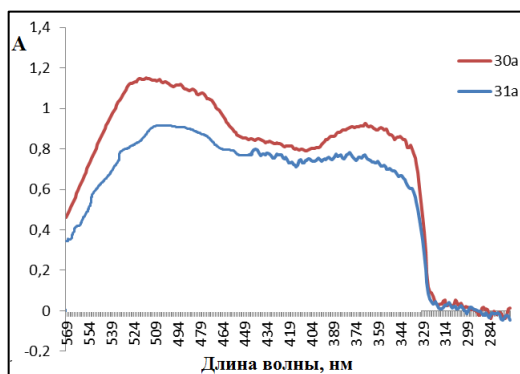


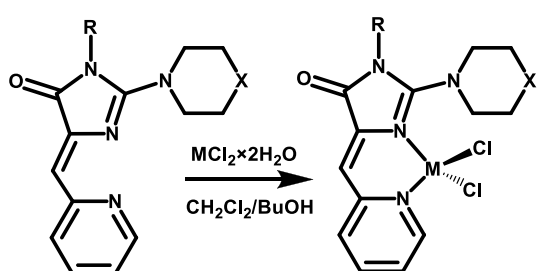
Рис. 6. Электронные спектры координационного соединения **30a**, **31a**

Сравнение электронных спектров полученных комплексов с ранее полученными соединениями этого структурного типа, структура которых была доказана методом РСА [177], подтверждает их аналогичное строение.

2.4.2.2 Получение координационных соединений с лигандами типа 2 – производными 2-аминоимидазолин-4-онов

Лиганды **43-50** содержат в своем составе α -пиридилметиленовый фрагмент в 5 положении 2-аминоимидазолин-4-онового кольца, и потенциально способны образовывать хелатные комплексы, координируя ионы металлов пиридиновым атомом азота и атомом азота N(1) имидазолонового цикла, неподеленная электронная пара которого копланарна пиридиновому фрагменту.

Лиганды **43-50** были исследованы в реакциях комплексообразования с хлоридами Cu(II) и Co(II). При смешивании растворов 2-аминоимидазолин-4-онов и растворов солей меди и кобальта при комнатной температуре образуются окрашенные порошкообразные или кристаллические координационные соединения **43a-50a**, **43b-50b**.



| R | Me = Cu | | Me = Co | |
|--|---------|-------------------|---------|-------------------|
| | X=O | X=CH ₂ | X=O | X=CH ₂ |
| Ph | 43a | 47a | 43b | 47b |
| Me | 44a | 48a | 44b | 48b |
| All | 45a | 49a | 45b | 49b |
| CH ₂ CH ₂ N ₃ | 46a | 50a | 46b | 50b |

Состав всех полученных соединений подтвержден данными элементного анализа, а структура четырех координационных соединений доказана методом РСА. Молекулярная структура комплексов **43b**, **47b**, **47a**, **48a** показана ниже (Рис. 7- 10, Таблица 5 – 8).

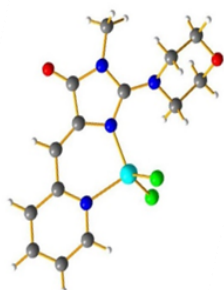


Таблица 5. Избранные длины связей в соединении **43b**

| Связь | Длина связи, Å | Связь | Длина связи, Å |
|---------|----------------|-------|----------------|
| Co1-Cl1 | 2.2314 | Co-N1 | 2,040 |
| Co1-Cl2 | 2.2400 | Co-N3 | 1,992 |

Рис. 7. Молекулярная структура комплекса **43b**

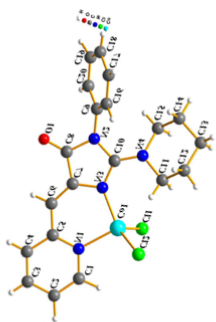


Таблица 6. Избранные длины связей в соединении **43b**

| Связь | Длина связи, Å | Связь | Длина связи, Å |
|---------|----------------|-------|----------------|
| Co1-Cl1 | 2.2353 | Co-N1 | 2,036 |
| Co1-Cl2 | 2.2446 | Co-N3 | 1,996 |

Рис. 8. Молекулярная структура комплекса **47b**



Таблица 7. Избранные длины связей в соединении **47a**

| Связь | Длина связи, Å | Связь | Длина связи, Å |
|---------|----------------|-------|----------------|
| Cu1-Cl1 | 2.2385 | Cu-N1 | 1,964 |
| Cu1-Cl2 | 2.2367 | Cu-N3 | 2,056 |

Рис. 9. Молекулярная структура комплекса **47a**

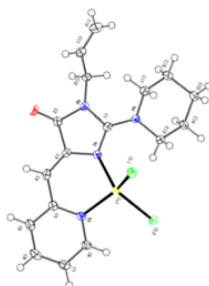


Таблица 8. Избранные длины связей в соединении **48a**

| Связь | Длина связи, Å | Связь | Длина связи, Å |
|---------|----------------|-------|----------------|
| Cu1-Cl1 | 2.2262 | Cu-N1 | 2,032 |
| Cu1-Cl2 | 2.2367 | Cu-N3 | 1,989 |

Рис. 10. Молекулярная структура комплекса **48a**

Данные РСА показывают, что во всех четырех исследованных комплексных соединениях ион кобальта находится в тетраэдрическом лигандном окружении. Пиперидиновый и морфолиновый фрагменты имеют конформацию кресла. Фенильный заместитель в положении 3 лежит в плоскости, почти перпендикулярной плоскости имидазольного и пиридиниевого фрагментов.

Координационные соединения **43a**, **44a**, **47a**, **48a**, **49a** были исследованы также методом электронной спектроскопии в видимой и УФ областях (Рис.11). Для всех координационных соединений наблюдаются полосы поглощения в области ~350 нм. Сравнение электронных спектров полученных комплексов с ранее полученными координационными соединениями с производными 2-тиогидантоинов подтверждает их сходное строение.

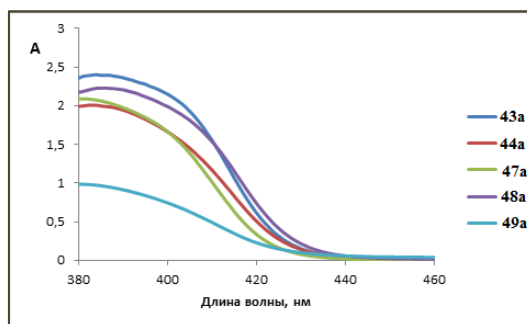


Рис. 11. Электронные спектры комплексов 43a, 44a, 47a, 48a, 49a в области 380-460 нм, ДМСО, 10^{-4} М

Координационные соединения **44b**, **45b**, **47b**, **49b**, **50b** также были исследованы методом электронной спектроскопии в видимой и УФ областях (Рис. 12). Для всех координационных соединений в видимой области наблюдаются характерные полосы поглощения, соответствующие d-d переходам иона металла (550–720 нм), что хорошо соответствует данным литературы для тетраэдрических комплексов с хлоридом кобальта [177].

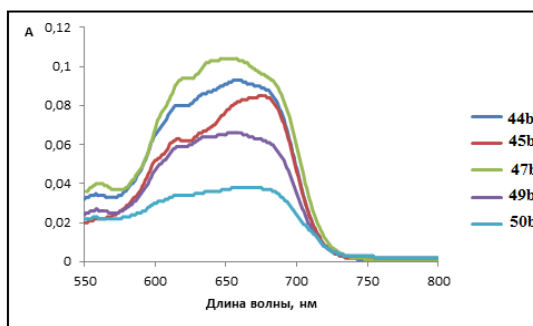


Рис. 12. Электронные спектры комплексов 44b, 45b, 47b, 49b, 50b (550-800 нм), ДМСО, 10^{-4} моль/л.

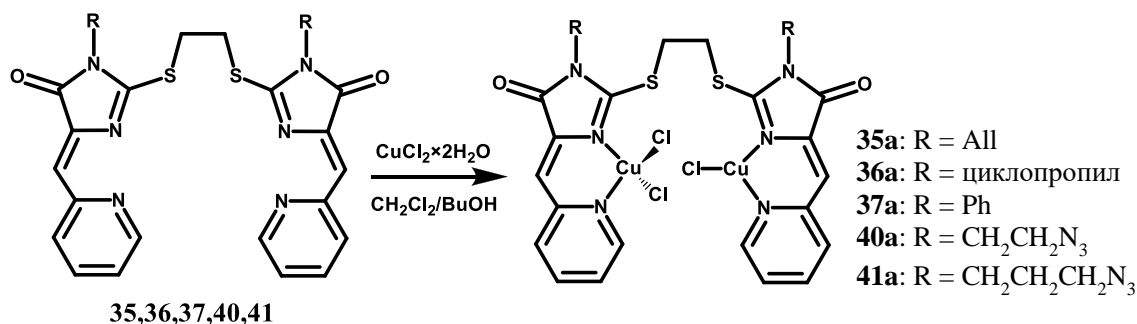
Таким образом, нами впервые была изучена координационная химия пиридилметилзамещенных 2-аминоимидазолин-4-онов. Получены комплексы хлоридов меди (II) и кобальта (II) с серией 2-аминоимидазолин-4-онов.

2.4.3 Получение координационных соединений с лигандами типа 3

Координационные соединения с лигандами типа 3 представляли наибольший интерес для изучения, поскольку ранее было показано, что комплексы этого типа проявляют высокую цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам. Лиганды **32–42** были исследованы нами в реакции комплексообразования с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Ранее было показано, что в процессе комплексообразования подобных лигандов с хлоридом меди(II) происходит восстановление Cu(II) до Cu(I) с образованием

смешанновалентных биядерных координационных соединений. В случае лигандов **35**, **36**, **37**, **40**, **41** нами были выделены координационные соединения ожидаемого строения:



Состав координационных соединений **36a**, **40a**, **41a** был подтвержден данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 13-15, Таблицы 9-11):

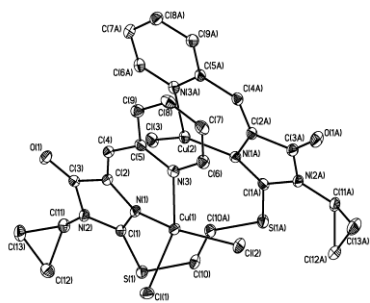


Рис. 13. Молекулярная структура комплекса **36**

Таблица 9. Избранные длины связей в соединении **36a**

| Связь | Длина | Связь | Длина |
|-------------|--------|-------------|--------|
| Cu(1)-Cl(1) | 2,2303 | Cu(1)-N(1) | 1,9791 |
| Cu(1)-Cl(2) | 2,2439 | Cu(1)-N(3) | 2,0331 |
| Cu(2)-Cl(3) | 2,1710 | Cu(2)-N(1A) | 1,9500 |
| | | Cu(2)-N(3A) | 2,0751 |

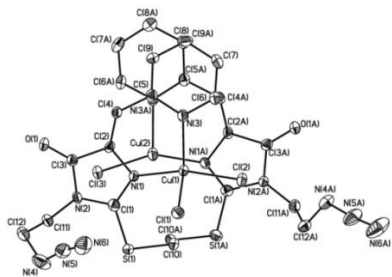


Рис. 14. Молекулярная структура комплекса **40a**

Таблица 10. Избранные длины связей в соединении **40a**

| Связь | Длина | Связь | Длина |
|-------------|--------|-------------|-----------|
| Cu(1)-Cl(2) | 2,2144 | Cu(1)-N(1) | 1,971 |
| Cu(1)-Cl(1) | 2,2307 | Cu(1)-N(3) | 2,034 |
| Cu(2)-Cl(3) | 2,1793 | Cu(2)-N(1A) | 1,947 (3) |
| | | Cu(2)-N(3A) | 2,076 (3) |

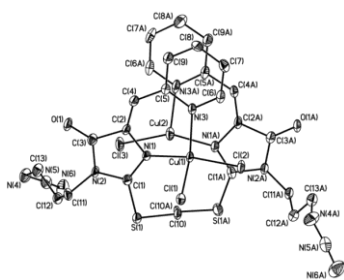
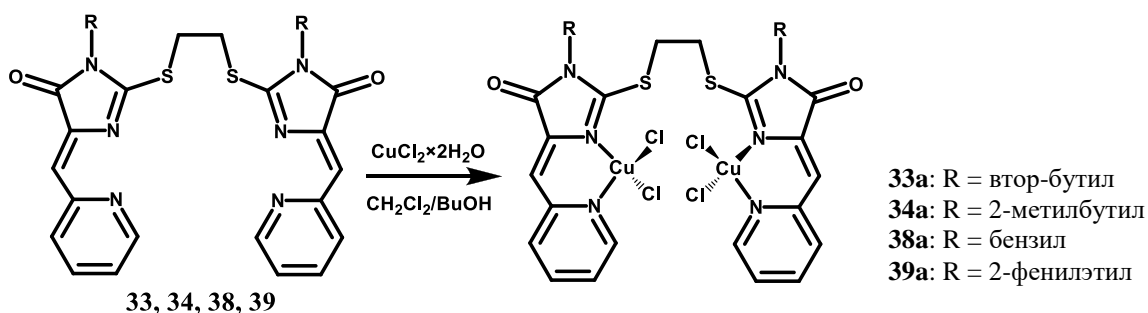


Рис. 15. Молекулярная структура комплекса **41a**

Таблица 11. Избранные длины связей в соединении **41a**

| Связь | Длина | Связь | Длина |
|-------------|--------|-------------|-----------|
| Cu(1)-Cl(2) | 2,2280 | Cu(1)-N(1) | 1,982 |
| Cu(1)-Cl(1) | 2,2295 | Cu(1)-N(3) | 2,033 |
| Cu(2)-Cl(3) | 2,1826 | Cu(2)-N(1A) | 1,947 (3) |
| | | Cu(2)-N(3A) | 2,068 (3) |

Однако, в случае лигандов **33**, **34**, **38**, **39** были получены координационные соединения, в которых оба атома меди имеют степень окисления +2 и тетраэдрическое лигандное окружение:



Состав координационных соединений был подтвержден данными элементного анализа, а в случае координационных соединений **33a**, **39a** – также данными рентгеноструктурного анализа (Рис 16, 17, Таблицы 12,13).

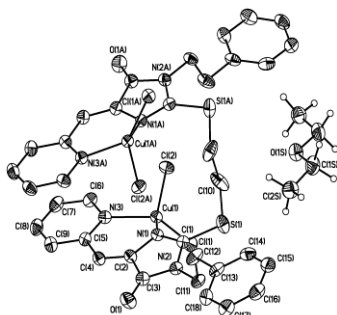


Рис. 16. Молекулярная структура координационного соединения **33a**

Таблица 12. Избранные длины связей соединения **33a**

| Связь | Длина | Связь | Длина |
|-------------|--------|------------|--------|
| Cu(1)-Cl(2) | 2.2218 | Cu(1)-N(1) | 1.9699 |
| Cu(1)-Cl(1) | 2.2266 | Cu(1)-N(3) | 2.0413 |

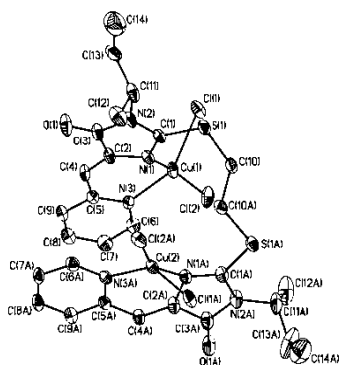
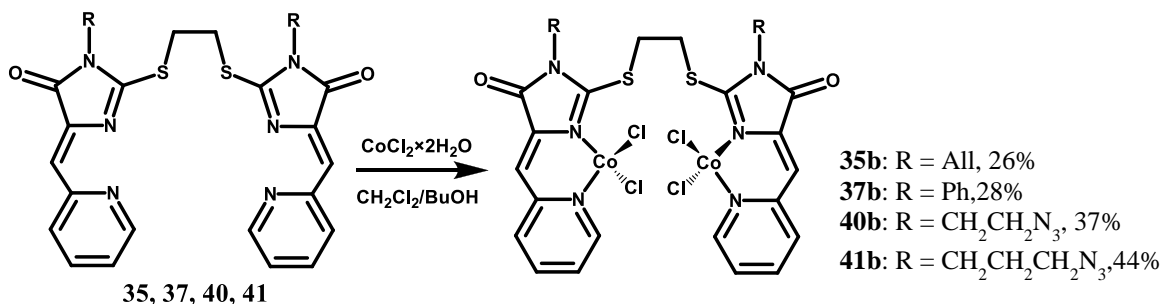


Таблица 13. Избранные длины связей соединения 39a

| Связь | Длина | Связь | Длина |
|-------------|--------|------------|-------|
| Cu(1)-Cl(2) | 2.2030 | Cu(1)-N(1) | 1.972 |
| Cu(1)-Cl(1) | 2.2334 | Cu(1)-N(3) | 2.042 |

Рис. 17. Молекулярная структура координационного соединения 39a

В качестве продуктов реакций комплексообразования лигандов **35**, **37**, **40**, **41** с хлоридом кобальта(II) также были выделены координационные соединения **35b**, **37b**, **40b**, **41b** симметричного строения, в которых оба атома металла имеют тетраэдрическое лигандное окружение:



Состав координационных соединений был подтвержден данными элементного анализа, а в случае координационного соединения **40b** – данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 18, Таблица 14).

Таблица 14. Избранные длины связей в соединении 40b

| Связь | Длина связи, Å | Связь | Длина связи, Å |
|--------|----------------|--------|----------------|
| Co-Cl1 | 2.2378 | Co1-N1 | 2.0182 |
| Co-Cl2 | 2.2448 | Co1-N3 | 2.0297 |

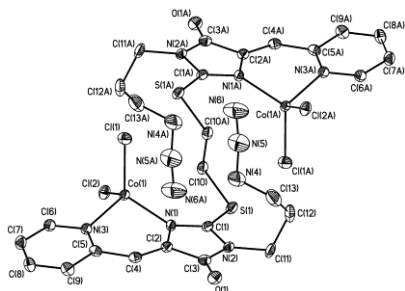


Рис. 18. Молекулярная структура координационного соединения 40b

Таким образом, нами были синтезированы координационные соединения Co(II), Cu(II), Cu(I) с лигандами ряда 2-тиоксо-тетрагидро-4H-имидазол-4-онов и 2-

алкилтиоимидазолин-4-онов и показано, что протекание реакции восстановления Cu(II) до Cu(I) в процессе комплексообразования зависит от природы заместителя в третьем положении тиогидантоинового цикла.

2.5 Электрохимическое исследование полученных лигандов и координационных соединений¹

2.5.1 Электрохимическое исследование полученных аминоимидазол-4-онов и координационных соединений на их основе

В рамках данной работы было проведено электрохимическое исследование методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) лигандов **45**, **47**, **48** и координационных соединений **47a**, **47b**, **48a**, **48b**, **45a**, **45b** с использованием стеклоглеродного (СУ), платинового и золотого электродов. Потенциалы электрохимического окисления и восстановления представлены в Таблице 15; ЦВА приведены на Рис. 19.

Лиганды **45**, **47** и **48** восстанавливаются в две стадии, первая из которых обратима на всех используемых электродах (т.е. при восстановлении образуется устойчивый анион-радикал), вторая необратима. Лиганд **47** восстанавливается легче, чем **48** и **45** (при потенциале, примерно на ~200 mV менее катодном, чем два других лиганда), очевидно вследствие наличия в нем более длинного сопряженного фрагмента.

Окисление лиганда **47** происходит в одну необратимую одноэлектронную стадию, в то время как лигандов **48** и **45** - в две одноэлектронные необратимые стадии (Рис. 19).

Для комплексов **47b**, **48b** и **45b** на кривых ЦВА в катодной области на всех электродах наблюдаются дополнительные по сравнению со свободными лигандами пики в области потенциалов $E_{pc} = -0,89 \div -1,0$ V, соответствующие восстановлению $Co(II) \rightarrow Co(I)$. Восстановление Co-содержащих комплексов на всех электродах обратимо, однако, для **48b** на Au- и Pt-электродах пик реокисления составляет $\frac{1}{2}$ от тока пика восстановления $Co(II) \rightarrow Co(I)$. Таким образом интермедиаты, содержащие Co(I), устойчивы в шкале времени ЦВА.

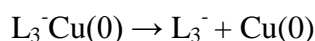
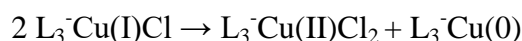
Последующие пики в катодной области для комплексов **45b-48b** относятся к восстановлению лигандных фрагментов. Потенциалы данных пиков для комплексов **48b** и **45b** незначительно сдвинуты относительно катодных пиков свободного лиганда, однако для **47b** сдвиг составляет примерно 200 mV, что свидетельствует о большем влиянии Co^{2+} на восстановление лигандного фрагмента **47**, чем на **48** и **45** (Рис. 20). Особо отметим, что комплексообразование лигандов **47**, **48** и **45** с кобальтом и медью, по-видимому, приводит

¹ Электрохимическое исследование выполнено совместно с к.х.н., н.с. А.А. Моисеевой

к изменению механизма окисления лигандного фрагмента. Об этом свидетельствует тот факт, что первый анодный пик для комплексов становится двух- и более электронным.

Медьсодержащие комплексы **47a-45a** обратимо восстанавливаются "по металлу" при потенциалах $E_{pc} = 0.24 \div 0.26$ V (Рис. 15), т.е. при потенциалах, примерно на ~ 200 mV менее катодных по сравнению с ранее исследованными в нашей группе тиогидантоиновыми комплексами меди(II) аналогичного строения ($E_{pc} = 0.45$ V [177]). На Cu и Pt электродах на ЦВА не наблюдается пиков десорбции нульвалентной меди даже при обратном сканировании потенциала после окисления и восстановления лигандных фрагментов; отсюда следует, что интермедиаты, содержащие Cu(I), устойчивы в виде комплексов как с отрицательно, так и положительно заряженными лигандами.

Однако на Au-электроде для медь-содержащих комплексов наблюдаются характерные для десорбции металлической меди с поверхности электрода остро-треугольные (без диффузионного шлейфа) шпигелеобразные пики как после процесса окисления, так и после процесса восстановления комплекса по лигандному фрагменту (см. Рис. 21 для **48a**). Возможно, интермедиат восстановления, представляющий собой комплекс отрицательно заряженного лиганда с Cu(I), неустойчив и диспропорционирует на комплексы Cu(II) и Cu(0), последний из которых распадается с выделением металлической меди:



Образующийся при окислении комплекс положительно заряженного лиганда подвергается деструкции из-за малой донорной способности катионного лигандного фрагмента.

При циклировании потенциала в интервале 0.1-0.65 V пиков десорбции не наблюдается, т.е. комплекс $L_3Cu(I)Cl_2$ в этих условиях устойчив.

На металлических электродах для комплексов в ряде случаев наблюдаются адсорбционные предпики при -0.73 - -0.84 V.

В статье [178] было проведено электрохимическое исследование для близкого по строению комплекса 2-(2-пиридил)бензотиазола с $CuBr_2$. Упомянутый комплекс восстанавливается по меди при потенциале +0.24 V, аналогично полученным нами координационным соединениям, что авторы связывают с его цитотоксичностью и способностью расщеплять молекулы ДНК за счет образования активных форм кислорода:



Таблица 15. Электрохимические потенциалы восстановления (E^{Red}) и окисления (E^{Ox}) лигандов и комплексов, измеренные относительно Ag/AgCl/KCl(нас.) методом ЦВА (E_p – потенциал пика) терпиридиновых лигандов и комплексов на Cu , Pt и Au электроде. ДМФА, $0.1 \text{ M Bi}_4\text{NClO}_4$, 200 мВ с^{-1} . В скобках приведены потенциалы обратных пиков.

| Соединение | E_p^{Red} , В | E_p^{Ox} , В |
|---|--|-----------------------|
| 47 (L₁) | Au электрод: -1,33/-1,26 -1,84/-0,55 | 1,39 |
| | Cu электрод: -1,37/-1,28 -1,87/-0,57 | 1,35 |
| | Pt электрод: -1,37/-1,25 | 1,38 |
| 47b (L₁,CoCl₂) | Au электрод: -0,96/-0,89 -1,51/-1,36 -2,01 | 1,09 1,23 |
| | Cu электрод: -0,98/-0,91 -1,52/-1,39 -2,47 | 1,23 |
| | Pt электрод: -0,96/-0,90 -1,62 | 1,30 |
| 47a (L₁,CuCl₂) | Au электрод: 0,25/0,42 -1,54/-1,47 -2,01 | 1,08 1,17 |
| | Cu электрод: 0,31/0,51 -1,54 -2,10 | 1,21 |
| | Pt электрод: 0,18/0,59 -1,56 | 1,24 |
| 48 (L₂) | Au электрод: -1,55/-1,48 -2,00/-0,78 | 1,14 1,58 |
| | Cu электрод: -1,60/-1,48 -2,12/-0,75 | 1,14 1,51 |
| 48 (L₂) | Pt электрод: -1,60/-1,48 | 1,16 1,27 |
| 48b (L₂,CoCl₂) | Au электрод: -0,98/-0,90 -1,55/-1,44 | 1,06 1,15 1,31 |

| | | |
|---|--|--------------|
| | СУ электрод: -0,99/-0,92 -1,58 | 1,21 |
| | Pt электрод: -1,00/-0,91 -1,61 | 1,26 |
| 48a (L₂,CuCl₂) | Au электрод: 0,24/0,37 -1,59 -1,84 | 1,12 1,27 |
| | СУ электрод: 0,15/0,22 -1,62 -2,01 | 1,10 |
| | Pt электрод: 0,17/0,37 -1,60 | 1,23 |
| 45 (L₃) | Au электрод: -1,47/-1,40 -1,97/-0,70 | 1,23 1,64 |
| | СУ электрод: -1,46/-1,36 -2,04/-0,64 | 1,26 1,59 |
| | Pt электрод: -1,52/-1,42 | 1,19 |
| 45b (L₃,CoCl₂) | Au электрод: -0,90/-0,84 -1,47/-1,35 | 1,13 1,26 |
| | СУ электрод: -0,89/-0,80 -1,48 | 1,21 |
| | Pt электрод: -0,92/-0,85 -1,50/-1,36 | 1,26 |
| 45a (L₃,CuCl₂) | Au электрод: 0,26/0,41 -1,51/-1,38 | 1,19 1,30 |
| | СУ электрод: 0,29/0,48 -1,58 | 1,20 |
| | Pt электрод: 0,24/0,40 -1,53 | 1,23 |

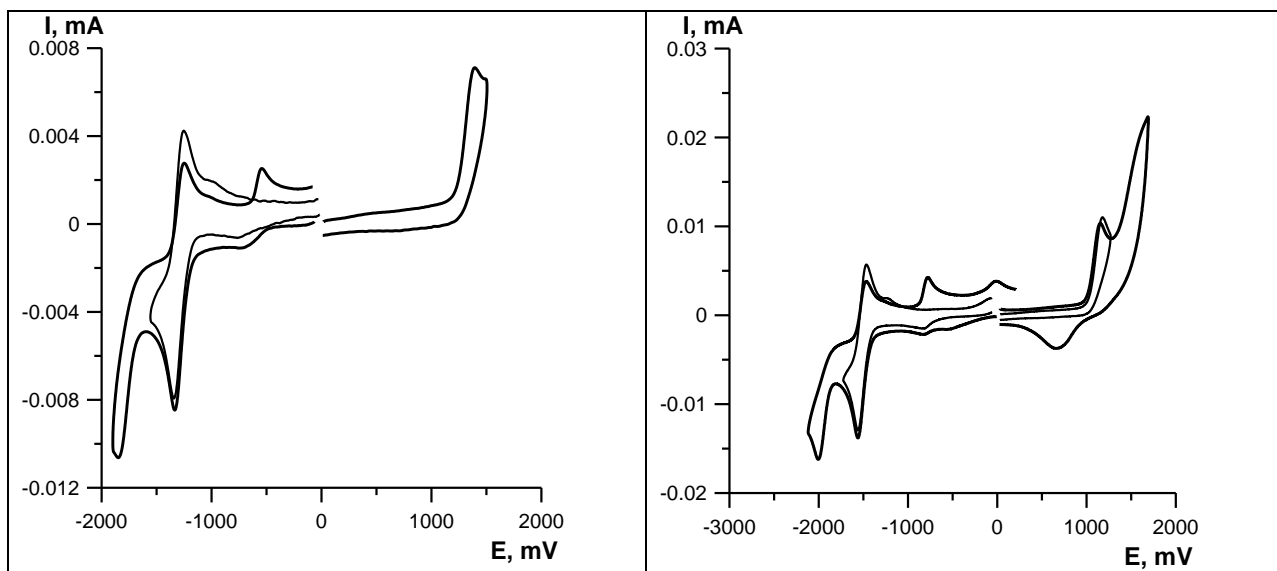


Рис.19. ЦВА лигандов **47** и **48** (10^{-3} М, ДМФА, Vi_4NClO_4) на Au электроде)

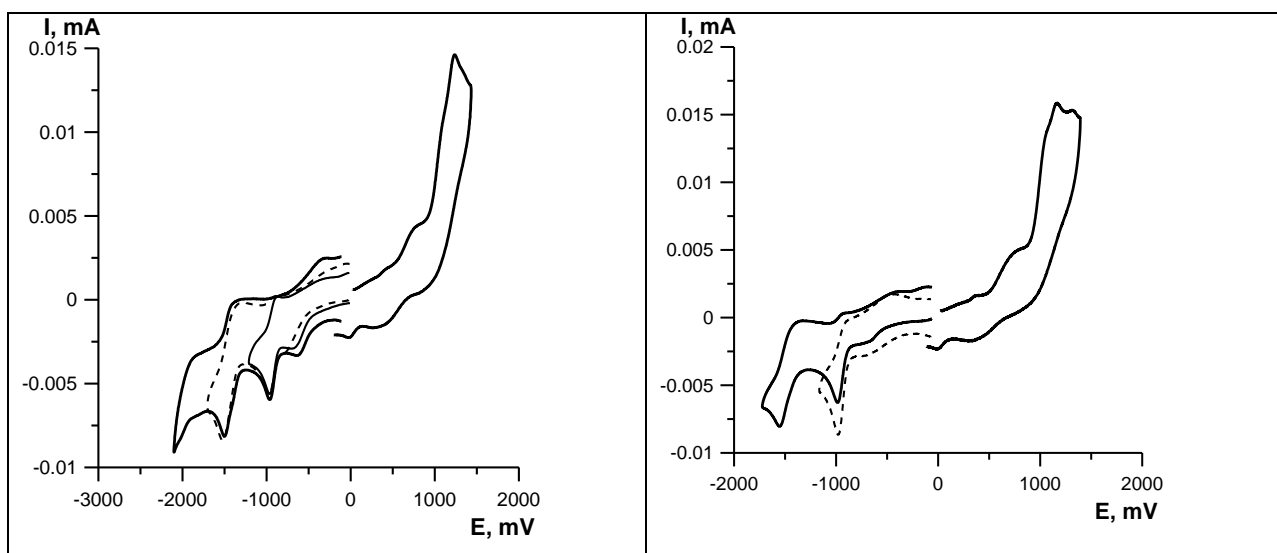


Рис. 20. ЦВА комплексов **47b** и **48b** (10^{-3} М, ДМФА, Vi_4NClO_4) на Au электроде)

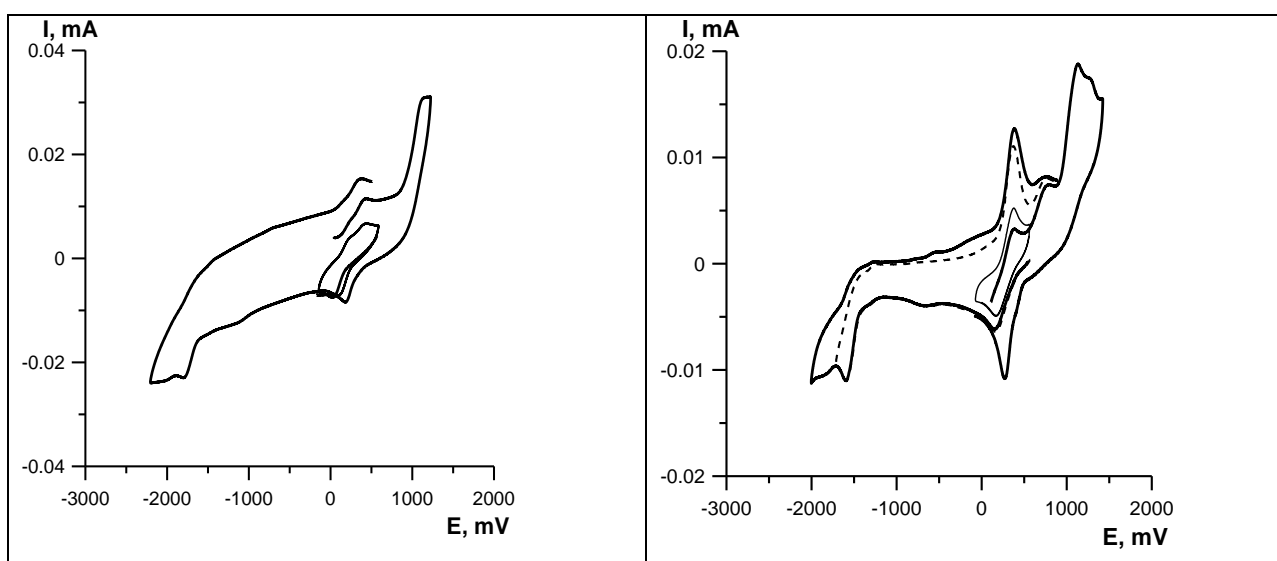


Рис. 21. ЦВА комплекса **48a** на C и Au электродах

2.5.2 Электрохимическое исследование продуктов click-реакций

Лиганды **62**, **63**, **64**, **69** были исследованы методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) в растворах ДМФА на стеклоуглеродном (СУ), Pt- и на Au-электродах в растворах ДМФА в присутствии 0.1 М Bu_4NClO_4 в качестве индифферентного электролита. Потенциалы электрохимического окисления и восстановления, измеренные относительно $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}(\text{нас.})$, представлены в Таблице 16. На Рис. 22 приведены вольтамперные кривые исследованных лигандов.

Таблица 16. Электрохимические потенциалы восстановления (E^{Red}) и окисления (E^{Ox}) лигандов и комплексов, измеренные относительно $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}(\text{нас.})$ методом ЦВА (E_p – потенциал пика на СУ, Pt и Au электродах. ДМФА, 0.1 М Bu_4NClO_4 , 200 мВ с^{-1} . В скобках приведены потенциалы обратных пиков.

| Соединение | E_p^{Red} , В | E_p^{Ox} , В |
|------------|--|-----------------------|
| 62 | Au электрод: -1,28/-1,22 -1,88 | 1,41 |
| | СУ электрод: -1,29/-1,23 -1,76 -2,15 | 1,49 |
| | Pt электрод: -1,33/-1,23 | - |
| 63 | Au электрод: -1,24/-1,17 -1,67 -1,71 | - |
| | СУ электрод: -1,25/-1,18 -1,69 -2,11 | 1,50 |
| | Pt электрод: -1,26/-1,18 -2,11 | - |
| 69 | Au электрод: -1,24/-1,18 -1,84 -1,97 | 1,28 |
| | СУ электрод: -1,20/-1,16 -1,82 -1,98 -2,17 -2,31 | 1,51 |
| | Pt электрод: | |

| | | |
|-----------|--|------|
| | -1,27/-1,16 -1,64/-1,53 | |
| 64 | Au электрод: -1,24/-1,15 -1,78 | 1,63 |
| | SU электрод: -1,25/-1,17 -1,66/-1,54 -2,10 | 1,54 |
| | Pt электрод: -1,26/-1,16 | - |

Восстановление всех изученных соединений (СУ электрод) происходит в две или три стадии, а окисление в одну стадию (Таблица 16, Рис. 22). На металлических электродах для некоторых исследованных соединений пики окисления оказываются слабо выраженными или не наблюдаются.

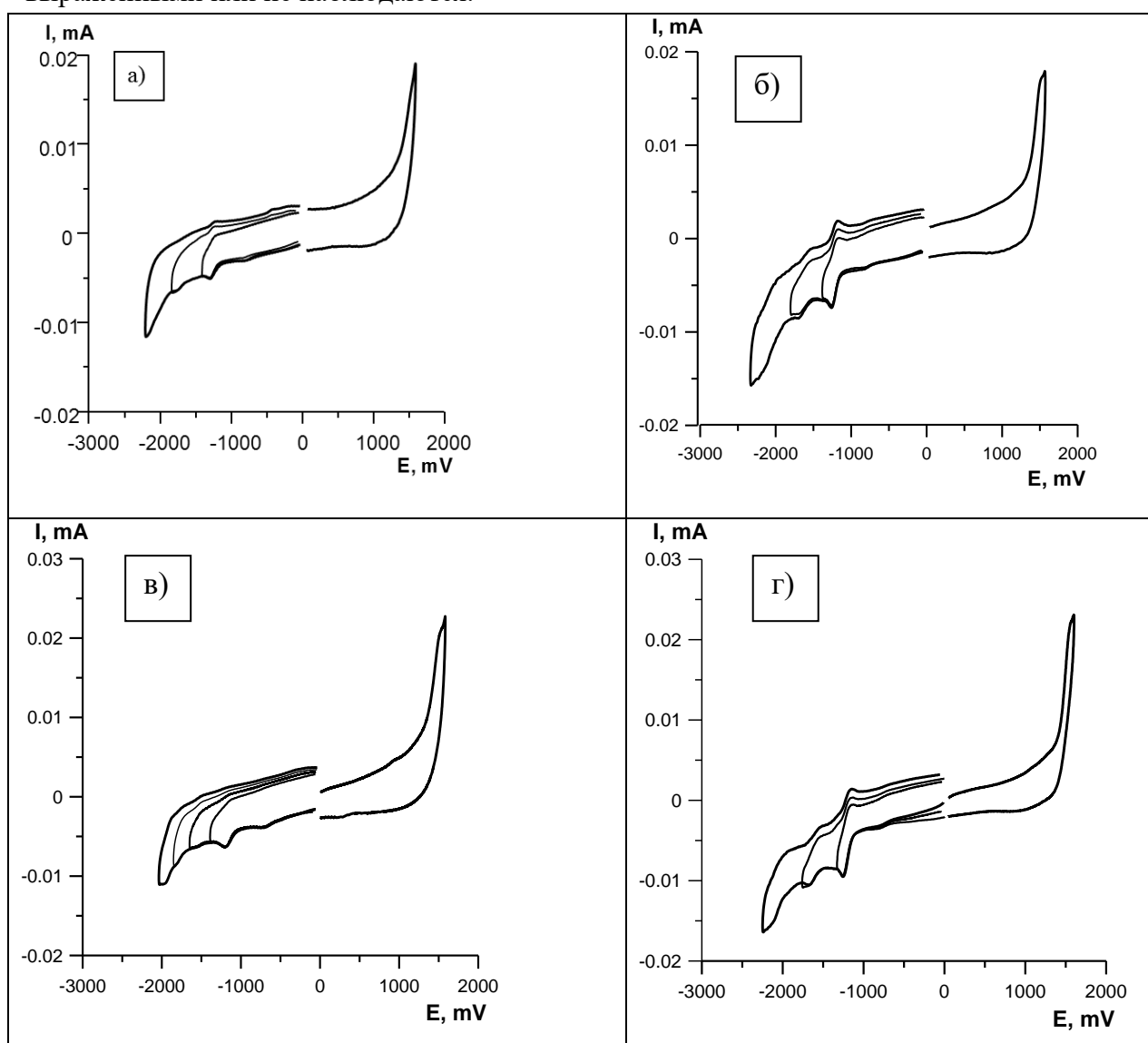


Рис. 22. Циклические вольтамперограммы (ДМФА, СУ электрод, концентрация 10^{-3} М, 0.1 М VnNCIO_4) соединений **62** (а), **63** (б), **69** (в), **64** (г)

Ранее мы показали, что восстановление и окисление близких по структуре 3-арил- и 3-алкил-замещенных 5-пиридилметилен-2-тиогидантоинов [179] протекают при потенциалах, соответственно, -1,1 - -1,3 V (первая стадия восстановления), -1,6 - -1,8 V (вторая стадия восстановления) и 1,45-1,65 V (окисление). При аналогичных потенциалах протекают восстановление и окисление синтезированных в нашей работе соединений, содержащих удаленные от тиогидантоинового цикла углеводные и биотиновые фрагменты. Таким образом, можно заключить, что введение в молекулу последних фрагментов не оказывает существенного влияния на редокс-характеристики тиогидантоинового лиганда, и, соответственно, его способность координировать ионы металла.

2.6 Изучение биологической активности координационных соединений ²

Оценка цитотоксичности полученных лигандов и координационных соединений была проведена с использованием стандартного метода МТТ[180].

Для исследования использовались клетки культур НЕК293, SiHa, MCF-7, представляющие собой клеточные линии почек эмбриона человека (НЕК293), рака шейки матки (SiHa) и рака молочной железы (MCF-7). Проводилось сравнение значений IC₅₀ исследуемых соединений с используемыми в клинической практике препаратами цисплатином [181] и доксорубицином (данные получены в настоящей работе). Для выявления роли металла было проведено сравнение противоопухолевой активности лигандов с соответствующими им металлокомплексами. Культивированные клеточные линии выдерживались с исследуемыми соединениями в различных концентрациях в течение 36 часов. Данные цитотоксичности некоторых из полученных лигандов и координационных соединений (по данным МТТ-теста) представлены в Таблице 17.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что координационные соединения кобальта обладают меньшей цитотоксичностью по сравнению с координационными соединениями меди (ср. **35a** и **35b**).

Координационные соединения 2-аминоимидазолин-4-онов оказались менее цитотоксичны по сравнению с 2-тиогидантоиновыми аналогами. Наиболее высокой

² Данная часть работы выполнена совместно с сотрудниками кафедры химии природных соединений МГУ имени М.В. Ломоносова к.х.н., с.н.с. Скворцовым Д.А., к.х.н., доцентом Зверевой М.Э. и член-корр. РАН, профессором Донцовой О.А.

цитотоксичностью среди исследуемых координационных соединений обладает комплекс **39a**, что делает его перспективным для дальнейшего изучения.

Таблица 17. Данные по цитотоксичности полученных лигандов и координационных соединений на клеточных линиях MCF-7, SiHa, HEK293, A549

| № | IC ₅₀ , μM MCF-7 | IC ₅₀ , μM SiHa | IC ₅₀ , μM HEK293 | № | IC ₅₀ , μM MCF-7 | IC ₅₀ , μM SiHa | IC ₅₀ , μM HEK293 | A549, мкМ |
|-----|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------|
| 18 | - | - | 16,3±7,4 | 40 | - | - | 24±13,6 | - |
| 18a | - | - | 1,3±0,15 | 40a | - | - | 4,2±1,8 | - |
| 19 | - | - | 38±11,2 | 41 | 12,0±10 | 54,8±10,5 | 37,3±15,9 | - |
| 19a | - | - | 2,3±0,22 | 41a | 13,4±3,8 | 8,5±0,4 | 12,7±3,7 | - |
| 29a | - | - | 16,6±6,1 | 43a | 26,00±2,47 | - | 18,84±2,11 | 43,34±3,16 |
| 34a | 1,34±1,12 | 1,5±0,31 | 2,06±0,5 | 44a | 83,36±14,05 | - | 38,52±7,45 | 67,0±17,2 |
| 35 | 15,9±1,4 | 61,4±25,5 | >100 | 45a | 67,0±11,82 | - | 29,29±8,76 | 48,63±10,1 |
| 35a | 4,0±1,6 | 2,96±0,2 | 2,5±0,4 | 47a | 10,94±1,57 | - | 6,79±1,44 | 13,61±0,83 |
| 35b | 38,8±5,6 | 81,1±16,5 | 38,4±9,0 | 48a | 22,00±3,91 | - | 10,58±1,15 | 32,57±3,99 |
| 36a | 7,41±1,4 | 3,91±2,3 | 25,3±1,2 | 48b | 87,28±22,33 | - | 81,41±12,10 | >100 |
| 37 | 11,3±2,6 | >100 | 53±4,4 | 49b | >100 | - | >100 | 46,82±13,63 |
| 37a | 2,1±0,8 | 3,08±0,2 | 2,11±0,8 | 49a | 13,67±0,81 | - | 6,20±0,33 | 18,27±1,42 |
| 39 | 34,7±4,8 | 59,5±31,5 | - | Цисплатин | 64.1 | 80 | 12.4 | - |
| 39a | 1,27±0,34 | 0,66±0,33 | 1,38±0,45 | Доксорубин | 2,1±0,8 | 2,0±0,8 | 1,1±0,1 | - |

Среди смешанновалентных координационных соединений наибольшей цитотоксичностью обладает комплекс **35a**. Была дополнительно исследована цитотоксическая активность координационного соединения **35a** по отношению к опухолевым линиям тройного негативного рака молочной железы, устойчивого к применяемому в клинической практике цисплатину, MDA-MB-231, гепатокарциномы HepG2, рака предстательной железы PC3 (Таблица 18).

Таблица 18. Исследование цитотоксичности координационного соединения **35a** на клеточных линиях MDA-MB-231, HepG2, PC3:

| IC ₅₀ , μM | MDA-MB-231 | HepG2 | PC3 |
|-----------------------|------------|-----------|-----------|
| 35a | 4,14±0,26 | 5,04±1,10 | 3,97±0,13 |

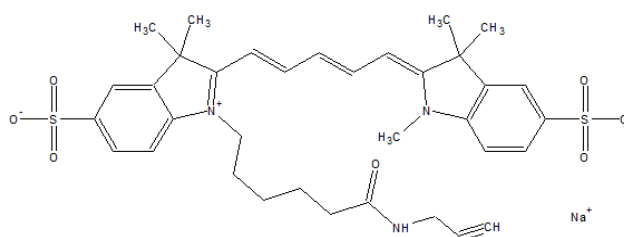
Ввиду высокой биологической активности координационное соединение **35a** было выбрано для дальнейших исследований по установлению механизма цитотоксичности.

2.7 Исследование механизма действия координационных соединений

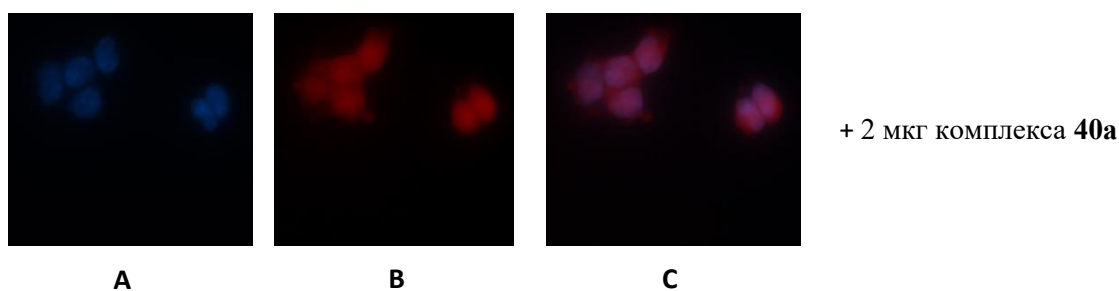
2.7.1 Исследование распределения координационных соединений в клеточном объеме

Известно, что координационные соединения меди, обладающие противоопухолевой активностью, действуют по двум механизмам: образование активных форм кислорода за счет окислительно-восстановительных процессов с участием ионов меди и интеркаляция в ДНК [182]. Важным фактором, определяющим механизм цитотоксического действия, является накопление координационных соединений в различных компартментах клетки.

В связи с тем, что полученные нами координационные соединения не обладают собственной флуоресценцией, для визуализации комплексов был использован подход, основанный на конъюгации флуоресцентного красителя с азидосодержащими комплексами click-реакцией внутри клетки. Для этой цели клетки линии HEK293 (клеточная линия почек эмбриона человека) обрабатывали координационным соединением **40a** или соответствующим лигандом **40**. После инкубирования клетки фиксировались и обрабатывались алкином diSulfo Cy5 в присутствии сульфата меди и аскорбата натрия:



Результаты исследования представлены на Рис. 23. Из полученных данных видно, что координационное соединение **40a** визуализируется в клеточном ядре. На серии микрофотографий, полученных методом конфокальной микроскопии, отчетливо видно совпадение контура ядра, визуализированного при помощи реагента DAPI, и флуоресцентного аддукта азида **40** с Cy5. В случае лиганда **40** также происходит трансфекция, однако, лиганд равномерно распределяется по объему клетки (Рис. 24).



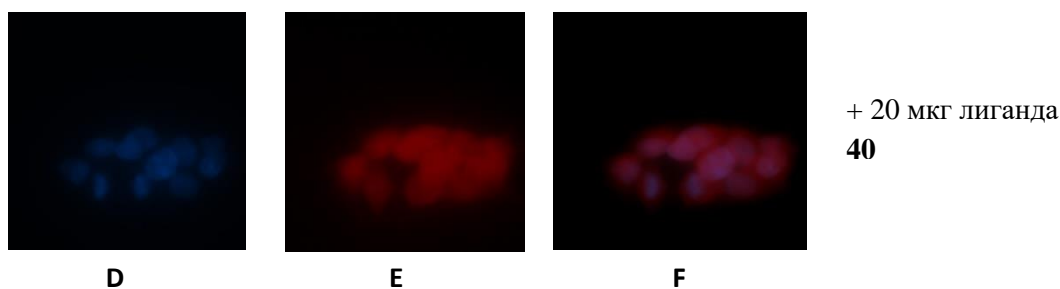


Рис.23. Визуализация распределения азидного лиганда **40** и его медьсодержащего комплекса **40a** в клетке. *A, D* – визуализация ядра с использованием реагента DAPI; *B, E* – клик-реакция соединений **40a** и **40** с флуоресцентным алкином diSulfo Cy5 ; *C, F* – наложение рисунков *A+B* и *D+E*

Факт локализации исследованных соединений в клеточном ядре позволяет

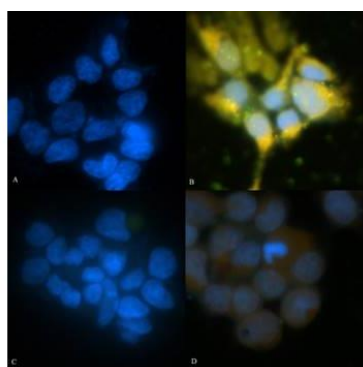


Рис. 24. Исследование интернализации конъюгатов комплексных соединений с меченым олигонуклеотидом.

A – клетки HEK+DAPI+41b, *B* – HEK + DAPI + 41b + oligoFAM, *C* – HEK + DAPI +41a, *D* – HEK+ DAPI +41a+oligoFAM.

утверждать, что мишенью данного класса соединений являются ДНК- и РНК-оперирующие ферменты. Отметим, что среди исследованных к настоящему времени координационных соединений меди известен лишь один пример локализации препаратов в ядре [183], что делает полученный нами класс соединений перспективным для дальнейшего биологического исследования.

Также было проведено сравнительное исследование интернализации конъюгатов предварительно полученных комплексных соединений Co(II) (**41b**) и Cu(II) (**41a**) с олигонуклеотидом (5'-FAM-

CGCTACCTCTCTTCCTCGTGGTTTTCGGTGCTCTACACGTTTCAGAGAAAC-3'), меченым флуоресцентной меткой FAM (Рис. 24).

Комплексные соединения кобальта и меди без олигонуклеотида показали схожие уровни интернализации, в то время как конъюгат на основе комплекса кобальта показал значительно более высокий уровень трансфекции по сравнению с аналогичным соединением на основе меди.

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования подобных комплексных соединений кобальта (ввиду отсутствия у них собственной токсичности) в качестве носителей цитотоксических агентов и терапевтических олигонуклеотидов.

2.7.2 Исследование механизма цитотоксичности координационного соединения **35a**

Одной из основных мишеней металлсодержащих химиотерапевтических агентов является ДНК, и, следовательно, изучения механизма взаимодействия координационного соединения с ДНК является ключевым для оценки терапевтического действия и возможных побочных эффектов.

2.7.2.1 Исследование способностей соединений **35**, **35a** вызывать деградацию ДНК

Для того, чтобы подтвердить или опровергнуть предположение о том, что механизмом цитотоксичности исследованных комплексов меди является способность вызывать деградацию ДНК, для координационного соединения **35a** способность вызывать деструкцию ДНК была оценена методом TUNEL.

Суть метода TUNEL заключается в специфическом связывании соединения с 3'-концом разорванной нити ДНК, меченным биотином. Такое связывание осуществляется ферментом дезоксирибонуклеотидтрансферазой. В случае разрыва ДНК регистрируется флуоресцентный сигнал.

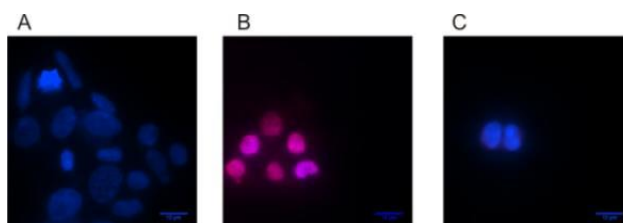


Рис. 25. А Клетки HEK293 (ядра, меченные реагентом DAPI), В +6,5 μM **35a**, С + 16 μM лиганда **35**

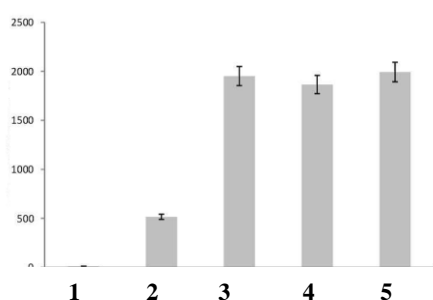


Рис. 26. Результаты поточной цитометрии для соединений **35a** и **35**.

1 Клетки HEK293, 2 HEK293+ CM- H_2DCFDA , 3 HEK293+ CM- $\text{H}_2\text{DCFDA}+\text{H}_2\text{O}_2$, 4 HEK293+ CM- $\text{H}_2\text{DCFDA}+$ 2,6 μM **35a**, 5 HEK293+

На серии микрофотографий (Рис. 25) видно, что апоптотический сигнал выявляется в клетках, обработанных координационным соединением **35a**, в то время как в клетках, обработанных лигандом **35**, апоптотический сигнал не зарегистрирован, что свидетельствует о способности координационного соединения **35a** вызывать разрывы ДНК, в отличие от соответствующего лиганда **35**.

Одним из механизмов деградации ДНК является окислительный стресс вследствие взаимодействия с активными формами кислорода. Способность координационного соединения **35a** и

лиганда **35** образовывать активные формы кислорода была оценена методом поточной цитометрии. Для определения возможности образования активных форм кислорода используют реагент 5-(и-6)-хлорметил 2',7'-дихлордигидрофлуоросцеина диацетата ацетиловый эфир CM-H₂DCFDA, который в присутствии активных форм кислорода образует флуоресцентную форму. По интенсивности флуоресценции судят о способности соединения образовывать активные формы кислорода. Результаты представлены на Рис. 26.

Из полученных данных видно, что и координационное соединение **35a**, и лиганд **35** в одинаковой степени способствуют образованию активных форм кислорода (флуоресценция в случае обработки клеток НЕК293 лигандом **35** и координационным соединением **35a** одинакова), однако, деградация ДНК наблюдается только в случае координационного соединения **35a** (Рис 25). Таким образом, деградация ДНК под действием координационного соединения **35a** происходит без участия активных форм кислорода.

2.7.2.2 Исследование способности соединений **35** и **35a** интеркалировать ДНК

Поскольку соединения **35** и **35a** не обладают собственной флуоресценцией, их связывание с ДНК не может быть оценено с помощью спектрофлуоресценции. Для изучения способности координационного соединения **35a** интеркалировать ДНК был использован метод конкурентного связывания.

Бромистый этидий (ЕВ) - производное фенантридина, классический флуоресцентный интеркалятор ДНК, образует растворимый комплекс с нуклеиновыми кислотами. ЕВ не флуоресцирует в буферном растворе вследствие тушения

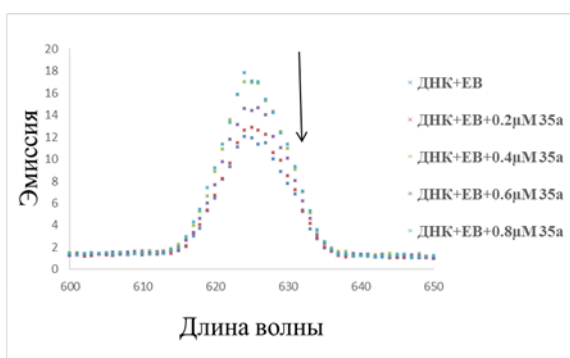


Рис.27 Титрование раствора ДНК+бромистый этидий (ЕВ) координационным соединением **35a**
 [ДНК] – 1 мкМ, [ЕВ] – 1 мкМ, [35a] – [0,2] – [0,8] мкМ

флуоресценции молекулами растворителя. Однако, интенсивность флуоресценции возрастает в присутствии ДНК ввиду интеркаляции плоского фенантридинового кольца между парами азотистых оснований в двойной спирали ДНК. Спектры испускания ЕВ часто используют для исследования интеркаляции ДНК.

При добавлении к раствору комплекса ДНК – ЕВ второго компонента, молекулы которого могут связываться с ДНК более

сильно, чем ЕВ, приводит к уменьшению ДНК-индуцированного излучения ЕВ в связи с заменой ЕВ на конкурентное вещество. [184].

Раствор комплекса нативной ДНК с бромистым этидием титровался растворами лиганда **35** и соответствующего координационного соединения **35a**. При добавлении лиганда **35**, координационного соединения **35a** к раствору ЕВ тушение флуоресценции свободного ЕВ не наблюдалось.

Из полученных данных (Рис. 27) видно, что добавление к раствору ДНК возрастающих количеств координационного соединения **35a** приводит к тушению флуоресценции, что свидетельствует о том, что координационное соединение **35a** способно взаимодействовать с ДНК, предположительно, путем интеркаляции [185]. Константы связывания с ДНК комплекса **35a** были оценены, используя уравнение:

$$K_b [EB] = K_b[35a]$$

По полученным данным тушения флуоресценции, используя уравнение Штерна – Вольмера

$$(I_0 - I)/I = 1 + K_b[Q]$$

где K_b – константа связывания вещества с ДНК, $[Q]$ – концентрация тушителя.

Константа связывания с ДНК координационного соединения **35a** с ДНК составила $8,0 \cdot 10^6$.

В случае титрования раствора ДНК + ЕВ раствором лиганда **35** тушения флуоресценции не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии интеркаляции.

2.7.2.3 Изучение способности соединений 35 и 35a связываться с БСА

Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) является главным белком – носителем в кровеносной системе человека. ЧСА обладает многими физиологическими функциями, такими как поддержание осмотического давления и рН в крови, а также транспортировки жирных кислот, аминокислот, и лекарственных препаратов. Способность препарата образовывать устойчивый комплекс с альбумином оказывает существенное влияние на фармакодинамику, метаболизм и эффективность лекарственного средства [186]. Входящий в состав альбуминов триптофан обеспечивает флуоресценцию белка, высоко чувствительную к изменениям во внешнем окружении аминокислоты. Спектр излучения триптофана чувствителен к изменению белковой конформации, ассоциации, связыванию с субстратом, денатурации белка [187]. Таким образом, собственная флуоресценция альбумина может дать значительную информацию о структуре белка, и часто используется в исследованиях реакций денатурации и

ассоциации. Тушение флуоресценции представляет собой важный метод для изучения взаимодействия металлокомплексов с ЧСА (БСА) ввиду его точности, чувствительности, быстроты и удобства использования

Были проведены исследования связывания координационного соединения **35a** и соответствующего лиганда **35** бычим сывороточным альбумином (БСА) - структурным гомологом человеческого сывороточного альбумина.

Раствор БСА титровали раствором лиганда **35** и координационного соединения **35a**.

Из полученных данных (Рис.28) видно, что при добавлении к раствору БСА возрастающих количеств, координационного соединения **35a** происходит тушение флуоресценции при

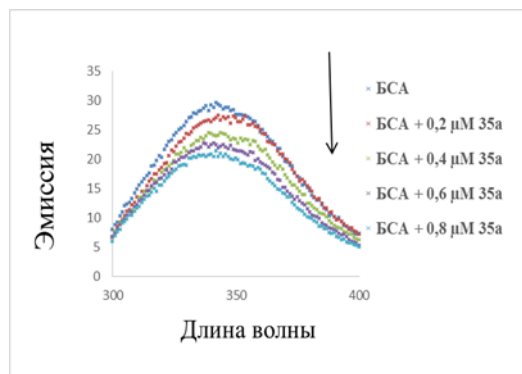


Рис. 28. Титрование раствора БСА координационным соединением **35a** [БСА] - 1 μM, [35a] - [0,2] – [0,8] μM

342 нм, что свидетельствует о том, что координационное соединение **35a** способно связываться с БСА [31]. При добавлении к раствору БСА возрастающих количеств лиганда **35** не удается зафиксировать устойчивого тушения флуоресценции, что свидетельствует о том, что механизм взаимодействия лиганда **35** с БСА требует дополнительного изучения.

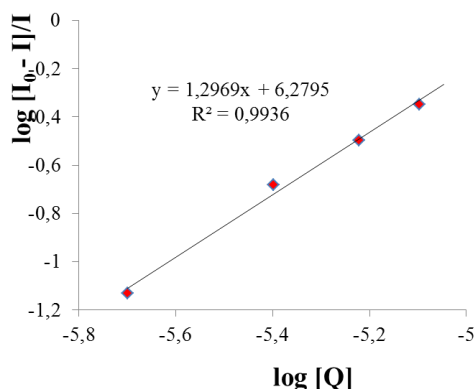


Рис. 29. График Скетчарда флуоресцентного титрования БСА комплексом **35a**

Предполагая, что связывание с белком происходит равновесно, константа связывания

(K_b) может быть оценена с помощью уравнения Скетчарда:

$$\log (I_0-I)/I = \log K_b + n \log [Q]$$

где [Q] – концентрация тушителя, n – число сайтов связывания с белком.

Используя линейный график Скетчарда (Рис.29), была оценены константа связывания соединения **35a** с БСА, а также число сайтов связывания: K_b = 1,9•10⁶, n = 1.

Как видно из полученных данных, координационное соединение **35a** способны образовывать устойчивые комплексы с БСА.

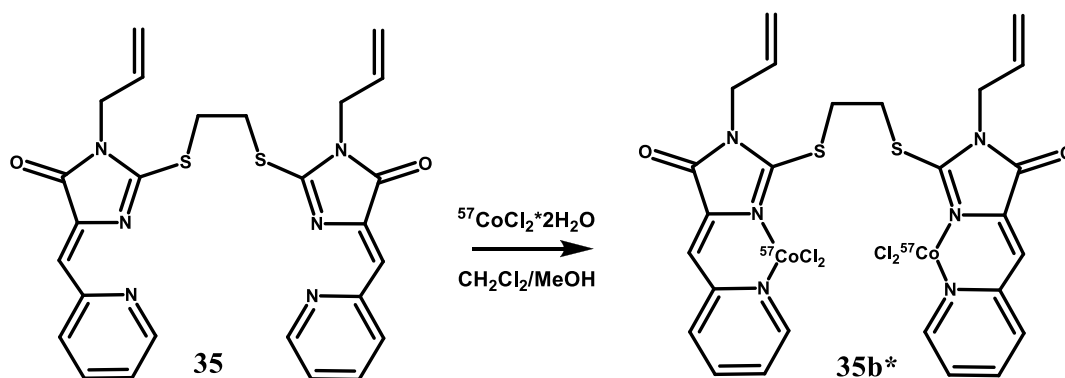
Способность координационного соединения **35a** связываться с БСА позволяет предположить, что координационное соединение скорее всего будет транспортироваться альбумином после внутривенного введения.

2.8 Исследования *in vivo*

2.8.1 Исследование распределения координационного соединения **35a** в организме мыши³

Для контроля распределения полученных соединений в организме на первом этапе было исследовано распределение координационного соединения **35b** в организме мыши. В качестве контрольного препарата было выбрано координационное соединение **35b***, содержащий радиоактивную метку.

Для анализа распределения препарата в организме использовался метод меченых атомов. В качестве радиоактивной метки был выбран ^{57}Co ($T_{1/2} = 271$ день). Координационное соединение с радиоактивной меткой было получено по стандартной схеме исходя из соответствующего лиганда и меченого хлорида кобальта:



Образование координационного соединения **35b** было подтверждено методом электронной спектроскопии: появление полосы поглощения в области 600 нм свидетельствует об образовании комплекса [188].

Исследуемые мыши были разделены на 2 группы. Первой был внутривенно введен раствор координационного соединения **35a** в дозе 20 мг/кг, второй группе - группе отрицательного контроля – раствор $^{57}\text{CoCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в дозе 6,5 мг/кг. Контроль распределения был проведен дважды: через 8 и 24 часа после введения.

Было проведено исследование накопления препарата **35b*** путем измерения активности гамма – излучения в каждом органе. Все полученные гамма-спектры имеют

³ Данная часть работы выполнена совместно с сотрудниками кафедры радиохимии МГУ имени М.В. Ломоносова

схожий вид (Рис. 30). На спектре можно наблюдать два пика при 122 кэВ и при 136 кэВ, соответствующие ^{57}Co .

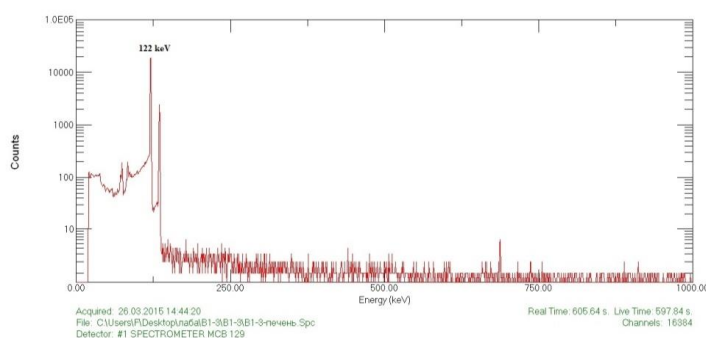


Рис. 30. Спектр гамма – излучения печени мыши группы В

Количественный анализ проводился по площади первого пика гамма-спектра. Результаты измерений для серий мышей приведены в таблице 19.

Таблица 19. Результаты распределения в органах препарата **35b*** и $\text{Co}^{57}\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

| Орган/Время | $\text{Co}^{57}\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | | 35b* | |
|------------------|---|----------|-------------|----------|
| | 8часов | 24часа | 8часов | 24часа |
| Печень | 78,6±1 | 73,8±1,6 | 70,8±1,7 | 70,4±1,9 |
| Почки | 8,3±1,1 | 10,3±0,9 | 12,2±1,1 | 14,0±1,1 |
| Сердце | 3,7±1,2 | 6,1±1,2 | 6,3±1,0 | 5,3±1,2 |
| Легкие | 5,9±1,3 | 5,9±1,3 | 6,0±1,3 | 6,3±1,3 |
| Селезенка | 2,7±0,5 | 2,8±0,6 | 3,8±0,5 | 2,7±0,5 |
| Мозг | 0,8±0,4 | 1,2±0,5 | 0,9±0,4 | 1,1±0,5 |

Наибольшая часть введенного препарата остается в печени (как для соли кобальта, так и для его координационного соединения). Из полученных данных видно, что распределение соли спустя 24 часа отлично от распределения через 8 часов: концентрация $\text{Co}^{57}\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в печени падает, в сердце и почках возрастает.

Из представленных данных также следует, что распределение препарата спустя 8 часов практически аналогично распределению препарата спустя 24 часа, отмечено лишь незначительное повышение концентрации препарата в почках и легких, и понижение концентрации и печени, сердце и селезенке.

Накопление координационного соединения **35b*** и свободной соли в печени может быть объяснено несколькими причинами. Печень является мишенью для нехелатированных ионов металла, что объясняется связыванием металлов металлотионеинами [189]. Также, накопление препарата в печени может быть объяснено его липофильностью, что соответствует литературным данным [190] для медь и кобальтсодержащих противоопухолевых препаратов.

2.8.2 Доклинические испытания координационного соединения 35a⁴

2.8.2.1 Исследования на здоровых особях

На первом этапе исследования определили максимальную переносимую дозу (МПД) координационного соединения **35a** при пятикратном внутривентральном введении, используя два носителя: 4% проксанол и 10% ДМСО. Было установлено, что для мышей линий C₅₇Bl/6 и DBA/2 МПД **35a** в 4% проксаноле составляет 30 мг/кг, в 10% ДМСО – 24 мг/кг.

В ходе предварительных испытаний была оценена острая токсичность координационного соединения **35a**, максимально переносимая доза, а также LD₅₀.

В качестве биологической модели для исследования использовали самцов мышей аутбредной линии Balb/C.

Была получена оценка для максимально переносимой дозы, составляющая 30 мг/кг. Расчет LD₅₀ на основании полученных данных дает оценку в 50 мг/кг.

2.8.2.2 Исследования на особях с привитой аденокарциномой молочной железы

В подопытной группе мышей с привитой аденокарциномой молочной железы, получивших курс введения исследуемого вещества в дозе 24 мг/кг, показатель торможения роста опухоли составлял 73,5% на седьмые сутки после окончания курса лечения и 59,5% – на четырнадцатые сутки после окончания курса лечения.

В соответствии с методическими указаниями [191], при значениях торможения роста опухоли от 20% до 50% говорят о возможном ингибирующем эффекте исследуемого вещества (\pm), при значениях торможения роста опухоли от 51% до 80% – о наличии слабого ингибирующего эффекта (+).

Терапевтическое окно препарата – соотношение между средними значениями эффективной и летальной дозы – составляет 2,1.

Таким образом, показан ингибирующий эффект координационного соединения **35a** на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы Ca755, что делает его перспективным соединением – лидером для дальнейшей оптимизации и биологического тестирования.

⁴ Работа выполнена совместно сФГБУН НИЦ ТБП ФМБА России, г. Серпухов

3. Экспериментальная часть

Общие сведения

Контроль за ходом реакций и индивидуальности продуктов осуществляли методом тонкослойной хроматографии на закрепленном слое силикагеля (Silufol).

Спектры ЯМР ^1H были зарегистрированы на приборе Bruker Avance с рабочей частотой 400 МГц. В качестве растворителя использовали дейтерохлороформ и диметилсульфоксид- d_6 . Химические сдвиги приведены в миллионных долях по шкале δ относительно гексаметилдисилоксана как внутреннего стандарта.

ИК спектры регистрировали на приборе UR-20 в вазелиновом масле и на ИК спектрометре с преобразованием Фурье IR200 (ThermoNicolet, USA) с разрешением 4 см^{-1} .

ИК-спектры регистрировали на приборах UR-20 в вазелиновом масле или на ИК-спектрометре с преобразованием Фурье Thermo Nicolette IR200 в КBr. Регистрация оптических спектров в УФ и видимой области, а также кинетические и точечные эксперименты проводились на приборах Thermo Scientific Multiskan GO, SpectraMax M5, Beckman Coulter DU 720. Анализ методом ГХ-МС проводили на хроматомасс-спектрометре Finnigan MAT SSQ 7000 (энергия ионизации – 70 эВ, кварцевая капиллярная колонка OV-1 (25м), температурный режим: 70°C (2 мин.) – 20°C/мин – 280°C (10 мин)).

Спектры флуоресценции были зарегистрированы на приборе Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer.

Рентгеноструктурный анализ образцов проводился на дифрактометре ДРОН-4 (CoK α излучение с $\lambda = 0,179\text{ нм}$, напряжение трубки 40 кВ, ток – 30 мА) в диапазоне дифракционных углов 2θ от 20° до 120° с шагом $0,1^\circ$; время экспозиции на точку съёмки 3 с. Использованные растворители были очищены и абсолютированы по методикам, приведенным в руководстве [192].

Температуры плавления определяли в блоке с открытым капилляром. Приведены неисправленные величины температур плавления.

Элементный анализ синтезированных соединений был выполнен на СНN-анализаторе фирмы MicroCube.

3.1 Синтез 3-замещенных 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов

Общая методика (синтез из глицина и изотиоцианата):

Глицин (1 экв.) растворили в смеси вода-пиридин (1:1), прибавили 1 экв. триэтиламина, затем 1,1 экв. изотиоцианата. Смесь нагрели до $55\text{ }^\circ\text{C}$, перемешивали в течение часа, затем охладили до комнатной температуры. Пиридин и избыток

изотиоцианата удалили экстракцией равным количеством толуола. К водной фазе добавили концентрированную соляную кислоту до pH 6 - 7 и кипятили 2,5 часа. Реакционную смесь упарили до половины объема при пониженном давлении и охладили до комнатной температуры. Образовавшийся осадок отфильтровали, промыли водой.

3.1.1 Синтез 3-метил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (1).

В результате реакции 2,25 г (30 ммоль) глицина и 3,3 г (45 ммоль) метилизотиоцианата получили 3,53 г (62%) 3-метил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **1**.

$T_{пл} = 140\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7,31 (уш.с, 1H, NH), 4,12 (с, 2H $\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$), 3,30 (с, 3H, N- CH_3).

ИК спектр (cm^{-1}): 3180 (NH), 1730 (C=O).

Элементный анализ $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: C 36,91%; H 4,65%; N 21,25%; S 24,63%; найдено: C 37,24%; H 4,31%; N 21,18%; S 24,85%.

3.1.2 Синтез 3-(втор-бутил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (2).

В результате реакции 0,6 г (7,9 ммоль) глицина и 1 г (1,1 мл, 8,7 ммоль) 2-бутилизотиоцианата получили 0,97 г (72%) 3-(2-бутил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **2**.

$T_{пл} = 103\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 10,16 (уш.с, 1H, NH), 4,85 (м, 1H, $\text{CH}_3\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{CH}_3$) 4,05 (м, 2H, CH_2), 1,95 (м, 1H, $\text{CH}_3\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,67 (м, 1H, $\text{CH}_3\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,35 (д, 3H, $J = 6,91$ Гц, $\underline{\text{CH}_3}\text{CHCH}_2\text{CH}_3$), 0,79 (т, 3H, $J = 7,08$ Гц, $\text{CH}_3\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{CH}_3$).

ИК спектр (cm^{-1}): 3180 (NH), 1730 (C=O).

Элементный анализ $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: C 48,83%; H 6,97%; N 16,27%; S 18,60%; найдено: C 48,79%; H 6,91%; N 15,88%; S 18,85%.

3.1.3 Синтез 2-метилбутил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (3).

В результате реакции 0,528 г (7 ммоль) глицина и 1 г (7,7 ммоль) (2-метилбутил)изотиоцианата получили 1,1 г (90%) 3-изобутил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **3**.

$T_{пл} = 116\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 10,15 (уш.с, 1Н, NH), 4,15 (с, 2Н, CH_2), 3,49 (м, 2Н, N- CH_2 -CH(CH_3)(C_2H_5)), 1,95 (м, 1Н, N- CH_2 - CH (CH_3)(C_2H_5)), 1,35 (м, 1Н, N- CH_2 -CH(CH_3)(CH_2CH_3)), 1,05 (м, 1Н, N- CH_2 -CH(CH_3)(CH_2CH_3)), 0,85 (т, J = 7,45 Гц, 3Н, N- CH_2 -CH(CH_3)(CH_2CH_3)), 0,80 (д, J = 6,55 Гц, 3Н, N- CH_2 -CH(CH_3)(CH_2CH_3)).

ИК спектр (cm^{-1}): 3280 (NH), 1750 (C=O)

Элементный анализ $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: С 51,61; Н 7,52%; N 15,05 %; S 17,20%; найдено: С 51,45%; Н 7,44%; N 15,00%; S 16,88%.

3.1.4 Синтез 3-аллил-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (4)

В результате реакции 5,1 г (0,068 моль) глицина и 7,4 г (7,3 мл, 0,074 моль) аллилизотиоцианата получили 7,74 г (74%) 3-аллил-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **4**.

$T_{\text{пл}} = 98^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7,44 (уш. с. 1Н, NH), 5,88 (м, 1Н, =CH), 5,27 (м, 2Н, = CH_2), 4,46 (д, J = 5,8 Гц, 2Н, CH_2), 4,1 (с, 2Н, CH_2).

ИК спектр (cm^{-1}): 3280 (NH), 1750 (C=O), 1650 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: С 46,13; Н 5,16%; N 17,93%; S 20,53%; найдено: С 46,45%; Н 5,23%; N 18,01%; S 20,35%.

3.1.5 Синтез 3-циклопропил-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (5)

В результате реакции 5,1 г (0,068 моль) глицина и 7,4 г (6,3 мл, 0,074 моль) циклопропилизотиоцианата получили 7,2 г (69%) циклопропил-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **5**.

$T_{\text{пл}} = 101^\circ\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7,43 (уш. с, 1Н, NH), 4,16 (д, J = 5,6 Гц, 2Н, CH_2), 2,33 (м, 1Н, CH), 0,84 (дд, 2Н, $J_1 = 2,4$ Гц, $J_2 = 7,5$ Гц, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0,82 (дд, 2Н, $J_1 = 2,4$ Гц, $J_2 = 7,1$ Гц, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$).

ИК спектр (cm^{-1}): 3280 (NH), 1750 (C=O), 1650 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: С 46,13%; Н 5,16%; N 17,93%; S 20,53%; найдено: С 46,06%; Н 5,09 %; N 18,10%; S 20,39%.

3.1.6 Синтез 3-фенил-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (6)

В результате реакции 2,25 г (30 ммоль) глицина и 6 г (5,4 мл, 45 ммоль) фенилизотиоцианата получили 4,86 г (86%) 3-фенил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **6**.

$T_{пл} = 145\text{ }^{\circ}\text{C}$.

ИК спектр (cm^{-1}): 3180 (NH), 1730 (C=O).

Элементный анализ $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: С 56,23%; Н 4,19%; N 14,57 %; S 16,68%; найдено: С 56,26%; Н 4,19 %; N 14,11%; S 16,69%.

3.1.7 Синтез 3-(2-бензил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (7)

В результате реакции 0,46 г (6,1 ммоль) глицина и 1 г (0,9 мл, 6,7 ммоль) бензилизотиоцианата получили 1,15 г (92%) 3-бензил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **7**.

$T_{пл} = 138\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 10,25 (уш.с, 1H, NH), 7,25 (м, 5H, Ph), 4,88 (с, 2H, N- CH_2 -Ph), 4,20 (с, 2H, CH_2).

ИК спектр (cm^{-1}): 3280 (NH), 1750 (C=O)

Элементный анализ $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: С 58,25%; Н 4,85%; N 13,59%; S 15,56%; найдено: С 58,44%; Н 4,8%; N 13,39%; S 15,30%.

3.1.8 Синтез 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (8).

В результате реакции 0,44 г (5,8 ммоль) глицина и 1 г (0,88 мл, 6,2 ммоль) 2-фенилэтилизотиоцианата получили 0,96 г (76%) 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **8**.

$T_{пл} = 126\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 10,25 (уш.с, 1H, NH), 7,31 (м, 2H, J = 6,72 Гц, Ph), 7,22 (м, 3H, Ph), 4,11 (с, 2H δ CH_2), 3,85 (т, 2H, J = 7,34 Гц, N- CH_2 - CH_2 -Ph), 2,86 (т, 2H, J = 7,41 Гц, N- CH_2 - CH_2 -Ph).

ИК спектр (cm^{-1}): 3280 (NH), 1750 (C=O).

Элементный анализ $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$ вычислено: С 59,97%; Н 5,45%; N 12,72%; S 14,54%; найдено: С 60,31%; Н 5,61%; N 12,81%; S 14,49%.

3.2 Синтез 3-замещенных 5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-онов

3.2.1 Синтез 3-замещенных 5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-онов из 3-замещенных 2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-онов и 2-пиридинкарбальдегида

Общая методика

3-Замещенный 2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-он растворили в 10 мл 2%-го спиртового раствора КОН при интенсивном перемешивании. После полного растворения по каплям добавили 1,1 экв. 2-пиридинкарбальдегида. Смесь перемешивали 3 часа. К полученной смеси при интенсивном перемешивании прибавили разбавленную соляную кислоту до pH 7. Выпавший осадок отфильтровали, промыли этиловым спиртом, затем высушили и промыли диэтиловым эфиром.

3.2.1.1 Синтез 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (9).

В результате реакции 2 г (15 ммоль) 3-метил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **1** и 1,38 мл (1,56 г, 1,4 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 2,78 г (85%) 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **9**.

$T_{пл} = 230\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 12,01 (уш.с, 1H, NH), 8,75 (д, $J = 3,9$, 1H, H_{α} -Py), 7,89 (дд, $J_1 = 7,7$ Гц, $J_2 = 2,2$ Гц, 1H, H_{γ} -Py), 7,74 (д, $J = 7,8$ Гц, 1H, H_{β} -Py), 7,39 (дд, $J_1 = 4,8$ Гц, $J_2 = 1,2$ Гц, 1H, H_{β} -Py), 6,72 (с, 1H, =CH), 3,23 (с, 3H, N-CH $_3$).

ИК спектр (cm^{-1}): 3290 (NH), 1750 (C=O), 1600 (C=C).

3.2.1.2 Синтез 3-(втор-бутил)-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (10).

В результате реакции 0,5 г (2,9 ммоль) 3-(втор-бутил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **2** и 0,3 мл (0,34 г, 3,19 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 0,59 г (79 %) 3-(2-бутил)-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **10**.

$T_{пл} = 116\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11,61 (уш.с, 1H, NH), 8,73 (д, 1H, $J = 5,48$ Гц, H_{α} -Py), 7,90 (т, 1H, $J = 7,68$ Гц, H_{γ} -Py), 7,75 (д, 1H, $J = 6,16$ Гц, H_{β} -Py), 7,39 (т, 1H, $J = 6,28$ Гц, H_{β} -Py), 6,67 (с, 1H, -CH=), 4,63 (м, 1H, CH $_2$ -CH-CH $_2$ -CH $_3$), 2,03 (м, 1H, CH $_3$ -

CH-CH₂-CH₃), 1,72 (м, 1H, CH₃-CH-CH₂-CH₃), 1,41 (д, 3H, J = 5,89 Гц, CH₃-CH-CH₂-CH₃), 0,76 (т, 3H, J = 7,52 Гц, CH₃-CH-CH₂-CH₃).

ИК спектр (см⁻¹): 3280 (NH), 1750 (C=O), 1600 (C=C).

Элементный анализ C₁₃H₁₅N₃OS вычислено: С 59,77%; Н 5,74%; N 16,09%; S 12,26%; найдено: С 66,10%; Н 4,69%; N 13,45%; S 10,50%.

3.2.1.3 Синтез **3-(2-метилбутил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (11).**

В результате реакции 0,2 г (1,1 ммоль) 3-(2-метилбутил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол 4-она **3** и 0,115 мл (0,129 г, 1,21 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 0,26 г (85%) 3-изобутил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **11**.

T_{пл} = 158 °С.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 11,52 (уш.с, 1H, NH), 8,55 (м, H_α-Py), 7,90 (т, 1H, J = 7,79 Гц, H_γ-Py), 7,78 (м, 1H, H_β-Py), 7,38 (м, 1H, H_β-Py), 6,72 (с, 1H, -CH=), 3,56 (дм, 2H, J = 16,3 Гц, CH₂-CH(CH₃)CH₂CH₃), 1,94 (м, 1H, CH₂-CH(CH₃)CH₂CH₃), 1,31 (м, 1H, CH₂-CH(CH₃)CH₂CH₃), 1,07 (м, 1H, CH₂-CH(CH₃)CH₂CH₃), 0,81 (м, 6H, CH₂-CH(CH₃)CH₂CH₃).

ИК спектр (см⁻¹): 3290 (NH), 1750 (C=O), 1600 (C=C).

Элементный анализ C₁₄H₁₇N₃OS вычислено: С 61,09%; Н 6,18%; N 15,2%; S 11,63%; найдено: С 60,76%; Н 5,98%; N 15,04%; S 11,57%.

3.2.1.4 Синтез **3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (12).**

В результате реакции 0,5 г (3,47 ммоль) 3-(аллил)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол 4-она **4** и 0,362 мл (0,4 г, 1,1 экв, 3,8 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 0,41 г (74%) 3-(аллил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **12**.

T_{пл} = 178 °С.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 12,0 (уш.с, 1H, NH), 8,75 (д, J = 3,9 Гц, 1H, H_α-Py), 7,89 (т, J₁ = 7,7 Гц, J₂ = 2,2 Гц, 1H, H_γ-Py), 7,74 (д, J = 7,8 Гц, 1H, H_β-Py), 7,39 (дд, J₁ = 4,8 Гц, J₂ = 1,2 Гц, 1H, H_β-Py), 6,75 (с, 1H, -CH=), 5,85 (м, 1H, CH=), 5,3 (м, 2H, CH₂=), 4,4 (д, J = 5,8 Гц, 2H, CH₂).

ИК спектр (см⁻¹): 3280 (NH), 1750 (C=O), 1650 (C=C), 1605 (C=C).

3.2.1.5 Синтез **3-(циклопропил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-**

тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (13).

В результате реакции 0,09 г (0,59 ммоль) 3-циклопропил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **5** и 0,05 мл (0,056 г, 0,64 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 0,1 г (69%) 3-(циклопропил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **13**.

$T_{пл} = 203\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11,55 (уш.с, 1H, NH), 8,76 (д, 1H, $J = 4,95$ Гц, H_{α} -Py), 7,93 (тд, 1H, $J_1 = 7,99$ Гц, $J_2 = 2,09$ Гц, H_{γ} -Py), 7,68 (д, 1H, $J = 7,61$ Гц, H_{β} -Py), 7,37 (тд, 1H, $J_1 = 5,14$ Гц, $J_2 = 1,52$ Гц, H_{β} -Py), 6,65 (с, 1H, $-\underline{\text{C}}\text{H}=\text{)$, 1,23 (с, $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_2)_2$), 1,04 (дд, 4H, $J_1 = 6,28$ Гц, $J_2 = 1,9$ Гц, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$).

ИК спектр (cm^{-1}): 3260 (NH), 1740 (C=O), 1630 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2$ вычислено: С 60,46%; Н 4,65%; N 16,27%; найдено: С 60,33%; Н 4,80%; N 16,12%.

3.2.1.6 Синтез 3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (14).

Из 4 г (20 ммоль) 3-фенил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол 4-она **6** и 2 мл (2,24г, 2,1 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 5,52 г (95%) 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **14**.

$T_{пл} = 245\text{ }^{\circ}\text{C}$ (лит. $T_{пл} = 243\text{ }^{\circ}\text{C}$ [193]).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11,95 (уш.с, 1H, NH), 8,79 (д. $J = 4,7$ Гц, 1H, H_{α} -Py), 7,94 (т, $J = 8,3$ Гц, 1H, H_{γ} -Py), 7,8 (д. $J = 7,9$ Гц, 1H, H_{β} -Py), 7,47 (м, 6H, H_{β} -Py, H-Ph), 6,81 (с. 1H, =CH).

ИК спектр (cm^{-1}): 3290 (NH), 1740 (C=O), 1600 (C=C).

3.2.1.7 Синтез 3-бензил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (15).

В результате реакции 0,3 г (1,45 ммоль) 3-бензил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **7** и 0,151 мл (0,171 г, 1,6 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 0,4 г (95%) 3-бензил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **15**.

$T_{пл} = 133\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11,81 (уш.с, 1H, NH) 8,77 (д, 1H, $J = 4,38$ Гц, H_{α} -Py), 7,91 (тд, 1H, $J_1 = 7,75$ Гц, $J_2 = 1,46$ Гц, H_{γ} -Py), 7,77 (д, 1H, $J = 7,75$ Гц, H_{β} -

Py), 7,41 (дд, 1H, $J_1 = 4,79$ Гц, $J_2 = 1,10$ Гц, H_{β} -Py), 7,34 (м, 3H, Ph), 7,29 (м, 2H, Ph) 6,76 (с, 1H, $-CH=$), 5,03 (с, 2H, $\underline{CH_2}$ -Ph).

Элементный анализ $C_{16}H_{13}N_3OS$ вычислено: С 65,08; Н 4,40%; N 14,23%; S 10,84; найдено: С 60,03%; Н 4,55%; N 14,01%; S 11,62%.

3.2.1.8 Синтез 3-фенилэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (16).

В результате реакции 0,185 г (0,84 ммоль) 3-фенилэтил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол 4-она **8** и 0,087 (0,098 г, 0,92 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида получили 0,23 г (90%) 3-фенилэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **16**.

$T_{пл} = 143$ °С (с разл.)

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11,47 (уш.с, 1H, NH) 8,69 (д, 1H, $J = 4,14$ Гц, H_{α} -Py), 7,76 (тд, 1H, $J_1 = 7,96$ Гц, $J_2 = 1,56$ Гц, H_{γ} -Py), 7,42 (д, $J = 8,26$ Гц, 1H, H_{β}), 7,30 (м, 4H, Ph+ H_{β} -Py), 6,53 (с, 1H, $-CH=$), 4,16 (т, 2H, $J = 7,69$ Гц, $N-\underline{CH_2}-CH_2$ -Ph), 3,06 (т, $J = 7,70$ Гц, 2H, $N-CH_2-\underline{CH_2}$ -Ph).

Элементный анализ $C_{17}H_{15}N_3OS$ вычислено: С 66,01%; Н 4,85%; N 13,59%; S 10,35%; найдено: С 66,10%; Н 4,69%; N 13,45%; S 10,50%.

3.2.2 Синтез 3-замещенных 5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-онов из N,N' -замещенных тиомочевин.

3.2.2.1 Синтез исходных соединений

Синтез изотиоцианатоэтилацетата (17) [194]

В трехгорлой колбе растворили 13,5 г (0,096 моль) гидрохлорида этилового эфира глицина в смеси 40 мл H_2O и 40 мл CH_2Cl_2 . Через две капельные воронки при перемешивании одновременно добавили растворы 25,2 г (0,3 моль) $NaHCO_3$ в 100 мл H_2O и 11,5 г (0,1 моль) $CSCl_2$ в 40 мл CH_2Cl_2 . По окончании реакции органический раствор имел светло-желтый цвет (водный слой - бесцветный).

Органический слой отделили на делительной воронке, промыли H_2O (3×30 мл). Объединенные органические фракции сушили над безводным сульфатом натрия. Растворитель удалили при пониженном давлении. Полученное масло перегнали в вакууме ($T = 76$ °С/3 мм. рт. ст.). Получили 11 г (90 %) изотиоцианатоэтилацетата **17** в виде светло-желтого прозрачного масла.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 4,28 (кв, $J_1 = 7,09$ Гц, 2H, $-CH_2-$), 4,23 (с, 2H, $\underline{CH_2}NCS$), 1,32 (т, 3H, $J = 7,09$ Гц, CH_3-).

3.2.2.2 Синтез 3-азидоэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (18)

К раствору гидрохлорида хлорэтиламина (2 г, 17,2 ммоль) в 20 мл воды при перемешивании добавили азид натрия (1,12 г, 17,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 80 °С 15 часов, затем добавили твердый гидроксид натрия (2 г, 34 ммоль) и экстрагировали диэтиловым эфиром (2x35 мл). Органические слои объединили и высушили над безводным сульфатом натрия. Затем к раствору азидоэтиламина в диэтиловом эфире при интенсивном перемешивании по каплям добавили избыток изотиоцианатоэтилацетата (2,5 г, 17,2 ммоль). Смесь перемешивали 3 часа, затем упарили эфир, к полученному маслу добавили 75 мл этилового спирта, 0,96 г (17,2 ммоль) твердого гидроксида калия, затем по каплям прибавили 1,84 г (1,63 мл, 17,2 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида и перемешивали ночь. Затем раствор подкислили до pH 7 разбавленной соляной кислотой, осадок отфильтровали и высушили на воздухе. В результате получили 2,96 г (63%) 3-азидоэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **18** в виде темно-желтого порошка.

$T_{пл} = 130\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 11,47 (ушс, 1H, NH), 8,66 (д, 1H, $J = 4,70$ Гц, $\text{H}_{\alpha}\text{-Py}$), 7,73 (тд, 1H, $J_1 = 7,83$ Гц, $J_2 = 1,57$ Гц, $\text{H}_{\gamma}\text{-Py}$), 7,40 (д, 1H, $J = 7,83$ Гц, $\text{H}_{\beta}\text{-Py}$), 7,25 (ддд, 1H, $J_1 = 7,83$ Гц, $J_2 = 4,70$ Гц, $J_3 = 1,57$ Гц, $\text{H}_{\beta}\text{-Py}$), 6,56 (с, 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 4,13 (т, 2H, $J = 5,87$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,65 (т, 2H, $J = 6,26$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$).

ИК, cm^{-1} : 3340 (NH), 2102 (N_3), 1720 (C=O), 1614 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_6\text{OS}$ вычислено: C 48,17%; H 3,67%; N 30,64%; S 11,69%; найдено: C 47,96%; H 3,72%; N 30,20%; S 11,96%.

3.2.2.3 Синтез 3-азидопропил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (19)

К раствору гидробромида бромпропиламина (4 г, 18,3 ммоль) в 30 мл воды при перемешивании добавили азид натрия (1,188 г, 18,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 85°C 20 часов, затем добавили твердый гидроксид натрия (2 г, 36 ммоль) и экстрагировали диэтиловым эфиром (2x35 мл). Органические слои объединили и высушили над безводным сульфатом натрия. Затем к раствору азидоэтиламина в диэтиловом эфире при интенсивном перемешивании по каплям добавили избыток изотиоцианатоэтилацетата (2,65 г, 18,3 ммоль). Смесь перемешивали 3 часа, затем

упарили эфир, к полученному маслу добавили 75 мл этилового спирта, твердый гидроксид калия (1 г, 18,3 ммоль), затем по каплям прибавили 1,95 г (1,73 мл, 18,3 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида и перемешивали ночь. Затем раствор подкислили до pH 7 разбавленной соляной кислотой, осадок отфильтровали и высушили на воздухе. В результате получили 3,58 г (68%) 3-азидопропил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **19** в виде желтого порошка.

$T_{пл} = 115\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11,45 (уш, с, 1H, NH), 8,65 (д, 1H, $J = 3,90$ Гц, H_{α} -Py), 7,73 (тд, 1H, $J_1 = 7,83$ Гц, $J_2 = 1,57$ Гц, H_{γ} -Py), 7,40 (д, 1H, $J = 7,83$ Гц, H_{β} -Py), 7,24 (ддд, 1H, $J_1 = 7,83$ Гц, $J_2 = 3,90$ Гц, $J_3 = 1,57$ Гц, H_{β} -Py), 6,55 (с, 1H, $-\underline{\text{CH}}=$), 4,02 (т, 2H, $J = 7,04$ Гц, $\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,39 (т, 2H, $J = 6,65$ Гц, $\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 2,00 (м, 2H, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_2\text{N}_3$).

ИК, cm^{-1} : 3300 (NH), 2092 (N_3), 1731 (C=O), 1660 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{OS}$ вычислено: C 49,99%; H 4,19%; N 29,15%; S 11,12%; найдено: C 49,75%; H 4,21%; N 29,01%; S 10,88%.

3.2.2.4 Синтез 3-пропаргил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она (20)

К раствору пропаргиламина (0,150 г, 2,7 ммоль) в 15 мл диэтилового эфира при интенсивном перемешивании по каплям добавили изотиоцианатозтилацетат (0,430 г, 2,79 ммоль). Смесь перемешивали 3 часа, затем упарили 90% эфира, к раствору добавили 50 мл этилового спирта, 0,151 г (2,7 ммоль) твердого гидроксида калия, затем по каплям прибавили 0,289 г (0,25 мл, 2,7 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида и перемешивали ночь. Затем раствор подкислили до pH 7 разбавленной соляной кислотой, осадок отфильтровали, промыли диэтиловым эфиром и высушили на воздухе. В результате получили 0,490 г (75%) 3-пропаргил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **20** в виде желтого порошка.

$T_{пл} = 225\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 11,90 (ушс, 1H, NH), 8,76 (д, 1H, $J = 4,5$ Гц, H_{α} -Py), 7,91 (т, 1H, $J = 7,82$ Гц, H_{γ} -Py), 7,77 (д, 1H, $J = 7,63$ Гц, H_{β} -Py), 7,41 (т, 1H, $J = 5,77$ Гц, H_{β} -Py), 6,82 (с, 1H, $-\underline{\text{CH}}=$), 4,59 (с, 2H, CH_2), 3,28 (с, 1H, $\text{CH}\equiv$),

ИК, cm^{-1} : 3200 ($\text{CH}\equiv\text{C}$, NH), 1920 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 1630 (C=C), 1600 (C=N).

Элементный анализ $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{OS}$ вычислено: C 59,25%; H 3,70%; N 17,28%; S 13,16%; найдено: C 59,14%; H 3,95%; N 17,12%; S 13,37%.

3.3 Алкилирование 3-замещенных 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов

3.3.1 Алкилирование соединений 8-11 йодистым метилом

Общая методика

К водно-спиртовой взвеси исходного 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (1 мл воды и 1 мл EtOH на 0,1 г в-ва) добавили 1,2 экв. KOH, затем по каплям при перемешивании добавили 1,1 экв. метилиодида и перемешивали 2 часа. Получившийся осадок отфильтровали, промывали водным раствором KOH, водой и диэтиловым эфиром.

3.3.1.1 Синтез

3-метил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-

метилмеркаптотетрагидро - 4Н-имидазол-4-она (21).

В результате реакции 2 г (9 ммоль) 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **9** и 1,55 мл (10 ммоль) метилиодида получили 1,56 г (77%) 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **21**.

$T_{пл} = 237\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,69 (д, $J = 8,3$ Гц, 1H, H_{α} -Py), 8,53 (д, $J = 4,4$ Гц, 1H, H_{β} -Py), 8,03 (т, $J = 4,4$ Гц, 1H, H_{γ} -Py), 7,46 (д, $J = 4,2$ Гц, H_{β} -Py), 6,88 (с, 1H, - $\text{CH}=\text{N}$), 3,18 (с, 3H, N- CH_3), 2,70 (с, 3H, S- CH_3).

ИК спектр (cm^{-1}): 1740 (C=O), 1670 (C=N), 1600 (C=C).

3.3.1.2 Синтез

3-втор-бутил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-

метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (22).

В результате реакции 1 г (4 ммоль) 3-втор-бутил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **10** и 0,6 мл (4,4 ммоль) метилиодида получили 0,71 г (68%) 3-втор-бутил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **22**.

$T_{пл} = 208\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,72 (д, $J = 8,3$ Гц, 1H, H_{α} -Py), 8,63 (д, $J = 4,4$ Гц, 1H, H_{β} -Py), 8,12 (т, $J = 4,6$ Гц, 1H, H_{γ} -Py), 7,49 (д, $J = 4,5$ Гц, H_{β} -Py), 6,91 (с, 1H, - $\text{CH}=\text{N}$), 4,63 (м, 1H, CH_3 - CH - CH_2 - CH_3), 2,09 (м, 1H, CH_3 - CH - CH_2 - CH_3), 1,75 (м, 1H, CH_3 - CH - CH_2 - CH_3), 1,41 (д, 3H, $J = 5,8$ Гц, CH_3 - CH - CH_2 - CH_3), 0,76 (т, 3H, $J = 6,8$ Гц, CH_3 - CH - CH_2 - CH_3), 2,75 (с, 3H, S- CH_3).

Элементный анализ $C_{14}H_{17}N_3OS$ вычислено: С 61,06%; Н 6,22%; N 15,26%; S 11,64%; найдено: С 61,17%; Н 5,31%; N 11,35%; S 11,59%.

ИК спектр (cm^{-1}): 1760 (C=O), 1650 (C=N), 1620 (C=C).

3.3.1.3 Синтез *3-(2-метилбутил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (23)*.

В результате реакции 1 г (3,6 ммоль) 3-(2-метилбутил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **11** и 0,56 мл (4ммоль) метилиодида получили 0,75 г (72%) 3-(2-метилбутил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **23**.

$T_{пл} = 190$ °С.

Спектр ЯМР 1H (400МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 8,69 (д, J = 8,3 Гц, 1Н, H_{α} -Py), 8,53 (д, J = 4,4 Гц, 1Н, H_{β} -Py), 8,03 (т, J = 4,3 Гц, 1Н, H_{γ} -Py), 7,46 (д, J = 4,2 Гц, H_{β} -Py), 6,88 (с, 1Н, -CH=), 3,560 (м, 2Н, $\underline{CH_2}$ -CH(CH₃)CH₂CH₃), 1,94 (м, 1Н, CH₂- \underline{CH} (CH₃)CH₂CH₃), 1,31 (м, 1Н, CH₂-CH(CH₃) $\underline{CH_2}$ CH₃), 1,07 (м, 1Н, CH₂-CH(CH₃) $\underline{CH_2}$ CH₃), 0,81 (м, 6Н, CH₂-CH(CH₃)CH₂ $\underline{CH_3}$), 2,70 (с, 3Н, S-CH₃).

Элементный анализ $C_{15}H_{19}N_3OS$ вычислено: С 62,25%; Н 5,62%; N 14,52%; S 11,08%; найдено: С 62,18%; Н 5,51%; N 14,38%; S 11,19%.

ИК спектр (cm^{-1}): 1740 (C=O), 1680 (C=N), 1640 (C=C).

3.3.1.4 Синтез *3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (24)*.

В результате реакции 1 г (4 ммоль) 3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4-Н-имидазол-4-она **12** с 0,35мл (4,5 ммоль) метилилиодида получили 0,8 (80%) 3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **24**.

$T_{пл} = 185$ °С.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 8,81 (д, 1Н, J = 8,02 Гц, H_{α} -Py), 8,72 (д, 1Н, J = 4,00 Гц, H_{β} -Py), 7,80 (т, 1Н, J = 7,70 Гц, H_{γ} -Py), 7,25 (д, 1Н, J = 6,62 Гц, H_{β} -Py), 7,17 (с, 1Н, -CH=), 5,84 (ддд, 1Н, J₁ = 15,60 Гц, J₂ = 11,06 Гц, J₃ = 5,60 Гц, CH=All), 5,27 (дд, 2Н, J₁ = 13,60 Гц, J₂ = 2,50 Гц, CH₂= All), 2,77 (с, 3Н, S-CH₃).

ИК спектр (cm^{-1}): 1730 (C=O), 1650 (C=N), 1660 (C=C), 1600 (C=C).

3.3.1.5 Синтез

3-циклопропил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-

метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (25).

В результате реакции 1 г (4 ммоль) 3-циклопропил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **13** с 0,35мл (4,5 ммоль) метилиодида получили 0,75 (71%) 3-циклопропил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **25**.

$T_{пл} = 160$ °С.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,85 (д, 1Н, $J = 7,5$ Гц, H_{α} -Py), 8,73 (д, 1Н, $J = 4,90$ Гц, H_{β} -Py), 7,79 (тд, 1Н, $J_1 = 7,6$ Гц, $J_2 = 1,51$ Гц, H_{γ} -Py), 7,25 (дд, 1Н, $J_1 = 4,88$ Гц, $J_2 = 1,52$ Гц, H_{β} -Py), 6,77 (с, 1Н, $-\text{CH}=\text{N}$), 3,73 (д, 2Н, $J = 6,60$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 1,25 (м, 1Н, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0,48 (м, 2Н, $-\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0,38 (м, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 2,75 (с, 3Н, $\text{S}-\text{CH}_3$).

Элементный анализ $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}$ вычислено: С 60,21%; Н 5,05%; N 16,20%; S 12,36%; найдено: С 60,10%; Н 5,01%; N 16,28%; S 12,18%.

ИК спектр (cm^{-1}): 1730 (C=O), 1650 (C=N), 1660 (C=C), 1600 (C=C).

3.3.1.6 Синтез

3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-

метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (26).

В результате реакции 1,2 г (4,2 ммоль) 3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **14** и 0,54 мл (4,7ммоль) метилиодида получили 0,84 г (67%) 3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **26**.

$T_{пл} = 206$ °С.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,69 (д, $J = 8,3$ Гц, 1Н, H_{α} -Py), 8,53 (д, $J = 4,4$ Гц, 1Н, H_{β} -Py), 8,03 (т, $J = 4,4$ Гц, 1Н, H_{γ} -Py), 7,46 (м, 6Н, H_{β} -Py, Ph), 6,88 (с, 1Н, $-\text{CH}=\text{N}$), 2,70 (с, 3Н, $\text{S}-\text{CH}_3$).

ИК спектр (cm^{-1}): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1610 (C=C).

3.3.1.7 Синтез

3-бензил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-

метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (27).

В результате реакции 1 г (3,3ммоль) 3-бензил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **15** и 0,29 мл (3,7ммоль) метилиодида получили 0,78 г (75%) 3-бензил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **27**,

$T_{пл} = 170\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,95 (д, 1H, $J = 7,0$ Гц, H_{α} -Py), 8,91 (д, 1H, $J = 5,9$ Гц, H_{β} -Py), 8,15 (м, 1H, H_{γ} -Py), 7,71 (м, 6H, Ph + H_{β} -Py), 6,75 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{C}$), 5,10 (с, 2H, $-\text{CH}_2$ -Ph), 2,70 (с, 3H, S- CH_3).

ИК спектр (cm^{-1}): 1730 (C=O), 1650 (C=N), 1600 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{OS}$ вычислено: С 66,00%; Н 4,89%; N 13,58%; S 10,36%; найдено: С 66,10%; Н 5,01%; N 13,48%; S 10,15%.

3.3.1.8 Синтез 3-фенилэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она (28).

В результате реакции 1,2 г (4,9 ммоль) 3-фенилэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **16** и 0,43 мл (5,4 ммоль) метилиодида получили 1 г (80%) 3-фенилэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **28**.

$T_{пл} = 214\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,92 (д, 1H, $J = 7,2$ Гц, H_{α} -Py), 8,86 (д, 1H, $J = 5,8$ Гц, H_{β} -Py), 8,13 (м, 1H, H_{γ} -Py), 7,65 (м, 6H, Ph + H_{β} -Py), 6,53 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{C}$), 4,21 (т, 2H, $J = 7,5$ Гц, N- CH_2 - CH_2 -Ph), 3,12 (т, $J = 7,5$ Гц, 2H, N- CH_2 - CH_2 -Ph), 2,72 (с, 3H, S- CH_3).

ИК спектр (cm^{-1}): 1730 (C=O), 1650 (C=N), 1600 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{OS}$ вычислено: С 66,85%; Н 5,30%; N 12,99%; S 9,91%; найдено: С 66,82%; Н 5,47%; N 13,15%; S 9,98%.

3.3.1.9 Синтез 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметилен)-1H-имидазол-4H-она (29)

В результате реакции 0,5 г (1,8 ммоль) 3-азидоэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **18** и 1,345 мл (2,16 ммоль) метилиодида получили 0,22 г (42%) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметилен)-1H-имидазол-4H-она **29**.

$T_{пл} = 118\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,80 (д, 1H, $J = 8,02$ Гц, H_{α} -Py), 8,70 (д, 1H, $J = 4,70$ Гц, H_{β} -Py), 7,77 (тд, 1H, $J_1 = 7,83$ Гц, $J_2 = 1,56$ Гц, H_{γ} -Py), 7,24 (дд, 1H, $J_1 = 4,89$ Гц, $J_2 = 1,57$ Гц, H_{β} -Py), 7,17 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{C}$), 3,82 (т, 2H, $J = 6,06$ Гц $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,61 (т, 2H, $J = 6,06$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 2,80 (с, 3H, CH_3).

ИК, см⁻¹: 3417 (NH), 2114 (N₃), 1718 (C=O), 1639 (C=C).

Элементный анализ C₁₂H₁₂N₆OS вычислено: С 49,99%; Н 4,19%; N 29,15%; S 11,12%; найдено: С 49,89%; Н 4,21%; N 28,89%; S 10,87%.

3.3.1.10 Синтез 5-(Z)-3-(3-азидопропил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметилден)-1H-имидазол-4H-она (30)

Из 0,1 г (0,35 ммоль) 3-азидопропил-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **19** и 0,26 мл, (0,42 ммоль) метилиодида получили 0,051 г (49%) 5-(Z)-3-(3-азидопропил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметилден)-1H-имидазол-4H-она **30**.

T_{пл} = 92 °С.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 8,85 (д, 1H, J = 8,02 Гц, H_α-Py), 8,80 (д, 1H, J = 4,50 Гц, H_β-Py), 7,96 (т, 1H, J = 6,06 Гц, H_γ-Py), 7,41 (м, 1H, H_β'-Py), 7,21 (с, 1H, -CH=), 3,75 (т, 2H, J = 6,85 Гц, CH₂CH₂CH₂N₃), 3,42 (т, 2H, J = 6,46 Гц, CH₂CH₂CH₂N₃), 3,42 (т, 2H, J = 6,46 Гц, CH₂CH₂CH₂N₃), 2,84 (с, 3H, CH₃), 1,97 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂N₃).

ИК, см⁻¹: 3400 (NH), 2113 (N₃), 1718 (C=O, C=N), 1639 (C=C).

Элементный анализ C₁₃H₁₄N₆OS вычислено: С 51,64%; Н 4,67%; N 27,80%; S 10,61%; найдено: С 51,58%; Н 4,51%; N 27,60%; S 10,79%.

3.3.1.11 Синтез 5-(Z)-3-(пропаргил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметилден)-1H-имидазол-4H-она (31)

Из 0,15 г (0,62 ммоль) 3-пропаргил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **20** и 0,46 мл, (0,74 ммоль) получили 0,086 г (54%) 5-(Z)-3-(пропаргил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметилден)-1H-имидазол-4H-она **31**.

T_{пл} = 175 °С (с разл.).

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,96 (д, 1H, J = 7,24 Гц, H_α'-Py), 8,86 (д, 1H, J = 5,67 Гц, H_β-Py), 8,13 (м, 1H, H_γ-Py), 7,65 (м, 1H, H_β'-Py), 7,33 (с, 1H, -CH=), 4,45 (с, 2H, CH₂), 2,81 (с, 1H, ≡CH-), 2,19 (с, 3H, CH₃).

ИК, см⁻¹: 2202 (C≡C), 1720 (C=O), 1614 (C=C).

Элементный анализ C₁₃H₁₁N₃OS вычислено: С 60,70%; Н 4,28%; N 16,34%; S 12,45%; найдено: С 59,39%; Н 4,62%; N 15,63%.

3.3.2 Алкилирование соединений 9-16, 18-20 1,2-дибромэтаном

Общая методика

К смеси 3-замещенного-5-((Z)-2-пиридилметилена)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она (2 экв.) и сухого K₂CO₃ (3 экв.) в диметилформамиде при перемешивании и охлаждении до 0 °С добавили 1,2-дибромэтан (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали ночь, затем к смеси добавили 50 мл ледяной воды. Образовавшийся осадок отфильтровали и промыли водой, сушили, затем суспендировали в диэтиловом эфире, отфильтровали и высушили на воздухе.

3.3.2.1 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилена)-3-фенил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она)(32).

Из 0,3 г (1 ммоль) 2-тиоксо-3-фенил-5 ((Z)-2-пиридилметилена)-тетрагидро-4Н-имидазол-4-она **9** и 0,046 мл (0,5 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,23 г (73%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилена)-3-фенил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **32**.

T_{пл} = 259 °С.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,75 (д, 2Н, H_α-Ру, J = 7,9 Гц), 8,66 (д, 2Н, J = 4,0 Гц, H_β-Ру), 7,81 (тд, 2Н, H_γ-Ру, J₁ = 7,3 Гц, J₂ = 2,3 Гц), 7,29 (м, 4Н, H-Ph), 7,11 (тд, 2Н, H_β-Ру, J₁ = 7,5 Гц, J₂ = 1,0 Гц), 7,18 (с, 2Н, -CH=), 3,11 (т, 4Н, S-CH₂-, J = 7,5 Гц), 3,25 (с, 3Н, N-CH₃).

ИК спектр (см⁻¹): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1640 (C=C).

3.3.2.2 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилена)-3-(вторбутил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она)(33).

В результате реакции 0,2 г (0,76 ммоль) 3-(2-бутил)-5-((Z)-2-пиридилметилена)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **10** с 0,033 мл (0,14 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,25 г (61%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилена)-3-изобутил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **33**.

T_{пл} = 173 °С.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д.): 8,75 (уш.с, 2Н, H_α-Ру) 8,65 (д, 2Н, J = 7,85 Гц, H_β-Ру), 7,73 (уш. с, 2Н, H_γ-Ру), 7,26 (м, 2Н, H_β-Ру), 7,07 (с, 2Н, -CH=), 3,96 (м, 6Н, S-CH₂, CH₃CHCH₂CH₃), 1,98 (м, 4Н, CH₃CHCH₂CH₃), 1,50 (д, 6Н, J = 6,87 Гц, CH₃CHCH₂CH₃), 0,93 (т, 6Н, J = 7,13 Гц, CH₃CHCH₂CH₃).

ИК спектр (см⁻¹): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1640 (C=C).

Элементный анализ C₃₆H₃₂N₆O₂S₂·H₂O вычислено: С 59,36%; Н 6,00%; N 14,84%; S 11,3%; найдено: С 58,91%; Н 5,85%; N 14,28%; S 10,7%.

3.3.2.3 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-2-метилбутил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она)(34).

В результате реакции 0,2 г (0,76 ммоль) 3-(2-метилбутил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **11** с 0,033 мл (0,38 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,54 г (56%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-метил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **34**.

$T_{пл} = 103^{\circ}C$.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ , м.д.): 8,69 (м, 4H, H_{α} -Py + H_{β} -Py), 7,68 (м, 2H, H_{γ} -Py), 7,23 (т, 1H, $J = 7,64$ Гц, H_{β} -Py), 7,12 (с, 1H, CH=), 3,94 (с, 1H, S-CH₂), 3,49 (м, 4H, $\underline{CH_2}$ -CH(CH₃)CH₂CH₃), 1,93 (м, 2H, CH₂- \underline{CH} (CH₃)CH₂CH₃), 1,45 (м, 2H, CH₂-CH(CH₃) $\underline{CH_2}$ CH₃), 1,22 (м, 2H, CH₂-CH(CH₃) $\underline{CH_2}$ CH₃), 0,94 (м, 12H, CH₂-CH($\underline{CH_3}$)CH₂ $\underline{CH_3}$).

ИК спектр (см⁻¹): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1640 (C=C).

Элементный анализ C₃₀H₃₆N₆O₂S₂ вычислено: C 62,5%; H 6,25%; N 14,58%; найдено: C 62,40%; H 6,36%; N 14,32%.

3.3.2.4 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-аллил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она)(35).

В результате реакции 0,5 г (2 ммоль) 2-тиоксо-3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-тетрагидро-4H-имидазол-4-она **12** и 0,087 мл (1 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,46 г (92%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-аллил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **35**.

$T_{пл} = 187^{\circ}C$.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 8,65 (м, 2H, H_{α} -Py + H_{β} -Py), 7,62 (т, 1H, $J = 7,5$ Гц, H_{γ} -Py), 7,19 (м, 1H, H_{β} -Py), 7,14 (с, 1H, CH=), 7,12 (с, 1H, -CH=), 5,82 (м, 1H, CH=), 5,23 (м, 2H, CH₂=), 4,23 (м, 2H, CH₂N) 3,89 (с, 2H, S-CH₂).

ИК спектр (см⁻¹): 1720 (C=O), 1680 (C=N), 1640 (C=C).

3.3.2.5 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(циклопропил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) (36).

В результате реакции 0,2 г (0,81 ммоль) 3-(циклопропил)-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **13** с 0,035 мл (0,4 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,12 г (59%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(циклопропил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **36**.

$T_{пл} = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,67 (м, 4Н, H_{α} -Пу, H_{β} -Пу) 7,67 (т, 2Н, $J = 7,00$ Гц, H_{γ} -Пу), 7,22 (уш, с, 2Н, H_{β} -Пу), 7,08 (с, 2Н, $-\text{CH}=\text{}$), 3,87 (с, 4Н, $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}$), 2,66 (м, 2Н, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 1,04 (м, 8Н, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$).

ИК спектр (cm^{-1}): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1640 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2$ вычислено: С 60,46%; Н 4,65%; N – 16,27%; найдено: С 60,33%; Н 4,86%; N 16,12%.

3.3.2.6 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она)(37).

Из 0,3 г (1 ммоль) 2-тиоксо-3-фенил-5 ((Z)-2-пиридилметилен)-тетрагидро-4Н-имидазол-4-она **14** и 0,1 г (0,5 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,23 г (73%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **37**.

$T_{пл} = 259\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,75 (д, 2Н, H_{α} -Пу, $J = 7,9$ Гц), 8,66 (д, 2Н, H_{β} -Пу, $J = 4,0$ Гц), 7,81 (тд, 2Н, H_{γ} -Пу, $J_1 = 7,3$ Гц, $J_2 = 2,3$ Гц), 7,42 (м, 6Н, Н-Ph), 7,29 (м, 4Н, Н-Ph), 7,11 (тд, 2Н, H_{β} -Пу, $J_1 = 7,5$ Гц, $J_2 = 1,0$ Гц), 7,18 (с, 2Н, $-\text{CH}=\text{}$), 3,11 (т, 4Н, $\text{S}-\text{CH}_2-$, $J = 7,5$ Гц).

ИК спектр (cm^{-1}): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1640 (C=C).

3.3.2.7 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-бензил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она)(38).

В результате реакции 0,15 г (0,52 ммоль) 3-бензил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **15** с 0,023 мл (0,26 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,2 г (61%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-бензил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **38**.

$T_{пл} = 173\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,65 (м, 4Н, H_{α} , H_{β} -Пу) 7,57 (тд, 2Н, $J_1 = 7,64$ Гц, $J_2 = 1,67$ Гц, H_{γ} -Пу), 7,35 (м, 10Н, Ph), 7,19 (т, 2Н, $J = 4,66$ Гц, H_{β} -Пу), 7,16 (с, 2Н, $-\text{CH}=\text{}$), 4,81 (с, 4Н, $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}$), 3,83 (с, 4Н, CH_2Ph).

ИК спектр (cm^{-1}): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1640 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ вычислено: С 64,35%; Н 4,41%; N 13,24%; S 10,09%; найдено: С 64,52%; Н 4,49%; N 12,84%; S 9,59%.

3.3.2.8 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенилэтил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она)(39).

В результате реакции 0,1 г (0,28 ммоль) 3-фенилэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **16** с 0,012 мл (0,14 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,05 г (54%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенэтил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **39**.

$T_{пл} = 175\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,82 (д, 2H, $J = 8,12$ Гц, H_{α} -Py), 8,45 (д, 2H, $J = 8,0$ Гц, H_{β} -Py), 7,71 (тд, 2H, $J_1 = 8,03$ Гц, $J_2 = 1,58$ Гц, H_{γ} -Py), 7,26 (м, 8H, Ph), 7,20 (т, 2H, $J = 7,24$ Гц), 7,10 (т, 2H, $J = 6,10$ Гц, H_{β} -Py), 6,67 (с, 2H, $-\text{CH}=\text{}$), 4,02 (т, 4H, $J = 4,51$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 3,81 (с, 4H, $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}$), 2,91 (т, $J = 2,81$ Гц, 4H, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Ph}$).

ИК спектр (cm^{-1}): 1710 (C=O), 1670 (C=N), 1640 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ вычислено: С 64,38%; Н 5,21%; N 12,51%; S 9,13%; найдено: С 64,38%; Н 5,21%; N 12,51%; S 8,88% .

3.3.2.9 Синтез (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил) бис (5-(2-пиридилметилен)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) (40)

В результате реакции 0,4 г (1,5 ммоль) 3-азидоэтил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **18** в результате реакции с 0,141 г (0,75 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,411 г (48%) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил) бис (5-(2-пиридилметилен)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **40**.

$T_{пл} = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,66 (м, 4H, H_{α} , H_{β} -Py), 7,65 (тд, 2H, $J_1 = 7,63$ Гц, $J_2 = 1,76$ Гц, H_{γ} -Py), 7,21 (м, 2H, H_{β} -Py), 7,15 (с, 2H, $-\text{CH}=\text{}$), 3,95 (с, 4H, $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}$), 3,83 (т, 4H, $J = 5,87$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}_3$), 3,61 (т, 4H, $J = 5,67$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}_3$).

ИК, cm^{-1} : 2080 (N_3), 1680 (C=O), 1630 (C=C), 1600 (C=N).

Элементный анализ $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_{12}\text{O}_2\text{S}_2$ вычислено: С 50,16%; Н 3,86%; N 29,25%; S 11,16%; найдено: С 50,37%; Н 3,90%; N 29,07%; S 11,23% .

3.3.2.10 Синтез (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(азидопропил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) (41)

Из 0,175 г (0,6 ммоль) 3-азидопропил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **19** в результате реакции с 0,056 г (0,3 ммоль) 1,2-дибромэтана получили 0,184 г (51%) (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(азидопропил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **41**.

$T_{пл} = 145\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,77 (д, 2H, $J = 5,48$, $\text{H}_{\alpha'}$ -Py), 8,66 (д, 2H, $J = 8,02$, H_{β} -Py), 7,80 (т, 2H, $J = 6,46$ Гц, H_{γ} -Py), 7,32 (т, 2H, $J = 5,38$ Гц, $\text{H}_{\beta'}$ -Py), 7,15 (с, 2H, -CH=), 4,02 (с, 4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 3,75 (т, 4H, $J = 6,85$ Гц, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,43 (т, 4H, $J = 6,26$ Гц, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 1,97 (м, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$).

ИК, cm^{-1} : 2092 (N_3), 1730 (C=O, C=N), 1660 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_{12}\text{O}_2\text{S}_2$ вычислено: С 51,81%; Н 4,35%; N 27,89%; S 10,64%; найдено: С 51,48%; Н 4,35%; N 27,75%; S 10,34%.

3.3.2.11 Синтез (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(пропаргил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) (42)

Из 0,08 г (0,33 ммоль) 3-пропаргил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **20** в результате реакции с 0,031 г (0,165 ммоль) 1,2- получили 0,09 г (53%) (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(пропаргил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **42**.

$T_{пл} = 170\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,66 (м, 4H, $\text{H}_{\alpha'}$, H_{β} -Py), 7,67 (т, 2H, $J = 8,02$ H_{γ} -Py), 7,23 (т, 2H, $J = 6,26$ Гц, $\text{H}_{\beta'}$ -Py), 7,15 (с, 2H, -CH=), 4,44 (с, 4H, N-CH₂C≡CH), 3,96 (с, 4H, S-CH₂CH₂-S), 2,37 (с, 2H, N-CH₂C≡CH).

ИК, cm^{-1} : 3320 (CH≡C), 1630 (C=N), 1600 (C=C).

3.4 Получение производных 3-замещенных 5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-аминоимидазолин-4-онов

3.4.1 Получение 3-замещенных-5-(Z)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-онов из 3-замещенных-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-онов и морфолина

Общая методика:

К навеске 3-замещенного-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-метилтиоимидазолин-4-она добавили минимальное количество морфолина (до растворения исходного вещества) и 10% мольных трифлата иттербия. Раствор кипятили до израсходования исходного

соединения (контроль ТСХ). Затем реакционную смесь концентрировали, и к полученному маслу добавили 1 мл этанола. После охлаждения выпавший осадок отфильтровывали. Продукты реакции выделили методом колоночной хроматографии ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1).

3.4.1.1 Синтез 5-(Z)-3-(фенил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она(43).

В результате реакции 0,207 г (0,7 ммоль) 3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **26** с морфолином получили 0,118 г (50%) 5-(Z)-3-(фенил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **43**.

$T_{\text{пл}} = 223$ °C.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,78 (с, 1H, $\text{H}_{\alpha'}$ -Py), 8,64 (д, 1H, $J = 8,80$ Гц, H_{β} -Py), 7,80 (т, 1H, $J = 8,00$ Гц, H_{γ} -Py), 7,56-7,42 (м, 5H, H-Ph), 7,23 (т, 1H, $J = 6,40$ Гц, H_{β} -Py), 7,00 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{}$), 3,90 (с, 4H, CH_2OCH_2), 3,70 (м, 4H, CH_2NCH_2).

ИК спектр (cm^{-1}): 1730 (C=O), 1630 (C=N), 1590 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ вычислено: C 68,26%; H 5,38%; N 16,76%; найдено: C 68,30 %; H 5,49%; N 16,48%.

3.4.1.2 Синтез 5-(Z)-3-(метил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она(44).

В результате реакции 0,2 г (0,86 ммоль) 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **21** с морфолином получили 0,150 г (64%) 5-(Z)-3-(метил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **44**.

$T_{\text{пл}} = 155$ °C.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,82 (с, 1H, $\text{H}_{\alpha'}$ -Py), 8,58 (д, 1H, $J = 7,20$ Гц, H_{β} -Py), 7,80 (т, 1H, $J = 6,40$ Гц, H_{γ} -Py), 7,23 (т, 1H, $J = 5,21$ Гц, H_{β} -Py), 6,93 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{}$), 3,89 (с, 4H, CH_2OCH_2), 3,73 (с, 4H, CH_2NCH_2), 3,30 (с, 3H, N- CH_3).

ИК спектр (cm^{-1}): 1720 (C=O), 1640 (C=N), 1600 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2$ вычислено: C 61,76%; H 5,88%; N 20,59%; найдено: C 61,65 %; H 5,86%; N 20,64%.

3.4.1.3 Синтез 5-(Z)-3-(аллил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она(45).

В результате реакции 0,133 г (0,52 ммоль) 3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **24** с морфолином получили 0,11 г (71%) 5-(Z)-3-(аллил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **45**.

$T_{пл} = 148\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,82 (с, 1Н, H_{α} -Py), 8,57 (с, 1Н, H_{β} -Py), 7,80 (с, 1Н, H_{γ} -Py), 7,22 (с, 1Н, H_{β} -Py), 6,94 (с, 1Н, $-\text{CH}=\text{}$), 5,93 (м, 1Н, $\text{CH}=\text{All}$), 5,27 (м, 2Н, $\text{CH}_2=\text{All}$), 4,34 (м, 2Н, $\text{CH}_2\text{ All}$), 3,86 (м, 4Н, CH_2OCH_2), 3,73 (с, 4Н, CH_2NCH_2).

ИК спектр (cm^{-1}): 1740 (C=O), 1630 (C=N), 1660 (C=C), 1600 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ вычислено: С 64,43%; Н 6,04%; N 18,79%; найдено: С 64,11%; Н 6,08%; N 18,61%.

3.4.1.4 Синтез 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она (46).

В результате реакции 0,11 г (0,39 ммоль) 3-(2-азидоэтил)-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **29** с морфолином получили 0,0574 г (46%) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **46**.

$T_{пл} = 160\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,67 (д, 1Н, $J = 8,00$ Гц, H_{α} -Py), 8,64 (дт, 1Н, $J_1 = 4,80$ Гц, $J_2 = 0,81$ Гц, H_{β} -Py), 7,72 (тд, 1Н, $J_1 = 7,91$ Гц, $J_2 = 1,82$ Гц, H_{γ} -Py), 7,18-7,14 (м, 1Н, H_{β} -Py), 6,99 (с, 1Н, $-\text{CH}=\text{}$), 3,91-3,85 (м, 4Н, CH_2OCH_2), 3,81 (дд, 2Н, $J_1 = 9,13$ Гц, $J_2 = 3,2$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,73 (т, 2Н, $J = 5,70$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,66-3,61 (м, 4Н, CH_2NCH_2).

ИК, cm^{-1} : 2114 (N_3), 1718 (C=O), 1639 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2$ вычислено: С 55,04%; Н 5,23%; N 29,95%; найдено: С 54,90%; Н 5,28%; N 29,91%.

3.4.2 Получение 3-замещенных-5-(Z)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-онов из 3-замещенных-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов и пиперидина

Общая методика:

К 3-замещенному-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилтиоимидазолин-4-ону добавили пиперидин (3-4 мл) и 10 мольных % трифлата иттербия. Кипятили до

исчезновения исходного реагента (контроль по ТСХ). Реакционную смесь упарили досуха и добавили диэтиловый эфир. Образовавшийся осадок отфильтровали. Продукты реакции выделили методом колоночной хроматографии (CH₂Cl₂/MeOH 10:1).

3.4.2.1 Синтез 5-(Z)-3-(фенил) - 2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (47).

В результате реакции 0,2 г (0,86 ммоль) 3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **26** с пиперидином получили 0,202 г (71%) 5-(Z)-3-(фенил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **47**.

$T_{пл} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,68 (д, 2H, J = 7,91 Гц, H_α + H_β-Py), 7,77 (т, 1H, J = 8,20 Гц, H_γ-Py), 7,53-7,47 (м, 5H, H-Ph), 7,16 (т, 1H, J = 6,00 Гц, H_β-Py), 6,94 (с, 1H, -CH=), 3,39 (с, 4H, CH₂NCH₂), 1,66-1,50 (м, 6H, CH₂CH₂NCH₂CH₂CH₂)

ИК, см⁻¹: 1760 (C=O), 1700 (C=O), 1670 (C=C).

Элементный анализ C₂₀H₂₀N₄O₂ вычислено: C 72,29%; H 6,02%; N 16,87%; найдено: C 72,61 %; H 6,22%; N 16,75%.

3.4.2.2 Синтез 5-(Z)-3-(метил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (48).

В результате реакции 0,2 г (0,91 ммоль) 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **21** с пиперидином получили 0,190 г (82%) 5-(Z)-3-(метил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **48**.

$T_{пл} = 140\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,70 (д, 1H, J = 8 Гц, H_α -Py), 8,65 (д, 1H, J = 4,40 H_β-Py), 7,73 (тд, 1H, J₁ = 7,61 Гц, J₂ = 1,62 Гц, H_γ-Py), 7,14 (м, 1H, H_β-Py), 6,91 (с, 1H, -CH=), 3,6 (с, 4H, CH₂NCH₂), 3,28 (с, 3H, -CH₃), 1,76 (м, 6H, CH₂CH₂NCH₂CH₂CH₂).

ИК спектр (см⁻¹): 1715 (C=O), 1627 (C=N), 1589 (C=C).

Элементный анализ C₁₅H₁₈N₄O₂ вычислено: C 66,67%; H 6,67%; N 20,74%; найдено: C 66,68 %; H 6,89%; N 20,48%.

3.4.2.3 Синтез 5-(Z)-3-(аллил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (49).

В результате реакции 0,134 г (0,52 ммоль) 3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **24** с пиперидином получили 0,154 г (61%) 5-(Z)-3-(аллил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **49**.

$T_{пл} = 172\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,79 (с, 1Н, H_{α} -Py), 8,64 (с, 1Н, H_{β} -Py), 7,80 (с, 1Н, H_{γ} -Py), 7,20 (с, 1Н, H_{β} -Py), 6,88 (с, 1Н, $-\text{CH}=\text{}$), 5,94 (м, 1Н, $\text{CH}=\text{All}$), 5,26 (м, 2Н, $\text{CH}_2=\text{All}$), 4,31 (с, 2Н, $-\text{CH}_2-\text{All}$), 3,65 (с, 4Н, CH_2NCH_2), 1,75 (с, 6Н, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

ИК спектр (cm^{-1}): 1740 (C=O), 1625 (C=N), 1649 (C=C), 1598 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2$ вычислено: С 68,92%; Н 6,76%; N 18,92%; найдено: С 68,55 %; Н 6,70%; N 18,79%.

3.4.2.4 Синтез 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она(50).

В результате реакции 0,05 г (0,17 ммоль) 3-(2-азидоэтил)-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **29** с пиперидином получили 0,0325 г (57,6%) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **50**.

$T_{пл} = 180\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,71 (дт, 1Н, $J_1 = 8,10$ Гц, $J_2 = 0,91$ Гц, H_{α} -Py), 8,62 (д, 1Н, $J = 4,80$ Гц H_{β} -Py), 7,71 (тд, 1Н, $J_1 = 7,80$ Гц, $J_2 = 1,82$ Гц, H_{γ} -Py), 7,13 (ддд, 1Н, $J_1 = 7,40$ Гц, $J_2 = 4,82$ Гц, $J_3 = 1,12$ Гц H_{β} -Py), 6,92 (с, 1Н, $-\text{CH}=\text{}$), 3,80 (т, 2Н, $J = 6,40$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,69 (т, 2Н, $J = 6,20$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,55 (д, 4Н, $J = 5,60$ Гц CH_2NCH_2), 1,76 (с, 6Н, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

ИК, cm^{-1} : 2104 (N_3), 1720 (C=O), 1620 (C=C).

Элементный анализ $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}$ вычислено: С 59,06%; Н 5,89%; N 30,13%; найдено: С 59,36%; Н 5,99%; N 29,81%.

3.4.3 Получение 3-замещенных-5-(Z)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилден)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-онов из 3-замещенных-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-метилмеркаптотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов и пиперазина при использовании MW-излучения.

Общая методика:

Смесь 1 экв. 3-замещенного-5-((Z)-2-пиридилметилена)-2-метилтиоимидазол-4-она и 5 экв. пиперазина растворили в минимальном количестве хлороформа. Затем раствор упарили досуха. Твердый остаток соскоблили поместили в тюрбик. Сухую массу облучали в микроволновой печи с мощностью 600W интервалами по 30 секунд до израсходования исходного реагента (контроль: ТСХ). К полученной массе добавили 1-1,5 мл этанола и перемешивали. Образовавшийся осадок отфильтровали. Продукт очистили с помощью колоночной хроматографии (CH₂Cl₂/ MeOH 20:1).

3.4.3.1 Синтез 5-(Z)-3-(метил)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилена)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (51).

В результате реакции 0,74 г (3,17 ммоль) 3-метил-5-((Z)-2-пиридилметилена)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **21** с 1,37 г (15,90 ммоль) пиперазина получили 0,43 г (50%) 5-(Z)-3-(метил)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилена)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **51**.

$T_{пл} = 154\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,69 (д, 1H, J = 8,10 Гц H_α, -Py), 8,64 (д, 1H, J = 4,82 Гц, H_β-Py), 7,72 (т, 1H, J = 7,60 Гц, H_γ-Py), 7,18-7,12 (м, 1H, H_β, -Py), 6,96 (с, 1H, -CH=), 3,63 (т, 4H, J = 5,00 Гц, CH₂NCH₂), 3,29 (с, 3H, - CH₃), 3,11-2,95 (м, 4H, CH₂NHCH₂), 1,90 (уш, с, 1H, NH).

ИК, см⁻¹: 3400 (NH), 1755 (C=O), 1700 (C=N)1639 (C=C).

Элементный анализ C₁₄H₁₇N₅O вычислено: C 61,98%; H 6,32%; N 25,81%; найдено: 61,93%; H 6,32%; N 25,88%.

3.4.3.2 Синтез 5-(Z)-3-(аллил)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилена)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (52).

В результате реакции 0,4 г (1,54 ммоль) 3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилена)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **24** с 0,66 г (7,67 ммоль) пиперазина получили 0,23 г (50%) 5-(Z)-3-(аллил)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилена)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **52**.

$T_{пл} = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,69 (д, 1H, J = 8,30 Гц H_α, -Py), 8,65 (д, 1H, J = 3,21 Гц, H_β-Py), 7,72 (т, 1H, J = 7,91 Гц, H_γ-Py), 7,16 (т, 1H, J = 6,00 Гц H_β, -Py),

6,96 (с, 1H, -CH=), 5,98-5,88 (м, 1H, CH=CH₂), 5,26 (м, 2H CH=CH₂), 4,31 (с, 2H, CH₂ – CH=CH₂), 3,65 (м, 4H, CH₂NCH₂), 3,05 (м, 4H, CH₂NHCH₂), 2,24 (уш. с, 1H, NH).

ИК, см⁻¹: 3380 (NH), 1720 (C=O), 1700 (C=N) 1642 (C=C).

Элементный анализ C₁₆H₁₉N₅O вычислено: С 64,65%; Н 6,40%; N 23,57%;
найденно:С 64,52%; Н 6,30%; N 23,41%.

3.4.3.3 Синтез 5-(Z)-3-(фенил)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (53).

В результате реакции 0,2 г (0,68 ммоль) 3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **26** с 0,29 г (3,37 ммоль) пиперазина получили 0,147 г (65%) 5-(Z)-3-(фенил)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **53**.

T_{пл} = 218 °С.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,69 (д, 2H, J = 7,20 Гц, H_α, H_β-Py), 7,76 (т, 1H, J = 8,00 Гц, H_γ-Py), 7,56-7,32 (м, 5H, H-Ph), 7,19 (т, 1H, J = 6,00 Гц, H_β-Py), 7,04 (с, 1H, -CH=), 3,57-3,51 (м, 4H, CH₂NCH₂), 3,00 (т, 4H, J = 4,80 Гц, CH₂NHCH₂), 1,95 (уш. с, 1H, NH).

ИК, см⁻¹: 3390 (NH), 1715 (C=O, C=N), 1642 (C=C).

Элементный анализ C₁₉H₁₉N₅O вычислено: С 68,47%; Н 5,71%; N 21,02%;
найденно:С 68,59%; Н 5,68%; N 20,76%.

3.4.3.4 Синтез 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она (54).

В результате реакции 0,035 г (0,122 ммоль) 3-(2-азидоэтил)-5-((Z)-2-пиридилметил)-2-метилмеркаптотетрагидро-4H-имидазол-4-она **29** с 0,053 г (0,612 ммоль) пиперазина получили 0,019 г (48%) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил) - 2-(пиперазин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **54**.

T_{пл} = 176 °С.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,70-8,65 (м, H_α, H_β-Py), 7,73 (дд, 1H, J₁ = 8,61 Гц, J₂ = 2,00 Гц, H_γ-Py), 7,20-7,16 (м, 1H, H_β-Py), 7,01 (с, 1H, -CH=), 3,83-3,78 (м, 2H, CH₂CH₂N₃), 3,78-3,75 (м, 2H, CH₂CH₂N₃), 3,74-3,70 (м, 4H, CH₂NCH₂), 3,18 (т, 4H, J = 5,05 Гц, CH₂NHCH₂), 2,05 (уш. с, 1H, NH).

ИК, см⁻¹: 3417 (NH), 2114 (N₃), 1718 (C=O), 1639 (C=C).

Элементный анализ C₁₅H₁₈N₈O вычислено: С 55,20%; Н 5,23%; N 29,95%; найдено: С 65,39%; Н 5,38%; N 29,76%.

3.5 Алкилирование 3-замещенных-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов тетраацетатом 1-бром-α-D-глюкозы

Общая методика

К взвеси 3-замещенного 5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она в безводном ацетонитриле в атмосфере аргона добавили 1 экв. гидрида натрия (60% суспензия в минеральном масле) и перемешивали 5 минут до образования прозрачного раствора. Затем добавили 1,1 экв. тетраацетата 1-бром-α-D-глюкозы и перемешивали ночь. Растворитель упарили при пониженном давлении, полученное вещество очищали колоночной хроматографией (петролейный эфир:этилацетат 2:3).

3.5.1.1 Синтез (Z)-2-(ацетоксиметил)-6-(1-аллил-5-оксо-4-(пиридин-2-илметилен)-4,5-дигидро-1Н-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2Н-пиран-3,4,5-триил триацетата (55)

В результате реакции 0,2 г (0,82 ммоль) 3-аллил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **12** в результате реакции с 0,37 г (0,9 ммоль) тетраацетата 1-бром-α-D-глюкозы и 0,033 г (0,82 ммоль) 60%-ного гидрида натрия в минеральном масле в 30 мл ацетонитрила получили 0,2 г (42%) (Z)-2-(ацетоксиметил)-6-(1-аллил-5-оксо-4-(пиридин-2-илметилен)-4,5-дигидро-1Н-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2Н-пиран-3,4,5-триил триацетата **55**.

T_{пл} = 125 °С (с разл.)

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,69 (м, J = 7,24 Гц, 2H, H_α, H_β-Py), 7,83 (м, 1H, Гц, H_γ-Py), 7,28 (д, 1H, J = 4,11 Гц, H_β-Py), 7,18 (с, 1H, -CH=), 5,80 (д, 1H, J = 10,76 Гц, H1), 5,74 (м, 1H, CH₂CH=CH₂), 5,42 (т, 1H, J = 9,29 Гц, H3) 5,30 (т, 1H, J = 9,29 Гц, H2), 5,22 (т, 2H, J = 9,78 Гц, CH₂CH=CH₂), 5,10 (т, 1H, J = 9,78, H4), 4,15 (м, 3H, H6, H3), 2,03 (т, 12H, J = 7,83 Гц, COCH₃).

ИК, см⁻¹: 1760 (C=O), 1740 (C=O), 1670 (C=C, C=N)

Масс – спектр (m/z): 576 (M⁺).

3.5.1.2 Синтез *(Z)*-2-(ацетоксиметил)-6-(5-оксо-1-фенил-4-(пиридин-2-илметилен)-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (56)

В результате реакции 0,2 г (0,71 ммоль) 3-фенил-5-((*Z*)-2-пиридилметилен)-2-тиоксотетрагидро-4H-имидазол-4-она **14** в результате реакции с 0,322 г (0,78 ммоль) тетраацетата 1-бром- α -D-глюкозы и 0,028 г (0,71 ммоль) 60%-ного гидрида натрия в минеральном масле в 30 мл ацетонитрила получили 0,192 г (44%) (*Z*)-2-(ацетоксиметил)-6-(5-оксо-1-фенил-4-(пиридин-2-илметилен)-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата **56**.

$T_{пл} = 185\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

ИК, см^{-1} : 1750 (C=O), 1660 (C=N, C=O, C=C).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,77 (м, 2H, $\text{H}_{\alpha'}$, H_{β} -Py), 7,88 (т, 1H, $J = 7,70$ Гц, H_{γ} -Py), 7,49 (м, 3H, H_2H_6 -Ph, H_{β} -Py), 7,31 (м, 4H, H_3 H_4 H_5 -Ph, $-\text{C}\underline{\text{H}}=$), 5,87 (д, 1H, $J = 10,64$ Гц, H1), 5,44 (т, 1H, $J = 9,29$ Гц, H3), 5,29 (т, 1H, $J = 10,15$ Гц, H2) 5,13 (т, 1H, $J = 9,90$ Гц, H4), 4,20 (м, 2H, H6), 3,96 (м, 1H, H5), 2,09 (с, 4H, $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 2,04 (с, 8H, $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$).

Масс – спектр (m/z): 612 (M^+)

3.6 Click– реакции полученных производных 2-тиогидантоинов

3.6.1 Синтез исходных соединений

3.6.1.1 Синтез (2-ацетоксиметил)-6-азидотетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (57)

К раствору тетраацетата 1-бром- α -D-глюкозы (2 г, 4,9 ммоль) в 30 мл ДМФА под аргоном добавили азид натрия (0,39 г, 6 ммоль) и карбонат калия (0,67 г, 4,9 ммоль), Смесь выдержали 4 часа в ультразвуковой бане, затем экстрагировали хлористым метиленом (3x30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и упарили растворитель, получили 1,77 г (97%) (*5Z*, *5'Z*)-2.2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)-бис-(5-(2-пиридилметилен)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **57**.

$T_{пл} = 97\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 5,24 (т, 1H, $J = 9,54$ Гц), 5,13 (т, 1H, $J = 9,54$ Гц), 4,98 (т, 1H, $J = 8,80$ Гц), 4,67 (д, 1H, $J = 8,80$), 4,30 (дд, 1H, $J_1 = 4,89$ Гц, $J_2 = 8,47$ Гц), 3,82 (м, 1H), 2,11 (д, $J = 10,03$ Гц, 6H, $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 2,04 (д, 6H, $J = 8,56$ Гц, $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$).

ИК, см^{-1} : 2120 (N_3), 1777 (C=O), 1760 (C=O)

3.6.1.2 Синтез (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(ацетоксиметил)-6-(проп-2-ил-1-илокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата(58)[195]

К раствору пентаацетилглюкозы (5 г, 12,8 ммоль) в 100 мл CH_2Cl_2 при охлаждении, в атмосфере аргона, прибавили (0,897 мл, 15,4 ммоль) пропаргилового спирта. Затем, по каплям, прибавили эфират трехфтористого бора (2,41 мл, 19,2 ммоль). Смесь нагрели до комнатной температуры, перемешивали в течении 18 часов. По окончании реакции, к реакционной смеси добавили поташ (2 г), перемешивали 30 минут. После фильтрации, реакционную смесь промыли водой (2*30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, и упарили на роторном испарителе. Полученный продукт очищали колоночной хроматографией (CH_2Cl_2 :MeOH 12:1). Получили прозрачное масло - (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(ацетоксиметил)-6-(проп-2-ил-1-илокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетат (2,5 г, 6,2 ммоль, 50%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 5,25 (1H, дд, J = 9,6, 9,4 Hz, H3), 5,11 (1H, м, H4), 5,02 (1H, дд, J = 9,4, 8,0 Hz, H2), 4,78 (1H, д, J = 8,0 Hz, H1), 4,37 (2H, д, J = 2,4 Hz, - CH_2CCH), 4,28 (1H, дд, J = 12,3, 4,6 Hz, H6), 4,15 (1H, дд, J = 12,3, 2,4 Hz, H6), 3,74 (1H, ддд, J = 9,7, 4,6, 2,4 Hz, H5), 2,48 (1H, т, J = 2,4 Hz, -CCH), 2,09 (3H, с, -OAc), 2,06 (3H, с, -OAc), 2,03 (3H, с, -OAc), 2,01 (3H, с, -OAc).

3.6.2 Общая методика синтеза 5-ацетамидо-2-(ацетоксиметил)-6-(проп-2-илокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4-диил-диацетатных производных моносахаридов.

К раствору 3 г ацилированного 2-аминозамещенного моносахарида в 50 мл дихлорэтана добавили 1,5 мл триметилсилилтрифлата (1,1 экв.), Реакционную смесь оставили на ночь при 50 °С и перемешивании, После охлаждения к смеси прикапали 1,4 мл триэтиламина (1,1 экв), После перемешивания в течении 20 минут смесь нанесли на стеклянный фильтр со слоем силикагеля (около 1 см) и промыли 0,5 л хлористого метилена (для удаления примесей) и 0,5 л этилацетата. Этилацетатную фракцию упарили на роторном испарителе, и полученный оксазолин использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Оксазолин растворили в 50 мл дихлорэтана и добавили 2,4 мл пропаргилового спирта (4,5 экв,) и предварительно прокаленные в печи молекулярные сита 4Å и перемешивали 30 минут. Затем прикапали 0,5 мл триметилсилилтрифлата и смесь перемешивали 3 дня при комнатной температуре. После этого смесь нейтрализовали 0,5 мл триэтиламина (1,3 экв.) и сконцентрировали на роторном испарителе. Полученный

остаток растворили в дихлорметане и нанесли на стеклянный фильтр со слоем силикагеля (около 6 см), после чего последовательно промыли:

- 1) 1 л дихлорметана и 1 л смеси этилацетат:петролейный эфир 1:1
- 2) 1 л этилацетата

Этилацетат отогнали на роторном испарителе, полученные производные использовали без дополнительно очистки.

3.6.2.1 Синтез (2R,3S,4R,5R,6R)-5-ацетамидо-2-(ацетоксиметил)-2-метил-6-(проп-2-ин-1-илокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4-диил диацетата (59)

В результате реакции 1 г N-ацетил-β-D-глюкозамина и 0,8 мл пропаргилового спирта получили 0,85 г (77%) соединения **59** в виде белых кристаллов.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 5,64 (д, 1H, J = 8,61 Гц, NH), 5,29 (т, 1H, J = 9,78 Гц, H₃), 5,10 (т, 1H, J = 9,78 Гц, H₄), 4,87 (д, 1H, J = 8,22 Гц, H₂), 4,39 (м, 2H, H_{6a,b}), 4,28 (м, 1H, H₁), 4,15-3,97 (м, 2H, CH₂C=), 3,74 (м, 1H, H₅), 2,5 (м, 1H, ≡CH), 2,23-1,94 (м, 12H, COCH₃).

3.6.2.2 Синтез (2R,3R,4R,5R,6R)-5-ацетамидо-2-(ацетоксиметил)-2-метил-6-(проп-2-ин-1-илокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4-диил диацетата (60)

В результате реакции 1 г N-ацетил-β-D-галактозамина и 0,8 мл пропаргилового спирта получили 0,84 г (76%) соединения **60** в виде белых кристаллов.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 5,73 (уш с, 1H, NH), 5,36 (д, 1H, J = 3,26 Гц, H₃), 5,29 (дд, 1H, J₁ = 3,26 Гц, J₂ = 11,31 Гц, H₄), 4,87 (д, 1H, J = 8,43 Гц, H₂), 4,37 (т, J = 1,53 Гц, 2H, H_{6a,b}), 4,17-4,06 (м, 2H, CH₂C=), 4,00 (м, 1H, H₁), 3,93 (т, 1H, J = 7,67 Гц, H₅), 2,45 (т, 1H, J = 2,49 Гц, ≡CH), 2,13 (с, 3H, COCH₃), 2,01 (м, 9H, COCH₃).

Масс – спектр (m/z): 386 (M⁺).

Синтез пропаргилового эфира биотина (проп-2-инил 5-(2-оксогексагидро-1H-тиено[3.4-d] имидазол-4-ил)пентаноата) (61) [196]

К раствору 0,5 г (2 ммоль) биотина в 45 мл ДМФА добавили 0,42 г (3 ммоль) карбоната калия и 0,26 г (2,2 ммоль, 80% р-р в толуоле) пропаргилбромид и перемешивали ночь. Затем реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (3x40 мл), органические слои объединили и сушили над безводным сульфатом натрия, затем растворитель упарили, сухой остаток очистили на колонке с силикагелем (MeOH:CH₂Cl₂

1:10) и получили 0,370 г (66%) (проп-2-инил 5-(2-оксогексагидро-1H-тиено[3.4-d]имидазол-4-ил)пентаноата) **61** в виде белого порошка.

$T_{пл} = 88\text{ }^{\circ}\text{C}$

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 6,43 (уш.с, 1H, NH_b); 6,36 (уш.с, 1H, NH_a), 4,7 (д, 2H, $J = 2,35$ Гц, $\text{CH}_2\text{-C}\equiv\text{N}$), 4,30 (м, 1H H_c), 4,13 (м, 1H H_d), 3,54 (т, 1H, $J = 2,35$ Гц, $\text{CH}_2\text{-C}\equiv\text{N}$), 3,33 (м, 1H, H_f), 3,10 (м, 1H, H_e), 2,82 (дд, 1H, $J_1 = 12,49$ Гц, $J_2 = 5,09$ Гц, H_e), 2,34 (т, 2H, $J = 7,53$ Гц, H_j), 1,66-1,46 (м, 4H, $\text{H}_{g,i}$), 1,38-1,30 (м, 2H, H_h).

3.6.3 Введение полученных лигандов в click-реакции

Общая методика click-реакций

К раствору алкина в смеси ТГФ/ H_2O 1:1 в атмосфере аргона при перемешивании добавили 10 мольных % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и 20 мольных % аскорбата натрия, предварительно растворенных в воде. Затем добавили азид, предварительно растворенный в ТГФ и перемешивали в течении 2-3 дней (контроль по ТСХ). Затем к реакционной смеси добавили 50% объема хлористого метилена, промыли последовательно насыщенным водным раствором ЭДТА, водой, насыщенным раствором NaCl в воде, сушили над безводным сульфатом натрия, упарили растворитель и очищали продукт колоночной хроматографией (CH_2Cl_2 : MeOH : 12:1).

3.6.3.1 Синтез (2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)-2-(4-(((Z)-2-(метилтио)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)тетрагидро-2H-пиран-3-ил ацетата (62)

К 0,081 г (0,37 ммоль) 5-(Z)-3-(пропаргил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметил)-1H-имидазол-4H-она (**4**) в 8 мл смеси ТГФ/ H_2O , в атмосфере аргона добавили 0,009 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ растворенного в 1 мл воды, затем 0,015 г аскорбата натрия (также в 1 мл H_2O) и 0,139 г азидного производного N-ацетил- β -D-глюкозы **57** в 2 мл ТГФ. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,061 г (21%) продукта **62** в виде желтых кристаллов.

$T_{пл} = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,73 (д, 1H, $J = 7,83$ Гц, H_{α} -Py), 8,62 (м, 1H, H_{β} -Py), 7,81 (с, 1H, триаз.), 7,71 (т, 1H, $J = 7,63$ Гц, H_{γ} -Py), 7,17 (м, 1H, H_{β} -Py), 7,08 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{N}$), 5,82 (с, 1H, Glu), 5,37 (м, 2H, Glu), 5,26 (с, 1H, Glu), 5,19 (м, 1H, Glu), 4,89 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}_3$), 4,24 (м, 2H, N-CH_2), 2,69 (с, 3H, SCH_3), 2,00 (м, 9H, COCH_3), 1,81 (с, 3H, COCH_3)

ИК спектр (см⁻¹): 1780 (C=O), 1600 (C=N), 1670 (C=C).

Масс – спектр (m/z): 631 (M⁺).

3.6.3.2 Синтез (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(ацетоксиметил)-6-((1-(2-((Z)-2-(метилтио)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)этил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (63)

К раствору 0,267 г (0,69 ммоль) пропаргилового эфира β-D-глюкозы **58** в 10 мл смеси ТГФ/Н₂O (1:1) добавили 0,017 г CuSO₄·5H₂O, растворенного в 1 мл воды, затем 0,028 г аскорбата натрия (также в 1 мл Н₂O), после чего при перемешивании в атмосфере аргона добавили 0,02 г (0,69 ммоль) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметил)-1H-имидазол-4H-она (**5**), растворенного в 2 мл ТГФ. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,052 г (11%) продукта **63** в виде желтых кристаллов.

T_{пл} = 95 °C (с разл.)

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8,56 (д, 1H, J = 4,11 Гц, H_α-Py), 7,73 (с, 1H, триаз.), 7,67 (т, 1H, J = 7,83 Гц, H_β-Py), 7,42 (д, 1H, J = 8,02 Гц, H_γ-Py), 7,17 (м, 1H, H_β-Py), 6,63 (с, 1H, -CH=), 5,24 (т, 1H, J = 9,39 Гц, Glu), 5,04 (м, 3H, Glu), 4,82 (м, 3H, Glu), 4,09 (м, 2H, Glu), 3,91 (м, 2H, N-CH₂), 3,66 (м, 2H, CH₂N₃), 2,78 (с, 3H, SCH₃), 2,0 (м, 12H, COCH₃).

ИК спектр (см⁻¹): 1770 (C=O), 1650 (C=N), 1630 (C=C).

Масс – спектр (m/z): 675 (M⁺).

3.6.3.3 Синтез (2R,3S,4R,5R,6S)-5-ацетидамо-2-(ацетоксиметил)-6-((1-(2-((Z)-2-(метилтио)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)этил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4-диил диацетата (64)

К 0,5 г (1,3 ммоль) пропаргилового эфира N-ацетил-β-D-глюкозамина **59** предварительно растворенного в 15 мл смеси ТГФ/Н₂O, добавили 0,032 г CuSO₄·5H₂O растворенного в 1 мл воды, затем 0,05 г аскорбата натрия (также в 1 мл Н₂O), после чего при перемешивании в атмосфере аргона добавили 0,393 г (0,685 ммоль) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметил)-1H-имидазол-4H-она. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,043 г (5 %) продукта **64** в виде желтых кристаллов.

T_{пл} = 112 °C (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,60 (м, 4H, H_α -Py), 7,76 (м, 1H, H_β -Py) 7,67 (м, 1H, H_γ -Py), 7,63 (с, 1H, триаз.), 7,18 (м, 2H, H_β -Py), 7,08 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{}$), 7,01 (с, 1H, Glu), 6,2 (м, 1H, Glu), 5,34 (м, 1H, Glu), 5,0-4,5 (м, 4H, Glu), 4,25-4,07 (м, 2H, Glu), 4,03-3,68 (м, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ +Glu), 3,57 (м, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 2,81 (с, 3H, SCH_3), 2,0 (м, 12H, COCH_3).

ИК спектр (cm^{-1}): 1760 (C=O), 1600 (C=N), 1635 (C=C).

Масс – спектр (m/z): 674 (M^+).

3.6.3.4 Синтез (2R,3R,4R,5R,6R)-5-ацетамидо-2-(ацетоксиметил)-6-((1-(2-((Z)-2-(метилтио)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)этил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4-диил диацетата (65)

К 0,5 г (1,3 ммоль) пропаргилового эфира N-ацетил- β -D-галактозамина **60**, предварительно растворенного в 15 мл смеси ТГФ/ H_2O , добавили 0,0325 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ растворенного в 1 мл воды, затем 0,051 г аскорбата натрия (также в 1 мл H_2O), после чего при перемешивании в атмосфере аргона добавили 0,373 г (1,3 ммоль) соединения **65**. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,073 г (9%) соединения **65** в виде желтых кристаллов.

$T_{\text{пл}} = 117$ °C (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,75 (д, 1H, $J = 7,83$ Гц, H_α -Py), 8,69 (д, 1H, $J = 4,4$ Гц, H_β -Py), 7,81 (т, 1H, $J = 5,38$ Гц, H_γ -Py), 7,63 (с, 1H, триаз.), 7,28 (м, 1H, H_β -Py), 7,10 (с, 1H, $-\text{CH}=\text{}$), 6,25 (д, 1H, $J = 8,8$ Гц, Gal), 5,39 (д, 1H, $J = 2,93$ Гц, Gal), 5,32 (с, 1H, Gal), 5,21 (дд, 1H, $J_1 = 3,42$ Гц, $J_2 = 7,83$ Гц, Gal), 5,10-4,65 (м, 4H, Gal), 4,59 (д, 1H, $J = 8,8$ Гц, Gal), 4,10 (м, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ + Gal), 3,90 (м, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 2,77 (3H, с, SCH_3), 2,23-1,91 (м, 12H, COCH_3)

ИК спектр (cm^{-1}): 1740 (C=O), 1615 (C=N), 1650 (C=C).

Масс – спектр (m/z): 674 (M^+).

3.6.3.5 Синтез (2R,3R,4S,5R,6R)-2-(ацетоксиметил)-6-((1-(2-((Z)-5-оксо-2-((2-((Z)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-1-(2-(4-(((2R,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-триацетокси-6-(ацетоксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)этил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)тио)этил)тио)-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)этил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триилтриацетата (66)

К раствору 0,5 г (1,3 ммоль) пропаргилового эфира β -D-глюкозы в 15 мл смеси ТГФ/Н₂O (1:1) добавили 0,033 г CuSO₄·5H₂O растворенного в 1 мл воды, затем 0,070 г аскорбата натрия (в 1 мл Н₂O), после чего, при перемешивании в атмосфере аргона добавили 0,376 г (0,65 ммоль) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил) бис (5-(2-пиридилметилден)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **40**, растворенного в 3 мл ТГФ. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,05 г (6 %) продукта **66** в виде желтых кристаллов.

$T_{пл} = 190\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 8,75 (д, 2H, J = 7,83 Гц, H _{α} -Py), 8,66 (д, 2H, J = 4,2 Гц, H _{β} -Py), 7,81 (т, 2H, J = 5,38 Гц, H _{γ} -Py), 7,75 (с, 2H, триаз), 7,25 (м, 2H, H _{β} -Py), 7,10 (с, 2H, -CH=), 6,35 (д, 2H, J = 8,6 Гц, Glu), 5,42 (м, 4H, Glu), 5,32 (с, 2H, Glu), 5,21 (дд, 2H, J₁ = 3,42 Гц, J₂ = 7,83 Гц, Glu), 5,10-4,65 (м, 8H, Glu), 4,59 (д, 2H, J = 8,8 Гц, Glu), 3,85 (т, 2H, J = 5,2 Гц, NCH₂CH₂N₃), 3,62 (т, 2H, J = 5,4 Гц, NCH₂CH₂N₃), 3,98 (с, 4H, SCH₂CH₂S), 2,05- 1,95 (м, 24H, COCH₃)

ИК спектр (см⁻¹): 1720 (C=O), 1685 (C=N), 1660 (C=C).

Масс – спектр(m/2z) : 673,5.

3.6.3.6 Синтез (2R,3R,4R,5R,6R)-5-ацетамидо-2-(ацетоксиметил)-6-((1-(2-((Z)-2-((2-(((Z)-1-(2-азидоэтил)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметилден)-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)тио)этил)тио)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметилден)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)этил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)тетрагидро-2H-пирин-3,4-диил диацетата (67)

К раствору 0,268 г (70 ммоль) пропаргилового эфира N-ацетил- β -D-галактозамина в 15 мл смеси ТГФ/Н₂O (1:1) добавили 0,016 г CuSO₄·5H₂O, растворенного в 1 мл воды, затем 0,027 г аскорбата натрия (также в 1 мл Н₂O), после чего, при перемешивании в атмосфере аргона добавили 0,2 г (0,35 ммоль) (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил) бис (5-(2-пиридилметилден)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **40**, растворенного в 3 мл ТГФ. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,075 г (16%) продукта **67** в виде желтых кристаллов.

$T_{пл} = 110\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 8,60 (м, 4H, H _{α} -Py), 7,75 (м, 2H, H _{β} -Py), 7,64 (м, 2H, триаз. + H _{γ} -Py), 7,24 (м, 2H, H _{β} -Py), 7,08 (с, 1H, -CH=), 7,02 (с, 1H, -CH=), 6,29 (д, 1H, J = 7,09 Гц, Gal), 5,35 (д, 1H, J = 3,07 Гц, Gal), 5,16 (м, 1H, Gal), 4,96-4,54 (м, 5H,

Gal), 4,16 (м, 2H, Gal), 4,0 (м, 2H, Gal), 3,90 (с, 4H, SCH₂CH₂S), 3,80 (т, 2H, J = 5,75 Гц, NCH₂CH₂N₃), 3,58 (т, 2H, J = 5,75 Гц, NCH₂CH₂N₃), 2,17-1,77 (м, 12 H, COCH₃).

ИК спектр (см⁻¹): 1760 (C=O), 1635 (C=N), 1600 (C=C).

Масс – спектр (m/z): 961 (M⁺), (m/2z) = 480.

3.6.3.7 Синтез (Z)-1-(2-(2-метилтио)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметилен)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)этил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил-5-(2-оксогексагидро-1H-тиено[3,4-d]имидазол-4-ил)пентаноата (68)

К раствору 0,118 г (0,42 ммоль) пропаргилового эфира биотина **61** в 10 мл смеси ТГФ/Н₂О (1:1) добавили при охлаждении 0,011 г (0,042 ммоль) CuSO₄·5H₂O в 0,25 мл воды и 0,033 г (0,16 ммоль) аскорбата натрия в 0,25 мл воды, затем добавили 0,120 г (0,42 ммоль) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(метилтио)-5-(пиридин-2-илметилен)-1H-имидазол-4H-она и перемешивали 48 ч при комнатной температуре. Обработали реакционную смесь согласно общей методике. В результате получили 0,045 г (20%) продукта **68** в виде желтых кристаллов.

T_{пл} = 130 °С (с разл.)

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 9,02 (1H, м, H_α-Py), 8,91 (1H, м, H_β-Py), 8,23 (1H, м, H_γ-Py), 7,81 (1H, с, H триаз.), 7,66 (1H, м, H_β-Py), 7,34 (1H, с, -CH=), 6,88 (1H, NH_b), 6,56 (1H, NH_a), 5,57 (м, 2H, CH₂C=H), 4,57 (1H, м, H_c), 4,33 (1H, м, H_d), 3,17 (1H, м, CH_e), 2,90 (1H, м, CH_e), 2,82 (м, 1H, H_f), 2,77 (3H, с, SCH₃), 2,39 (т, 2H, J = 7,24 Гц, C NCH₂CH₂N₃), 1,70 (т, 2H, J = 7,24 Гц, NCH₂CH₂N₃) 1,60-1,50 (м, 2H, CH₂, j), 1,60-1,50 (м, 4H, CH₂, g, i), 1,45 (м, 2H, CH₂, h).

ИК, см⁻¹: 1730 (C=O), 1630 (C=C), 1620 (C=C).

Масс – спектр (m/z): 571 (M⁺).

Элементный анализ C₂₅H₃₀N₈O₄S₂ вычислено: С 52,62%; Н 5,30%; N 19,63%. найдено: С 52,71%; Н 5,38%; N 19,76%.

3.6.3.8 Синтез (1-(2-((Z)-2-(((Z)-1-(2-азидоэтил)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметилен)-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-ил)тио)этил)тио)-5-оксо-4-(пиридин-2-илметилен)-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)этил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил 5-(2-оксогексагидро-1H-тиено[3,4-d]имидазол-4-ил)пентаноата (69)

К раствору 0,116 г (0,39 ммоль) пропаргилового эфира биотина в 10 мл смеси ТГФ/Н₂О (1:1) добавили 0,026 г CuSO₄·5H₂O, растворенного в 1 мл воды, затем 0,040 г аскорбата натрия (также в 1 мл Н₂О), после чего при перемешивании в атмосфере аргона

добавили 0,112 г (19,5 ммоль) (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)-бис-(5-(2-пиридилметил)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **40**, растворенного в 3 мл ТГФ. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,013 г (8%) продукта **69** в виде желтых кристаллов.

$T_{пл} = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,52 (д, 2H, $J = 3,91$ Гц, H_{α} -Py), 7,74 (с, 1H, триаз.), 7,64 (т, 2H, $J = 7,63$ Гц, H_{β} -Py), 7,38 (д, 2H, $J = 7,83$ Гц, H_{γ} -Py), 7,15 (т, 2H, $J = 7,43$ Гц, H_{β} -Py), 6,64 (д, 1H, $J = 9,59$ Гц, Biot.), 6,59 (с, 1H, Biot.), 6,51 (уш. с, 2H, $-\text{CH}=\text{}$), 5,21 (т, 2H, $J = 10,37$ Гц, Biot.), 4,99 (м, 4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 4,77 (м, 4H, Biot.), 4,27 (м, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,96 (м, 5H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3 + \text{Biot.}$), 3,68 (м, 2H, Biot.), 2,46 (т, 2H, $J = 2,15$, Biot.), 2,43 (т, 2H, $J = 8,41$ Гц, Biot.), 2,18 (м, 2H, Biot.).

ИК спектр (cm^{-1}): 1740 (C=O), 1625 (C=N), 1649 (C=C), 1598 (C=C).

Масс – спектр (m/z): 857 (M^+).

3.6.3.9 Синтез 1,1'-(((4Z,4'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилбис(сульфандиил))бис(5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-2,1-диил))бис(этан-2,1-диил))бис(1H-1,2,3-триазол-4,1-диил))бис(метил) бис(5-(2-оксогексидро-1H-триено[3,4-d]имидазол-4-ил)пентаноата(70)

К раствору 0,200 г (0,67 ммоль) пропаргилового эфира биотина в 20 мл смеси ТГФ/ H_2O (1:1) добавили 0,017 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ растворенного в 1 мл воды, затем 0,066 г аскорбата натрия (также в 1 мл H_2O), после чего при перемешивании в атмосфере аргона добавили 0,195 г (0,34 ммоль) (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)-бис-(5-(2-пиридилметил)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **40**, растворенного в 3 мл ТГФ. Смесь перемешивали 3 суток. Далее обработали в соответствии с общей методикой, в результате получили 0,137 г (18%) продукта **70** в виде белого порошка.

$T_{пл} = 165\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с разл.)

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8,75 (с, 2H, H_{α} -Py), 8,0 (с, 2H, триаз.), 7,76 (м, 4H, H_{β} -Py, H_{γ} -Py), 7,48 (м, 2H, H_{β} -Py), 7,25 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{}$), 5,98, 5,48 (с, 2H, Biot.), 5,25 (с, 2H, Biot), 4,75 (с, 2H, Biot.), 4,51 (м, 2H, Biot), $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$ 4,45 (м, 2H, Biot.), 4,25 (м, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 4,0 (м, 6H, Biot + $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 3,50 (с, 4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 3,21 (с, 2H, Biot.), 3,0 (м, 2H, Biot.), 2,81 (м, 4H, Biot.), 2,46 (м, 2H, Biot.), 1,75 (м, 6H, Biot.), 1,48 (м, 4H, Biot.).

Масс – спектр (m/z): 569

3.7 Реакции комплексообразования соединений 8-21, 24-25

Общая методика

К раствору 0,02 г лиганда в 2 мл дихлорметана медленно прибавили раствор $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) в 2 мл метанола (бутанола). Реакционную смесь плотно закрыли и оставили на 5 дней до выпадения осадка. Затем раствор декантировали, полученные кристаллы промывали диэтиловым эфиром.

3.7.1 Получение комплекса 3-азидоэтил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (18a)

Из 0,02 г (0,075 ммоль) 3-азидоэтил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **10** и 0,0125 г (0,075 ммоль) дигидрата хлорида меди(II) получили 0,011 г (37%) комплекса **18a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 185 \text{ }^\circ\text{C}$.

Элементный анализ $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_{12}\text{S}_2\text{O}_2\text{Cu}_2\text{Cl}$ вычислено: С 37,26%; Н 2,56%; N 23,69%; S 9,04%; найдено: С 37,51%; Н 2,73%; N 23,60%; S 8,77%.

3.7.2 Получение комплекса 3-азидопропил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (19a)

Из 0,02 г (0,07 ммоль) 3-азидопропил-5-((Z)-2-пиридилметилден)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-она **11** и 0,012 г (0,07 ммоль) дигидрата хлорида меди(II) получили 0,012 г (46%) комплекса **19a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 170 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_{12}\text{S}_2\text{O}_2\text{Cu}_2\text{Cl}$ вычислено: С 39,10%; Н 3,01%; N 22,80%; S 8,70%; найдено: С 39,22%; Н 3,63%; N 23,27%; S 8,97%.

3.7.3 Получение комплекса 5-(Z)-1-(2-азидоэтил)-2-(метилтио)-4-(пиридин-2-илметилден)-1Н-имидазол-4Н-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (29a)

Из 0,02 г (0,07 ммоль) 5-(Z)-1-(2-азидоэтил)-2-(метилтио)-4-(пиридин-2-илметилден)-1Н-имидазол-4Н-она **29** и 0,012 г (0,07 ммоль) дигидрата хлорида меди (II) 0,009 г (30%) комплекса **29a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 210 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{OSC}_2\text{CuCl}_2$ вычислено: С 35,66%; Н 3,45%; N 19,20%; S 7,32%; найдено: С 35,84%; Н 3,22%; N 19,30%; S 7,38%.

3.7.4 Получение комплекса 5-(Z)-1-(3-азидопропил)-2-(метилтио)-4-(пиридин-2-илметил)-1H-имидазол-4H-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (30a)

Из 0,02 г (0,065 ммоль) 5-(Z)-1-(3-азидопропил)-2-(метилтио)-4-(пиридин-2-илметил)-1H-имидазол-4H-она **30** и 0,011 г (0,065 ммоль) дигидрата хлорида меди(II) получили 0,007 г (28%) комплекса **30a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 268 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{OSCuCl}_2$ вычислено: С 37,5%; Н 3,79%; N 18,75%; S 7,14%; найдено: С 36,89%; Н 3,91%; N 19,10%; S 7,35%.

3.7.5 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-3-(втор-бутил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (33a).

Из 0,012 г (0,021 ммоль) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-3-(втор-бутил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **33** и 0,0075 г (0,044 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,0073 г (41%) комплекса **33a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 180 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_4$ вычислено: С 41,07%; Н 3,91%; N 10,26%; S 7,82%; найдено: С 41,08%; Н 4,11%; N 9,97%; S 7,89%.

3.7.6 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-3-(2-метилбутил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (34a).

Из 0,03 г (0,052 ммоль) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-3-(2-метилбутил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **34** и 0,018 г $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,1 ммоль) получили 0,0097 г (54%) комплекса **34a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 165 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_4$ вычислено: С 42,55%; Н 4,25%; N 9,92%; найдено: С 43,45%; Н 4,05%; N 9,62%.

3.7.7 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-3-аллил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (35a).

Из 0,05 г (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-

3-аллил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **35** и 0,03 г $\text{CuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,03 г (40%) комплекса **35a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 214 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2 \cdot \text{CuCl}_2 \cdot \text{CuCl}$ вычислено: С 41,63%; Н 3,23%; N 11,15%; найдено: С 41,36%; Н 3,23%; N 11,85%.

3.7.8 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-аллил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (35b).

Из 0,05 г (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-аллил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **35** и 0,045 г $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,035 г (46%) комплекса **35b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 245 \text{ }^\circ\text{C}$.

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Co}_2\text{Cl}_4$ вычислено: С 4,20%; Н 3,09%; N 10,82%; найдено: С 40,06%; Н 3,07%; N 10,86%.

3.7.9 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(циклопропил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (36a).

Из 0,0113 г (0,022 ммоль) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-циклопропил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **36** и 0,0075 г (0,044 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,0065 г (38%) комплекса **36a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 290 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_3$ вычислено: С 41,57%; Н 3,19%; N 11,19%; S 8,52%; найдено: С 41,39%; Н 3,30%; N 11,02%; S 8,30%.

3.7.10 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (37a).

Из 0,05 г (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **37** и 0,03 г $\text{CuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,03 г (55%) комплекса **37a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 188 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_3$ вычислено: С 46,75%; Н 2,94%; N 10,22%;

найдено: С 46,67%; Н 2,14%; N 10,77%.

3.7.11 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (37b).

Из 0,05 г (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **37** и 0,04 г $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,037 г (38%) комплекса **37b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 276 \text{ }^\circ\text{C}$.

Элементный анализ $\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Co}_2\text{Cl}_4$ вычислено: С 45,30%; Н 2,85%; N 9,91%; найдено: С 45,45%; Н 3,00%; N 9,85%.

3.7.12 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-бензил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (38a)

Из 0,0135 г (0,021 ммоль) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-бензил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **38** и 0,0075 г (0,044 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,01 г (54%) комплекса **38a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 186 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_4$ вычислено: С 46,04%; Н 3,16%; N 9,48%; найдено: С 45,97%; Н 3,05%; N 9,76%.

3.7.13 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенилэтил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (39a).

Из 0,014 г (0,022 ммоль) (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-фенилэтил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **39** и 0,0075 г (0,044 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,0062 г (32%) комплекса **39a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 205 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_4$ С 47,26%; Н 4,59%; N 9,19%; S 7,00%; найдено: С 47,26%; Н 4,19%; N 8,86%; S 7,25%.

3.7.14 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он)а с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (40a)

Из 0,02 г (0,035 ммоль) (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(азидоэтил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он)а **40** и 0,012 г (0,07 ммоль) дигидрата хлорида меди(II) получили 0,007 г (25%) комплекса **40a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 170 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_{12}\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_3$ вычислено: С 35,62%; Н 2,72%; N 20,77%; S 7,91%; найдено: С 35,44%; Н 2,65%; N 20,52%; S 7,78%.

3.7.15 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-азидоэтил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (40b).

Из 0,03 г (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-азидоэтил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) **37** и 0,024 г $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,022 г (51%) комплекса **40b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 226 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_{12}\text{O}_2\text{S}_2\text{Co}_2\text{Cl}_4$ вычислено: С 34,53%; Н 2,66%; N 20,15%; найдено: С 34,45%; Н 2,51%; N 19,98%.

3.7.16 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(азидопропил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он)а с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (41a)

Из 0,02 г (0,03 ммоль) (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-(азидопропил)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он)а **41** и 0,0115 г (0,06 ммоль) дигидрата хлорида меди(II) получили 0,06 г (21%) комплекса **41a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 212 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_{12}\text{O}_2\text{S}_2\text{Cu}_2\text{Cl}_3$ вычислено: С 37,29%; Н 3,10%; N 20,08%; S 7,65%; найдено: С 37,24%; Н 3,29%; N 20,02%; S 7,45%.

3.7.17 Получение комплекса (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-3-азидопропил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она) с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (41b).

Из 0,03 г (5Z,5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметилен)-

3-азидопропил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) **41** и 0,023 г $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,020 г (48%) комплекса **41b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 302 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2 \text{ Co}_2\text{Cl}_4$ вычислено: С 45,30%; Н 2,85%; N 9,91%; найдено: С 45,45%; Н 3,00%; N 9,85%.

3.7.18 *Получение комплекса 5-(Z)-3-(фенил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (43a)*

Из 0,01 г (0,03 ммоль) 5-(Z)-3-(фенил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **43** с 0,0053 г (0,03 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,05 г (39%) комплекса **43a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 280 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{CuCl}_2$ вычислено: С 48,67%; Н 3,84%; N 11,95%; найдено: С 48,92%; Н 3,80%; N 11,92%.

3.7.19 *Получение комплекса 5-(Z)-3-(фенил-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (43b)*

Из 0,01 г (0,03 ммоль) 5-(Z)-3-(фенил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **43** с 0,0072 г (0,03 ммоль) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,006 г (42%) комплекса **43b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 278 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{CoCl}_2$ вычислено: С 49,15%; Н 3,88%; N 12,08%; найдено: С 49,47%; Н 4,11%; N 12,23%.

3.7.20 *Получение комплекса 5-(Z)-3-(метил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (44a)*

Из 0,01 г (0,037 ммоль) 5-(Z)-3-(метил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **44** с 0,0063 г (0,037 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,006 г (41%) комплекса **44a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 275 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{CuCl}_2$ вычислено: С 41,33%; Н 3,94%; N 13,78%; найдено: С 41,50%; Н 4,15%; N 13,56%.

3.7.21 *Получение комплекса 5-(Z)-3-(метил-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-*

илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (44b)

Из 0,01 г (0,037 ммоль) 5-(Z)-3-(метил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **44** с 0,0088 г (0,037 ммоль) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,04 г (30%) комплекса **44b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 360 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{CoCl}_2$ вычислено: С 41,79%; Н 3,98%; N 13,93%; найдено: С 41,60%; Н 3,76%; N 13,73%.

3.7.22 Получение комплекса 5-(Z)-3-(аллил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (45a)

Из 0,01 г (0,036 ммоль) 5-(Z)-3-(аллил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с 0,0057 г (0,036 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,05 г (33%) комплекса **45a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 245 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{CuCl}_2$ вычислено: С 44,40%; Н 4,19%; N 12,95%; найдено: С 44,26%; Н 4,07%; N 13,07%.

3.7.23 Получение комплекса 5-(Z)-3-(аллил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (45b)

Из 0,01 г (0,036 ммоль) 5-(Z)-3-(аллил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **45** с 0,008 г (0,036 ммоль) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,004 г (29 %) комплекса **45b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 300 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{CoCl}_2$ вычислено: С 44,88%; Н 4,24%; N 13,08%; найдено: С 45,11%; Н 4,40%; N 12,99%.

3.7.24 Получение комплекса 5-(Z)-3-(2-азидоэтил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (46a)

Из 0,0287 г (0,092 ммоль) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **46** с 0,016 г (0,092 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,007 г (31%) комплекса **46a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 310 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2\text{CuCl}_2$ вычислено: С 39,01%; Н 3,71%; N 21,23%; найдено: С 39,19%; Н 3,95%; N 21,33%.

3.7.25 Получение комплекса 5-(Z)-3-(2-азидоэтил) - 2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (46b)

Из 0,0287 г (0,092 ммоль) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(морфолино)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **46** с 0,0213 г (0,092 ммоль) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,014 г (37%) комплекса **46b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 353 \text{ }^\circ\text{C}$.

Элементный анализ $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2\text{CoCl}_2$ вычислено: С 39,41%; Н 3,75%; N 21,45%; найдено: С 39,44%; Н 3,83%; N 21,32%.

3.7.26 Получение комплекса 5-(Z)-3-(фенил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (47a)

Из 0,02 г (0,06 ммоль) 3-фенил-5-((Z)-2-пиридилметилен)-2-пиперидин-4H-имидазол-4-она **47** с 0,0102 г (0,059 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,006 г (22%) комплекса **47a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 274 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OCuCl}_2$ вычислено: С 51,44%; Н 4,29%; N 12,00%; найдено: С 51,60%; Н 4,22%; N 11,99%.

3.7.27 Получение комплекса 5-(Z)-3-(фенил) - 2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (47b)

Из 0,01 г (0,03 ммоль) 5-(Z)-3-(фенил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **47** с 0,0071 г (0,059 ммоль) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,005 г (35%) комплекса **47b** темно-зеленого цвета.

$T_{\text{пл}} = 275 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OCoCl}_2$ вычислено: С 51,96%; Н 4,33%; N 12,12%; найдено: С 52,13%; Н 4,39%; N 11,95%.

3.7.28 Получение комплекса 5-(Z)-3-(метил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (48a)

Из 0,01 г (0,037 ммоль) 5-(Z)-3-(метил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметилен)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-она **48** с 8,8 г (0,052 ммоль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ получили 0,004 г (31%) комплекса **48a** черного цвета.

$T_{\text{пл}} = 285 \text{ }^\circ\text{C}$

Элементный анализ $C_{15}H_{18}N_4OCuCl_2$ вычислено: С 44,51%; Н 4,48%; N 13,84%;
найдено: С 44,39%; Н 4,56%; N 13,89%.

3.7.29 Получение комплекса 5-(Z)-3-(метил) - 2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (48b)

Из 0,01 г (0,037 ммоль) 5-(Z)-3-(метил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **48** с 0,0124 г (0,052 ммоль) $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ получили 0,004 г (28%) комплекса **48b** темно-зеленого цвета.

$T_{пл} = 340$ °С.

Элементный анализ $C_{15}H_{18}N_4OCoCl_2$ вычислено: С 45,01%; Н 4,50%; N 14,00%;
найдено: С 44,89%; Н 4,34%; N 13,88%.

3.7.30 Получение комплекса 5-(Z)-3-(аллил) - 2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (49a)

Из 0,01 г (0,034 ммоль) 5-(Z)-3-(аллил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **49** с 0,0058 г (0,034 ммоль) $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ получили 0,006 г (38%) комплекса **49a** черного цвета.

$T_{пл} = 340$ °С

Элементный анализ $C_{17}H_{20}N_4OCuCl_2$ вычислено: С 47,39%; Н 4,65%; N 13,01%;
найдено: С 47,32 %; Н 4,57%; N 13,22%.

3.7.31 Получение комплекса 5-(Z)-3-(аллил) - 2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (49b)

Из 0,01 г (0,034 ммоль) 5-(Z)-3-(аллил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **49** с 0,0081 г (0,034 ммоль) $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ получили 0,003 г (20%) комплекса **49b** темно-зеленого цвета.

$T_{пл} = 269$ °С

Элементный анализ $C_{17}H_{20}N_4OCoCl_2$ вычислено: С 47,90%; Н 4,70%; N 13,15%;
найдено: С 48,19 %; Н 4,95%; N 13,23%.

3.7.32 Получение комплекса 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (50a)

Из 0,0163 г (0,05 ммоль) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она **50** с 0,009 г (0,5 ммоль) $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ получили

0,005 г (27%) комплекса **50a** черного цвета.

$T_{пл} = 260\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Элементный анализ $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{OCuCl}_2$ вычислено: С 41,79%; Н 4,16%; N 21,32%;
найденно: С 41,65%; Н 4,21%; N 21,23%.

3.7.33 Получение комплекса 5-(Z)-3-(2-азидоэтил) - 2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50b)

Из 0,0163 г (0,05 ммоль) 5-(Z)-3-(2-азидоэтил)-2-(пиперидин-1-ил)-5-(пиридин-2-илметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она с 0,012 г (0,05 ммоль) $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ получили 0,005 г (24%) комплекса **50b** темно-зеленого цвета.

$T_{пл} = 302\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Элементный анализ $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{OCoCl}_2$ вычислено: С 42,22%; Н 4,21%; N 21,54%;
найденно: С 42,29%; Н 4,35%; N 21,50%.

3.7.34 Получение комплекса (Z)-2-(ацетоксиметил)-6-(1-аллил-5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1Н-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2Н-пирин-3,4,5-триил триацетата с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (55a)

Из 0,02 г (0,034 ммоль) (Z)-2-(ацетоксиметил)-6-(1-аллил-5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1Н-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2Н-пирин-3,4,5-триил триацетата **55** и 0,006 г (0,034 ммоль) дигидрата хлорида меди(II) получили 0,04 г (20%) комплекса **55a** черного цвета.

$T_{пл} = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{ClCu}_2\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2$ вычислено: С 44,27%; Н 3,10%; N 12,91%;
найденно: С 44,56%; Н 3,03%; N 12,86%.

3.7.35 Получение комплекса (Z)-2-(ацетоксиметил)-6-(5-оксо-1-фенил-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1Н-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2Н-пирин-3,4,5-триил триацетата с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (56a)

Из 0,02 г (0,033 ммоль) (Z)-2-(ацетоксиметил)-6-(5-оксо-1-фенил-4-(пиридин-2-илметил)-4,5-дигидро-1Н-имидазол-2-илтио)тетрагидро-2Н-пирин-3,4,5-триил триацетата **56** и 0,0055 г (0,033 ммоль) дигидрата хлорида меди(II) получили 0,05 г (18%) комплекса **56a** черного цвета.

$T_{пл} = 257\text{ }^{\circ}\text{C}$

Элементный анализ $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2 \cdot \text{CuCl}_2 \cdot \text{CuCl}$ вычислено: С 49,82%; Н 2,79%; N

11,62%; найдено: С 49,79%; Н 2,68%; N 11,86%.

3.8 Изучение взаимодействия координационного соединения 35a с ДНК

Все операции с нативной ДНК проводились в Tris-HCl буферном растворе (рН=7.2). Раствор координационного соединения **35a** готовили в смеси H₂O:ДМСО (95:5). Растворы были использованы в течение 1 часа после приготовления.

Концентрацию ДНК определяли по поглощению излучения ($\lambda=260$ нм, $\epsilon=6600$ M⁻¹cm⁻¹). По отношению поглощения при $\lambda=260$ нм и $\lambda=280$ нм (A_{260}/A_{280}), которое составило 1.8, определили, что ДНК не связана с белком.

Исходные концентрированные растворы координационного соединения **35a** готовили в ДМСО, а затем разводили Tris – HCl буфером до необходимой концентрации.

К буферному раствору, содержащему 2 мкМ ДНК добавляли бромистый этидий в концентрации 2 мкМ. В полученный раствор вносили равный объем раствора координационного соединения **35a** в концентрациях 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 мкМ соответственно.

Концентрация ДНК после смешения составила 1 мкМ, концентрация бромистого этидия - 1 мкМ. Растворы встряхнули и оставили на 15 минут для установления равновесия. Возбуждение флуоресценции комплекса ДНК – бромистый этидий производили при $\lambda = 312$ нм.

Спектры флуоресценции полученных растворов были зарегистрированы при $\lambda = 624$ нм.

3.9 Изучение взаимодействия координационного соединения 35a с БСА

Все операции с БСА проводились в однократном фосфатном буфере (рН=7.2) с добавлением 5% ДМСО по объему. Раствор координационного соединения 35a готовили растворением навески в небольшом количестве ДМСО с последующим разбавлением фосфатным буферным раствором до необходимой концентрации. Растворы были использованы в течение часа после приготовления.

В раствор БСА вносили равные объемы раствора координационного соединения 35a в концентрациях 0, 2, 4, 6, 8 мкМ соответственно. Концентрация БСА во всех растворах серии после смешения составила 1мкМ. Растворы встряхнули и оставили на 15 минут для установления равновесия. Возбуждение флуоресценции БСА производили при $\lambda = 280$ нм. Спектры флуоресценции полученных растворов были зарегистрированы в диапазоне $\lambda = 200-400$ нм.

4. Выводы

1. Предложены новые и оптимизированы известные методы направленного синтеза органических лигандов - серосодержащих производных пиридина, имидазола, 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов.

2. Разработан новый синтетический подход к синтезу 2-аминоимидазол-4-онов: реакции замещения алкилтиогруппы в производных 2-тиогидантоинов на аминную группировку в присутствии кислот Льюиса.

3. Изучено соотношение структура – цитотоксичность для полученных лигандов и координационных соединений.

4. Впервые изучена click-реакция в ряду производных 2-алкилтио-5-(пиридилметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-онов; получены триазолы, содержащие фрагменты биотина и углеводов.

5. Методом конфокальной флуоресцентной микроскопии впервые показана локализация конъюгата медьсодержащего координационного соединения в клеточном ядре.

6. Определена максимально переносимая доза соединения **35a** – координационного соединения (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-3-аллил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) с хлоридом меди (II). Установлено, что для мышей линий C₅₇Bl/6 и DBA/2 МПД в 4% проксаноле составляет 30 мг/кг.

7. Проведено исследование терапевтического эффекта координационного соединения **35a** на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы Ca755. Установлено, что при введении соединения **35a** в терапевтической дозе 24мг/кг торможение роста опухоли составило 73% на 7 день после окончания курса лечения.

5. Список литературы.

1. J. Xu, B. Xu, D. Shou, F. Qin, Y. Xu, Y. Hu. Characterization and evaluation of a folic acid receptor-targeted cyclodextrin complex as an anticancer drug delivery system // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2016. – V. 83 – P. 132–142.
2. W. Zhu, Z. Song, P. Wei, N. Meng, F. Teng, F. Yang, N. Liu, R. Feng. Y-shaped biotin-conjugated poly (ethylene glycol)–poly (epsilon-caprolactone) copolymer for the targeted delivery of curcumin // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2015. – V. 443 – P. 1-7.
3. S. Biswas, P. Kumari, P. Manish Lakhani, B. Ghosh. Recent advances in polymeric micelles for anti-cancer drug delivery // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2016. – V. 83 – P. 184–202.
4. T. Dingjan, I. Spendlove, L. G. Durrant, A. M. Scott, E. Yuriev, P. A. Ramsland. Structural biology of antibody recognition of carbohydrate epitopes and potential uses for targeted cancer immunotherapies // *Molecular Immunology*. – 2015. – V. 67 – P. 75-88.
5. Cepeda V. et al. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity // *Anticancer Agents Med. Chem*. – 2007. – V. 7 – P. 3-18.
6. Guo W. et al. ROS-mediated autophagy was involved in cancer cell death induced by novel copper (II) complex // *Exp. Toxicol. Pathol. Off. J. Ges. Für Toxikol. Pathol*. – 2010. – V. 62 – P. 577-582.
7. Zhang H. et al. Synthesis and characterization of new copper thiosemicarbazone complexes with an ONNS quadridentate system: cell growth inhibition, S-phase cell cycle arrest and proapoptotic activities on cisplatin-resistant neuroblastoma cells // *J. Biol. Inorg. Chem. JBIC Publ. Soc. Biol. Inorg. Chem*. – 2008. – V. 13 – P. 47-55.
8. Alemón-Medina R. et al. Induction of oxidative damage by copper-based antineoplastic drugs (Casiopéinas) // *Cancer Chemother. Pharmacol*. – 2007. – V. 60 – P. 219-228.
9. R.C. Maurya, B.A. Malik, J.M. Mir, P.K. Vishwakarma, D.K. Rajak, N. Jain. Mixed-ligand cobalt (II) complexes of bioinorganic and medicinal relevance, involving dehydroacetic acid and β -diketones: Their synthesis, hyphenated experimental-DFT, thermal and bactericidal facets // *Journal of Molecular Structure*. – 2015. – V. 1099 – P. 266-285.
10. Miodragovic D.U., Bogdanovic G.A., Miodragovic Z.M. Interesting coordination abilities of antiulcer drug famotidine and antimicrobial activity of drug and its cobalt(III) complex // *J. Inorg. Biochem*. – 2006. – V. 100 – P. 1568-1574.
11. Lv J., Liu T., Cai S., Wang X., Liu L., Wang Y.. Synthesis, structure and biological activity of cobalt (II) and copper (II) complexes of valine-derived schiff bases // *J. Inorg. Biochem*. – 2006. – V. 100 – P. 1888-1896.

12. Bottcher A., T. Takeuchi, K.I. Hardcastle, T.J. Meade, H.B. Gray. Spectroscopy and electrochemistry of cobalt (III) Schiff base complexes // *Inorg. Chem.* – 1997. – V. 36 – P. 2498-2504.
13. Ott I., Abraham A., Schumacher P., Shorafa H., Gastl G., Gust R., Kircher B., Synergistic and additive antiproliferative effects on human leukemia cell lines induced by combining acetylenehexacarbonyldicobalt complexes with the tyrosine kinase inhibitor imatinib // *J. Inorg. Biochem.* – 2006. – V. 100 – P. 1903-1906.
14. Kuldeep S., Vikas V., Kavita Y., Vedagopuram S., Devinder K., Avinash B., Vinod K. Design, regioselective synthesis and cytotoxic evaluation of 2-aminoimidazolequinoline hybrids against cancer and primary endothelial cells // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2014. – V. 87 – P. 150-158.
15. Majumdar P., Bathula C., Das S., Agarwal R., Hati S., Singh A., Sen S., Das BB. Design, synthesis and evaluation of thiohydantoin derivatives as potent topoisomerase I (Top1) inhibitors with anticancer activity // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2015. – V. 102 – P. 540-551.
16. Raghu R., Vishu M., Jiri G., Philip J., Kathryn J., Timothy J., Melissa H., Lisa A., Kirkwood M. Discovery of highly selective 7-chloroquinoline-thiohydantoins with potent antimalarial activity // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2014. – V. 84 – P. 425-432.
17. Blanc M., Cussac M., Boucherlel A., Leclercl G. Synthesis and immunomodulating activity of 1-amino-2-thiohydantoin derivatives // *Eur. J. Med. Chem.* – 1992. – V. 27 – P. 839-843.
18. Sibel S., Buyukbingol E. Evaluation of anti-HIV activity of 5-(2-phenyl-3'-indolal)-2-thiohydantoin // *Il Farmaco.* – 1998. – V. 53 – P. 525-527.
19. Robert E., Andrew A., Christian M. A flexible approach to 1,4-di-substituted 2-aminoimidazoles that inhibit and disperse biofilms and potentiate the effects of β -lactams against multi-drug resistant bacteria // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2013. – V. 62 – P. 59-70.
20. Rogers S., Lindsey E., Whitehead D., Trey M., Christian M. Synthesis and biological evaluation of 2-aminoimidazole/carbamate hybrid anti-biofilm and anti-microbial agents // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* – 2011. – V. 21 – P. 1257-1260.
21. Federica T., Filippo A. Coordination compounds in cancer: Past, present and perspectives // *Journal of applied biomedicine.* – 2015. - V.13 - P. 79 – 103.
22. Carlo S., Maura P., Valentina G. Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents // *Chemical Review.* – 2014. – V. 114 – P.815–862.
23. Kraatz, H.-B., Metzler-Nolte, N. *Concepts and Models in Bioinorganic Chemistry* // Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2006.

24. Nayak S. B., Bhat V. R., Upadhyay D., Udupa S. L. Copper and ceruloplasmin status in serum of prostate and colon cancer patients // *Indian J. Physiol. Pharmacol.* – 2003. – V. 47 – P. 108-110.
25. Gupta S. K., Shukla V. K., Vaidya M. P., Roy S. K., Gupta S. Serum trace elements and Cu/Zn ratio in breast cancer patients // *J. Surg. Oncol.* 1991, 46, 178. . – 1991. – V. 46 – P. 178-181.
26. Xie H., Kang Y. Role of copper in angiogenesis and its medicinal implications // *J. Curr. Med. Chem.* – 2009. – V. 16 – P. 1304-1314.
27. Melník M., Kabešová M. Copper (III) coordination compounds: Classification and analysis of crystallographic and structural data // *J. Coord. Chem.* – 2000. – V. 50 – P. 323-338.
28. Kitajima N., Moro-oka, Y. Copper-Dioxygen Complexes. *Inorganic and Bioinorganic Perspectives* // *Chem. Rev.* – 1994. – V. 94 – P. 737-757.
29. Ebrahimi H.P., Hadi J.S., Alsalim T.A., Ghali T.S., Bolandnazar Z. A novel series of thiosemicarbazone drugs: from synthesis to structure // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2015. – V. 137 – P. 1067-1077.
30. Stefani C., Jansson P.J., Gutierrez E., Bernhardt P.V., Richardson D.R., Kalinowski D.S., *J. Med. Chem.* – 2013. – V. 56 – P. 357-370.
31. Alagesan M., Bhuvanesh N. S., Dharmaraj N. Binuclear copper complexes: synthesis, X-ray structure and interaction study with nucleotide/protein by in vitro biochemical and electrochemical analysis // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – V. 78 – P. 281-293.
32. Qi J., Liang S., Gou Y., Zhang Z., Zhou Z., Yang F., Liang H. Synthesis of four binuclear copper(II) complexes: Structure, anticancer properties and anticancer mechanism // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2015. – V. 96 – P. 360-368.
33. Zhimei Z., Zhiguo Z., Ronge X., Pengcheng L., Guo L.M. The preparation and antioxidant activity of 2-[phenylhydrazine (or hydrazine)-thiosemicarbazone]-chitosan // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2010. – V. 47 – P. 93-97.
34. Lobana T.S., Rekha Sidhu B.S., Castineiras A., Bermejo E., Nishioka T. Syntheses, NMR (1H, 31P) spectroscopy and crystal structures of complexes of copper(I) halides with isatin-3-thiosemicarbazones // *J. Coord. Chem.* – 2005. – V. 58 – P. 803-809.
35. Ali A.Q., Teoh S. G., Mohamed B., Ahamed K., Majid A. Synthesis of copper(II) complexes of isatin thiosemicarbazone derivatives: In vitro anti-cancer, DNA binding, and cleavage activities // *Polyhedron.* – 2014. – V. 74 – P. 6-15.
36. West, D. X., Carlson, C. S., Galloway, C. P., Liberta, A. E., Daniel, C. R. The chemical and antifungal properties of the copper (II) complexes of 2-acetylpyrazine N-methyl-, N-dimethyl-, and 3-hexamethyleneiminylthiosemicarbazone // *Transition Met. Chem.* – 1990. – V. 15 – P. 91-95.

37. Sathisha M. P., Budagumpi S., Kulkarni N. V., Kurdekar G.S., Revankar V. K., Pai K. S. R. Synthesis, structure, electrochemistry and spectral characterization of (d-glucopyranose)-4-phenylthiosemicarbazide metal complexes and their antitumor activity against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss albino mice // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – V. 45 – P. 106-113.
38. Rauf M. K., Imtiaz D., Badshah A., Gielen M., Ebihara M., Vos D., Ahmed S. Synthesis, structural characterization and in vitro cytotoxicity and anti-bacterial activity of some copper(I) complexes with N,N'-disubstituted thioureas // *Inorg. Biochem.* – 2009. – V. 103 – P. 1135-1144.
39. González-Ballesteros N., Pérez-Álvarez D., Henriques M.S.C., Nascimento B.F.O., Laranjo M., Santos K., Casalta-Lopes J., Abrantes A.M., Botelho M.F., Pineiro M., Paixão J.A., Rodríguez-Argüelles M.C.. Copper (I) complexes of methyl 4-aryl-6-methyl-3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-thione-5-carboxylates // *Synthesis, characterization and activity in human breast cancer cells // Inorganica Chimica Acta.* – 2015. – V. 438 – P. 160-167.
40. O'Donnell G., Poeschl R., Zimhony O., Gunaratnam M., Moreira, J. B. C., Neidle S., Evangelopoulos, D., Bhakta, S. Malkinson, J. P., Boshoff, H. I., Lenaerts, A., Gibbons, S. Bioactive pyridine-N-oxide disulfides from *Allium stipitatum* // *J. Nat. Prod.* – 2009. – V. 72 – P. 360-365.
41. Gobis K., Foks H., Kedzia A., Wierzbowska M., Zwolska Z. Synthesis and antibacterial activity of novel pyridine and pyrazine derivatives obtained from amidoximes // *J. Heterocycl. Chem.* – 2009. – V. 46 – P. 1271-1279.
42. Puszko A., Brzuskiewicz A., Jezierska J., Adach A., Wietrzyk J., Filip B., Pelczynska M., Cieslak-Golonka M. Systematic coordination chemistry and cytotoxicity of copper(II) complexes with methyl substituted 4-nitropyridine N-oxides // *J. Inorg. Biochem.* – 2011. – V. 105 – P. 1109-1114.
43. Wang F., Wang Q., Zhou Z.W., Yu S.N., Pan S.T., He Z.X., Zhang X., Wang D., Yang Y.X., Yang T., Sun T., Li M., Qiu J.X., Zhou S.F.. Plumbagin induces cell cycle arrest and autophagy and suppresses epithelial to mesenchymal transition involving PI3K/Akt/mTOR-mediated pathway in human pancreatic cancer cells. // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2015. – V. 9 – P. 537-560.
44. Aryan Manu K., Shanmugam M., Rajendran P., Li F., Ramachandran L., Sin Hay H., Kannaiyan R., Swamy S. N., Vali S., Kapoor S., Ramesh B., Bist P., Koay E.. Plumbagin inhibits invasion and migration of breast and gastric cancer cells by downregulating the expression of chemokine receptor CXCR4 // *Mol. Cancer.* – 2011. – V. 10 – P. 107-117.
45. Gou Y., Zhang Z. Folate-functionalized human serum albumin carrier for anticancer copper (II) complexes derived from natural plumbagin // *Journal of Inorganic Biochemistry.* – 2015. – V. 153 – P. 13-22.

46. Daniel K. G., Chen D., Orlu S., Cui Q. C., Miller F. R., Dou, Q. P. Clioquinol and pyrrolidine dithiocarbamate complex with copper to form proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human breast cancer cells // *Breast Cancer Res.* – 2005. – V. 7 – P. 897-908.
47. Chen D., Peng F., Cui Q. C., Daniel K. G., Orlu S., Liu J., Dou Q. P. Inhibition of prostate cancer cellular proteasome activity by a pyrrolidine dithiocarbamate-copper complex is associated with suppression of proliferation and induction of apoptosis // *Front. Biosci.* – 2005. – V. 10 – P. 2932-2939.
48. Milacic V., Jiao P., Zhang B., Yan B., Dou Q. P. Novel 8-hydroxyquinoline analogs induce copper-dependent proteasome inhibition and cell death in human breast cancer cells // *Int. J. Oncol.* – 2009. – V. 35 – P. 1481-1491.
49. Da Silva E. N., Menna-Barreto R. F. S., Pinto M. d. C. F. R., Silva R. S. F., Teixeira D. V., de Souza M. C. B. V., De Simone C. A., De Castro S. L., Ferreira V. F., Pinto A. V. Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active against *Trypanosoma cruzi* // *Eur. J. Med. Chem.* – 2008. – V. 43 – P. 1774-1780.
50. Kovacic P., Becvar L. E. Mode of Action of Anti-Infective Agents: Emphasis on Oxidative Stress and Electron Transfer // *Curr. Pharm. Des.* – 2000. – V. 6 – P. 143-167.
51. Ferraz P. A. L., de Abreu F. C., Pinto A. V., Glezer V., Tonholo J., Goulart M. O. F. Electrochemical aspects of the reduction of biologically active 2-hydroxy-3-alkyl-1, 4-naphthoquinones // *J. Electroanal. Chem.* – 2001. – V. 507 – P. 275-286.
52. Francisco A. I., Vargas M. D., Frago T. P., De M. Carneiro J. W. Casellato A., De C. Da Silva F., Ferreira V. F. Barbosa J. P., Pessoa C., Costa-Lotufo L. V. Filho J. D. B. M., De Moraes M. O., Mangrich A. S. Theoretical studies of the tautomerism in 3-(2-R-Phenylhydrazono)-naphthalene- 1,2,4-triones: synthesis of copper(II) complexes and studies of antibacterial and antitumor activities // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2010. – V. 21 – P. 1293-167.
53. Solanki A., Sadhu M. H., Patel S., Devkar R., Kumar S. B. Ternary complexes of copper(II) and cobalt(II) carboxylate with pyrazole based ligand: Syntheses, characterization, structures and bioactivities // *Polyhedron.* – 2015. – V. 102 – P. 267-275.
54. Pellei M., Papini G., Trasatti A., Giorgetti M., Tonelli D., Minicucci M., Marzano C., Gandin V., Aquilanti G., Dolmella A., Santini C. Nitroimidazole and glucosamine conjugated heteroscorpionate ligands and related copper(II) complexes. Syntheses, biological activity and XAS studies // *Dalton Trans.* – 2011. – V. 40 – P. 9877-9878.
55. Sanchez-Guadarrama O., Lopez-Sandoval H., Sanchez-Bartez F., Gracia-Mora I., Hoepfl H., Barba-Behrens N. J. Cytotoxic activity, X-ray crystal structures and spectroscopic characterization of cobalt(II), copper(II) and zinc(II) coordination compounds with 2-substituted benzimidazoles // *Inorg. Biochem.* – 2009. – V. 103 – P. 1204-1213.
56. Baraldi P. G., Pavani M. G., Nunez M. d. C., Brigidi P., Vitali B., Gambari R., Romagnoli R. Antimicrobial and antitumor activity of n-heteroimine-1,2,3-dithiazoles and

their transformation in triazolo-, imidazo-, and pyrazolopyrimidines // *Bioorg. Med. Chem.* – 2002. – V. 10 – P. 449-456.

57. Dallavalle F., Gaccioli F., Franchi-Gazzola R., Lanfranchi M., Marchio L., Pellinghelli M. A., Tegoni M. Synthesis, molecular structure, solution equilibrium, and antiproliferative activity of thioxotriazoline and thioxotriazole complexes of copper II and palladium II // *J. Inorg. Biochem.* – 2002. – V. 92 – P. 95-104.

58. Martínez-Bulit P., Garza-Ortíz A. et.al. 2,6-Bis(2,6-diethylphenyliminomethyl)pyridine coordination compounds with cobalt(II), nickel(II), copper(II), and zinc(II): synthesis, spectroscopic characterization, X-ray study and in vitro cytotoxicity // *Journal of Inorganic Biochemistry.* – 2015. – V. 142 – P. 1-7.

59. Hernández-Gil J. Cabedo N., López-Gresa M. P., Castiñeiras A., Lloret F. Two copper complexes from two novel naphthalene-sulfonyl-triazole ligands: Different nuclearity and different DNA binding and cleavage capabilities // *Journal of Inorganic Biochemistry.* – 2013. – V. 125 – P. 50-63.

60. Ahmed M. Abu-Dief I. A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases // *Beni-suef university Journal of basic and applied sciences.* – 2015. – V. 4 – P. 119-133.

61. Ebrahimipour S. Y., Sheikshoae I., Castro J., Haase W., Mohamadi M., Foro S.. A novel cationic copper (II) Schiff base complex: Synthesis, characterization, crystal structure, electrochemical evaluation, anti-cancer activity, and preparation of its metal oxide nanoparticles // *Inorganica Chimica Acta.* – 2015. – V. 430 – P. 245-252.

62. Creaven B. S., Duff B., Egan D.A., Kavanagh K., Rosair G., Thangella V. R., Walsh M. Anticancer and antifungal activity of copper(II) complexes of quinolin-2(1H)-one-derived Schiff bases // *Inorganica Chimica Acta.* – 2010. – V. 363 – P. 4048-4056.

63. Li X. Bi C., Fan Y., Zhang X., Meng X., Cui L. Synthesis, crystal structure and anticancer activity of a novel ternary copper(II) complex with Schiff base derived from 2-amino-4-fluorobenzoic acid and salicylaldehyde // *Inorganic Chemistry Communications.* – 2014. – V. 50 – P. 35-41.

64. Chagas da Silveira V., Luz J. S., Oliveira C. C., Graziani I., Ciriolo M. R., Ferreira A. M. d. C. Double-strand DNA cleavage induced by oxindole-Schiff base copper(II) complexes with potential antitumor activity // *J. Inorg. Biochem.* – 2008. – V. 102 – P. 1090-1103.

65. Filomeni G., Piccirillo S., Graziani I., Cardaci S., Da Costa Ferreira A. M., Rotilio G., Ciriolo M. R. The isatin-Schiff base copper(II) complex Cu(isaepy)₂ acts as delocalized lipophilic cation, yields widespread mitochondrial oxidative damage and induces AMP-activated protein kinase-dependent apoptosis // *Carcinogenesis.* – 2009. – V. 30 – P. 1115-1124.

66. Raman N., Jeyamurugan R., Senthilkumar R., Rajkapoor B., Franzblau S. G. In vivo and in vitro evaluation of highly specific thiolate carrier group copper (II) and zinc (II)

complexes on Ehrlich ascites carcinoma tumor model // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – V. 45 – P. 5438-5451.

67. Alemon-Medina R., Brena-Valle M., Munoz-Sanchez J. L., Gracia-Mora M. I., Ruiz-Azuara L. Induction of oxidative damage by copper-based antineoplastic drugs (Casiopeínas) // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2007. – V. 60 – P. 219-228.

68. Hernandez-Esquivel L., Marin-Hernandez A., Pavon N., Carvajal K., Moreno-Sanchez R. Cardiotoxicity of copper-based antineoplastic drugs casiopeinas is related to inhibition of energy metabolism // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2006. – V. 212 – P. 79-88.

69. Rivero-Mueller A., De Vizcaya-Ruiz A., Plant N., Ruiz L., Dobrota M. Mixed chelate copper complex, Casiopeina IIgly, binds and degrades nucleic acids: a mechanism of cytotoxicity. // *Chem.-Biol. Interact.* – 2007. – V. 165 – P. 189-199.

70. Trejo-Solis C., Palencia G., Zuniga S., Rodriguez-Ropon A., Osorio-Rico L., Luvia S. T., Gracia-Mora I., Marquez-Rosado L., Sanchez A., Moreno-Garcia M. E., Cruz A., Bravo-Gomez M. E., Ruiz-Ramirez L., Rodriguez-Enriquez S., Sotelo J. Cas IIgly induces apoptosis in glioma C6 cells in vitro and in vivo through caspase-dependent and caspase-independent mechanisms. // *Neoplasia.* – 2005. – V. 7 – P. 563-574.

71. Mejia C., Ruiz-Azuara L. Casiopeinas IIgly and IIIia induce apoptosis in medulloblastoma cells. // *Pathol. Oncol. Res.* – 2008. – V. 14 – P. 467-472.

72. Lakshmipraba J., Arunachalam S., Gandi D. A., Thirunalasundari T. Synthesis, nucleic acid binding and cytotoxicity of polyethyleneimine-copper(II) complexes containing 1,10-phenanthroline and *L*-valine // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – V. 46 – P. 3013-3021.

73. Jia L., Jiang P., Xu J., Hao Z.-y., Xu X.-m., Chen L.-h., Wu J.-c., Tang N., Wang Q., Vittal J. Synthesis, crystal structures, DNA-binding properties, cytotoxic and antioxidation activities of several new ternary copper(II) complexes of *N,N'*-(*p*-xylylene)di-alanine acid and 1,10-phenanthroline // *J. Inorg. Chim. Acta.* – 2010. – V. 363 – P. 855-865.

74. Ramakrishnan S., Rajendiran V., Palaniandavar M., Periasamy V. S., Srinag B. S., Krishnamurthy H., Akbarsha M. A. Induction of cell death by ternary copper(II) complexes of *L*-tyrosine and diimines: role of coligands on DNA binding and cleavage and anticancer activity // *Inorg. Chem.* – 2009. – V. 48 – P. 1309-1322.

75. Goswami T. K., Chakravarthi B. V. S. K., Roy M., Karande A. A., Chakravarty A. R. Ferrocene-conjugated *L*-tryptophan copper(II) complexes of phenanthroline bases showing DNA photocleavage activity and cytotoxicity // *Inorg. Chem.* – 2011. – V. 50 – P. 8452-8464.

76. Yu Z., Cowan J. A., Menglu H. Toward the Design of a Catalytic Metallodrug: Selective Cleavage of G-Quadruplex Telomeric DNA by an Anticancer Copper–Acridine–ATCUN Complex // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2015. – V. 54 – P. 1901-1905.

77. Harford C., Sarkar B. Amino Terminal Cu (II)- and Ni(II)-Binding (ATCUN) Motif of Proteins and Peptides: Metal Binding, DNA Cleavage, and Other Properties // *Acc. Chem. Res.* – 1997. – V. 30 – P. 123-130.

78. Biffi G., Tannahill D., McCafferty J., Balasubramanian S., Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells // *Nat. Chem.* – 2013. – V. 5 – P. 182-186.
79. Alvarez N., Facchin G., Torre M., Synthesis, structural characterization and cytotoxic activity of ternary copper(II)-dipeptide-phenanthroline complexes. A step towards the development of new copper compounds for the treatment of cancer // *Met. Ions Biol. Med.* – 2011. – V. 117 – P. 117-122.
80. Ma T., Xu J., Wang Y., Yu H., Yang Y., Liu Y., Ding W., Zhu W., Chen R., Ge Z., Tan Y., Jia L., Zhu T. Ternary copper (II) complexes with amino acid chains and heterocyclic bases: DNA binding, cytotoxic and cell apoptosis induction properties // *Journal of Inorganic Biochemistry.* – 2015. – V. 144 – P. 38-46.
81. Lakshmipraba J., Arunachalam S., Riyasdeen A., Dhivya R., Akbarsha M. A. Polyethyleneimine anchored copper(II) complexes: Synthesis, characterization, in vitro DNA binding studies and cytotoxicity studies // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* – 2015. – V. 142 – P. 59-67.
82. Ying X. Qin Yang L. C. Structures and anti-cancer properties of two binuclear copper complexes // *Dalton Trans.* – 2013. – V. 42 – P. 14681-14684.
83. Iglesias S., Alvarez N. et.al. Structural Characterization and Cytotoxic Activity of Heteroleptic Copper (II) Complexes with L-Dipeptides and 5-NO₂-Phenanthroline. Crystal Structure of [Cu(Phe-Ala)(5-NO₂-Phen)]4H₂O // *Journal of Inorganic Biochemistry.* – 2014. – V. 139 – P. 117-123.
84. Kaplanis M., Stamatakis G., Papakonstantinou V.D., Paravatou-Petsotas M., Demopoulos C.A., Mitsopoulou C.A. Re (I) tricarbonyl complex of 1,10-phenanthroline-5,6-dione: DNA binding, cytotoxicity, anti-inflammatory and anti-coagulant effects towards platelet activating factor // *J. Inorg. Biochem.* – 2014. – V. 135 – P. 1-9.
85. Anjomshoa M., Torkzadeh-Mahani M. In vitro DNA and BSA-binding, cell imaging and anticancer activity against human carcinoma cell lines of mixed ligand copper (II) complexes // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 2015. – V. 150 – P. 390-402.
86. Almeida J.C., Paixão D. A., Marzano I. M., Ellena J., Pivatto M., Lopes N. P., Maria A., Ferreira D.C., Pereira-Maia E. C., Guilardi S., Guerra W. Copper (II) complexes with β-diketones and N-donor heterocyclic ligands: Crystal structure, spectral properties, and cytotoxic activity // *Polyhedron.* – 2015. – V. 89 – P. 1-8.
87. Psomas G., Raptopoulou C.P., Iordanidis L., Dendrinou-Samara C., Tangoulis V., Kessissoglou D.P., Structurally diverse copper(II)-carboxylato complexes: Neutral and ionic mononuclear structures and a novel binuclear structure // *Inorg. Chem.* – 2000. – V. 39 – P. 3042-3048.

88. Fernandes C., Zheng K., Horn A. Jr, Lopes B. F., Bull E. S., Azeredo N. F., Kanashiro M. M., Borges F.V., Bortoluzzi A. J., Szpoganicz B., Pires A. B., Franco R.W.A. Induction of apoptosis in leukemia cell lines by new copper(II) complexes containing naphthyl groups via interaction with death receptors // *Journal of Inorganic Biochemistry*. – 2015. – V. 153 – P. 68-87.
89. Kang Zheng, Man Jiang, Yan-Tuan Li, Zhi-Yong Wu, Cui-Wei Yan Synthesis and crystal structure of a ternary copper(II) complex of 2,2'-bipyridine and picrate: Molecular docking, reactivity towards DNA and *in vitro* anticancer activity // *Journal of Molecular Structure*. – 2014. – V. 1058 – P. 97-105.
90. Eichhorn G. L., Shin Y. A. Interaction of metal ions with polynucleotides and related compounds. XII. The relative effect of various metal ions on DNA helicity // *J. Am. Chem. Soc.* – 1968. – V. 90 – P. 7323-7328.
91. Takahara P. M., Frederick C. A., Lippard S. J. Crystal Structure of the Anticancer Drug Cisplatin Bound to Duplex DNA // *J. Am. Chem.Soc.* – 1996. – V. 118 – P. 12309-12321.
92. Kagawa T. F., Geierstanger B. H., Wang A. H. J., Ho P. S. Base-specific binding of copper(II) to Z-DNA. The 1.3-Å single crystal structure of d(m5CGUAm5CG) in the presence of CuCl₂ // *J. Biol. Chem.* – 1991. – V. 266 – P. 20175-20184.
93. Hiort C., Lincoln P., Norden B. DNA-Binding of Delta-[Ru(Phen)₂dppz]²⁺ and Lambda-[Ru(Phen)₂dppz]²⁺ // *J. Am. Chem. Soc.* – 1993. – V. 115 – P. 3448-3454.
94. Campbell N. H., Karim N. H. A., Parkinson G. N., Gunaratnam M., Petrucci V., Todd A. K., Vilar R., Neidle S. Molecular Basis of Structure–Activity Relationships between Salphen Metal Complexes and Human Telomeric DNA Quadruplexes // *J. Med.Chem.* – 2012. – V. 55 – P. 209-222.
95. Wang H., Shen R., Wu J., Tang N. Antitumor activity and DNA-binding investigations of the Zn(II) and Cu(II) complexes with isoeuxanthone // *Chem. Pharm. Bull.* – 2009. – V. 57 – P. 814-818.
96. Wang H.-F., Shen R., Tang N. Quadruplex-Interactive Agents as Telomerase Inhibitors: Synthesis of Porphyrins and Structure–Activity Relationship for the Inhibition of Telomerase // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – V. 44 – P. 4509-4523.
97. Tan M., Zhu J., Pan Y., Chen Z., Liang H., Liu H., Wang H. Synthesis, Cytotoxic Activity, and DNA Binding Properties of Copper (II) Complexes with Hesperetin, Naringenin, and Apigenin // *Bioinorg. Chem. Appl.* – 2009. – V. 34 – Article ID 347872 - P. 1-9.
98. Kremer M. L. Mechanism of the Fenton reaction. Evidence for a new intermediate // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 1999. – V. 1 – P. 3595-3605.
99. Fleming A. M., Muller J. G., Ji, I., Burrows C. Characterization of 2'-deoxyguanosine oxidation products observed in the Fenton-like system Cu(II)/H₂O₂/reductant in nucleoside and oligodeoxynucleotide contexts // *J. Org. Biomol.Chem.* – 2011. – V. 9 – P. 3338-3348.

100. Rajalakshmi S., Weyhermuller T., Dinesh M., Nair B. U. Copper (II) complexes of terpyridine derivatives: A footstep towards development of antiproliferative agent for breast cancer // *J. Inorg. Biochem.* – 2012. – V. 117 – P. 48-59.
101. Hegg E. L., Burstyn J. N. Copper (II) Macrocycles Cleave Single-Stranded and Double-Stranded DNA under Both Aerobic and Anaerobic Conditions // *Inorg. Chem.* – 1996. – V. 35 – P. 7474-7481.
102. Povirk L. F., Austin M. J. F. Genotoxicity of bleomycin // *Mutat. Res.* – 1991. – V. 257 – P. 127-143.
103. Qin Y., Meng L., Hu, C., Duan W., Zuo Z., Lin L., Zhang X., Ding. Gambogic acid inhibits the catalytic activity of human topoisomerase II α by binding to its ATPase domain // *J. Mol. Cancer Ther.* – 2007. – V. 6 – P. 2429-2440.
104. Hall I. H., Taylor K., Miller M. C., Dothan I., Khan X., Bouet M. A. Cytotoxicity of copper complexes of 2-furaldehyde oxime derivatives in murine and human tissue cultured cell lines // *Anticancer Res.* – 1997. – V. 17 – P. 2411-2418.
105. Claassen G., Brin E., Crogan-Grundy C., Vaillancourt M. T., Zhang H. Z., Cai S. X., Drewe J., Tseng B., Kasibhatla S. Selective activation of apoptosis by a novel set of 4-aryl-3-(3-aryl-1-oxo-2-propenyl)-2(1H)-quinolinones through a Myc-dependent pathway // *CancerLett.* – 2009. – V. 274 – P. 243-249.
106. Duff B., Reddy Thangella V., Creaven B. S., Walsh M., Egan D. A. Anti-cancer activity and mutagenic potential of novel copper (II) quinolinone Schiff base complexes in hepatocarcinoma cells // *Eur. J. Pharmacol.* – 2012. – V. 689 – P. 45-55.
107. Seng H.-L., Wang W.-S., Kong S.-M., Alan Ong H.-K., Win Y.-F., Raja Abd. Rahman, R. N. Z., Chikira M., Leong W.K., Ahmad M., Khoo A. S.-B., Ng, C.-H. Biological and cytoselective anticancer properties of copper (II)-polypyridyl complexes modulated by auxiliary methylated glycine ligand // *BioMetals* – 2012. – V. 25 – P. 1061-1081.
108. Peters J. M., Franke W. W., Kleinschmidt J. A. Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm // *J. Biol. Chem.* – 1994. – V. 269 – P. 7709-7718.
109. Goldberg A. L. Functions of the proteasome: the lysis at the end of the tunnel // *Science* – 1995. – V. 268 – P. 522-523.
110. Dou Q. P., Smith David M., Daniel Kenyon G., Kazi A. Interruption of tumor cell cycle progression through proteasome inhibition: implications for cancer therapy // *Prog. Cell. Cycle Res.* – 2003 – V. 5 – P. 441-446.
111. Drexler H. C. A. Activation of the cell death program by inhibition of proteasome function // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1997. – V. 94 – P. 855-860.
112. Daniel K. G., Gupta P., Harbach R. H., Guida W. C., Dou Q. P. Biochem. Organic copper complexes as a new class of proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer cells // *Pharmacol.* – 2004. – V. 67 – P. 1139-1151.

113. Li L., Yang H., Chen D., Cui C., Dou Q. P. Organic cadmium complexes as proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human breast cancer cells // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – V. 229 – P. 206-214.
114. Xiao Y., Chen D., Zhang X., Cui Q., Fan Y., Bi C., Dou Q.P. Molecular study on copper-mediated tumor proteasome inhibition and cell death // *Int. J. Oncol.* – 2010. – V. 37 – P. 81-87.
115. Hindo S. S., Frezza M., Tomco D., Heeg M. J., Hryhorczuk L., McGarvey B. R., Dou Q. P., Verani C. N. Metals in anticancer therapy: Copper(II) complexes as inhibitors of the 20S proteasome // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – V. 44 – P. 4353-4361.
116. Fan C. D., Su H., Zhao J., Zhao B. X., Zhang S. L., Miao J.Y. A novel copper complex of salicylaldehyde pyrazole hydrazone induces apoptosis through up-regulating integrin $\beta 4$ in H322 lung carcinoma cells // *Eur. J. Med. Chem.* - 2010. – V. 45 – P. 1438-1446.
117. Santini C., Pellei M., Papini G., Morresi B., Galassi R., Ricci S., Tisato F., Porchia M., Rigobello M. P., Gandin V., Marzano C. In vitro antitumour activity of water soluble Cu(I), Ag(I) and Au(I) complexes supported by hydrophilic alkyl phosphine ligands // *J. Inorg. Biochem.* – 2011. – V. 105 – P. 232-240.
118. Zhang Z., Bi, C., Schmitt S. M., Fan Y., Dong L., Zuo J., Dou Q. P. 1,10-Phenanthroline promotes copper complexes into tumor cells and induces apoptosis by inhibiting the proteasome activity // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2012. – V. 17 – P. 1257-1267.
119. Tardito S., Isella C., Medico E., Marchio L., Bevilacqua E., Hatzoglou M., Bussolati O., Franchi-Gazzola R. The Thioxotriazole Copper (II) Complex A0 Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Paraptotic Death in Human Cancer Cells // *J. Biol. Chem.* – 2009. – V. 284 – P. 24306-24319.
120. Bolos C. A., Chaviara A. T., Mourelatos D., Iakovidou Z., Mioglou E., Chrysogelou E., Papageorgiou A. Synthesis, characterization, toxicity, cytogenetic and in vivo antitumor studies of 1,1-dithiolate Cu(II) complexes with di-, tri-, tetra- amines and 1,3-thiazoles. Structure–activity correlation // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – V. 17 – P. 3142-3151.
121. Hancock C. N., Stockwin L. H., Han, B., Divelbiss R. D., Jun, J. H., Malhotra S. V., Hollingshead M. G., Newton D. L. A copper chelate of thiosemicarbazone NSC 689534 induces oxidative/ER stress and inhibits tumor growth in vitro and in vivo // *Free Radical Biol. Med.* – 2011. – V. 50 – P. 110-121.
122. Trejo-Solis C., Jimenez-Farfan D., Rodriguez-Enriquez S., Fernandez-Valverde F., Cruz-Salgado A., Ruiz-Azuara L., Sotelo Copper compound induces autophagy and apoptosis of glioma cells by reactive oxygen species and JNK activation // *J. BMC Cancer.* – 2012. – V. 12 – P. 156.
123. Etaiw S. E.-d. H., Sultan A. S., El-Bendary M. M. In vitro and in vivo antitumor activity of novel 3D-organotin supramolecular coordination polymers based on CuCN and pyridine bases // *J. Organomet. Chem.* – 2011. – V. 696 – P. 1668-1676.

124. Ghosh K., Kumar P., Tyagi N., Singh U. P., Goel N., Chakraborty A., Roy P., Baratto M. C. DNA interaction, superoxide scavenging and cytotoxicity studies on new copper(II) complexes derived from a tridentate ligand // *Polyhedron*. – 2011. – V. 30 – P. 2667-2677.
125. Raman N., Jeyamurugan R., Rajkapoor B., Magesh V. Metal-based antitumor, cytotoxic and antimicrobial activity: pharmacological evaluation of Knoevenagel condensate β -diketone Schiff base thiosemicarbazone Cu(II) and Zn(II) complexes // *Appl. Organomet. Chem.* – 2009. – V. 23 – P. 283-290.
126. Sathisha M. P., Shetti U. N., Revankar V. K., Pai K. Synthesis and antitumor studies on novel Co(II), Ni(II) and Cu(II) metal complexes of bis(3-acetylcoumarin)thiocarbohydrazone // *Eur. J. Med. Chem.* – 2008. – V. 43 – P. 2338-2346.
127. Ruiz Ramírez L. U.S. Patent A 21, 1992. Number 51,027,005.
128. U.S. Patent Re 35,458 February 18, 1997
129. U.S. Patent November 19, 1996. Number 5,576,326. 407,543SECOFI, 1993
130. Marín-H., Gracia-M., Ruiz-R., Moreno-S. Toxic effects of copper-based antineoplastic drugs (Casiopeinas) on mitochondrial functions // *Biochemical Pharmacology*. - 2003 - V.65 - P.1979 – 1989.
131. Hernández-Esquível L, Marín-Hernández, Pavon N, Moreno-Sanchez R, Carvajal K. Analysis of Apoptotic and Autophagic Pathways in Neuroblastoma by Treatment with Copper Compounds // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2006. – V. 212 – P. 79-88.
132. Tenorio-Miranda A., Jenssen E., Helleday T. Inhibition of DNA synthesis is a potent mechanism by which cytostatic drugs induce homologous recombination in mammalian cells // *Mutat Res.* – 2000. – V. 461 – P. 221-228.
133. Leal-García M., García-Ortuño L., Ruiz-Azuara L., Gracia-Mora I., Luna-del Villar J., Sumano H. Assessment of Acute Respiratory and Cardiovascular Toxicity of Casiopeinas in Anaesthetized Dogs // *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. – 2007. – V. 101 – P. 151-158.
134. Reyes L., Fuentes-Noriega I., Ruiz-Azuara L. Blood to plasma ratio, short-term stability and plasma protein binding of casiopeína IIgly, a copper (ii) based compound with antineoplastic activity // *Biomed. Sci. Appl.* – 2003. – V. 79 – P. 111-116.
135. Cañas-A., Fuentes-N., Ruiz-A. Pharmacokinetics of Casiopeína IIgly in Beagle Dog: A Copper Based Compound with Antineoplastic Activity // *Journal of Bioanalysis & Biomedicine*. – 2010. - V.2 – P.28 – 34.
136. De Vizcaya-R., A., Rivero-M., Hematotoxicity response in rats by the novel copper-based anticancer agent: casiopeina II// *Toxicology*. – 2003. – V. 194 – P. 103-109.
137. Leal-García M., García-Otuño L., Ruiz-Azuara L. Assessment of Acute Respiratory and Cardiovascular Toxicity of Casiopeinas in Anaesthetized Dogs // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2007. – V.101 – P. 151-158.

138. Roberto C., Cañas-A. Blood to Plasma Ratio, Short-Term Stability and Plasma Protein Binding of Casiopeína IIgly, a Copper (II) Based Compound with Antineoplastic Activity // *J. Mexican. Chem. Soc.* – 2013 – V.57 – P. 239 – 244.
139. Blanc M., Cussac M., Boucherrie A. Synthesis and immunomodulating activity of 1-amino-2-thiohydantoin derivatives // *Eur. J. Med. Chem.* –1992. – V. 27 – P. 839-843.
140. Ribeiro A. I., Gabriel C., Cerqueira F. Synthesis and antimicrobial activity of novel 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazones // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2014. – V. 24 – P. 4699-4702.
141. Tarvirdipour S., Vasheghani-Farahani E. Functionalized magnetic dextran-spermine nanocarriers for targeted delivery of doxorubicin to breast cancer cells // *Int. J. Pharm.* – 2016. – V. 501 – P. 331-341.
142. Alibolandi M., Abnous K. Folate Receptor-Targeted Multimodal Polymersomes for Delivery of Quantum Dots and Doxorubicin to Breast Adenocarcinoma: in vitro and in vivo Evaluation // *Int. J. Pharm.* – 2016. – V. 500 – P. 162-178.
143. Yang F., Ai W. Preclinical Evaluation of an Epidermal Growth Factor Receptor–Targeted Doxorubicin–Peptide Conjugate: Toxicity, Biodistribution, and Efficacy in Mice // *J. Pharm. Sci.* – 2016. – V. 105 – P. 639-649.
144. Yao L., Lei T., Blight A. Targeted delivery and controlled release of doxorubicin into cancer cells using a multifunctional graphene oxide // *Mater. Sci. Eng.* – 2016. – V. 59 – P. 652-660.
145. Rahul P., Singh G. Transferrin receptor targeted PLA-TPGS micelles improved efficacy and safety in docetaxel delivery // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2016. –V. 83 – P. 335-344.
146. Huiyuan Z., Kaiming W. Redox-sensitive micelles assembled from amphiphilic mPEG-PCL-SS-DTX conjugates for the delivery of docetaxel // *Colloids Surf., B.* – 2016. – V. 142 – P. 89-97.
147. Lin Li, Xingsheng Di, Shenwu Zhang Large amino acid transporter 1 mediated glutamate modified docetaxel-loaded liposomes for glioma targeting // *Colloids Surf. B Biointerfaces* - 2016. - V. 141 - P. 260-267.
148. Shizhu C., Keni Y. Targeting tumor microenvironment with PEG-based amphiphilic nanoparticles to overcome chemoresistance // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* -2016 - V.12 - P.269–286.
149. Yan Wang, Yuanyuan Liu, Yang Liu A polymeric prodrug of cisplatin based on pullulan for the targeted therapy against hepatocellular carcinoma // *Int. J. Pharm.* - 2015. - V. 483 - P. 89-100.
150. Le Bu, Liang-Chun Gan, Xiao-Qiang Guo Trans-resveratrol loaded chitosan nanoparticles modified with biotin and avidin to target hepatic carcinoma // *Int. J. Pharm.* - 2013. - V. 452 - P. 355-362.

151. Ashay Jain, Prashant Kesharwani, Neeraj K. Garg Galactose engineered solid lipid nanoparticles for targeted delivery of doxorubicin // *Colloids Surf. B Biointerfaces* - 2015. - V. 134 - P. 47-58.
152. Meng Wu, Hong Li, Ran Liu Galactose conjugated platinum(II) complex targeting the Warburg effect for treatment of non-small cell lung cancer and colon cancer // *Eur. J. Med. Chem.* - 2016. - V. 110 - P. 32-42.
153. Michael E Garst, Lloyd J Dolby, Shervin Esdandiari, Alfred Arthur Avey, Kenzie Vivian Rose Mac, David Charles Muchmore Synthesis of imidazole-2-thiones via thiohydantoin // WO 2007041048 A2
154. Edman, Pehr Preparation of Phenyl Thiohydantoin from Some Natural Amino Acids // *Acta Chem. Scand.* - 1950. - V. 4 - P. 277-282.
155. Nakano K., Doi K., Tamura K. Self-assembling monolayer formation of glucose oxidase covalently attached on 11-aminoundecanethiol monolayers on gold // *Chem. Commun. (Camb)*. - 2003. - V. 13 - P. 1544-1545.
156. Cherouvrier J.-R., Carreaux F., Bazureau J. P. A practical and eco-friendly synthesis of stereocontrolled alkylaminomethylidene derivatives of 2-thiohydantoin by dimethylamine substitution // *Tetrahedron Lett.* - 2002. - V. 43 - P. 8745-8749.
157. Edward J.T., Liu J.K. Thiohydantoin. IX. Tautomerism of some Methylation Products // *Can. J. Chem.* - 1972. - V. 50 - P. 2423-2432
158. Kiec-Kononowicz K., Karolak-Wojciechowska J. Synthesis and spectroscopic properties of fused 5-arylidene-2-thiohydantoin derivatives // *Phosphorus, Sulfur, Silicon, Relat. Elem.* - 1992. - V. 73 - P. 235-238.
159. Tarentino A., Maley F. A comparison of the substrate specificities of endo-beta-N-acetylglucosaminidases from *Streptomyces griseus* and *Diplococcus Pneumoniae* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1975. - V. 67 - P. 455-462.
160. Takeo S. Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside on the mitochondrial function and developmental ability of bovine oocytes // *Theriogenology*. - 2015. - V. 84 - P. 490-497.
161. Chiriano G. et al. A small chemical library of 2-aminoimidazole derivatives as BACE-1 inhibitors: Structure-based design, synthesis, and biological evaluation // *Eur. J. Med. Chem.* - 2012. - V. 48 - P. 206-213.
162. Mukerjee A., Joseph K., Homam S. Triethylamine, ethanol-mediated disciplined reactions of S-benzylisothiuronium chloride with unsaturated 2-oxazolin-5-ones // *Heterocycles*. - 1991. - V. 32 - P. 1317-1325.
163. Watanabe M., Okada H. A facile and region- and stereoselective preparation of bicyclic guanidines by iodocyclization of 3-(Alk-3-enyl)-2-(substituted amino)-1-imidazolin-4-ones // *Tetrahedron*. - 1996. - V. 52 - P. 2827-2838.

164. Caldwell J., Bennett C. Iminoheterocycles as γ -secretase modulators // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2010. - V. 20 - P. 5380-5384
165. Chiriano G. A small chemical library of 2-aminoimidazole derivatives as BACE-1 inhibitors: Structure-based design, synthesis, and biological evaluation // *Eur. J. Med. Chem.* - 2012. - V. 48. - P. 206–213.
166. Ahmed A., Yoysssef L. Abdel-Fatah M. Reaction of 2-thiohydantoin with some diazoalkanes and some amines // *Phosphorus, Sulfur, Silicon, Relat. Elem.* – 2000. - V.160 - P. 77-91.
167. Kamila S., Ankati H., Biehl E.. Microwave assisted Synthesis of Novel Functionalized Hydantoin Derivatives and Their Conversion to 5-(Z)-Arylidene-4H-imidazoles // *Molecules.* - 2011. - V. 16 - P. 5527-5537.
168. Allen T.M. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy // *Nat. Rev. Cancer.* - 2002. - V.2 - P. 750–763.
169. Arangoa M., Düzgüneş N., Tros de Ilarduya C. Increased receptor-mediated gene delivery to the liver by protamine-enhanced-asialofetuin-lipoplexes // *Gene Ther.* 2003. V. 10 - P. 5–14.
170. Kolatkar A. Mechanism of N-acetylgalactosamine binding to a C-type animal lectin carbohydrate-recognition domain // *J. Biol. Chem.* - 1998. - V. 273 - P. 19502–19508.
171. Vadlapudi A., Vadlapatla R.K., Mitra A.K. Sodium dependent multivitamin transporter (SMVT): a potential target for drug delivery // *Curr. Drug Targets.* - 2012. - V.13 - P. 994–1003.
172. Yellepeddi V. Biotinylated PAMAM dendrimers for intracellular delivery of cisplatin to ovarian cancer: role of SMVT // *Anticancer Res.* - 2011. -V. 31 - P. 897–906.
173. Zempleni J., Mock D.M. Marginal biotin deficiency is teratogenic // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Soc. Exp. Biol. Med. N. Y. N.* - 2000. - V. 223 - P.14–21.
174. Majouga A. Cleavage of the C–S bond with the formation of a binuclear copper complex with 2-thiolato-3-phenyl-5-(pyridine-2-ylmethylene)-3,5-dihydro-4H-imidazole-4-one. A new mimic of the active site of N_2O reductase // *Dalton Trans.* - 2013. - V. 42 - P. 6290 – 6293.
175. D. D. LeCloux, R. Davydov, S.J. Lippard. Mixed-Valence Cu(I)–Cu(II) and Heterodimetallic CuI–MII Bis(carboxylate-bridged) Complexes: Structural, Electrochemical, and Spectroscopic Investigations // *Inorg. Chem.*- 1998. – V.37 – P.6814 - 6816.
176. Hu T.-L., Li J.-R., Liu C., Shi X.-S., Zhou J.-N., Bu X.-H., Ribas J. Syntheses, Crystal Structures, and Magneto–Structural Correlations of Novel CuII Complexes Containing a Planar $[Cu(\mu-L_1)]_2$ ($HL_1 = 3-(2\text{-Pyridyl})\text{pyrazole}$) Unit: From Dinuclear to Tetranuclear and Then to One-Dimensional Compounds // *Inorg. Chem.* – 2006 V. 45 – P. 162–173.
177. Beloglazkina E.K., Majouga A.G., Zyk N.V. Synthesis and electrochemical study of complexes of 2-methylthio-5-(pyridylmethylidene)-3,5-dihydro-4H-imidazol-4-ones with

transition metals (Co, Ni, and Cu). Molecular structures of Cu(II)L₁Cl₂ (L₁ is (5Z)-2-methylthio-3-phenyl-5-(α -pyridylmethylidene)-3,5-dihydro-4H-imidazol-4-one) and Co(II)L₂Cl₂ (L₂ is (5Z)-3-methyl-2-methylthio-5-(α -pyridylmethylidene)-3,5-dihydro-4H-imidazol-4-one) // Russ. Chem. Bull. – 2005. - V. 54 - P. 2771–2782.

178. Palanisamy Uma M.. Structure, Cytotoxicity, and DNA-Cleavage Properties of the Complex [CuII(pbt)Br₂] // Inorg. Chem. – 2008. – V. 47 – P.3719-3727.

179. Белоглазкина Е., Мажуга А., Зык Н. 5-(Пиридилметилен)замещенные тиогидантоины и их комплексы с Cu(II), Ni(II) и Co(II): синтез, электрохимическое исследование и адсорбция на модифицированной цистамином поверхности золота // Известия академии наук, Сер. Хим. – 2006. – с. 978 – 980.

180. Ferrari, M., Fornasiero C. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro // J Immunol Methods. – 1990. - V.131 – P.165-172.

181. Paul de H., Christophe B. New Approach for the Preparation of Efficient DNA Cleaving Agents: Ditopic Copper-Platinum Complexes Based on 3-Clip-Phen and Cisplatin // J. Med. Chem. – 2007. – V.50 - P. 3148-3152.

182. Christelle H., Peter F. A β -mediated ROS production by Cu ions: Structural insights, mechanisms and relevance to Alzheimer's disease // Biochimie. – 2009. V.91 – P.1212–1217.

183. Tridib K. ,Sudarshan. Ferrocene-Conjugated Copper (II) Complexes of l-Methionine and Phenanthroline Bases: Synthesis, Structure, and Photocytotoxic Activity // Organometallics. - 2012 – V.318, - P.3010–3021.

184. Arslantas A. DNA Binding and Cleavage Activities of Na[B(Glu)(OH)₂] \cdot 2H₂O, Na[B(Cit)(OH)₂] \cdot 2H₂O, Li[B(Sal)(OH)₂], and Mg[B(Sal)(OH)₂] \cdot 2H₂O Complexes // J. Chem. - 2013. - V. 20 - P. 1–7.

185. Liu J. DNA-binding and cleavage studies of macrocyclic copper(II) complexes // J. Inorg. Biochem. - 2002. - V. 91 - P. 269–276.

186. Sulkowska A. Interaction of drugs with bovine and human serum albumin // Journal of Molecular Structure. – 2002. – V.616 – P. 227-232.

187. G.Z. Chen, X.Z. Huang, J.G. Xu, Z.Z. Zheng, Z.B. Wang, Methods of Fluorescence Analysis, second ed, Science Press, Beijing, 1990

188. Zhanhua W., Marek W. Facile UV-healable polyethylenimine–copper (C₂H₅N–Cu) supramolecular polymer networks // Polym. Chem. - 2013. – V.4 – P.4897-4901.

189. M. Yu, H. Qing, H. Guojian, Z. Shu, W. Wenqing, H. Youfeng, J.T. Kuikka Biodistribution of [⁶⁴Cu]Cu²⁺ and Variance of Metallothionein during Tumor Treatment by Copper // Nuclear medicine and Biology. – 1998. – V. 25 – P. 111-116.

190. Steven J. Frank. A Biodistribution and Toxicity Study of Cobalt Dichloride-*N*-Acetyl Cysteine in an Implantable MRI Marker for Prostate Cancer Treatment // International Journal of Radiation Oncology**Biology*Physics* – 2013, V.85 – P. 1024-1030

191. Беленький М. Л. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.– 2005. – с. 637-651
192. Wilfred L.,Cristina Li. Purification of Laboratory Chemicals. Sixth Edition. - 2009 – P.752 – 753.
193. Khodair A. Glycosylation of 2-thiohydantoin derivatives. Synthesis of some novel S-alkylated and S-glucosylated hydantoins // Carbohydr. Res. – 2001. – V. 331 – P. 445-449.
194. Daniel L., Xiao-D. Trifunctional Agents as a Design Strategy for Tailoring Ligand Properties: Irreversible Inhibitors of A₁ Adenosine Receptors // Bioconjug Chem. – 1991. – V.2 – P. 77–88.
195. Robert H., Adam N. A two-directional synthesis of the C58–C71 fragment of palytoxin // Org. Biomol. Chem. - 2004. - V.2 – P. 373–386.
196. Haruto W., Masayoshi M. Affinity-Labeling-Based Introduction of a Reactive Handle for Natural Protein Modification // Chemistry - an Asian Journal. – 2008 .– V.3 – P. 1134 – 1139.