

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ЗУБКОВ ВАДИМ ОЛЕКСІЙОВИЧ

УДК 615.076:547.541.521:547.544.3:547.831

**СИНТЕЗ, ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА
АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ХІНОЛІН-2-ОНІВ,
ХІНОЛІН-4-ОНІВ ТА 2,4-ПРОЛІДИНДІОНІВ**

15.00.02 — фармацевтична хімія і фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фармацевтичних наук

Харків – 2013

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі медичної хімії Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий консультант: доктор хімічних наук, професор
Гриценко Іван Семенович
*Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри медичної хімії.*

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
Петюнін Геннадій Павлович
*Харківська медична академія післядипломної
освіти, завідувач кафедри клінічної біохімії,
судово-медичної токсикології та фармації;*

доктор фармацевтичних наук, професор
Коваленко Сергій Іванович
*Запорізький державний медичний університет,
завідувач кафедри органічної та біоорганічної
хімії;*

доктор фармацевтичних наук, професор
Лесик Роман Богданович
*Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, професор кафедри
фармацевтичної, органічної і біоорганічної
хімії.*

Захист відбудеться «4» квітня 2013 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «4» березня 2013 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В. А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Розробка та впровадження в практичну медицину нових лікарських засобів є наукомістким та високотехнологічним процесом, який є одним з пріоритетних напрямків, що забезпечують соціальну, економічну та в цілому національну безпеку країни. Про актуальність та важливість цієї проблеми на сьогоднішній день в Україні свідчить прийняття «концепції державної цільової науково-технічної програми створення та проведення доклінічних випробувань вітчизняних лікарських засобів для забезпечення охорони здоров'я людини та задоволення потреб ветеринарної медицини на 2011-2015 роки».

Перспективними хімічними скафолдами в створенні лікарських засобів є хінолін-2-они, хінолін-4-они та 2,4-піролідиндіони. З одного боку, похідні цих гетероциклів добре відомі як багаточисельні лікарські препарати з різними фармакологічними профілями, серед яких слід відзначити таких представників як: фторхінолонові антибіотики та антибіотики на основі тетрамової кислоти; протималярійні препарати і засоби, що впливають на ЦНС. З іншого боку, останнім часом знайдені і активно досліджуються нові обрії прояву біологічної активності похідних хінолонів і 2,4-піролідиндіонів як протиракових агентів і сполук, що беруть безпосередню участь у сигнальних процесах популяцій бактерій – Quorum Sensing (QS). Створення лікарських засобів, т.з. «ядів патогенності», що здатні пригнічувати функціонування QS систем є абсолютно новою та перспективною стратегією сучасної антимікробної терапії.

Тому пошук БАР серед похідних хінолін-2-онів, хінолін-4-онів та 2,4-піролідиндіонів і розробка нових оригінальних лікарських препаратів на їх основі є актуальним напрямком дослідження, що має теоретичну та практичну значимість.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету з проблеми МОЗ України «Хімічний синтез і аналіз біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (номер державної реєстрації 0103U000475) та плану Проблемної комісії "Фармація" МОЗ України (протокол №58 від 17.06.2009 р.).

Мета і задачі дослідження. Метою дисертаційної роботи є цілеспрямований синтез та одержання хімічного різноманіття серед похідних алкіл- і сульфозаміщених хінолін-2-онів і хінолін-4-онів, а також в ряду N-заміщених піролідин-2,4-діонів, пошук серед них вискоєфективних біологічно активних сполук, перспективних для впровадження в медичну практику, використання на усіх етапах досліджень методів хемоінформатики для ефективного вирішення завдань.

Для досягнення поставленої мети були передбачалось вирішити наступні завдання:

- вивчити особливості реакційної здатності 4-метилхінолін-2-онів, 4-гідроксихінолін-2-онів і 2-метилхінолін-4-онів в реакціях алкілування, бромовання та сульфохлорування з подальшим синтезом нових систематичних рядів функціоналізованих похідних цих гетероциклів;
- розробити ефективні способи одержання 3-алкіламінохінолін-4-онів виходячи з основ Маніха та з 2-метил-3-карбальдегід-хінолін-4-ону;
- здійснити синтез N-заміщених 2,4-піролідиндіонів та дослідити особливості їх будови;
- дослідити поведінку етилових естерів 4-гідрокси-1-R-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот у реакціях з N-нуклеофілами;
- довести будову синтезованих сполук за допомогою сучасних фізико-хімічних методів, а також ab initio квантово-хімічних розрахунків;
- використати комп'ютерні методи визначення молекулярної подібності для виявлення схожості між нейромедіатором серотоніном і похідними 3-амінометилхінолін-4-онів та створити алгоритм раціонального ліганд-орієнтованого віртуального скринінгу на основі некомерційного програмного забезпечення;
- провести фармакологічний скринінг в ряду 3-амінометилхінолін-4-онів для виявлення нейротропної активності цих сполук;
- провести in silico дослідження методом молекулярного докінгу похідних сульфохінолонів як потенціальних інгібіторів урокіназного плазміногенного активатора, на основі чого визначити можливий механізм дії сполук та надати рекомендації щодо раціонального дизайну нових БАР;
- провести різноплановий фармакологічний скринінг для синтезованих сполук, по його результатам обрати найбільш перспективну сполуку, для якої провести поглиблені in silico та in vivo дослідження.

Об'єкт дослідження – синтез та дослідження алкіл- і сульфопохідних хінолін-2-онів, алкілпохідних 2-метил-1Н-хінолін-4-онів, похідних піролідин-2,4-діонів.

Предмет дослідження – методи синтезу, фізико-хімічні та біологічні властивості алкілпохідних 2-метил-1Н-хінолін-4-онів, сульфопохідних хінолін-2-онів, похідних N-заміщених 2,4-піролідиндіонів і продуктів їх хімічних перетворень.

Методи дослідження – методи органічного синтезу, хімічні, фізичні та фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (елементний аналіз, ІЧ-, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопія, мас-спектрометрія, рентгеноструктурний аналіз, ТШХ), методи дослідження біологічної активності сполук, методи молекулярного моделювання з використанням ab initio квантово-хімічних розрахунків - GAMESS, напівемпіричних розрахунків - МОРАС та методів молекулярної механіки, методи ліганд-орієнтованого віртуального скринінгу засновані на програмному забезпеченні BlueObelisk Foundation, методи молекулярного докінгу - Autodock, статистичні методи обробки і методи 3D кластеризації.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведені цілеспрямовані дослідження 3-амінометилхінолін-4-онів як засобів, що мають вплив на ЦНС. З цією метою здійснено синтез 3-амінометилхінолін-4-

онів відновним амінуванням 2-метил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбальдегіду та розроблені препаративні способи одержання 3-амінометилхінолін-4-онів переамінуванням 3-диметиламінометил-2-метил-1Н-хінолін-4-онів. Вперше було виділено і охарактеризовано N,N,N-трис((2-метил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-іл)метил)гексан-1-амоніум гідросульфат, одержаний при взаємодії кватернізованих солей триметил-[(2-метил-4-оксо-1Н-хінолін-3-іл)метил]амонію з гексиламіном. Досліджено молекулярну подібність похідних 3-амінометилхінолін-4-онів з нейромедіатором серотоніном за допомогою методів ліганд-орієнтованого віртуального скринінгу, що дозволило провести цілеспрямований нейрофармакологічний скринінг для цього класу сполук.

Розроблені й оптимізовані препаративні методи синтезу систематичних рядів О-алкілзаміщених 2-метилхінолінів, 2-N-R-амінометил-3-бензилхінолін-4-онів, 3-алкіл-2-метилхінолін-4-онів та 4-хлор-, 4-тіо- та 4-амінопохідних на їх основі. За допомогою даних ^{13}C ЯМР-спектроскопії та *ab initio* квантово-хімічних розрахунків в різних наближеннях (обмежений метод Хартрі-Фока, DFT і MP2) показано, що хінолін-4-они та їх похідні існують у розчині в оксо-формі.

Вперше для 4-метил-2(1Н)-хінолонів встановлена регіоселективність О- або N-алкілювання в реакціях з хлорацетамідами. Показано, що напрямок алкілювання залежить від наявності метильної групи в положенні С(8). На основі молекулярного моделювання і даних ^1H ЯМР-спектроскопії запропоновано вірогідний механізм даної взаємодії.

Досліджено напрямок перебігу реакції сульфохлорування 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-ону та 4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів. Вперше встановлено, що взаємодія 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-ону та 4,6,8-триметил-1,2-дигідрохінолін-2-ону з хлорсульфоновою кислотою перебігає за положенням С(3) з утворенням відповідних дисульфонів. Запропоновано спосіб одержання нових сполук – 6-алкілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів, виходячи з 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфохлориду через стадію утворення відповідної сульфінової кислоти. Розроблені та оптимізовані препаративні методи синтезу систематичних рядів похідних 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів та похідних 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфонілоцтової кислоти.

На основі SAR аналізу проведено цілеспрямований фармакологічний скринінг ряду 4 метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів, за допомогою якого виявлені перспективні сполуки – аналоги тіазидних діуретиків. Вперше за допомогою докінгових досліджень запропоновано пояснення закономірностей впливу 6-сульфонілпохідних 4 метил-1,2-дигідрохінолін-2-ону на систему згортання крові та надані рекомендації щодо подальшого молекулярного дизайну інгібіторів урокіназного активатору плазміногену.

Виходячи з етилових естерів 4-гідрокси-1-арил-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот, розроблені препаративні способи одержання систематичних рядів амідів 4-гідрокси-1-арил-1,5-дигідропірол-2-он-3-

карбонових кислот та 4-*R*-аміно-1-арил-1,5-дигідропірол-2-онів. Вперше показано, що 4-*R*-аміно-1-арил-1,5-дигідропірол-2-они можуть бути одержані внутрішньомолекулярним перегрупуванням анілідів 4-гідрокси-1-*R*-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот при нагріванні в ДМФА. Вперше досліджена реакція етилових естерів 4-гідрокси-1-арил-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот з *o*-фенілендіаміном, яка приводить до утворення 2-феніл-2,3,4,9-тетрагідро-бензо[*b*]піроло[3,4-*e*][1,4]діазепін-1,10-діону, який здатен до перегрупування в 4-гідрокси-1-феніл-3-(1Н-бензімідазол-2-іл)-1,5-дигідропірол-2-он.

Фармакологічний скринінг виявив значний потенціал 4-*R*-амінопохідних 1-*R*-1,5-дигідропірол-2-онів як речовин з анальгетичною, протизапальною, жарознижуючою, антиоксидантною та мембраностабілізуючою дією. Проведений молекулярний докінг для похідних 4-*R*-аміно-1-арил-1,5-дигідропірол-2-онів показав, що досліджені сполуки є інгібіторами ЦОГ-2, що говорить про новий скафолд серед відомих інгібіторів циклооксигенази.

Наукова новизна результатів дослідження підтверджена 10 патентами України на винахід.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені нові синтетичні методи, що сприяють суттєвому розширенню хімічного різноманіття в рядах алкіл- і сульфопохідних хінолін-2-онів, алкілпохідних 2-метил-1Н-хінолін-4-онів, а також *N*-заміщених похідних піролідін-2-ону. Розроблені препаративні методи одержання маловивчених класів сполук – 2-метиламінозаміщених 1Н-хінолін-4-онів, 6-алкілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів, амідів 4-гідрокси-1-арил-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот та 4-*R*-аміно-1-арил-1,5-дигідропірол-2-онів можуть бути використані в подальшому пошуку БАР.

Результати досліджень таутомерії похідних 1Н-хінолін-4-онів за допомогою ¹³C ЯМР-спектроскопії та квантово-хімічних розрахунків, можуть бути покладені в основу якісних аналітичних методів встановлення і підтвердження структур органічних речовин. Запропоновано універсальний алгоритм ліганд-орієнтованого віртуального скринінгу та виявлення молекулярної подібності органічних сполук на основі некомерційного програмного забезпечення, який дозволяє ефективно проводити раціональний пошук і наступний молекулярний дизайн БАР.

За результатами фармакологічних досліджень виявлено ряд нових ефективних сполук з антидепресивною, анксіолітичною, ноотропною, діуретичною, гематостатичною, анальгетичною, протизапальною та антиоксидантною активностями. Встановлені деякі кореляційні залежності «структура-активність» для сполук, що вивчаються, та визначено ряд рекомендаційних критеріїв для цілеспрямованого синтезу сполук з прогнозованими біологічними властивостями в рядах хінолін-2-онів, хінолін-4-онів і пірол-2-онів. Для поглибленого вивчення як новий нестероїдний протизапальний засіб запропоновано (2-метилфеніл)аміно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-он під умовною назвою «Ортолон».

Результати, одержані при виконанні роботи, впроваджені в науково-дослідну та навчальну діяльність вищих навчальних закладів (Львівського національного медичного університету ім. Д.Галицького, Національного університету «Львівська політехніка», ДВНЗ "Український державний хіміко-технологічний університет") та наукових установ України (ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»).

Особистий внесок здобувача. Автором здійснено аналіз і систематизацію літературних даних за темою дисертації, сформульовані цілі та задачі дослідження, виконана експериментальна синтетична частина роботи, проведена інтерпретація і узагальнення результатів спектральних досліджень синтезованих сполук, здійснена більша частина квантово-хімічних розрахунків і молекулярного моделювання. Співавторами наукових публікацій є науковий консультант, а також вчені, сумісно з якими проводились фізико-хімічні та біологічні дослідження.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались на XIX Українській конференції з органічної хімії (м. Львів, 10-14 верес. 2001 р.); VI Національному з'їзді фармацевтів України «Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України» (м. Харків, 28-30 верес. 2005 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Науково-технічний прогрес і оптимізація технології процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 6-7 квіт. 2006 р.); International Conference «CNCH» (Kharkov, 2-7 Oct. 2006, 5-9 Oct. 2009, 12-16 Nov. 2012); II Міжнародній науково-практичній конференції «Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономічні дослідження лікарських засобів та біологічно активних добавок» (м. Харків, 12-13 жовт. 2006 р.); X Конференції молодих учених та студентів-хіміків південного регіону України (м. Одеса, 16-17 жовт. 2007 р.); III Міжнародній науково-технічній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (м. Дніпропетровськ, 22-24 трав. 2007 р.); науково-практичній конференції «Проблеми винахідницької та раціоналізаторської діяльності в Харківській області» (м. Харків, 23 верес. 2008 р.); Національній науково-технічній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук та фармацевтичних препаратів» (м. Львів, 15-18 жовт. 2008 р.); Всеукраїнському конгресі «Сьогодення та майбутнє фармації» (м. Харків, 16-19 квіт. 2008 р.); VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Клінічна фармація в Україні» (м. Харків, 2008 р.); Українській науково-практичній конференції, присвяч. пам'яті д-ра хім. наук, проф. П. О. Петюніна (до 95-річчя з дня народження) «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій» (м. Харків, 26 лют. 2009 р.); International Symposium on Advanced Science in Organic Chemistry (ASOC-2010) (Miskhor (Crimea), June 21-25, 2010); VII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (м. Харків, 15-17 верес. 2010 р.); XXII Українській конференції з органічної хімії (м. Ужгород, 20-25 вересня 2010

р.); 4 науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 29-30 верес. 2011 р.); IV Національному з'їзді фармакологів України (м. Київ, 10-12 жовт. 2011 р.); III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 30-31 жовт. 2012 р.).

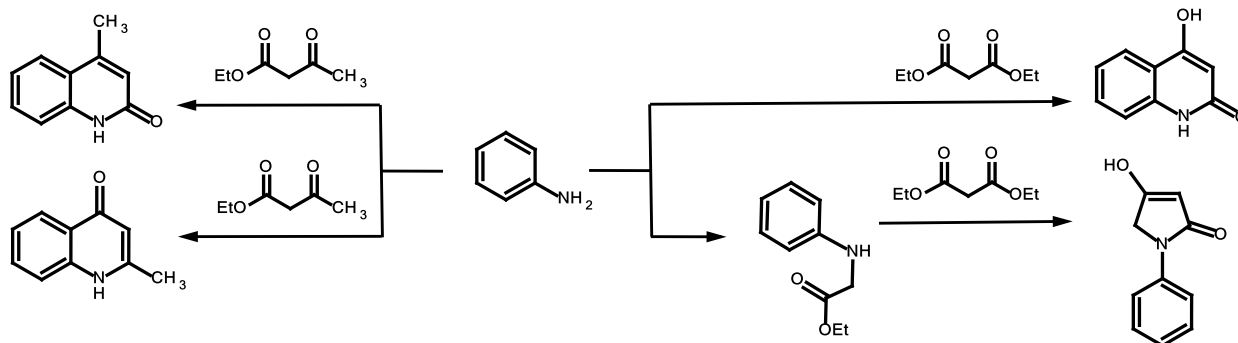
Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 76 робіт, з них – 25 статей у фахових наукових виданнях, 41 тез доповідей, одержано 10 патентів України на винахід.

Структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, п'яти розділів експериментальної частини, загальних висновків, списку використаних джерел, додатків. Загальний обсяг дисертації складає 276 сторінок. Робота ілюстрована 68 схемами, 53 рисунками і 18 таблицями. Перелік використаних літературних джерел містить 484 найменувань, з яких 411 іноземних.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Останні досягнення в хімії хінолонів і піролонів (огляд літератури). Проаналізовані, систематизовані та узагальнені дані літератури щодо методів синтезу похідних хінолін-4-онів, хінолін-2-онів та піролідин-2,4-діонів. З літературних даних видно подібність методологій конструювання гетероциклічних систем хінолонів і N-арілзаміщених піролідин-2,4-діонів виходячи з анілінів та β -дикарбонільних сполук.

Схема 1



С точки зору пошуку нових БАР, похідні хінолонів і піролонів мають значні переваги, оскільки вони апріорі є лікоподібними (drug-likeness) сполуками з нескладним і малостадійним синтезом базових гетероциклів та широким спектром фармакологічної дії.

Розділ 2. Алкілпохідні хінолін-2-онів та хінолін-4-онів. Регіоселективний синтез 4-алкоксипохідних хінолін-2-онів. N-незаміщені хінолін-2-они можуть бути депротоновані під дією відповідних основ, генеруючи при цьому амбідентний аніон, внаслідок чого алкілування цих сполук може перебігати з утворенням як N-, так і O-алкілпохідних, або ж суміші обох ізомерів. У випадку 4-гідроксихінолін-2-онів варіанти напрямку алкілування теоретично подвоюються, тому що необхідно додатково брати

до уваги такі реакційні центри як фенольний гідроксил 4-гідроксигрупи та атом Карбону положенні С(3) гетероциклу.

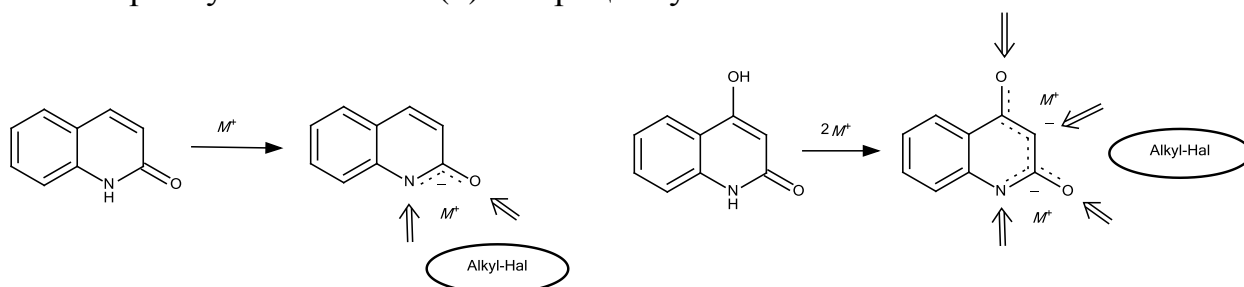
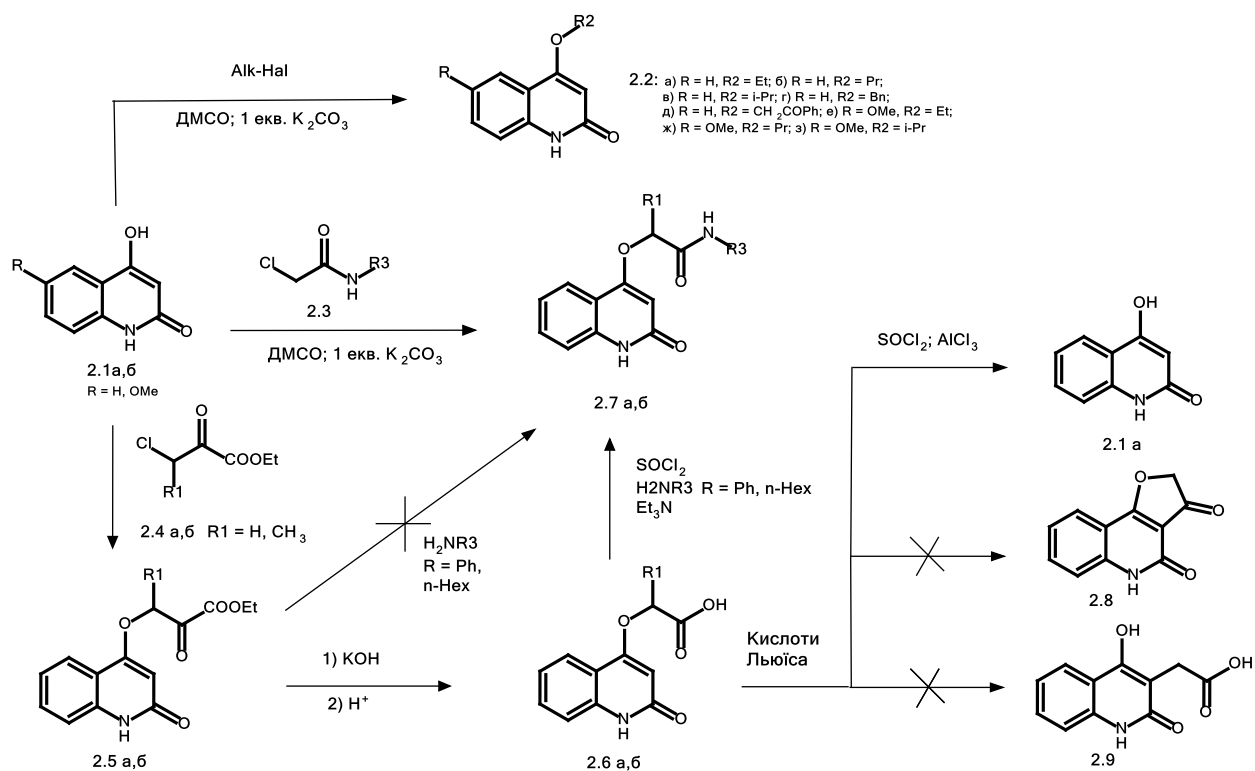


Рис. 1. Можливі напрямки алкілювання хінолін-2-онів.

З метою збільшення хімічного різноманіття серед похідних хінолін-2-онів нами було запропоновано простий спосіб регіоселективного синтезу 4-алкоксипохідних хінолін-2-онів, який полягає в алкілюванні 4-гідрокси-2-хінолонів з застосуванням еквімолярної кількості K_2CO_3 та проведенні реакції в ДМСО. Синтез проводиться в два етапи: спочатку перемішують 4-гідроки-2-хінолони **2.1** з поташем у мінімальній кількості ДМСО до повного розчинення суспензії, після чого до реакційної суміші додаються алкілгалогеніди (схема 2).

Схема 2

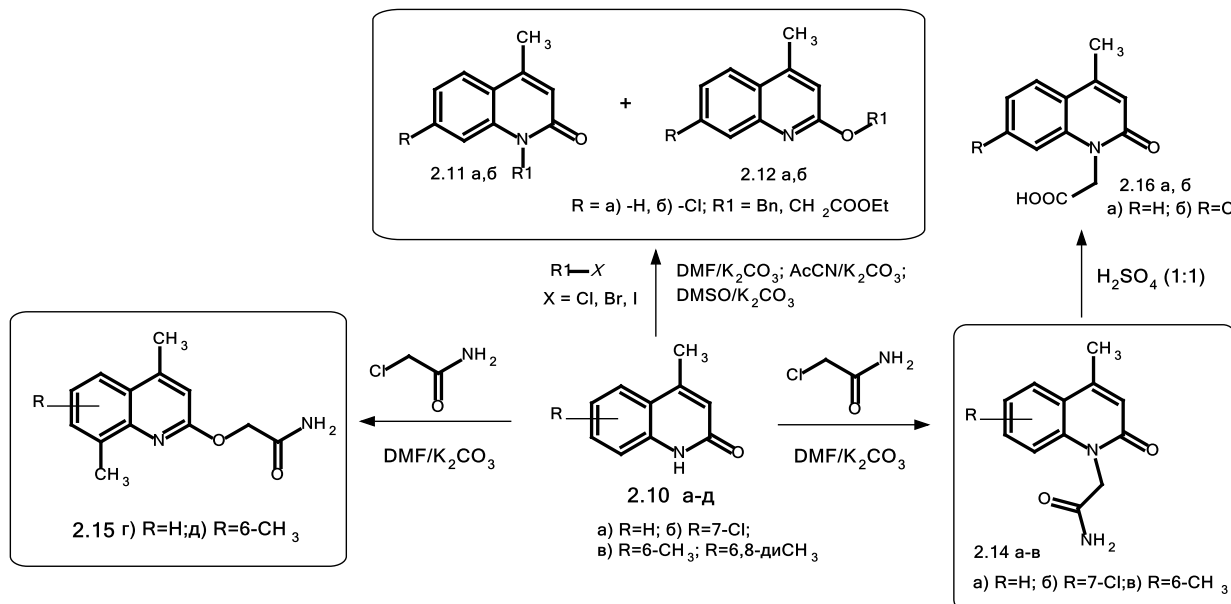


Для синтезу 2-[(2-оксо-1Н-хінолін-4-іл)окси]ацетамідів **2.7** було застосовано дві синтетичні схеми: перший спосіб представляє собою безпосередню взаємодію хінолону **2.1** з α -хлорацетанлідом у системі ДМСО/ K_2CO_3 . Другий спосіб заснований на амідуванні [(2-оксо-1Н-хінолін-4-іл)окси]оцтової кислоти **2.6**.

Під дією ПФК 2-оксо-1Н-хінолін-4-іл)окси]оцтова кислота **2.6a** не зазнає змін, а при спробі провести внутрішньомолекулярне ацилювання за Фриделем-Крафтсем було виділено незаміщений 4-гідроксихінолін-2(1Н)-он **2.1a**.

Реакційна здатність і селективність алкілювання 4-метил-2(1H)-хінолонів амідами хлороцтової кислоти. Відомо, що предомінантним ізомером при алкілюванні хінолін-2-онів алкілгалогенідами є N-алкілований хінолон. При алкілюванні 4-метил-2(1H)-хінолонів **2.10** бензилхлоридом і етилхлорацетатом в середовищах ДМФА, ДМСО, а також ацетонітрилу в присутності поташу ми спостерігали утворення суміші N- та O-алкілованих продуктів **2.11** та **2.12**, з переважанням першого (схема 3).

Схема 3



При порівнянні ПМР-спектра суміші хінолінів зі спектром вихідного 4-метил-2(1H)-хінолінону **2.10a** можна побачити достатньо помітну різницю між значеннями хімічних зсувів протонів у С-3 положенні N-бензильного похідного **2.11a** від незаміщеного хінолоноу – 6.63 та 6.38 м.ч. відповідно.

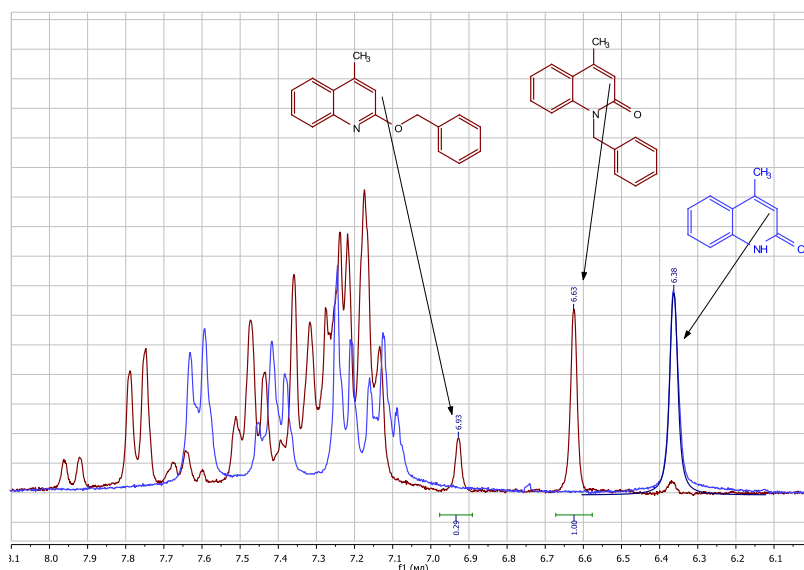


Рис. 2 ПМР-спектри суміші хінолінів **2.11a**, **2.12b** та вихідного 4-метил-2(1H)-хінолінону **2.10a**.

Для пояснення цього факту було проведено молекулярне моделювання з автооптимізацією геометрії молекул 4-метил-2(1H)-хінолоноу **2.10a** за алгоритмом градієнтного спуску в силовому полі MMFF94s і

квантово-хімічні розрахунки в наближенні B3LYP/6-31++G** (DFT). Згідно цим даним, більш енергетично вигідним є існування 4-метил-2(1H)-хінолону в вигляді димеру **2.13**, з утворенням водневих зв'язків довжиною 2,86 Å.

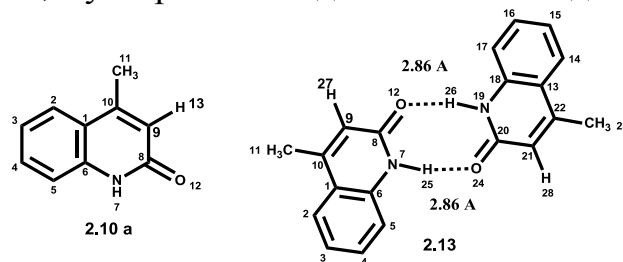


Рис. 3 Структури 4-метил-2(1H)-хінолону **2.10a** і його димеру **2.13**.

Таблиця 1

Значення повних енергій (E_h) та ефективних атомних зарядів $a.e$ для **2.10a** та **2.13**

Сполука	Загальна енергія (Хартрі E_h)	Атоми	Ефективні атомні заряди $a.e$		
			по Маллікену	по Ловдіну	по Бейдеру
2.10 a	-516.2127977041	H (13)	0.141568	0.186092	0.0401
		C (9)	-0.7241846	-0.164840	-0.0132
2.13	-1032.4536367655	H (27)	0.131119	0.184829	0.0346
		C (9)	-0.293158	-0.165976	-0.0135

Згідно з результатами розрахунків, в молекулі димеру **2.13** за рахунок перерозподілу збільшується електронна густина на атомах в положеннях C(3) і H(3), що добре співвідноситься з зсувом у сильне поле сигналу протона H(3) в спектрі ПМР 4-метил-2(1H)-хінолону (Рис. 2).

Алкілювання хлорацетамідом 4-метил-2(1H)-хінолонів **2.10** у системі ДМФА/ K_2CO_3 привело до несподіваних результатів. Замість прогнозованої суміші ізомерів були одержані індивідуальні N- **2.14** і O-алкіловані **2.15** хінолони, а напрямок алкілювання залежав від наявності замісника при C-8 положенні вихідних хінолонів (Схема 3). На основі молекулярного моделювання (ММ) було запропоноване пояснення регіоселективності такого алкілювання за рахунок утворення комплексів з водневими зв'язками між хінолоном, хлорацетамідом і поташом.

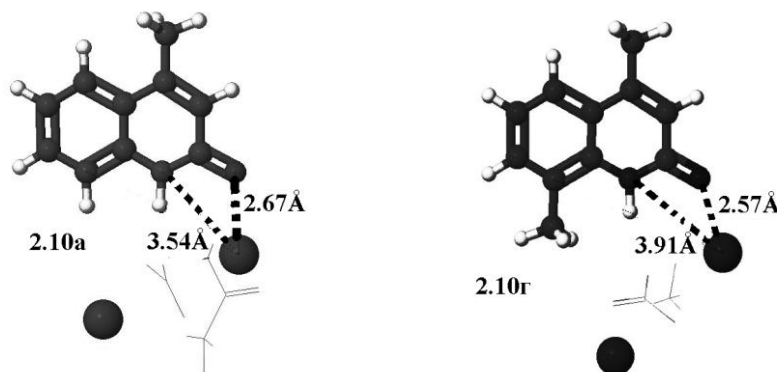


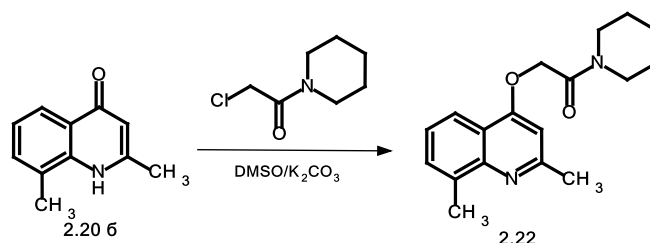
Рис. 4 Комплекси хінолонів **2.10a** та **2.10г** з хлорацетамідом і K_2CO_3 .

Вимірявши міжатомну відстань, можна відзначити, що один з катіонів калію в комплексі з незаміщеним хінолоном **2.10a** знаходиться ближче до атому

азоту, ніж у комплексі с 8-метилпохідним **2.10г**, і ці відстані складають 3.54 Å та 3.91 Å відповідно. Навпаки, відстань між атомами кисню та калію менше у випадку 8-метилпохідного **2.10г**, ніж для незаміщеного хінолону **2.10а** – 2.57 Å і 2.67 Å. Як наслідок, за рахунок поляризації зв'язків або C(2)-N, або C(2)-O буде збільшуватися електронна густина на відповідних гетероатомах хінолінів, що і веде до регіоселективного перебігу алкілювання.

Вивчення реакції алкілювання хінолін-4-онів алкілгалогенідами. Хінолін-4-они можуть існувати у вигляді двох таутомерних форм, тому алкілювання 2-алкілхінолін-4-онів алкілгалогенідами в присутності неорганічних основ може проходити неоднозначно. З метою дослідження напрямку реакції алкілюванням 2-метил-1Н-хінолін-4-онів була обрана модельна реакція взаємодії 2,8-диметилхінолін-4-ону **2.20б** з піперидиламідом хлороцтової кислоти (схема 4). В результаті реакції було одержано індивідуальну сполуку, структуру якої було встановлено за допомогою ЯМР-спектроскопії та рентгеноструктурного аналізу.

Схема 4



В ЯМР спектрах 2,8-диметил-4-(2-оксо-2-піперидин-1-ілетокси)хіноліну **2.22** спостерігаються характерні сигнали протону в 3-му положенні (6,84 м.ч.) і вуглецю в 4-му положенні гетероцикла (160,65 м.ч.).

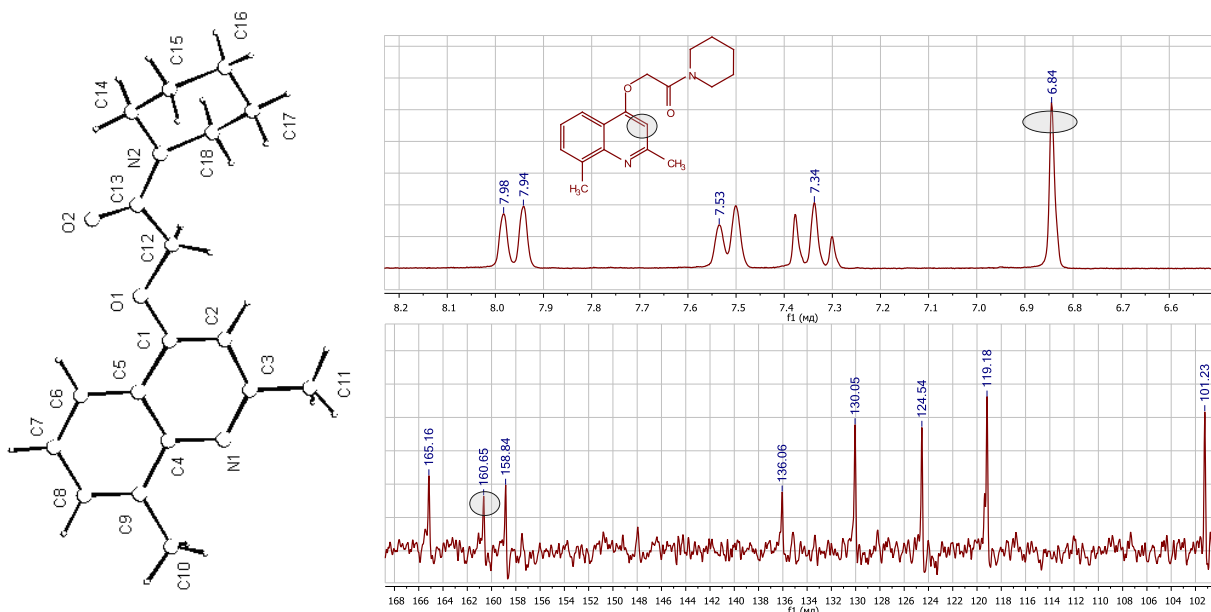


Рис. 5 Просторова будова та ЯМР ¹H і ¹³C спектри сполуки **2.22**.

Беручи до уваги той факт, що в літературі та наукових базах даних ще немає однозначної думки про те, в якій таутомерній формі знаходиться той чи інший представник хінолін-4-ону, було сплановано виробити чіткі та

універсальні критерії, за якими можна однозначно класифікувати структури 4-оксо- або 4-гідрокси ізомерів похідних хінолін-4-онів. Для досягнення даної мети було обрано метод ^{13}C ЯМР спектроскопії та *ab initio* квантово-хімічні розрахунки в різних наближеннях (обмежений метод Хартрі-Фока, DFT і MP2), для ізольованих молекул і для розчинів з використанням емпіричної корекції ефектів розчинників (процедура PCM COSMO). Експериментальні дослідження, теоретичні розрахунки і обговорення одержаних результатів були проведені сумісно зі старшим науковим співробітником Інституту органічної хімії НАН України, канд. хім. наук Роженько А.Б. Як об'єкти дослідження були обрані чотирнадцять хінолін-4-онів та сполуку **2.22** (рис. 6). Спектр ^{13}C ЯМР 4(1H)-хінолінону було взято з бази даних Spectral Database for Organic Compounds, SDBSWeb: <http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, date of access); спектр 2-метил-1H-хінолін-4-ону **2.20a** – з бази даних Sigma-Aldrich <http://www.sigmaaldrich.com>.

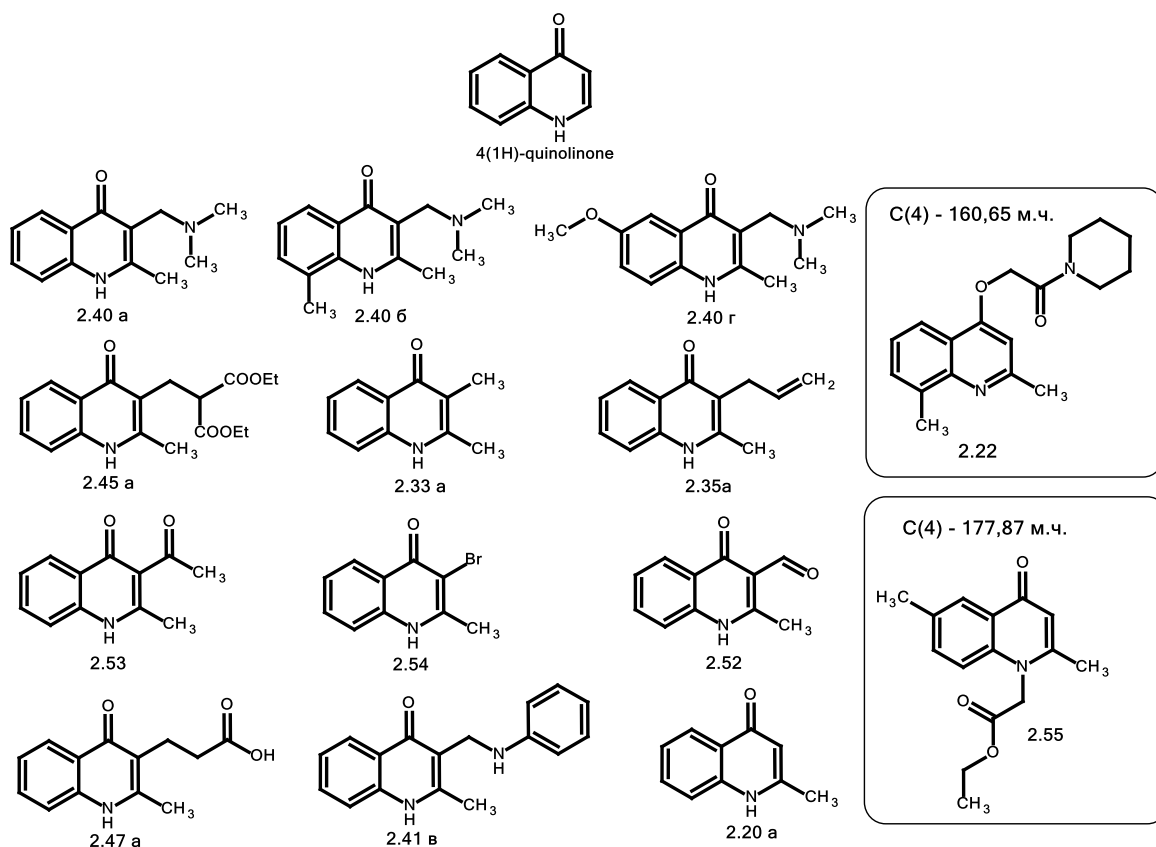
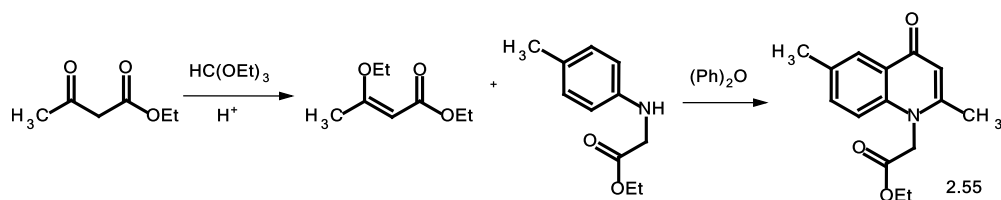


Рис. 6 Об'єкти дослідження хінолін-хінолонової таутомерії.

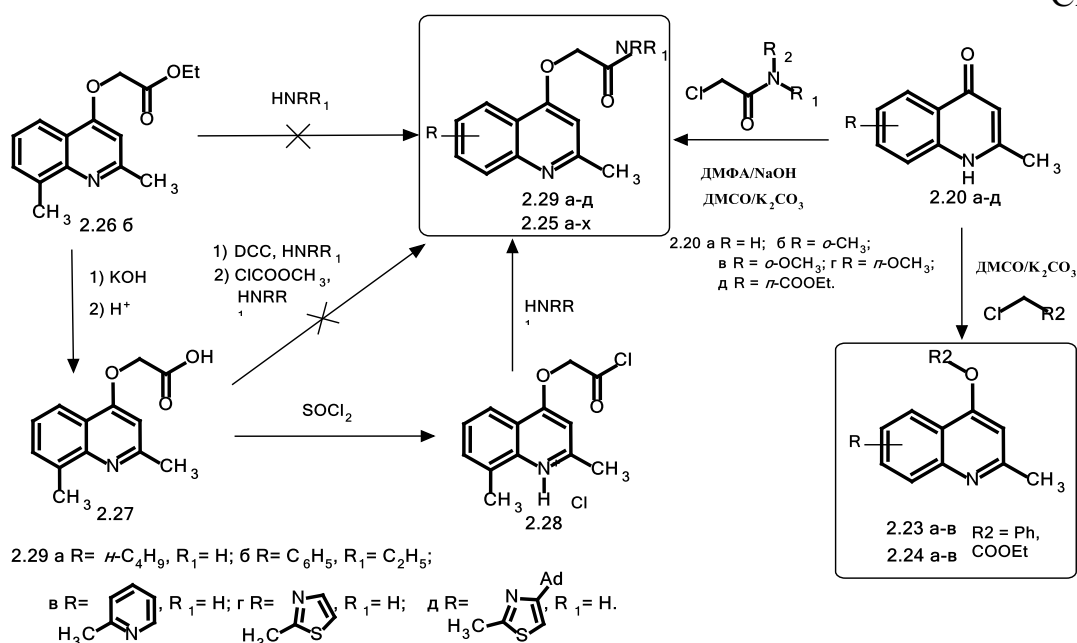
Для однозначної інтерпретації експериментальних спектральних результатів були визначені модельні О- і N-ізомери. Для О-ізомеру як модель було обрано 2,8-диметил-4-(2-оксо-2-піперидин-1-ілетокси)хінолін **2.22**. N-ізомерний хінолон – етиловий естер 2-(2,6-диметил-4-оксохінолін-1-іл)оцтової кислоти **2.55** було синтезовано з виходом 31% за наступною схемою (схема 5):



За аналітичну ознаку, яка дозволяє стверджувати про існування сполук у 4-оксо- або 4-гідроксиформі, було обрано хімічний зсув атому вуглецю в 4-му положенні. Згідно з літературними даними і комп'ютерно-прогнозованими спектрами наявність цього сигналу при 160-165 м.ч. свідчить про 4-гідрокси ізомер, в той же час сигнал при 175-180 м.ч. говорить про утворення 4-оксоформи хінолінів. Це підтверджується експериментальними даними: в спектрах ЯМР ^{13}C модельних сполук, де сигнал вуглецю C(4) проявляється при 160,65 м.ч. для 2,8-диметил-4-(2-оксо-2-піперидин-1-ілетокси)хіноліну **2.22** і при 177,87 м.ч. для етилового естеру 2-(2,6-диметил-4-оксохінолін-1-іл)оцтової кислоти **2.55**. Як показали результати ЯМР-спектроскопії, у всіх спектрах досліджених сполук наявний сигнал при 175-177 м.ч. Дещо випадає з загальної картини сполука **2.54**, для якої цей сигнал проявляється при 171 м.ч. Такий невеликий зсув в сильне поле пов'язаний зі специфічним ефектом атома бром у 3-му положенні хінолону, що підтвердилось проведеними квантово-хімічними розрахунками. Ні в одному спектрі не спостерігалось ще одного набору сигналів, що свідчить про повну відсутність або про надзвичайно малу, таку, що не реєструється, кількість таутомерних 4-гідроксихінолінів.

Розширення молекулярного різноманіття у ряду похідних 4-алкокси-2-метилхінолінів. З метою пошуку нових БАР було проведено алкілювання 2-метилхінолін-4-онів **2.20** різноманітними алкілгалогенідами з утворенням відповідних алкоксипохідних **2.23**; **2.24**; **2.25** (схема 6).

Схема 6

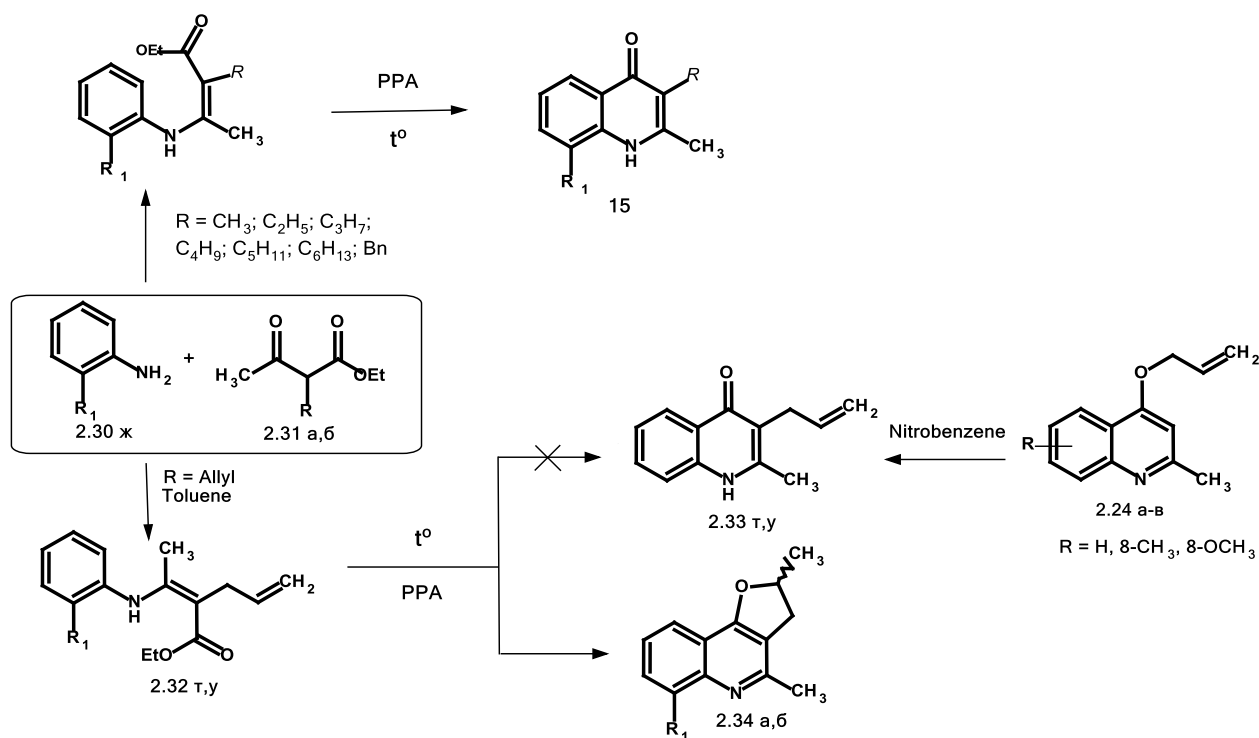


Синтез цільових 2-(2-метилхінолін-4-ілокси)ацетамідів **2.29** було здійснено амідуванням відповідної кислоти при активації останньої тіонілхлоридом.

Синтез 3-алкілпохідних хінолін-4-онів. Одержання систематичних рядів 3-алкілзаміщених 2-метилхінолін-4-онів було проведено за методом Конрада-Лімпах, використовуючи як β -дикарбонільну компоненту відповідні алкілацетооцтові естери (схема 7).

Нетипово перебігала реакція при використанні в конденсації з ароматичними амінами алілацетооцевого естеру. В результаті взаємодії естеру з аніліном та наступної циклоконденсації при нагріванні в поліфосфорній кислоті замість очікуваного 3-аліл-2-метилхінолін-4-ону з виходом 15% був виділений 2,4-диметил-2,3-дигідрофуоро[3,2-с]хінолін **2.34**. Синтезувати 3-аліл-2-метилхінолін-4-они **2.33** с високими виходами вдалось за допомогою термічного перегрупування Кляйзена відповідних О-аліл-2-метилхінолінів **2.24**.

Схема 7



Ефективний спосіб синтезу 3-заміщених хінолін-4-онів за участю основ Манніха. Відомо, що реакції електрофільного заміщення перебігають переважно по положенню С(3) хінолонового цикла. Проведені *ab initio* квантово-хімічні розрахунки (DFT, B3LYP, 31G(d)) також свідчать, що найбільш ймовірними центрами для електрофільної атаки є положення С(3) і С(6) 2-метил-1Н-хінолін-4-онів.

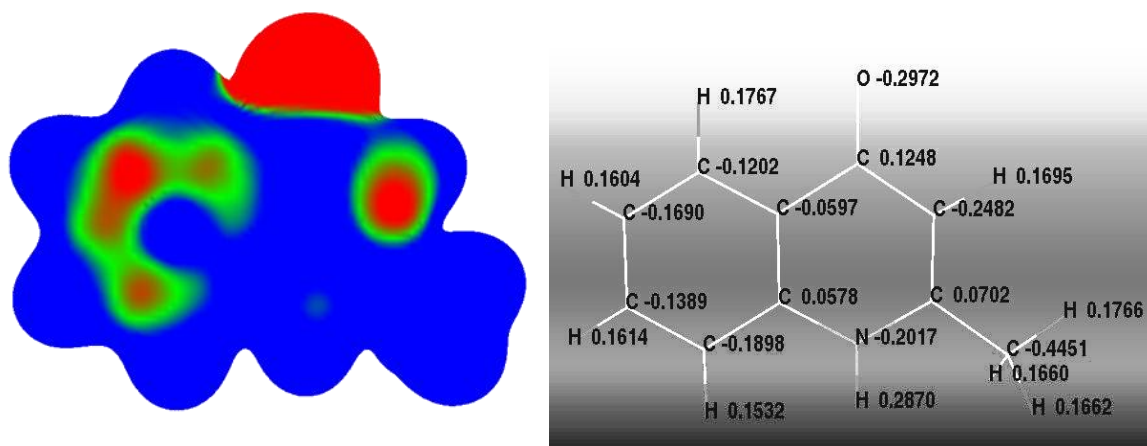
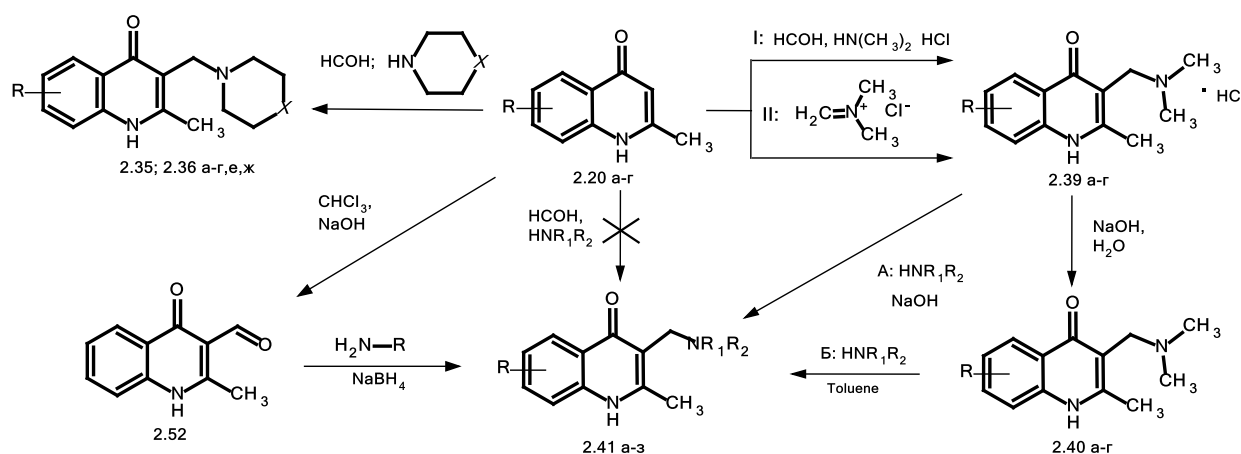


Рис. 7 Розподіл електронної густини і заряди на атомах (по Левдіну) в молекулі 2-метил-1Н-хінолін-4-ону (значення контуру поверхні – 0.01, молекулярного електростатичного потенціалу – -0.01).

Одним зі зручних способів введення як незаміщених, так і функціонально модифікованих алкільних груп є синтез за участю основ Манніха. В класичних умовах реакції 2-метил-1Н-хінолін-4-они **2.20** з хорошими виходами утворюють 3-гетерилметилзаміщені хінолони **2.35**, **2.36** (схема 8), і, як і можна було передбачити, при використанні первинних амінів реакція відбувається з утворенням переважно побічних продуктів не розчинних у більшості органічних розчинників.

Схема 8

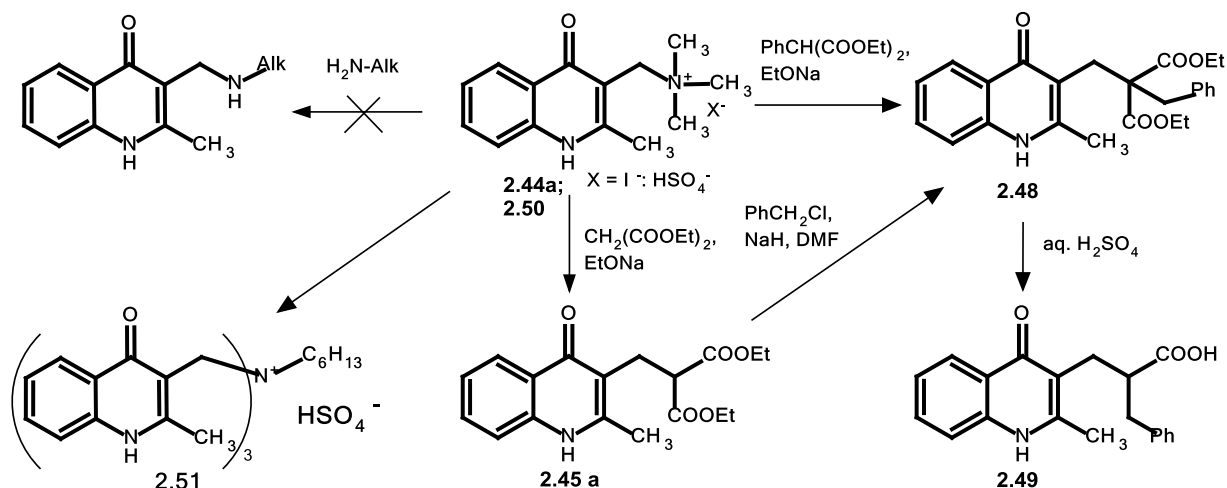


А тому нами були розглянуті інші синтетичні можливості для синтезу 3-аміноалкілхінолонів **2.41**, а саме використання 3-диметиламінометил-2-метил-1Н-хінолін-4-онів як алкілюючих агентів в реакціях з амінами і метиленактивними сполуками. Гідрохлориди 3-диметиламінометил-2-метил-1Н-хінолін-4-онів **2.39a-г** були одержані двома способами: кип'ятінням в етанолі 2-метил-4-хінолонів **2.20a-г** з формальдегідом і гідрохлоридом диметиламіну (спосіб I), а також амінометилуванням 2-метил-4-хінолонів **2.20a-г** хлоридом N,N-диметилметиленамонію (спосіб II). Одержана сіль **2.39a** легко вступає в реакцію переамінування з деякими первинними аліфатичними амінами, анілінами і диетиламіном, утворюючи цільові 3-N-R-амінометильні хінолони **2.41a-з**. Для одержання 3-аміноалкіл-2-метилхінолін-4-онів, які не можливо одержати виходячи з 3-диметиламіно-2-

метилхінолін-4-онів **2.39**, було використано відновне амінування 2-метил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбальдегіду **2.52**.

В реакціях С-алкілювання безпосередня взаємодія основ **2.40** з малоновим естером в умовах основного каталізу (Na_2CO_3 , NaOH , NaOEt) приводила до більш глибоких хімічних перетворень, і в результаті були виділені тугоплавкі не розчинні в органічних розчинниках речовини.

Схема 9



Однак, використання четвертинних солей 3-триметиламінометил-2-метил-1,4-дигідрохінолін-4-онів дозволило уникнути цих перешкод, і при кип'ятінні сполук **2.44** з малоновим естером в абсолютному етанолі в присутності алкоголяту натрію були синтезовані заміщені малонати **2.45** з високими виходами (схема 9). Розроблений нами метод має великі можливості для створення молекулярного різноманіття в ряду 3-алкіл-2-метилхінолін-1H-4-онів, що було проілюстровано на прикладі синтезу 2-бензил-3-(2-метил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-іл)пропанової кислоти **2.49**.

Цікавими виявилися спроби застосувати кватернізовані похідні основи Манніха в реакціях з первинними амінами. Хінолон **2.50** виявився настільки реакційноздатним, що при взаємодії з гексиламіном, було виділено індивідуальну сполуку, яка охарактеризована як продукт повного алкілювання гексиламіну – N,N,N-трис((2-метил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-іл)метил)гексан-1-амоніум гідросульфат **2.51**.

Біологічна активність 3-алкілпохідних хінолін-4-онів. Розробка ліганд-орієнтованого алгоритму віртуального скринінгу та виявлення молекулярної подібності органічних сполук. При здійсненні синтезу 3-амінометилхінолін-4-онів **2.40**, **2.41** (схема 8) було висунуте припущення, що ці сполуки можуть діяти як ліганди 5-HT рецепторів. Для того, щоб науково підтвердити нашу гіпотезу, була поставлена задача оцінити молекулярну подібність 3-амінометилхінолін-4-онів **2.40**, **2.41** з серотоніном за допомогою *in silico* методів.

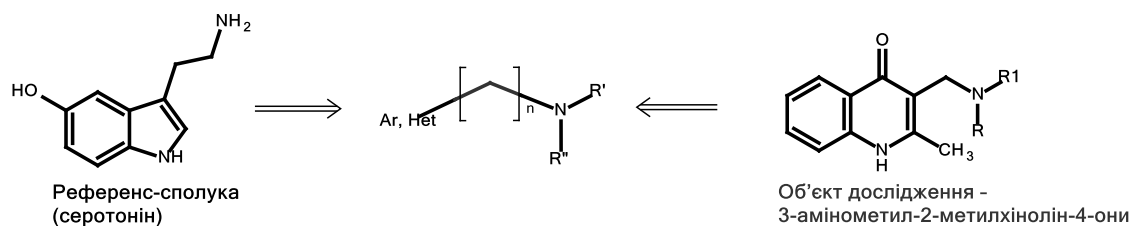


Рис. 8 Об'єкти ліганд-орієнтованого віртуального скринінгу.

Найбільш часто для визначення молекулярної подібності використовують молекулярні відбитки (molecular fingerprints) двумірних (2D) моделей хімічної структури. В сучасній концепції хемоінформатики визначення молекулярної подібності та проведення віртуального скринінгу сполук на основі 2D дескрипторів є недостатнім і, безумовно, потребує наявності 3D-структур молекул. Як програмне забезпечення були використані некомерційні програми – *Open Babel*, *Silicos-it™* та *CheS-mapper*. Запропонований нами алгоритм заснований на різноплановій дескрипторній селекції, яка завершується статистичним кластерним аналізом обраних структур з наступною 3D-візуалізацією. Для проведення розрахунків молекулярної подібності була обрана база з 70 сполук 3-амінометилхінолінів, які були синтезовані в ході виконання дисертаційної роботи.

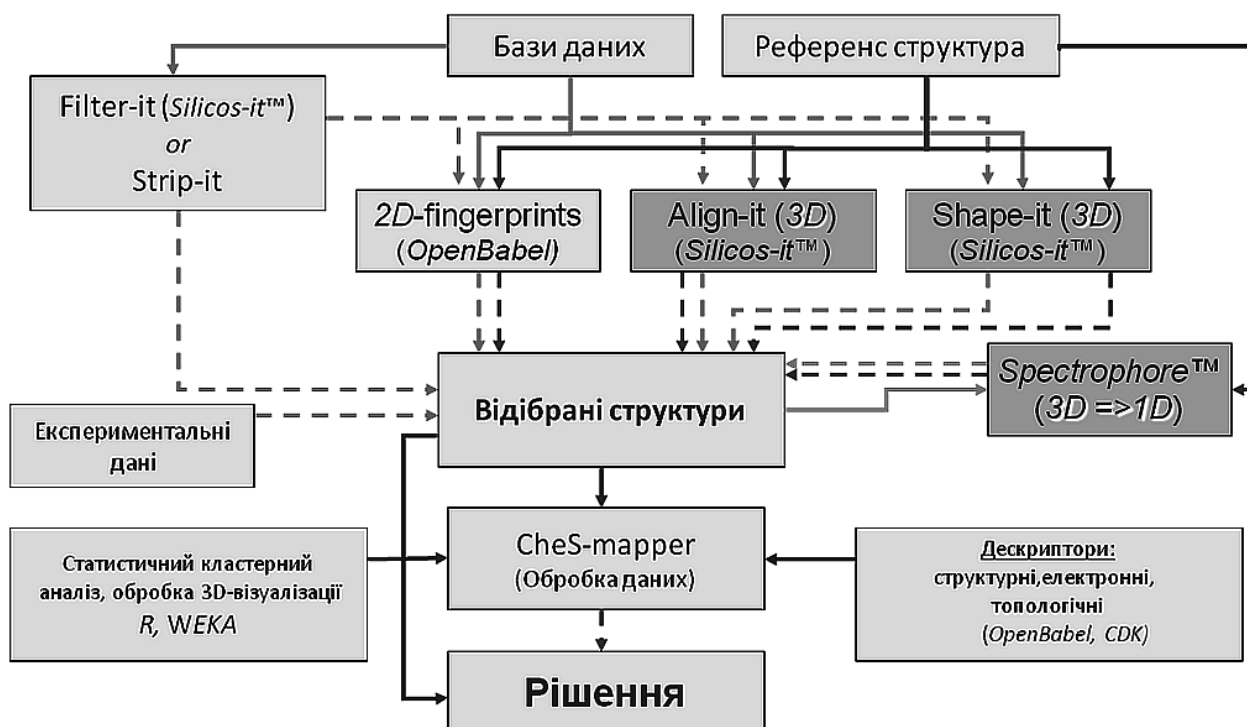


Рис. 9 Алгоритм «ligand-based» віртуального скринінгу та визначення молекулярної подібності.

Після обробки результатів були одержані два кластери: перший, з кількістю сполук 51, до числа яких входить серотонін, та другий – 19 сполук, які в меншій ступені подібні серотоніну.

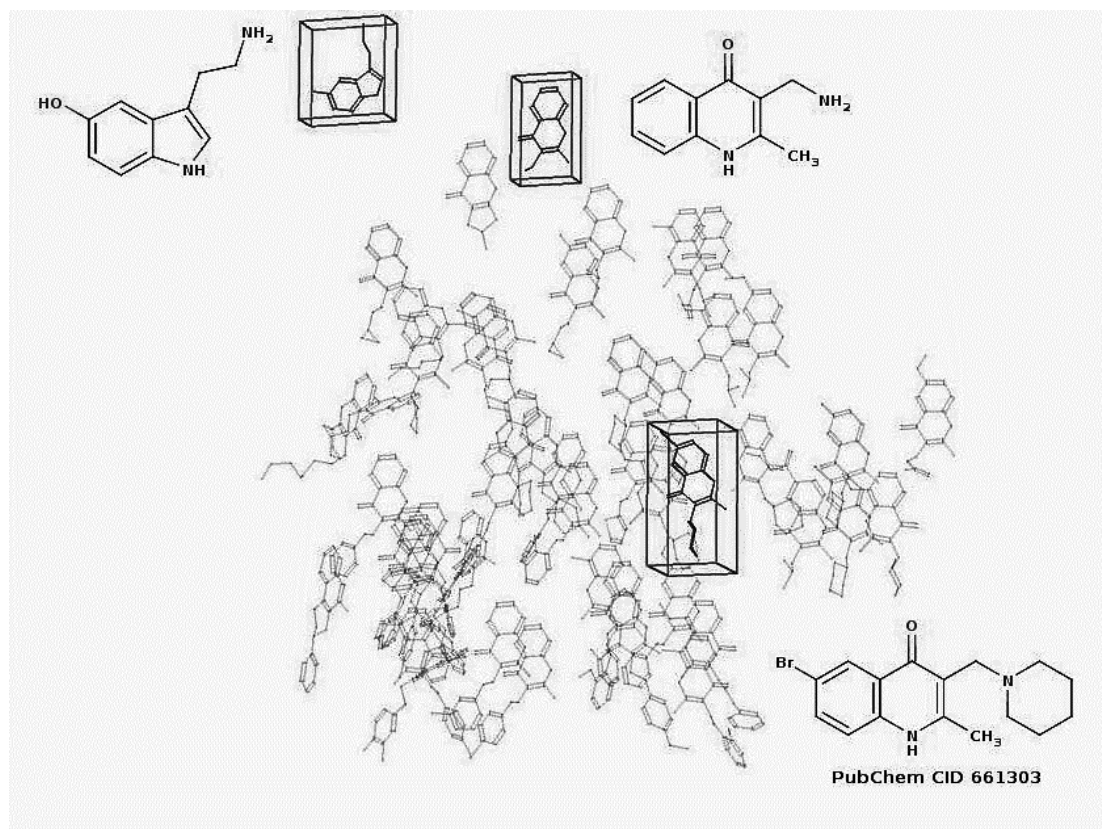


Рис. 10 Кластер сполук, подібних до серотоніну.

Для підтвердження даних віртуального скринінгу були проскановані існуючі бази даних хімічних сполук з відомою біологічною активністю та було визначено, що 6-бромо-2-метил-3-(піперидил-1-ілметил)-1H-хінолін-4-он (PubChem CID 661303) є агоністом 5HT_{1a}-рецепторів. У нашому *in silico* скринінгу він також знаходиться в кластері сполук, що подібні до серотоніну.

Нейротропна активність похідних 3-аміноалкілхінолін-4-онів. Вивчення впливу досліджуваних амінометилхінолонів на ЦНС здійснювали за загальновизнаними поведінковими тестами: «підвішування за хвіст» (*tail suspension test*), «відкрите поле» (*open field test*), «піднесений хрестоподібний лабіринт» (ПХЛ, *elevated plus maze*), «стрижень, що обертається» (*rotarod*) та «умовна реакція пасивного уникнення» (УРПУ, *passive avoidance test*). В гомогенаті головного мозку методом імуноферментного аналізу кількісно визначали вміст серотоніну, дофаміну, норадреналіну та адреналіну, для чого використовували стандартні набори Serotonin-ELISA та TriCat-ELISA (Німеччина). Дослідження були виконані на кафедрі технології ліків та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою ІПКСФ під керівництвом проф. Штриголя С.Ю. Нижче наведено результати, що привертають найбільшу увагу.

Дані імуноферментного аналізу виявили суттєве зниження концентрації серотоніну в головному мозку мишей під впливом 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону **2.41в** та 2,8-диметил-3-диметиламіно-метилхінолін-4-ону **2.40б** – відповідно на 16,8% та 20,5%, $p < 0,05$.

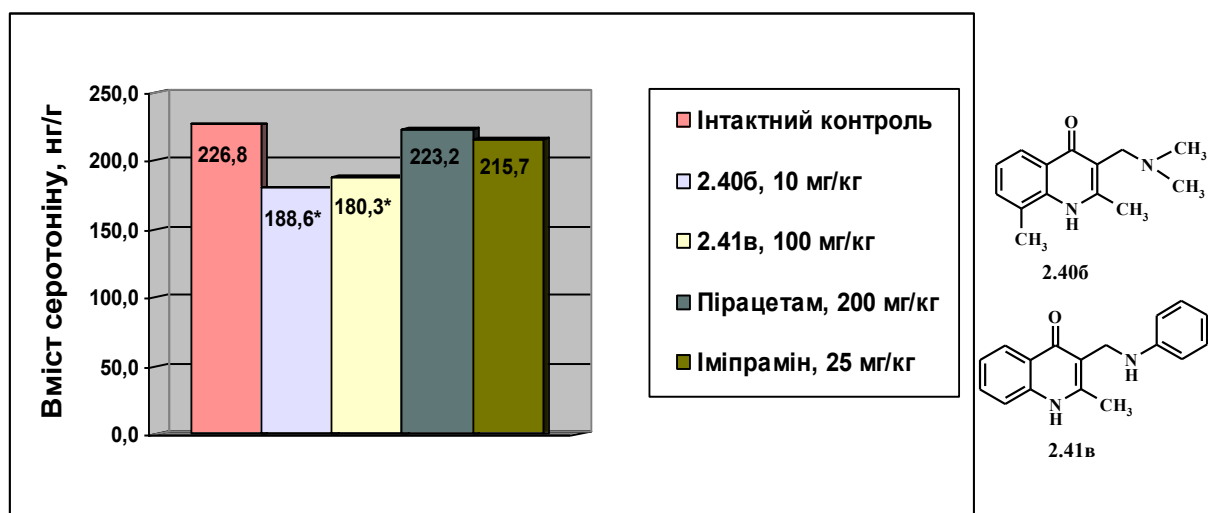


Рис. 11 Вплив сполук **2.41в** та **2.40б** на обмін церебрального серотоніну.

Цей факт підтверджує нашу гіпотезу і дані *in silico* скринінгу про можливість впливу похідних 3-аміноалкіл-2-метилхінолін-4-онів на серотонінергічну систему.

Виявлено також значне підвищення концентрації дофаміну (на 22,0%) під дією сполуки **2.41в**, що добре узгоджується із впливом пірацетаму (на 17,8%) та іміпраміну (на 22,6%) на цей показник. При цьому сполука **2.40б** майже не змінила вміст дофаміну в головному мозку піддослідних тварин. Цікавими є результати стосовно концентрації адреналіну – під впливом сполуки **2.41в** спостерігалось підвищення цього показника на 13,0%, що нагадує зміни на тлі іміпраміну (на 18,1%).

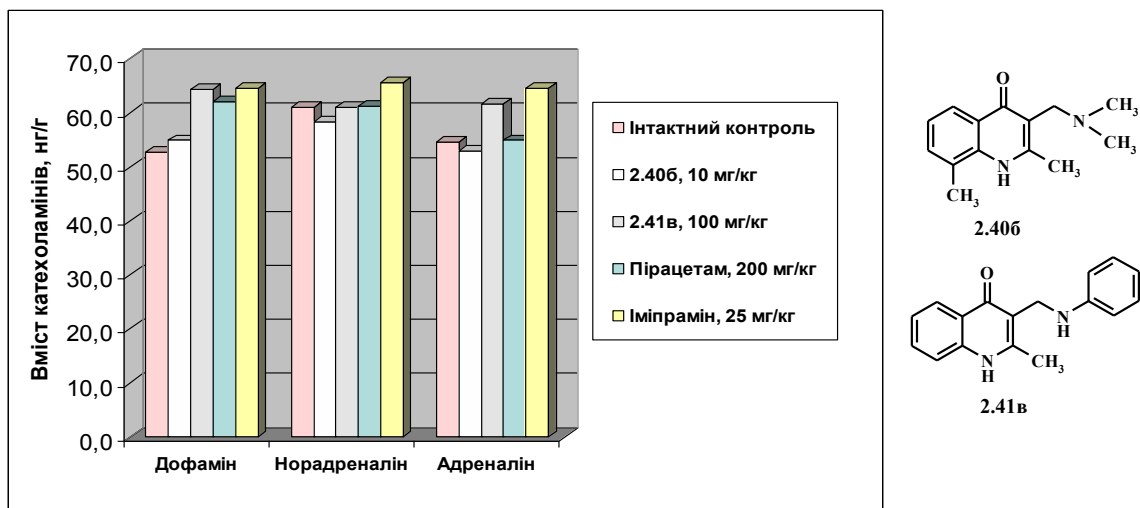


Рис. 12 Вплив сполук **2.41в** та **2.40б** на обмін церебральних моноамінів.

Результати тесту «підвішування за хвіст» для сполук **2.41в** і **2.40а** свідчать про те, що сполука **2.40а** в обох застосованих дозах майже не впливає на стан депресивності піддослідних тварин. При цьому для сполуки **2.41в** виявлено достовірне зменшення часу пасивного зависання у 3,44 рази, що свідчить про зниження рівня депресивності піддослідних тварин на 71% порівняно з синхронним контролем.

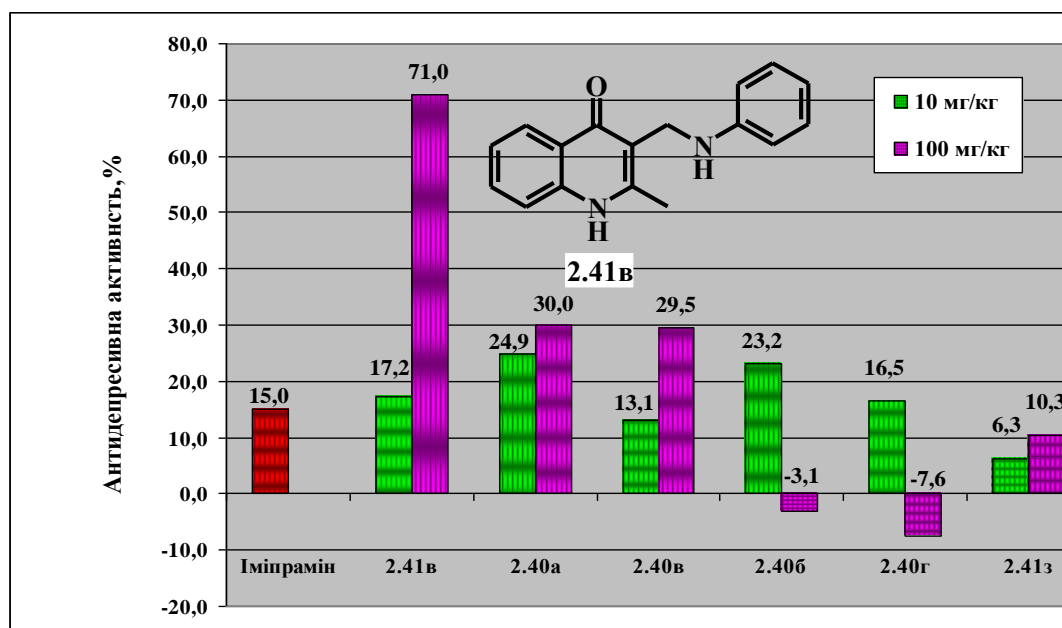


Рис. 13 Антидепресивна активність 3-амінометил-2-метилхінолін-4-онів за результатами “tail suspension test” на 4-у добу дослідження.

Відомим є той факт, що антидепресивний ефект класичних антидепресантів розвивається дуже повільно. Саме тому наявність вираженої антидепресивної дії у сполуки **2.41в** вже після чотирикратного введення (на четверту добу після початку введення) робить цю речовину надзвичайно привабливою для подальшого поглибленого вивчення.

Ноотропну дію досліджуваних сполук вивчали за тестом умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) на моделі антероградної амнезії, що викликана скополаміном (1,5 мг/кг внутрішньочеревинно).

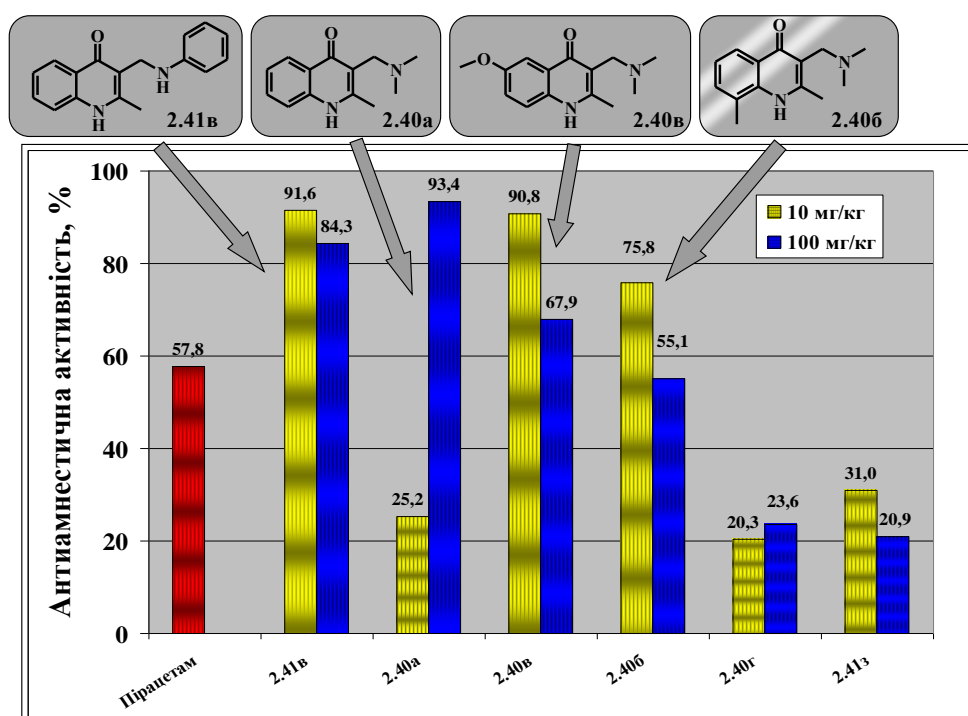
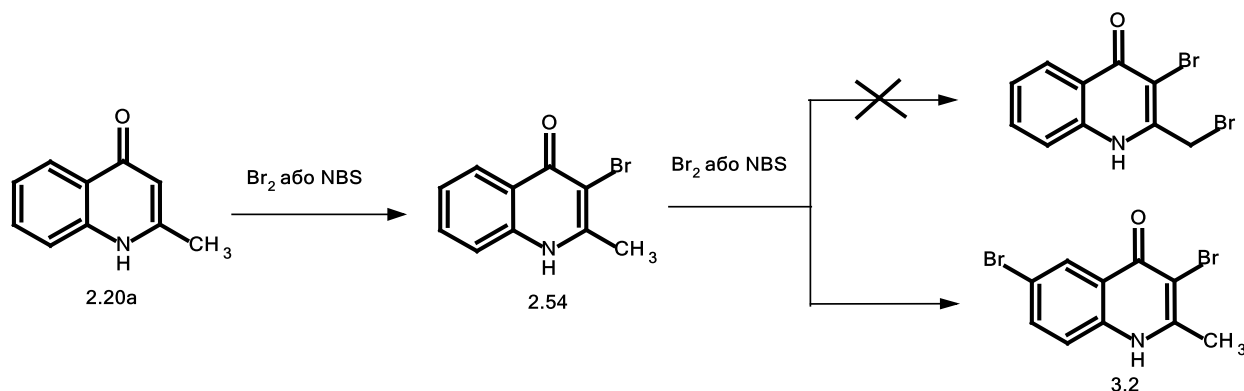


Рис. 14 Антиамнестична активність 3-амінометил-2-метилхінолін-4-онів за тестом “passive avoidance test”.

Аналіз отриманих даних свідчить, що сполуки **2.41в**, **2.40а**, **2.40б** та **2.40в** проявляють виражений антиамнестичний ефект, що подекуди перевищує ефект препарату порівняння пірацетаму.

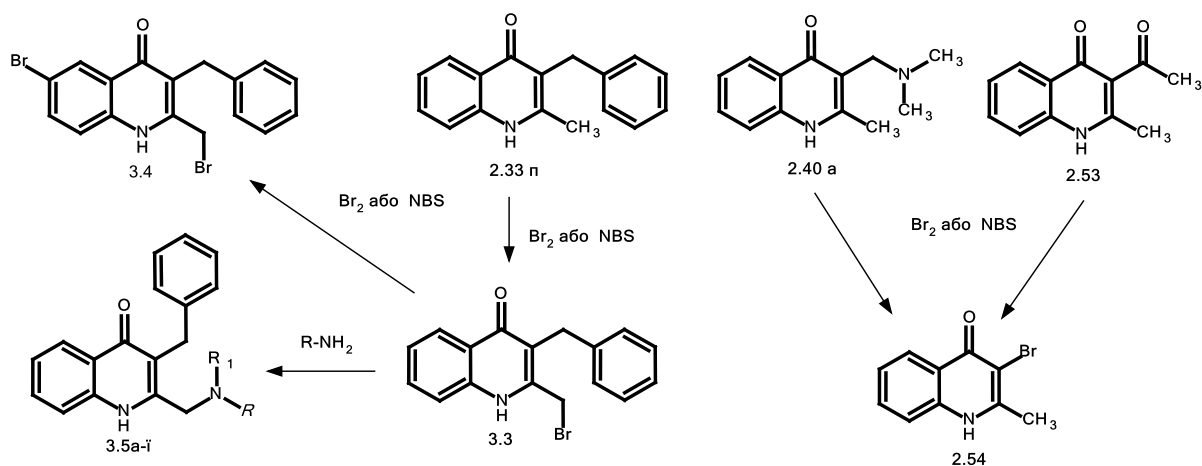
Розділ 3. Бромпохідні хінолін-2-онів і хінолін-4-онів. При вивченні реакції бромовання хінолін-2-онів і хінолін-4-онів основну увагу було зосереджено на похідних 2-метилхінолін-4-онів, оскільки крім очікуваного галогенування по ароматичній системі гетероциклу можливий перебіг реакції по іншому реакційному центру – метильній групі в С(2) положенні хінолону.

Схема 10



Бромовання молекулярним бромом або NBS 2-метил-1H-хінолін-4-ону **2.20** приводить до утворення очікуваного 3-бромпохідного **2.54** (схема 10). Цікаво було простежити напрямок подальшого бромовання 3-заміщених 2-метил-1H-хінолін-4-онів, коли найбільш активний центр в реакціях електрофільного заміщення вже зайнятий.

Схема 11



Для цієї мети були обрані 3-алкілхінолони **2.33п.**, **2.40а**; 3-ацетилхінолон **2.53** (схема 11) та 3-бромхінолон **2.54** (схема 10). Результати бромовання представлені на схемах 10 і 11. Тільки у випадку 3-бензил-2-метил-1H-хінолін-4-ону **2.33п** галогенування пройшло по метильній групі С(2) положення гетероцикла. Зовсім неочікуваними виявилися результати галогенування 3-диметиламінометил- **2.40а** і 3-ацетил- **2.53** 2-метилхінолін-4-онів. В обох випадках кінцевим продуктом виявився 3-бromo-2-метилхінолін-4-он **2.54**. Для пояснення результатів реакції ми пропонуємо вірогідний механізм бромовання 3- заміщених 2-метилхінолін-4-онів, який базується на

механізмі бімолекулярного електрофільного приєднання галогену до кратного зв'язку AdE2 і може бути проілюстрований наступним чином:

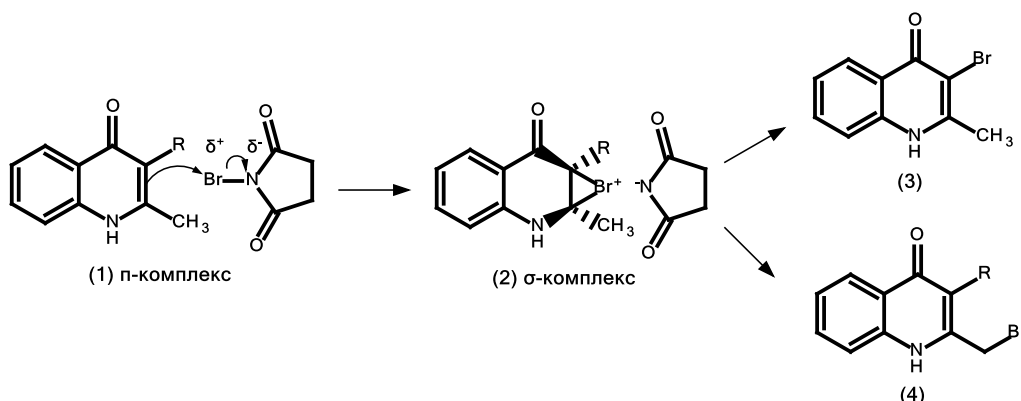


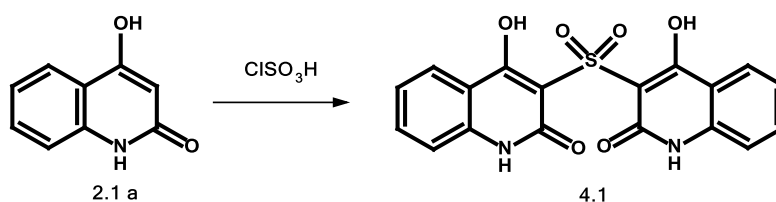
Рис. 15 Вірогідний механізм бромовання 3-заміщених 2-метилхінолін-4-онів.

Спочатку утворюється π -комплекс (1) NBS або молекулярного броду по подвійному зв'язку C(2)-C(3) хінолону, який далі перетворюється на σ -комплекс (2), стабілізація якого залежить від природи замісника в 3-му положенні. В тих синтезах, коли було проведено подальше бромовання бромпохідних хінолінів **2.54** та **3.3**, можна передбачити, що за рахунок впливу атома броду як в 3-му положенні хінолону **2.54**, так і в бромметильній групі сполуки **3.3** приєднання бромуючих реагентів по кратному зв'язку виявляється неможливим, и буде відбуватися реакція електрофільного заміщення по ароматичному кільцю хінолонів.

Розділ 3. Сульфопохідні хінолін-2-онів і хінолін-4-онів. Вивчення напрямку сульфування хінолін-2-онів і хінолін-4-онів хлорсульфоновою кислотою. Для одержання сульфопохідних хінолонів в якості вихідних речовин були використано відповідні сульфохлориди, які, в свою чергу, були одержані за реакцією сульфохлорування гетероароматичних сполук хлорсульфоновою кислотою. В літературі немає прикладів безпосередньої взаємодії 2-метилхінолін-4-онів з хлорсульфоновою кислотою, і всі наші спроби сульфохлорування незаміщеного 2-метилхінолін-4-ону **2.20a** в різних умовах завершилися безрезультатно.

При проведенні реакції 4-гідрокси-2-хінолону **2.1a** з хлорсульфоновою кислотою було виділено з високим виходом сполуку, що була ідентифікована як 4-гідрокси-3-(4-гідрокси-2-оксо-1H-хінолін-3-ілсульфоніл)-1H-хінолін-2-он **4.1** (схема 12).

Схема 12



Структуру синтезованого дисульфону **4.1**. було доведено за допомогою ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

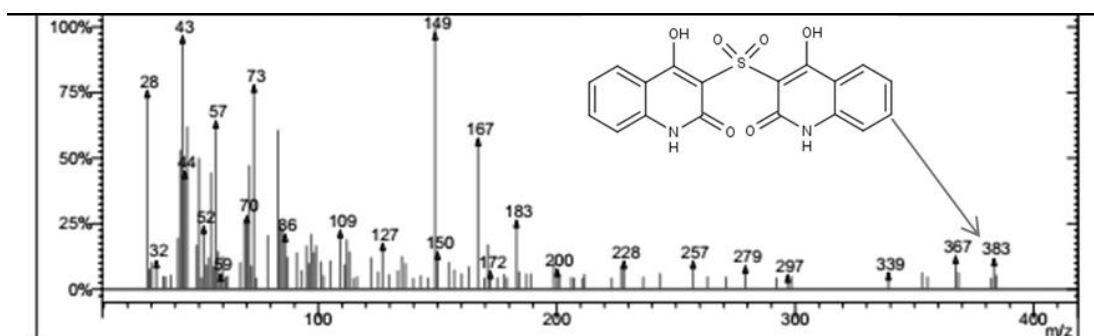
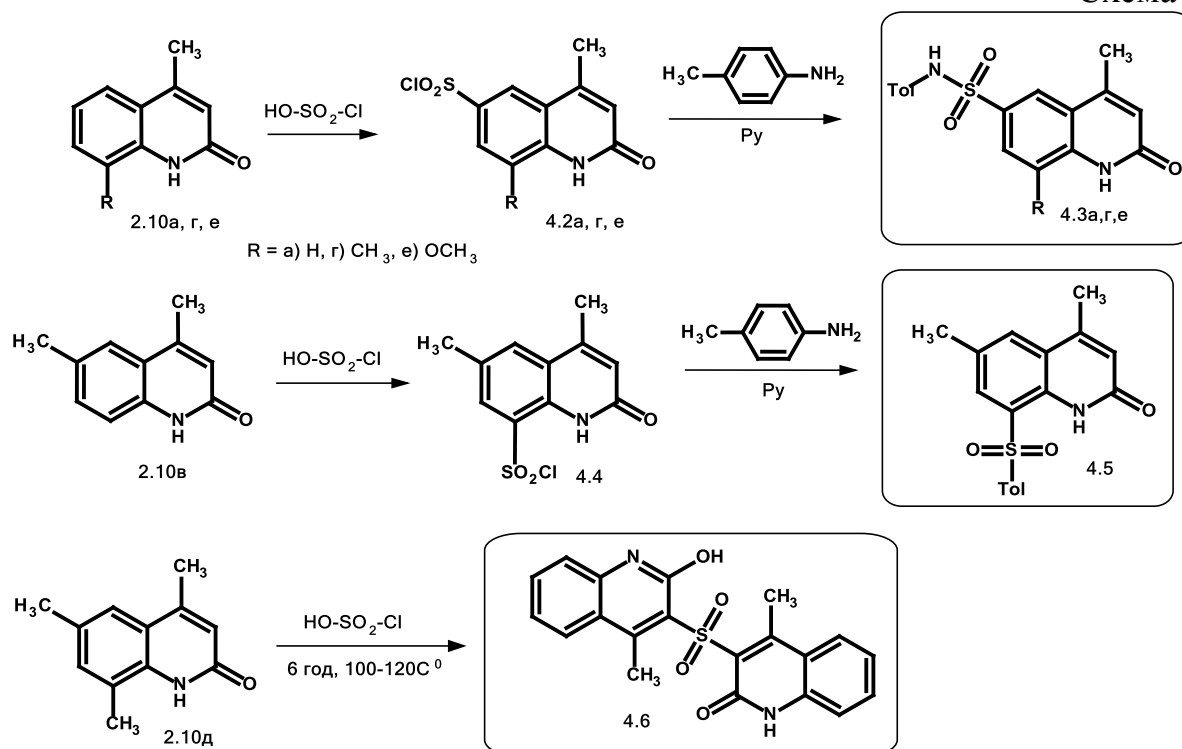


Рис. 15 Мас-спектр 4-гідрокси-3-(4-гідрокси-2-оксо-1Н-хінолін-3-ілсульфоніл)-1Н-хінолін-2-ону **4.1**.

Що стосується сульфохлорування 4-метил-2(1Н)-хінолонів хлорсульфоною кислотою (схема 13), то були одержані такі результати: коли положення С(6) гетероциклу є вільним (сполуки **2.10а,г,е**) – реакція сульфохлорування перебігає саме по цьому положенню. В тому випадку, коли положення С(6) зайняте замісником (сполука **2.10в**) – сульфохлорування відбувається по положенню С(8) гетероциклу. Коли обидва реакційноздатні положення С(6) і С(8) заміщені, наприклад, у випадку 4,6,8-триметил-1,2-дигідрохінолін-2-ону **2.10д**, сульфохлорування відбувається в надзвичайно жорстких умовах по положенню С(3) гетероциклу, і як кінцевий продукт було виділено біс-похідне **4.6**.

Схема 13



Структура 3-(2-гідрокси-4,6,8-триметилхінолін-3-сульфоніл)-4,6,8-триметил-1,2-дигідрохінолін-2-ону **4.6** не є симетричною. В ^1H ЯМР-спектрі цієї сполуки спостерігається магнітно-нееквівалентний набір двох гетероциклічних систем.

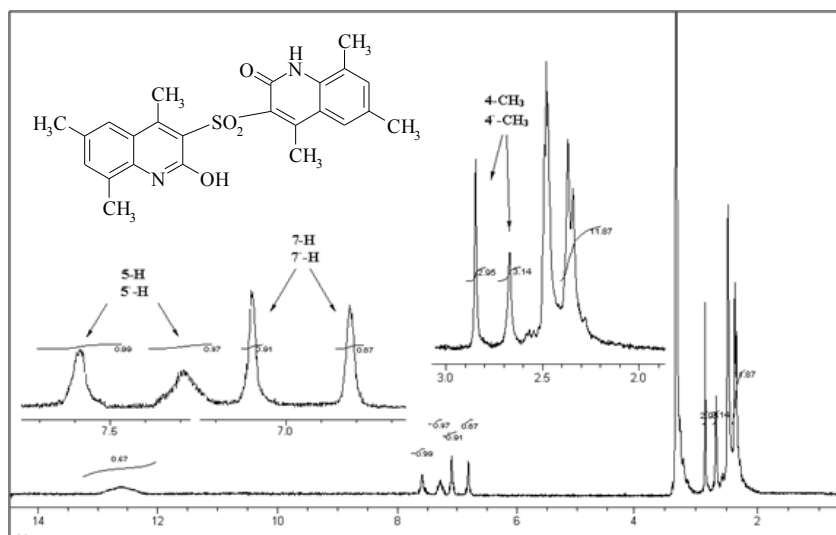


Рис. 16 ^1H ЯМР-спектр 3-(2-гідрокси-4,6,8-триметилхіноліл-3-сульфоніл)-4,6,8-триметил-1,2-дигідрохінолін-2-ону **4.6**.

Для пояснення цього факту була проведена повна оптимізація геометрії молекули напівемпіричним квантово-хімічним методом у наближенні RM6 (Морас2009). Такі ж розрахунки були проведені й для 4-гідрокси-3-(4-гідрокси-2-оксо-1H-хінолін-3-ілсульфоніл)-1H-хінолін-2-ону **4.1**, оскільки було цікаво порівняти результати розрахунків геометрії молекул з експериментальними даними ^1H ЯМР-спектроскопії.

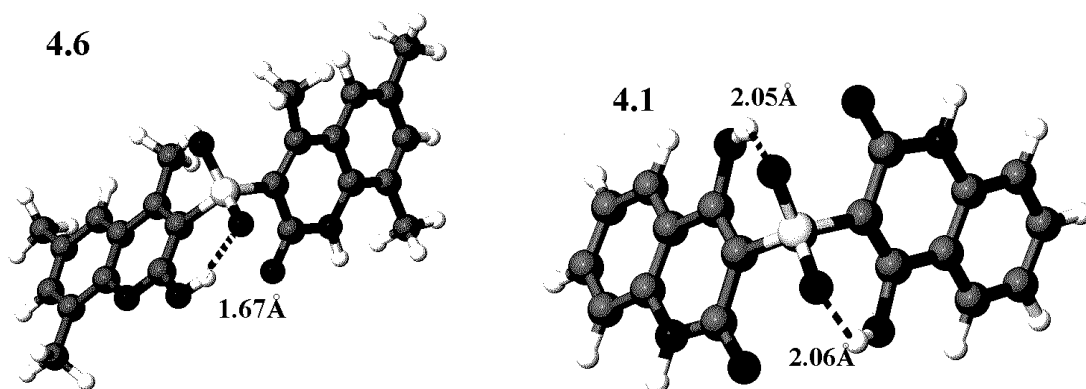


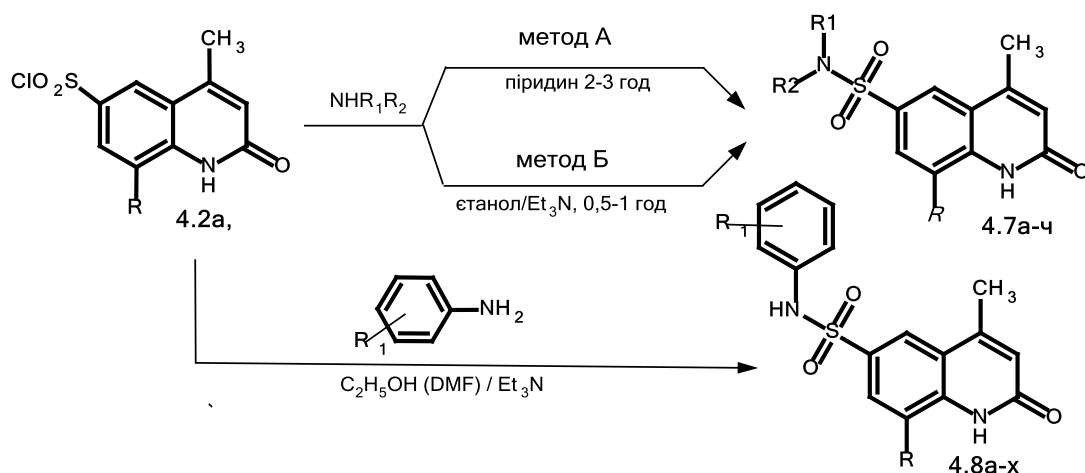
Рис. 17 3D структура сульфону **4.6** та сульфону **4.1** (RM6, Морас2009) .

Згідно з цими розрахункам, найбільш енергетично вигідний стан молекули сульфону є таким, в якому один із хінолінових циклів існує в 2-гідроксихіноліновій формі. При цьому утворюється міцний внутрішньо-молекулярний водневий зв'язок $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}-\text{S}$, довжина якого складає 1.67 Å. Це веде до появи в ^1H ЯМР-спектрі речовини сигналів, характерних для хінолін-2-онової та 2-гідроксихінолінової систем. У випадку сульфону **4.1**, який утворений двома молекулами 4-гідрокси-2-хінолонів, найбільш енергетично вигідним станом молекули є такий, коли обидва гетероцикли знаходяться в хінолін-2-онової формі й при цьому виникають два однакових водневих зв'язки довжиною 2.05 Å між протоном 4-гідроксигрупи та сульфогрупою в C(3) положенні (рис. 17). В цьому випадку протони двох гетероциклів є

магнітно еквівалентними, що і спостерігається в експериментальному спектрі ^1H ЯМР.

Синтез і антимікробні властивості 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів. На основі 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфохлоридів **4.2a,г** були синтезовані бібліотеки нових сульфамідів 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолінів (схема 14).

Схема 14



Дослідження антимікробної активності показали, що даний вид біологічної дії не характерний для 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів, і найменше значення МПК для *S. aureus* ATCC 2592 складає 20-30 мг/мл.

Цілеспрямований пошук тіазидоподібних діуретиків серед 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів. Згідно з положенням SAR для тіазидних діуретиків направлений синтез нових речовин такої дії має враховувати закономірності, представлені на рис. 18.

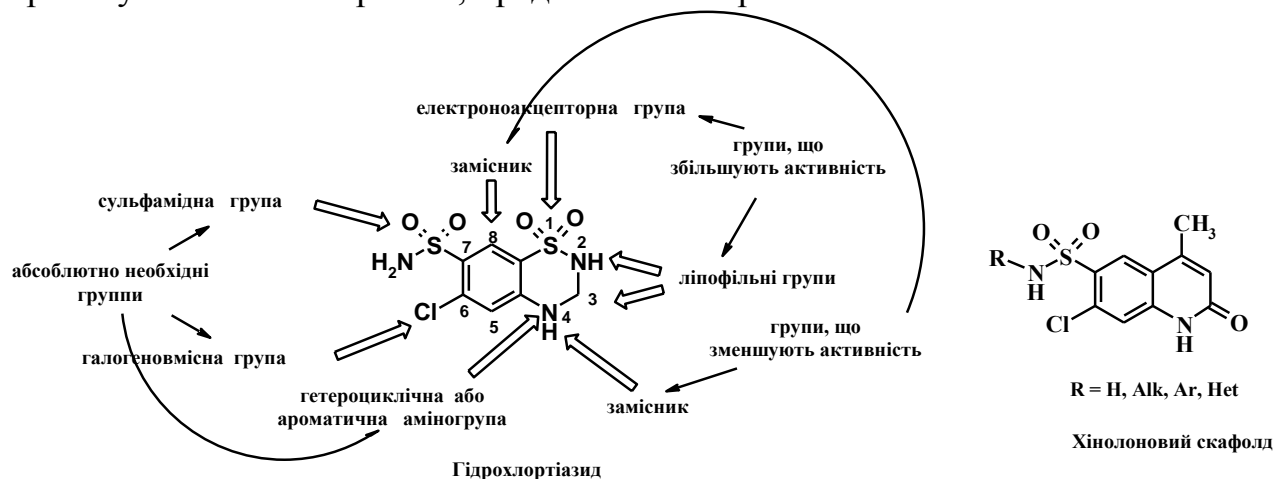
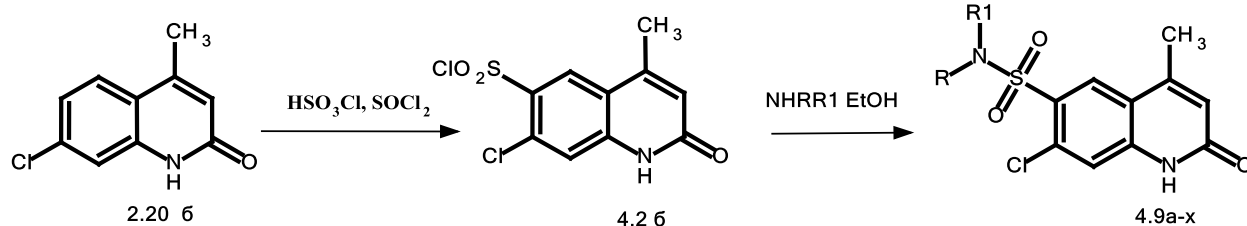


Рис. 18 SAR аналіз для тіазидних діуретиків (Lemke, 2008) і хінолоновий скафолд.

Як видно з порівняння структур запропонованого нами скафолда та тіазидних препаратів, більшість необхідних фармакофорних груп присутні в запропонованій хінолоновій структурі. Синтез цільових 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів **4.9a-x** було здійснено за схемою 15:



Вивчення діуретичних властивостей одержаних 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів **4.9** було проведено на кафедрі біологічної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом проф. Л.А. Загайко и проф. Л.М. Вороніної. Діуретичну активність вивчали за методом Берхіна. Одержані дані свідчать про виражену діуретичну дію 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів **4.9**.

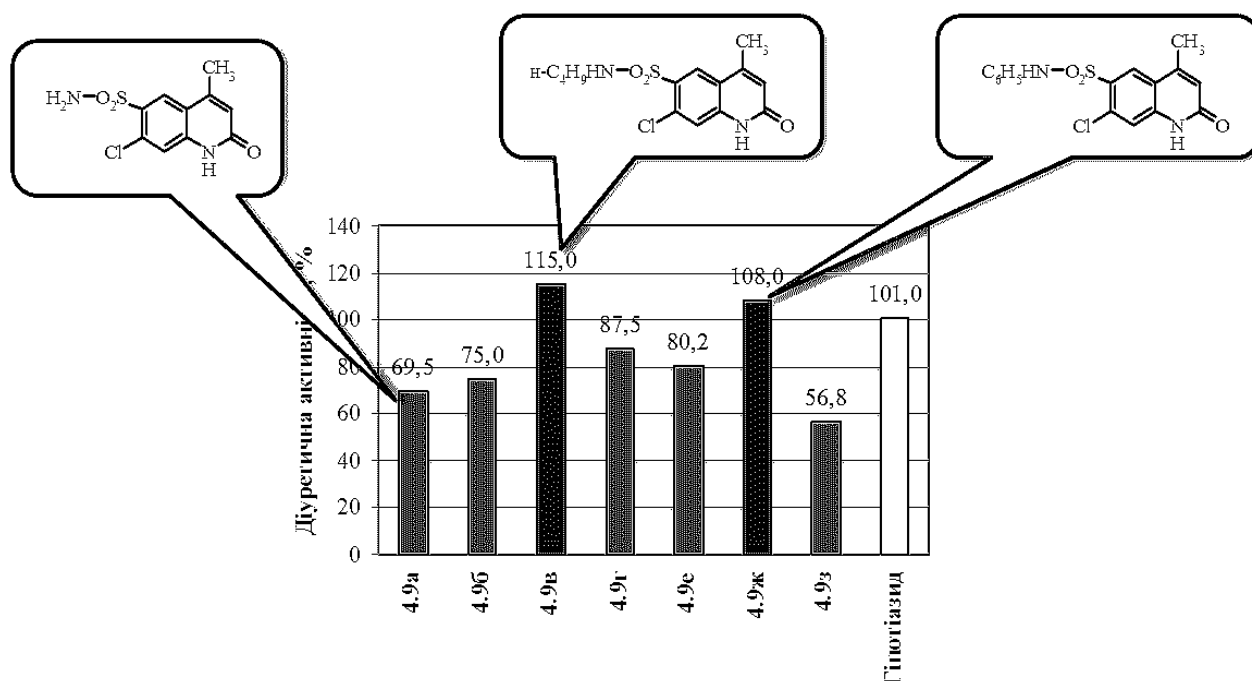


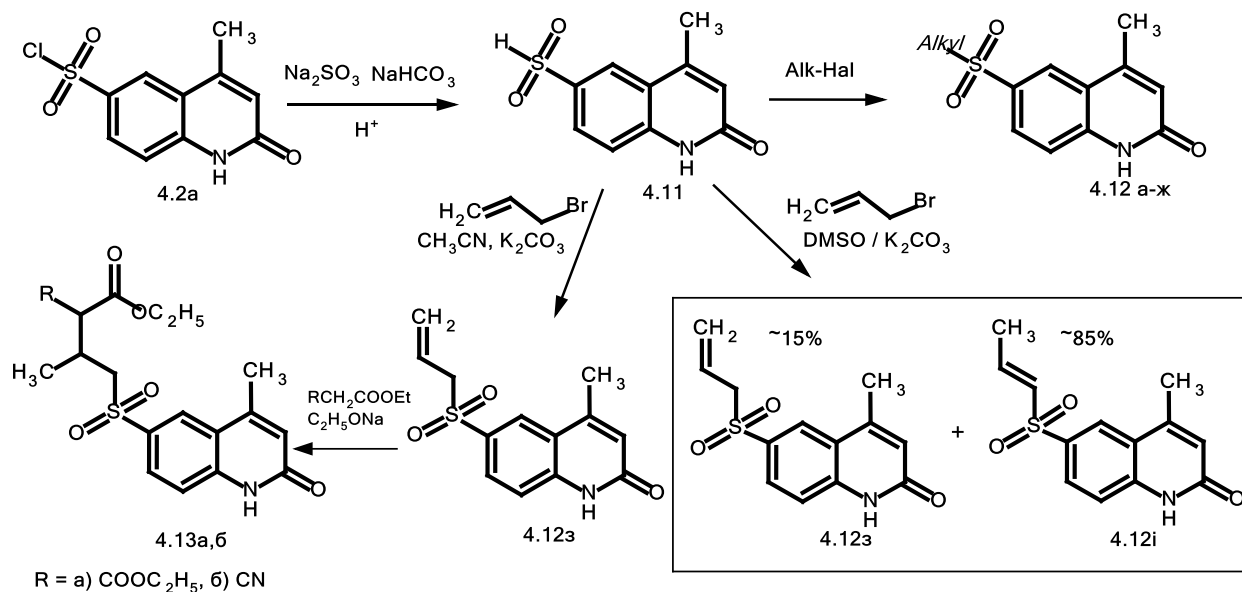
Рис. 19 Діуретична активність 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів **4.9** у дозі 1 мг/кг.

Гостра токсичність для аніліду 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфонової кислоти **4.9ж** на мишах (per os) складає більше 10 000 мг/кг, що вказує на перспективність подальших фармакологічних розробок серед даного хімічного скафолда.

Синтез і біологічна активність 6-сульфонілпохідних 4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-ону. Синтез ряду 6-алкілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів було здійснено згідно схеми 16. Алкілювання сульфїнової кислоти **4.11** алкілгалогенідами в системі ДМСО / K_2CO_3 приводило до утворення цільових сполук з високими виходами. В даному методі великий вплив на виходи кінцевих продуктів має середовище, в якому проводиться алкілювання. Нами було встановлено, що при використанні системи

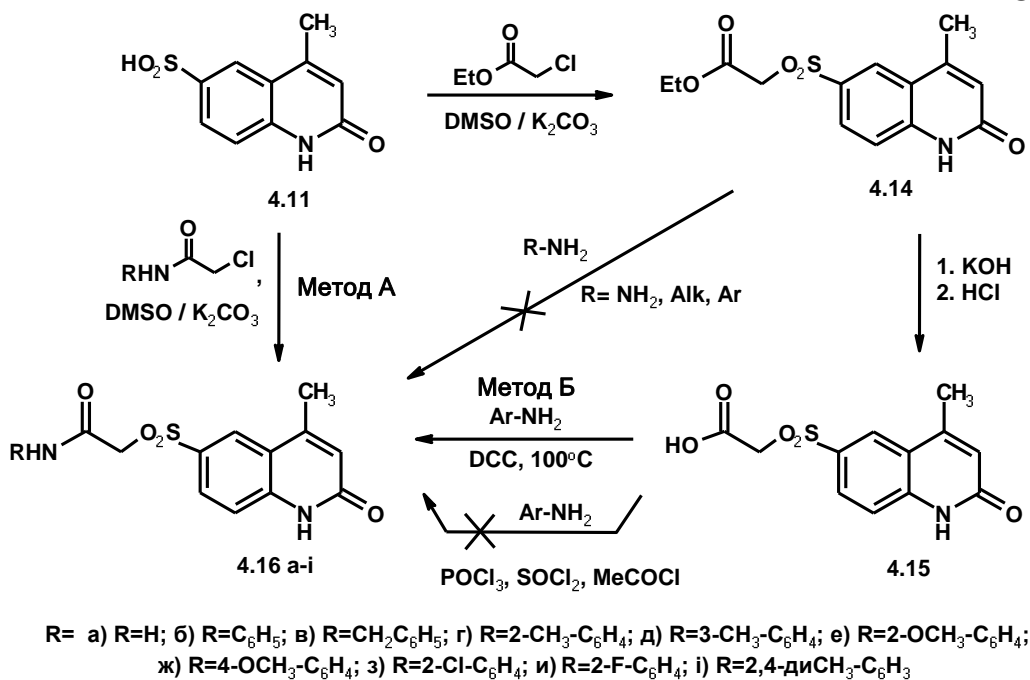
ДМСО / K_2CO_3 виходи алкілсульфонів **4.12а-ж** були помітно більшими (68-85%), ніж при проведенні алкілювання в системі ДФМА / NaOH (25-35%).

Схема 16



Від загального однотипного перебігу синтезу сульфонів **4.12а-ж** відрізняються результати взаємодії 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфінової кислоти **4.11** з алілбромідом. Даними 1H ЯМР-спектроскопії було доведено, що при проведенні реакції алкілювання кислоти **4.11** у системі ДМСО / K_2CO_3 утворюється суміш двох ізомерів – пропеніл- та алілсульфону у співвідношенні приблизно 85% : 15%. Зміна розчинника, в якому проводилася реакція алкілювання, з диметилсульфоксиду на ацетонітрил дозволила одержати індивідуальний 6-алілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-он **4.12з**. Структура сполуки **4.12з** є потужним «бідінг-блоком» в конструюванні молекулярного різноманіття похідних сульфохінолонів за рахунок наявності подвійного зв'язку алільного фрагменту. Один з шляхів модифікацій речовини **4.12з** показаний на прикладі приєднання метиленактивних СН-кислот, в результаті чого були синтезовані хінолони **4.13**.

Інший спосіб розширення різноманіття алкілпохідних **4.12**, який було застосовано в роботі, полягав у одержанні ряду анілідів 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфонілоцтової кислоти **4.16** (схема 17). Етиловий естер 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфонілоцтової кислоти **4.14** виявився інертним в реакціях з N-нуклеофілами, тому для синтезу цільових анілідів були використані два дещо видозмінених підходи. В першому випадку було здійснено безпосереднє алкілювання 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфінової кислоти **4.11** ариламидами хлороцтової кислоти (метод А). Другий спосіб ґрунтувався на використанні 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфонілоцтової кислоти **4.15** (метод Б); він дозволяє одержувати цільові продукти з більш високими виходами та ступінню чистоти.



In silico та *in vitro* тестування впливу 6-сульфонілпохідних 4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-ону на систему згортання крові. Згідно даним SAR аналізу, похідні 4-метил-6-сульфоніл-1,2-дигідрохінолін-2-онів можна розглядати як сполуки, які будуть мати вплив на систему згортання крові. Скринінгове дослідження гемостатичної та антикоагулянтної активності сульфохінолонів було проведено на кафедрі фізіології Національного фармацевтичного університету під керівництвом проф. Л. М. Малоштан. Випробування на наявність активності проводили *in vitro* за методикою Альтгаузена. Як препарати порівняння використовувались антикоагулянт гепарин і гемостатик ε-амінокапронова кислота.

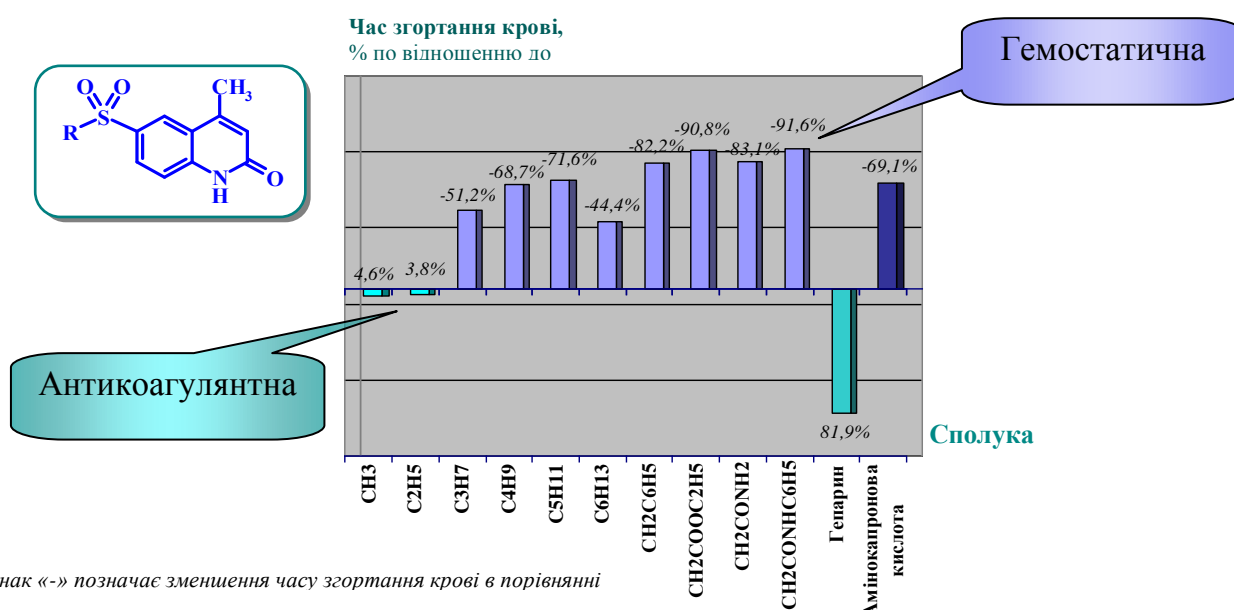


Рис.20 Вплив похідних 4-метил-6-сульфоніл-1,2-дигідрохінолін-2-онів на час згортання крові.

Результати скринінгового дослідження показали, що в серії алкілсульфонів **4.12а-ж** чітко спостерігається залежність між довжиною алкільного замісника та видом і рівнем фармакологічної активності.

Для пояснення одержаних результатів було проведено комп'ютерні розрахунки з застосуванням SAR-аналізу, а також молекулярний докінг за допомогою програми Autodock 4.2.3. На основі неспівпадіння місць зв'язування сульфонів та амінокапронової кислоти в тканинному активаторі плазміногену (tPA) нами було обрано іншу мішень – урокіназний активатор плазміногену (uPA). Подальші докінгові дослідження проводились з використанням комплексу uPA з сульфатом *n*-амінометилбензойної кислоти (3KGP). Комп'ютерне моделювання показано, що хінолони **4.12а-ж** зв'язуються в тому самому місці білка, що й відомі інгібітори uPA, проте в залежності від характеру алкільного фрагменту взаємодіють з різними амінокислотними залишками білку.

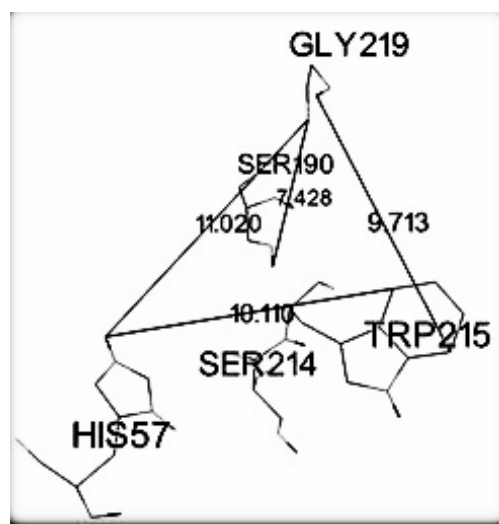
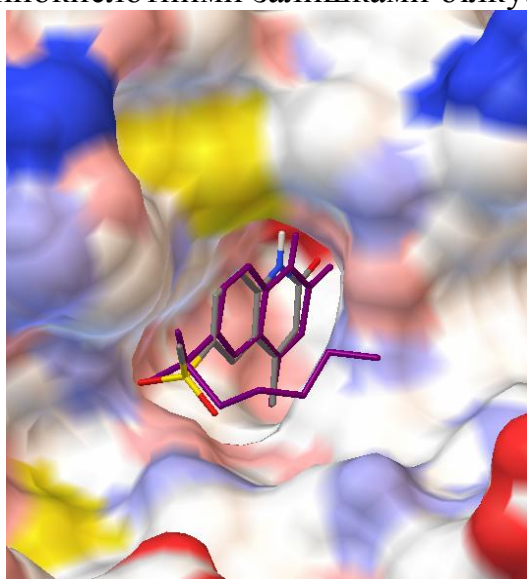


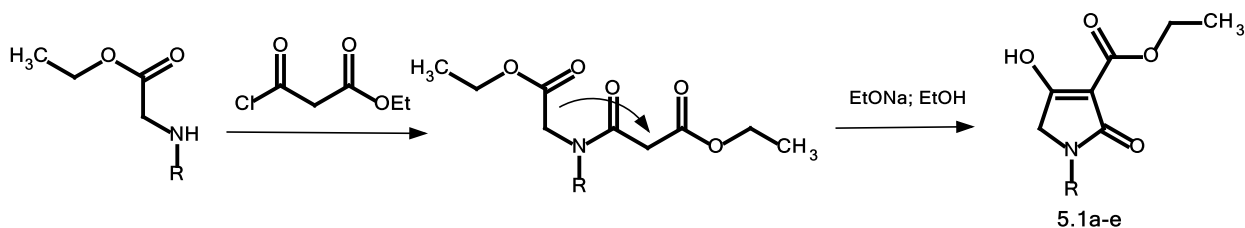
Рис. 20 Метилсульфон **4.12а** і пентилсульфон **4.12д** в ділянці зв'язування з білком (3KGP). Активні для зв'язування лігандів амінокислотні залишки рецептора uPA з відстанями між ними.

Комбінація результатів докінгових досліджень і експериментальними даними щодо рівня гематостатичної активності 4-метил-6-сульфоніл-1,2-дигідрохінолін-2-онів дозволила зробити попередні висновки про можливе розширення відомої зони рецептора uPA. Окрім амінокислотних залишків Gly-219 та Ser-190, з якими зв'язуються відомі інгібітори uPA, активна ділянка рецептора може бути розширена за рахунок амінокислотних залишків His-57, Ser-214 та Trp-215, з якими зв'язуються 4-метил-6-сульфоніл-1,2-дигідрохінолін-2-они **4.12а-ж**. Ці дані можуть бути враховані при молекулярному дизайні інгібіторів uPA.

Розділ 5. Синтез та біологічні властивості похідних пірол-2-онів.

Вихідні сполуки – етилові естери 4-гідрокси-1-*R*-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот **5.1** – були одержані за методом Лассея-Дікмана (схема 18).

Схема 18



Естери **5.1** можна розглядати як похідні 2,4-піролідиндіону, природного гетероциклу, відомого під назвою тетрамова кислота. С точки зору хімічних властивостей сполуки **5.1** є енолізованими трикарбонільними сполуками, які мають кілька реакційних центрів і для яких характерно існування таутомерів. Такі таутомерні перетворення для похідних тетрамових кислот залежать від природи розчинника, в якому ці сполуки знаходяться. Так, аналізуючи спектр ^1H ЯМР етилового естеру 4-гідрокси-1-бензил-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонової кислоти (**5.1e**) при кімнатній температурі в ДМСО- D_6 можна говорити про існування як мінімум двох таутомерних форм у розчині.

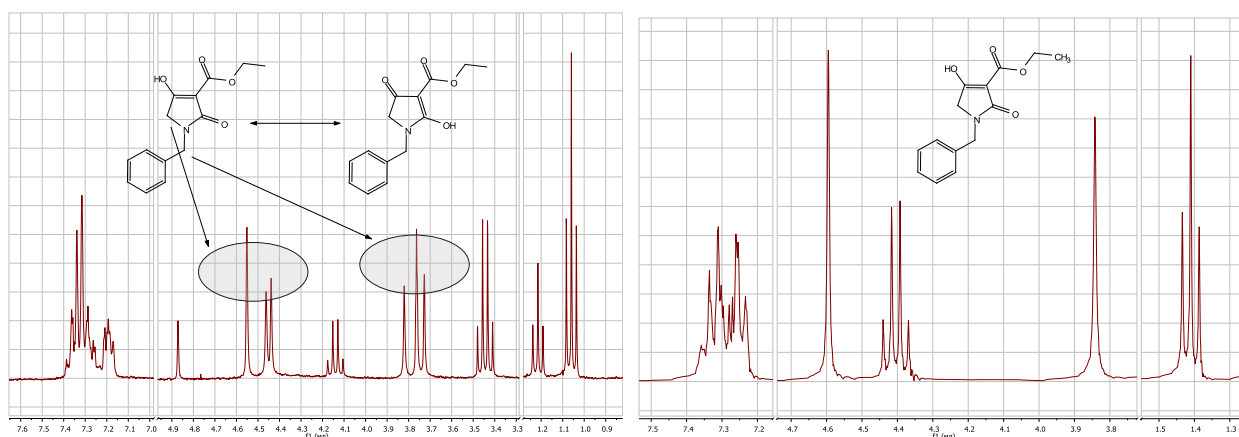
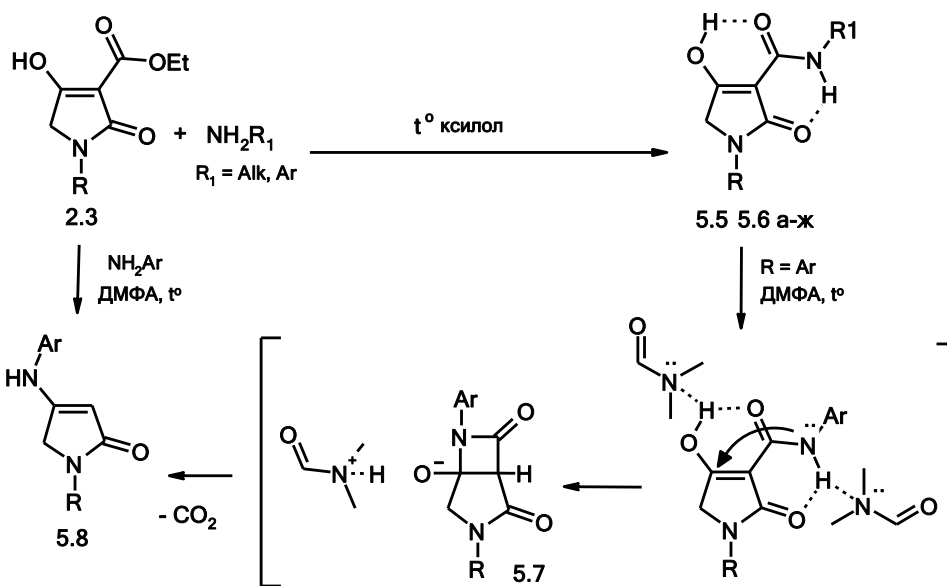


Рис. 21 Спектр ЯМР ^1H етилового естеру 4-гідрокси-1-бензил-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонової кислоти (**5.1e**) в ДМСО- D_6 та CDCl_3 .

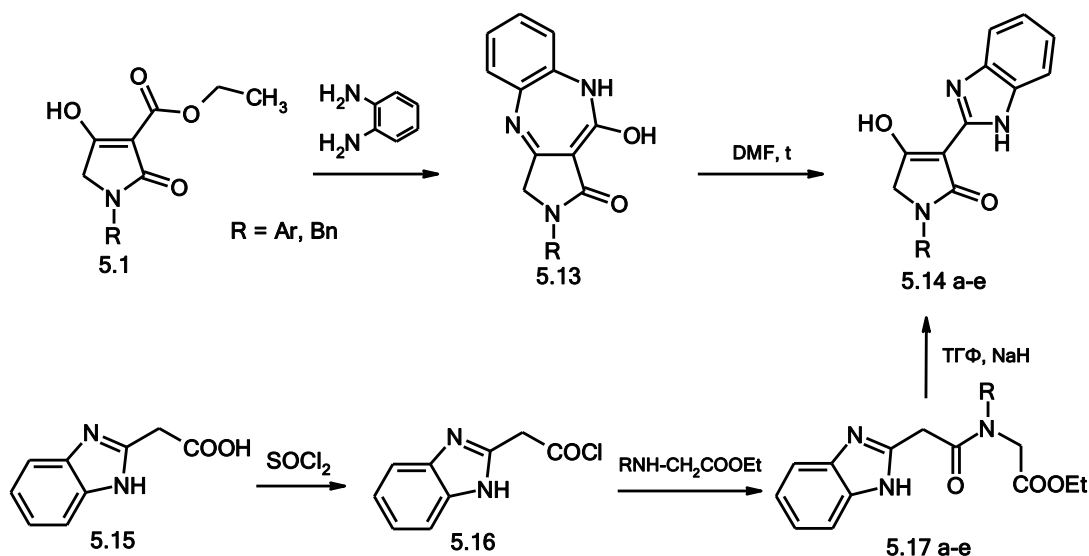
В той час як в хлороформі естер **5.1e** існує виключно в 4-гідрокси формі.

При взаємодії сполук **5.1** з амінами спостерігається залежність результату реакції від природи розчинника. При проведенні амідування етилових естерів 4-гідрокси-1-R-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот алкіл- і арилами́нами в кси́лолі або толуолі були одержані відповідні амід **5.5** і аніліди **5.6**. Тоді як кип'ятіння реагентів у ДМФА вело до утворення 4-амінопохідних **5.8** (схема 19). Ариламід **5.6** при кип'ятінні в ДМФА зазнають перегрупування в 4-ариламінопохідні **5.8**, яке не відбувається в неполярних розчинниках. Вірогідно, завдяки сольватуючим властивостям ДМФА відбувається сильна поляризація зв'язку ОН молекул **5.6**, що робить можливим утворення перехідної сполуки **5.7**, яка стабілізується елімінацією CO_2 .



З *o*-фенілендіаміном естери **5.1**, незалежно від типу розчинника, утворюють похідні 10-гідрокси-2,3-дигідробензо[*b*]піроло[3,4-*e*][1,4]діазепін-1(9H)-ону **5.13**, які при довготривалому кип'ятінні в ДМФА зазнають рециклізації в похідні 3-бензімідазоліл-4-гідрокси-1H-пірол-2(5H)-онів **5.14** (схема 20).

Схема 20

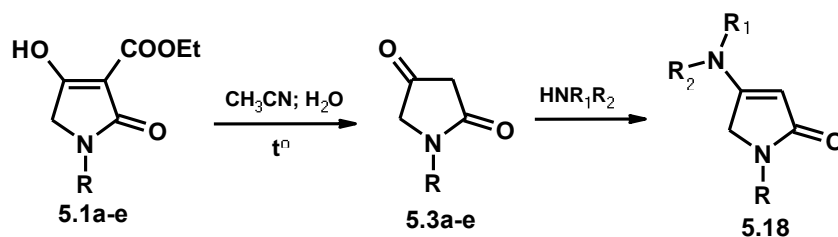


Бензімідазоли **5.14a-e** були також одержані зустрічним синтезом, виходячи з бензімідазолілоцтової кислоти **5.15**.

Універсальний метод синтезу 4-амінопохідних 1-*R*-1,5-дигідропірол-2-ону **5.18** нами було розроблено на основі *N*-заміщених 2,4-піролідиндіонів. Етилові естери 4-гідрокси-1-*R*-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот **5.1** схильні до димеризації в кислому середовищі, тому декарбалкоксилювання естерів необхідно проводити при дуже низьких концентраціях естеру в розчині ацетонитрилу (1:700). Конденсація 2,4-піролідиндіонів з алкіл- і ариламинами в неполярних розчинниках

приводила до утворення цільових сполук **5.18** з високими виходами (схема 21).

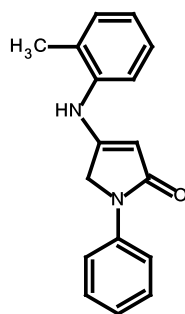
Схема 21



Фармакологічний скринінг, який було проведено для сполук **5.5**, **5.6** і **5.18** показав, що 4-ариламінопохідні 1-R-1,5-дигідропірол-2-ону мають виражену анальгетичну, протизапальну та жарознижуючу активності. Також для деяких 4-ариламінопохідних характерний високий рівень антиоксидантної і мембраностабілізуючої активності, що робить цей клас сполук перспективним в якості потенціальних НПЗЗ. Антимікробна та протиракова дія характерна лише для амідів 4-гідрокси-1-R-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот **5.5**.

Розділ 6. Поглиблені фармакологічні дослідження сполуки-лідеру «Ортолон»

За результатами первинного фармакологічного скринінгу була вибрана сполука-лідер – 4-(2-метилфеніл)аміно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-он, під умовною назвою «Ортолон», для якої було виявлена висока анальгетична та протизапальна активності, а також наявність антиоксидантної і мембраностабілізуючої дії *in vitro*. За класифікацією гострої токсичності «Ортолон» належить до VI класу відносно нешкідливих речовин ($LD_{50} > 15000$ мг/кг).



"Ортолон"

4-(2-Метилфеніл)аміно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-он

Таблиця 2

Активність (Модель)	Ортолон	Вольтарен
	ЕД ₅₀ , мг/кг	ЕД ₅₀ , мг/кг
Анальгетична (Оцтовокислі корчі)	0,75	5,00
Протизапальна (Екссудативний карагеніновий набряк)	1,18	8,00

За допомогою молекулярного докінгу (Autodock 4.2.3) було показано, що «Ортолон» може пригнічувати фермент ЦОГ-2, оскільки він зв'язується з білком в тій самій порожнині, що й целекоксиб (відомий інгібітор ЦОГ-2).

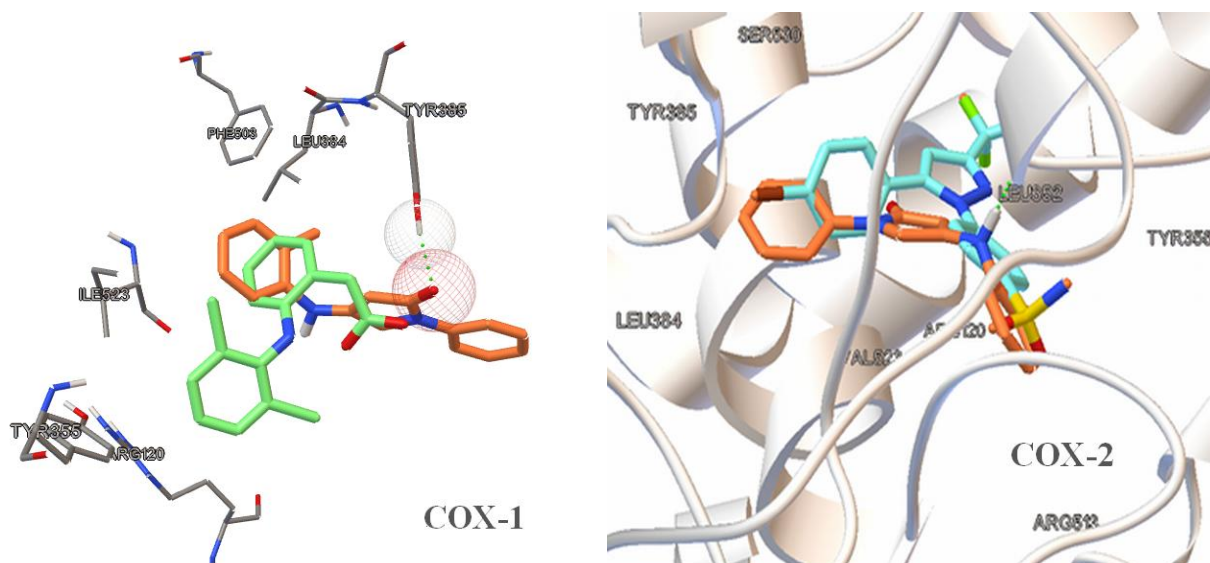


Рис 22 Ортолон і Диклофенак в місці зв'язування з ЦОГ-1 (3N8Y) і Ортолон і Целекоксиб в місці зв'язування з ЦОГ-2 (6COX).

В той же час, розмір молекули «Ортолону» дозволяє також увійти в активну зону ферменту ЦОГ-1 і в даному випадку буде утворюватися водневий зв'язок з амінокислотним залишком Туг-385.

Поглиблені фармакологічні дослідження були проведені на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом професора Л.В. Яковлевої. Для 4-(2-метилфеніл)аміно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону були проведені наступні експериментальні фармакологічні випробування: на протизапальну активність на зимозановому та гістаміновому набряку, на антипроліферативну активність на моделях різаних ран і фетрової гранулеми, вивчена гастротропна і гепатотоксична дія. Результати поглибленого фармакологічного дослідження і молекулярного докінгу довели перспективність 4-ариламіно-1-*R*-1,5-дигідропірол-2-онового скафолду і, зокрема, «Ортолону» як високоефективного НПЗЗ.

4-(2-Метилфеніл)аміно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-он захищен двома патентами України на винахід. Для цієї сполуки проведені попередні дослідження щодо розробки методів контролю якості, що можуть бути в подальшому використанні при складанні нормативної документації.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та експериментальне рішення наукової проблеми з розробки та оптимізації методів синтезу нових біологічно активних сполук серед похідних хінолін-2-онів, хінолін-4-онів та 2,4-піролідіндіонів, проведення раціонального дизайну структур БАР на основі даних віртуального скринінгу та молекулярного докінгу.

1. Досліджено особливості алкілювання хінолін-2-онів та хінолін-4-онів алкілгалогенідами. Вперше встановлено, що 4-метил-2(1H)-хінолони в залежності від наявності метильної групи в положенні С(8) регіоселективно алкілюються хлорацетамидами. Показано ключову роль утворення водневих зв'язків між реагентами в регіоселективному напрямку алкілювання. Синтезовані систематичні ряди похідних 4-алкоксихінолін-2-онів і 4-алкокси-2-метилхінолінів.

2. Розроблено новий загальний підхід до одержання функціонально заміщених 3-алкілхінолін-4-онів, який базується на використанні 3-диметил-амінометил-2-метил-1H-хінолін-4-онів як алкілюючих реагентів. Розроблено метод синтезу 2-метил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбальдегіду. На основі альдегіду апробовано новий метод синтезу 3-диметиламінометил-2-метил-1H-хінолін-4-онів. Синтезовані систематичні ряди похідних 3-алкіл-2-метил-1H-хінолін-4-онів, 3-аміноалкіл-2-метил-1H-хінолін-4-онів.

3. Проведено систематичне вивчення таутомерних перетворень хінолін-4-онів за допомогою ^{13}C ЯМР-спектроскопії та *ab initio* квантово-хімічні розрахунки. Розроблені універсальні критерії визначення таутомерних форм для похідних 1H-хінолін-4-онів, які засновані на величині хімічного зсуву в спектрах ЯМР сигналу атома Карбону в положенні С (4) гетероциклу.

4. Досліджено особливості бромовання в ряду синтезованих 3-заміщених 2-метил-1H-хінолін-4-онів. На основі одержаних результатів розроблено новий підхід до модифікації структур 2-алкіл-1H-хінолін-4-онів, який базується на використанні 2-бромометильних похідних 1H-хінолін-4-онів.

5. Досліджено напрямок перебігу реакції сульфохлорування 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-ону та 4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів. Розроблені препаративні методики одержання сульфохлоридів 4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів. Синтезовані систематичні ряди сульфамідо- та сульфопохідних 4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів.

6. Розроблено препаративний метод синтезу N-заміщених 2,4-піролідиндіонів. За допомогою ЯМР-спектроскопії вивчені таутомерні перетворення N-заміщених 2,4-піролідиндіонів і їх похідних. Синтезовані систематичні ряди 4-амінопохідних N-заміщених 1-R-1,5-дигідропірол-2-ону.

7. Розроблено препаративний метод одержання етилових естерів 4-гідрокси-1-R-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот. Вивчена їх реакційна здатність по відношенню до різних N-нуклеофілів. Синтезовані систематичні ряди амідів 4-гідрокси-1-R-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот.

8. Розроблено алгоритм ліганд-орієнтованого віртуального скринінгу та визначення молекулярної подібності на основі некомерційного програмного забезпечення, який дозволяє застосувати раціональний похід до планування ранніх стадій пошуку БАР. На основі цього алгоритму вперше показано молекулярну подібність похідних 3-амінометилхінолін-4-онів з нейромедіатором серотоніном.

9. На основі даних віртуального скринінгу проведено ряд фармакологічних експериментів по виявленню нейротропної активності серед похідних 3-аміноалкіл-2-метил-1Н-хінолін-4-онів.

10. Проведені широкі біологічні випробування синтезованих сполук на наявність анальгетичної, протизапальної, жарознижуючої, антиоксидантної, мембраностабілізуючої, гематостатичної та антикоагулянтної, діуретичної, протимікробної, протиракової активності, а також гострої токсичності. Проведені докінгові дослідження 4-метил-6-сульфоніл-1,2-дигідрохінолін-2-онів с урокіназного активатору плазміногену (uPA), в результаті чого встановлено закономірності структура-активність та запропонована ділянка рецепції в uPA.

11. Для найбільш перспективного потенційного НПЗЗ – 4-(2-метил-феніл)аміно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону («Ортолон») – проведені поглиблені фармакологічні дослідження та розроблено проект МКЯ.

Список опублікованих праць за темою дисертації:

Статті

1. Синтез та антимікробна активність 3-амінометилзаміщених хінолонів / В. О. Зубков, П. О. Безуглий, К. А. Таран, О. Л. Каменецька, Л. Ф. Сілаєва // Вісник фармації. – 2003. – №4(36). – С. 3-6. *Особистий внесок - здійснення синтезу, аналіз результатів фізико-хімічних та мікробіологічних досліджень, участь в оформленні роботи.*

2. 3-Диметиламинометил-2-метил-1Н-хинолин-4-он – эффективный реагент в синтезе 3 аминометилзамещенных хинолонов / В. А. Зубков, И. С. Гриценко, С. Г. Таран, И. Н. Подольский, О. Л. Каменецкая // Журн. орган. та фармац. хім. – 2005. – Т. 3, № 2 (10). – С. 23-27. *Особистий внесок - планування експерименту, здійснення синтезу, участь в оформленні роботи.*

3. Димеризация N-арилтетрамовых кислот и их 3-карбэтоксипроизводных / В. А. Зубков, О. В. Кизь, С. Г. Таран, И. С. Гриценко // Журн. орган. та фармац. хім. – 2007. – Т. 5, вып. 4 (20). – С. 10-13. *Особистий внесок - постановка задачі дослідження, розробка методик, інтерпретація результатів фізико-хімічних досліджень.*

4. Синтез та антимікробна активність 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-арилсульфамідів / В. О. Зубков, І. С. Гриценко, Т. О. Цапко, О. Г. Гейдеріх // Журн. орган. та фармац. хім. – 2008. – Т. 6, вып. 3(23). – С. 39-43. *Особистий внесок - постановка задачі, розробка методик синтезу, аналіз одержаних результатів, участь у написанні статті.*

5. Синтез, фізико-хімічні та мікробіологічні властивості 3-алкілпохідних 2-метилхінолін-4-онів / І. М. Подольський, І. С. Гриценко, В. О. Зубков, М. М. Велика, Л. Ф. Сілаєва // Вісник фармації. – 2008. – № 3(55). – С. 4-8. *Особистий внесок - розробка стратегії експерименту, узагальнення результатів, участь у написанні статті.*

6. Алкилирование 2-метилхинолин-4-онов амидами хлоруксусной кислоты / В. А. Зубков, И. С. Гриценко, И. Н. Подольский, Е. А. Таран // Журн. орган. та фармац. хім. – 2008. – Т. 6, № 3 (23). – С. 48-52. *Особистий*

внесок - здійснення синтезу, аналіз результатів фізико-хімічних досліджень.

7. Синтез і антимікробна активність 2-метил-4-хлорхінолінів та 2-метилхінолін-4-тіонів / І. С. Гриценко, В. О. Зубков, І. М. Подольський, К. А. Таран // Фармацевтичний часопис. – 2008. – № 4. – С. 10-14. *Особистий внесок - постановка задачі, аналіз результатів фізико-хімічних та мікробіологічних досліджень.*

8. Синтез та протимікробна активність анілідів 4-гідрокси-2-оксо-1-феніл-2,5-дигідро-1Н-піроло-3-карбонової кислоти / В. О. Зубков, С. Г. Таран, О. В. Кізь, Н. І. Філімонова // Вісник фармації. – 2008. – №4 (56). – С. 13-16. *Особистий внесок - здійснення синтезу, інтерпретація результатів фізико-хімічних досліджень, оформлення роботи.*

9. Зубков В. О. Синтез та вивчення антимікробних властивостей 6-алкілсульфамідів 4-метилхінолін-2-онів / В. О. Зубков, І. С. Гриценко, Т. О. Цапко // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 2. – С. 6-10. *Особистий внесок - планування стратегії експерименту, аналіз фізико-хімічних даних, узагальнення результатів.*

10. Зубков В. О. Синтез та деякі особливості реакційної здатності 6-алкілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідрохінолін-2-онів // В. О. Зубков, І. С. Гриценко, Т. О. Цапко // Журн. орган. та фармац. хім. – 2009. – Т. 7, вип. 3 (27). – С. 30-34. *Особистий внесок - постановка задачі дослідження, планування експерименту, розробка методик синтезу сполук, інтерпретація результатів.*

11. Спрямований пошук нових діуретичних засобів в ряду 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів / Т. О. Цапко, І. С. Гриценко, В. О. Зубков, Л. М. Вороніна, Л. В. Галузінська // Вісник фармації. – 2009. – № 3. – С. 7-10. *Особистий внесок - визначення напрямку і тактики проведення експерименту, розробка методик синтезу сполук, виконання розрахунків, узагальнення результатів, написання статті.*

12. Синтез та дослідження протимікробних властивостей 1-феніл-4-арил-амінозаміщених 1,5-дигідропірол-2-онів / В. О. Зубков, С. Г. Таран, О. В. Кізь, Н. В. Дубініна // Фармац. журн. – 2009. – № 3. – С. 55-59. *Особистий внесок - здійснення синтезу, аналіз результатів фізико-хімічних досліджень, участь в оформленні роботи.*

13. Синтез та анальгетична активність 1-феніл-4-*R*-аміно-1,5-дигідропірол-2-онів / В. О. Зубков, С. Г. Таран, Л. В. Яковлева, О. В. Кізь, Г. Л. Литвиненко // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 4(9). – С. 6-9. *Особистий внесок - розробка методик синтезу, участь в інтерпретації результатів та оформленні роботи.*

14. Синтез, фізико-хімічні властивості та антимікробна активність нових 4-ариламіно-2-метилхінолінів / І. С. Гриценко, В. О. Зубков, І. М. Подольський, Т. П. Осолодченко // Фармацевтичний журнал. – 2009. – № 5. – С. 70-75. *Особистий внесок - планування експерименту, узагальнення одержаних результатів, участь у підготовці статті.*

15. Зубков В.А. Синтез и биологическая активность производных 4-алкокси-1Н-хинолин-2-онов / В.А. Зубков, И.С. Гриценко, И.Н. Подольский,

Б.А. Самура, В.А. Николаев // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лікарських засобів : матеріали XXVI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 12 березня 2009 р., м. Харків. – Х.: Вид-во НФаУ, 2009. – С. 197-201. *Особистий внесок - постановка задач експерименту, участь в інтерпретації та узагальненні результатів.*

16. Скринінгові дослідження 3-амінометил-2-метил-хінолін-4-онів як потенційних психотропних засобів / С. Ю. Штриголь, В. О. Зубков, І. С. Гриценко, І. М. Подольський, О. В. Шатілов // Клінічна фармація. – 2010. – Т. 14, № 1. - С. 35-38. *Особистий внесок - планування експерименту, обговорення результатів, участь у написанні статті.*

17. Пошук нейротропно активних речовин у ряду 2 (2,8 диметилхінолін-4-ілоксі)ацетамідів / В. О. Зубков, І. С. Гриценко, І. М. Подольський, Б. А. Самура, В. О. Ніколаєв // Вісник фармації. – 2010. – № 2 (62). – С. 26-29.

Особистий внесок - синтез об'єктів дослідження, інтерпретація результатів фізико-хімічних досліджень, аналіз результатів.

18. Дослідження анальгетичної активності амідів 2-метилхінолін-4 ілоксіоцтових кислот / Б. А. Самура, В. О. Ніколаєв, В. О. Зубков, І. М. Подольський, І. С. Гриценко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010. – Вип. XXIII, № 1. – С. 76-78. *Особистий внесок - постановка задач експерименту, участь в інтерпретації та узагальненні результатів, підготовка статті до друку.*

19. Розробка методик стандартизації 4-(2-метилфеніл)-аміно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону / В. О. Зубков, С. Г. Таран, З. Г. Єрьоміна, О. В. Кізь, О. Л. Каменецька // Фармацевтичний часопис. – 2010. – № 4(16). – С. 44-50. *Особистий внесок - здійснення синтезу об'єкту дослідження, аналіз результатів фізико-хімічних досліджень, участь в оформленні роботи.*

20. Синтез ариламидов 4-метил-2-оксо-1,2-дигидро-хинолин-6-сульфонилюксусной кислоты и их влияние на систему свертывания крови / В. А. Зубков, Т. А. Цапко, И. С. Гриценко, Л. Н. Малоштан // «Известия Академии наук. Серия химическая». – 2010. - № 12. – С. 2272-2275. *Особистий внесок - розробка методик та дійснення синтезу, аналіз результатів фізико-хімічних досліджень, участь в оформленні роботи.*

21. Дослідження антиоксидантної та мембрано-стабілізуючої активності 4-ариламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-онів / Л. М. Вороніна, А. Л. Загайко, В. О. Зубков, С. Г. Таран, О. В. Кізь // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 63-66. *Особистий внесок - здійснення синтезу, інтерпретація результатів фізико-хімічних досліджень, участь в оформленні роботи.*

22. Вплив похідних 3-амінометил-2-метилхінолін-4-ону на рівень моноамінів у головному мозку мишей / С. Ю. Штриголь, В. О. Зубков, І. М. Подольський, І. С. Гриценко // Вісник фармації. – 2011. – № 1 (65). – С. 62-65. *Особистий внесок - постановка задач, участь в плануванні експерименту, обговорення результатів, підготовка статті.*

23. Зручний спосіб одержання 3-(2-метил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-іл)пропанових кислот / В. О. Зубков, Т. О. Цапко, І. С. Гриценко, Н. І. Рушак // Журн. орган. та фармац. хім. – 2011. – № 4(36). – С. 38-41. *Особистий*

внесок - здійснення синтезу, інтерпретація результатів фізико-хімічних досліджень, участь в оформленні роботи.

24. 2-Метил-3-фениламинометилхинолин-4-он – потенціальний антидепрессант с ноотропными свойствами / С.Ю. Штрыголь, В.А. Зубков, И.Н. Подольский, И.С. Гриценко // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75, № 4. – С. 7-9. *Особистий внесок - участь в постановці задач та плануванні експерименту, обговоренні результатів та написанні статті.*

25. Новые сульфонамидные производые хинолин-2-она как аналоги тиазидных диуретиков / В. А. Зубков, Т. А. Цапко, И. С. Гриценко, А. Л. Загайко, Л. В. Галузинская // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2012. – №10. – С. 1-6. *Особистий внесок - розробка дизайну експерименту, синтез об'єктів дослідження, участь в інтерпретації результатів фізико-хімічних та біологічних досліджень, участь у підготовці статті.*

Патенти

26. Пат. 86231 Україна, МПК (2009) С 07 D 207/38, А 61 Р 29/00, С 07 D 207/335. Застосування 1-феніл-4-феніламіно-1,5-дигідропірол-2-он, як засобу, який проявляє анальгетичну активність / Зубков В. О., Таран С. Г., Гриценко І. С., Кізь О. В., Яковлева Л. В., Шаповал О. М. ; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а200611602 ; заявл. 03.11.06 ; опубл. 10.04.2009, Бюл. № 7. – 4 с. *Особистий внесок - здійснення синтезу, аналіз результатів досліджень.*

27. Пат. 89843 Україна, МПК (2009) С 07 D 215/233 (2006.01) С 07 В 43/00, А 61 К 31/47, С 07 В 39/00. Спосіб одержання амінометильних похідних 3-алкілхінолін-4-онів / Зубков В. О., Гриценко І. С., Подольський І. М. ; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а200803035 ; заявл. 11.03.08 ; опубл. 10.03.2010, Бюл. № 5. – 4 с. *Особистий внесок - розробка методик синтезу, здійснення синтезу, аналіз результатів фізико-хімічних досліджень.*

28. Пат. 89844 Україна, МПК (2009) С 07 В 43/00, А 61 К 31/47, С 07 В 39/00, С 07 D 215/233 (2006.01). Спосіб одержання 2-N-R-амінометил-3-бензилхінолін-4-онів / Зубков В. О., Гриценко І. С., Подольський І. М. ; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а 200803065 ; заявл. 11.03.08 ; опубл. 10.03.2010, Бюл. № 5. – 4 с. *Особистий внесок - розробка методик синтезу, керівництво експериментальною частиною, узагальнення результатів фізико-хімічних досліджень.*

29. Пат. 90523 Україна, МПК С 07 D 207/38, А 61 Р 29/00. 4-Бензіламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-он, який проявляє анальгетичну та протизапальну активність / Зубков В. О., Таран С. Г., Кізь О. В., Яковлева Л. В., Шаповал О. М., Литвиненко Г. Л. ; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а200800088 ; заявл. 02.01.2008 ; опубл. 11.05.2010, Бюл. № 9. – 6 с. *Особистий внесок - здійснення синтезу, аналіз результатів досліджень.*

30. Пат. 90547 Україна, МПК (2006.01) С 07 D 207/38, А 61 Р 39/06. 1-Феніл-4-о-толїламіно-1,5-дигідропірол-2-он, який проявляє антиоксидантну активність / Зубков В. О., Таран С. Г., Кізь О. В., Вороніна Л. В., Стрельченко К. В., Красільнікова О. А.; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а200805672 ; заявл. 30.04.2008 ; опубл. 11.05.2010, Бюл. № 9. – 6 с. *Особистий внесок - здійснення синтезу, аналіз результатів.*

31. Пат. 91088 Україна, МПК (2006) С 07 D 215/00. Спосіб одержання 6 алкілсульфоніл-4-метил-1,2-дигідро-2-хінолінонів / Зубков В. О., Гриценко І. С., Цапко Т. О., Таран К. А. ; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а2008 07079 ; заявл. 21.05.08 ; опубл. 25.06.2010, Бюл. № 12. – 4 с. *Особистий внесок - розробка методик синтезу, здійснення синтезу, аналіз результатів фізико-хімічних досліджень.*

32. Пат. 93014 Україна, МПК (2011.01) С 07 D 215/00, А 61 К 31/47. 2,8-Диметил-3-диметил-аміно-метил-хінолін-4-он, який проявляє анксиолітичну та антиамнестичну активність / Зубков В. О., Гриценко І. С., Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Шатілов О. В. ; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а200903868 ; заявл. 21.04.09 ; опубл. 27.12.10, Бюл. № 24. – 8 с. *Особистий внесок – здійснення синтезу, інтерпретація результатів фізико-хімічних досліджень.*

33. Пат. 93576 Україна, МПК (2011.01) А 61 К 31/47, С 07 D 215/12 (2006.01), С 07 D 215/233 (2006.01), А 61 Р 25/24 (2006.01). Застосування 2-метил-3-феніламіно-метил-хінолін-4-ону як засобу антидепресивної та антиамнестичної дії / Зубков В. О., Гриценко І. С., Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Шатілов О. В. ; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет. – № а200903865 ; заявл. 21.04.09 ; опубл. 25.02.11, Бюл. № 4. – 8 с. *Особистий внесок - здійснення синтезу, інтерпретація результатів біологічних досліджень.*

34. Пат. 94136 Україна, МПК (2006.1) А 61 К 31/47, А 61 К 31/18, С 07 D 215/00, С 07 С 311/00, А 61 Р 7/10. н Бутиламід 4-метил-7-хлор-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфонової кислоти, який проявляє діуретичну активність / Зубков В. О., Гриценко І. С., Цапко Т. О., Вороніна Л. М., Галузінська Л. В.; заявник і власник патенту Національний фармацевтичний університет ; заявл. 06.07.09 ; опубл. 11.04.2011, Бюл. № 1. – 6 с. *Особистий внесок - розробка методик, аналіз результатів фізико-хімічних та біологічних досліджень.*

35. Пат. 98446 Україна, МПК С 07 D 207/00 А 61 К 31/40. 1-Феніл-4-о-толїл-аміно-1,5-дигідропірол-2-он, який проявляє анальгетичну та протизапальну активність / Зубков В. О., Таран С. Г., Гриценко І. С., Кізь О. В., Яковлєва Л. В, Шаповал О. М., Литвиненко Г. Л. ; заявник і патенто-власник Національний фармацевтичний університет. – № а200805674 ; заявл. 30.04.2008 ; опубл. 25.05.2012, Бюл. № 10. *Особистий внесок – здійснення синтезу, аналіз результатів досліджень.*

Окрім вказаних вище друкованих праць, дослідження за темою дисертації знайшли відображення ще у 41 тезі доповідей.

АНОТАЦІЯ

Зубков В.О. Синтез, властивості та біологічна активність похідних хінолін-2-онів, хінолін-4-онів та 2,4-піролідиндіонів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук 15.00.02 — фармацевтична хімія і фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2013.

Робота присвячена пошуку біологічно активних речовин у рядах 4-гідрокси-, 4-метилхінолін-2-онів, 2-метилхінолін-4-онів, а також N-заміщених 2,4-піролідиндіонів. Були розроблені та оптимізовані методи синтезу широких рядів сполук: 4-алкоксизаміщених похідних хінолін-2-онів і 2-метилхінолінів, 3-алкіл-2-метилхінолін-4-онів, 3-аміноалкіл-2-метил-1Н-хінолін-4-онів, 2-N-R-амінометил-3-бензилхінолін-4-онів, 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфамідів, похідних 4-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-6-сульфонілоцтової кислоти, амідів 4-гідрокси-1-R-1,5-дигідропірол-2-он-3-карбонових кислот і 4-R-амінопохідних 1-R-1,5-дигідропірол-2-онів.

Розроблено алгоритм ліганд-орієнтованого віртуального скринінгу та визначення молекулярної подібності з застосуванням некомерційного програмного забезпечення *Blue Obelisk Foundation*.

Проведені біологічні випробування для синтезованих сполук на наявність ноотропної, анальгетичної, протизапальної, жарознижуючої, антиоксидантної, мембраностабілізуючої, гематостатичної та антикоагулянтної, діуретичної, протимікробної, протиракової активностей, а також визначення гострої токсичності.

Проведений молекулярний докінг для похідних 4-R-аміно-1-арил-1,5-дигідропірол-2-онів показав, що названі речовини можуть бути інгібіторами ЦОГ-2. Для потенційного НПЗЗ «Ортолон» проведені поглиблені фармакологічні дослідження та розроблено проект МКЯ

Ключові слова: хінолони, піролони, сульфони, таутомерія, нейротропна активність, віртуальний скринінг, молекулярний докінг, інгібітори ЦОГ.

АННОТАЦИЯ

Зубков В.А. Синтез, свойства и биологическая активность производных хинолин-2-онов, хинолин-4-онов и 2,4-пирролидиндионов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия. - Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2013.

Работа посвящена поиску биологически активных веществ в рядах 4-гидрокси-, 4-метилхинолин-2-онов, 2-метилхинолин-4-онов, а также N-замещенных 2,4-пирролидиндионов. В работе затрагиваются такие аспекты поиска БАВ как: виртуальное моделирование и *in silico* скрининг органических соединений, планирование и осуществление синтеза систематических рядов новых веществ, проведение первичного фармакологического скрининга *in vitro* и *in vivo*, проведение углубленных фармакологических исследований, выявление закономерностей «структура-

активность». В рамках синтетической части были разработаны и оптимизированы методы синтеза широких рядов соединений: 4-алкоксизамещенных производных хинолин-2-онов и 2-метилхинолинов, 3-алкил-2-метилхинолин-4-онов, 3-аминоалкил-2-метил-1Н-хинолин-4-онов, 2-N-R-аминометил-3-бензилхинолин-4-онов, 4-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-6-сульфамидов, производных 4-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-6-сульфонилуксусной кислоты, амидов 4-гидрокси-1-R-1,5-дигидропиррол-2-он-3-карбоновых кислот и 4-R-аминопроизводных 1-R-1,5-дигидропиррол-2-онов.

Среди особенностей реакционной способности было выявлено, что 4-метил-2(1Н)-хинолоны в зависимости от наличия заместителя в положении С(8) региоселективно алкилируются хлорацетамидами, с образованием или О- или N-алкилпроизводных. На основе компьютерных расчетов и данных ^1H ЯМР-спектроскопии предложен вероятный механизм данного взаимодействия.

Показана высокая реакционная способность основания Манниха – 3-диметиламинометил-2-метил-1Н-хинолин-4-она – в реакциях с N-нуклеофилами и СН-кислотами. При взаимодействии кватернизованных солей триметил-[(2-метил-4-оксо-1Н-хинолин-3-ил)метил]аммония с гексиламином был выделен и охарактеризован N,N,N-трис((2-метил-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-ил)метил)гексан-1-аммония гидросульфат.

Разработан и осуществлен метод получения 2-метил-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбальдегида с помощью реакции Раймера-Тимана. На основе этого альдегида апробированы методы встречного синтеза 3-аминоалкил-2-метил-1Н-хинолин-4-онов.

Исследовано направление реакций сульфохлорирования 4-гидрокси- и 4-метил-1,2-дигидрохинолин-2-онов. Впервые установлено, что взаимодействие 4-гидрокси-1,2-дигидрохинолин-2-она и 4,6,8-триметил-1,2-дигидрохинолин-2-она с хлорсульфоновой кислотой проходит по положению С(3) с образованием соответствующих дисульфонов. Предложен способ получения новых соединений – 6-алкилсульфонил-4-метил-1,2-дигидрохинолин-2-онов исходя из 4-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-6-сульфохлорида через стадию образования соответствующей сульфоновой кислоты.

Изучена реакционная способность этиловых эфиров 4-гидрокси-1-R-1,5-дигидропиррол-2-он-3-карбоновых кислот. При взаимодействии эфиров с аминами в зависимости от природы растворителя были получены амиды 4-гидрокси-1-R-1,5-дигидропиррол-2-он-3-карбоновых кислот и 4-аминопроизводные N-замещенных 1-R-1,5-дигидропиррол-2-онов.

Разработан алгоритм лиганд-ориентированного виртуального скрининга и определения молекулярного подобия с использованием некоммерческого программного обеспечения *Blue Obelisk Foundation*, который позволяет использовать рациональный подход к планированию ранних стадий поиска БАВ. На основе этого алгоритма показано

молекулярное подобие производных 3-аминометилхинолин-4-онов с нейромедиатором серотонином.

Проведены биологические испытания синтезированных соединений на наличие ноотропной, анальгетической, противовоспалительной, жаропонижающей, антиоксидантной, мембраностабилизирующей, гематостатической и антикоагулянтной, диуретической, противомикробной, противораковой активностей. Изучена острая токсичность синтезированных соединений.

При помощи исследований молекулярного докинга предложено пояснение закономерностей влияния 6-сульфонилпроизводных 4-метил-1,2-дигидрохинолин-2-она на систему свертывания крови, а также сформулированы рекомендации относительно дальнейшего молекулярного дизайна ингибиторов урокиназного активатора плазминогена.

Фармакологический скрининг подтвердил значительный потенциал 4-R-аминопроизводных 1-R-1,5-дигидропиррол-2-онов как веществ с анальгетическим, противовоспалительным, жаропонижающим, антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием. Проведенный молекулярный докинг для производных 4-R-амино-1-арил-1,5-дигидропиррол-2-онов показал, что исследуемые вещества могут быть ингибиторами ЦОГ-2, что позволяет говорить о новом скафолде среди известных ингибиторов циклооксигеназы. Для потенциального НПВС «Ортолон» проведены углубленные фармакологические исследования и разработан проект МКК.

Ключевые слова: хинолоны, пирролоны, сульфоны, таутомерия, нейротропная активность, виртуальный скрининг, молекулярный докинг, ингибиторы ЦОГ.

SUMMARY

Zubkov V. O. Synthesis, properties and biological activity of quinolin-2-ones, quinolin-4-ones and 2,4-pyrrolidinediones derivatives. – Manuscript.

The thesis for the Doctor of science in Pharmacy, specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2013.

The dissertation is about investigation of biologically active substances among of 4-hydroxy- and 4-methylquinoline-2-ones, 2-methylquinoline-4-ones and N-substituted 2,4-pyrrolidinediones. Methods of synthesis of 4-alkoxy derivatives of quinoline-2-ones and 2-methylquinolines, 3-alkyl-2-methylquinoline-4-ones, 3-aminoalkyl-2-methyl-1H-quinolin-4-ones, 2-N-R-aminomethyl-3-benzylquinolin-4-ones, 4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-6-sulfonamides, derivatives of 4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-6-sulfonylacetic acid, 4-hydroxy-1-R-1,5-dihydropyrrol-2-one-3-carboxylic acid amides and 4-R-amino derivatives of 1-R-1,5-dihydropyrrol-2-ones have been developed and optimized.

An algorithm for ligand-based virtual screening and determination of molecular similarity based on nonprofit software *Blue Obelisk Foundation* has been designed.

Biological studies of synthesized compounds have been carried out and compounds with nootropic, analgesic, anti-inflammatory, antipyretic, antioxidant, membrane stabilizing, hemostatic and anticoagulant, diuretic, antimicrobial, anticancer activity have been found. Acute toxicity of tested compounds was determined.

Molecular docking of 4-R-amino-1-aryl-1,5-dihydropyrrol-2-one derivatives showed that these substances could be new COX-2 inhibitors. For the prospective non-steroidal anti-inflammatory agent «Ortolone» advanced pharmacological investigations have been carried out and project of QCM have been elaborated.

Key words: quinolones, pyrrolones, sulfones, tautomerism, neurotropic activity, virtual screening, molecular docking, inhibitors COX.