

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

На правах рукопису

НОСУЛЕНКО ІННА СТЕПАНІВНА

УДК 547.873:547.292].03/.04.057-026.8

**СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
2-[(3-*R*-2-ОКСО-2*H*-[1,2,4]ТРИАЗИНО[2,3-*c*]ХІНАЗОЛІН-6-ІЛ)-
ТІО]ОЦТОВИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ПОХІДНИХ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Львів – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор **Коваленко Сергій Іванович**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри органічної та біоорганічної хімії.

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
Лубенець Віра Ільківна,
Національний університет «Львівська політехніка»,
професор кафедри технології біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології;

доктор фармацевтичних наук, професор
Георгіяниця Вікторія Акопівна,
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри фармацевтичної хімії.

Захист відбудеться «__» _____ 2015 р. о __⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за адресою: 79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6.

Автореферат розісланий «__» _____ 2015 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

_____ І. В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Гетероциклічні сполуки проявляють значну біологічну дію у поєднанні з вкрай широкими можливостями їх хімічної модифікації. Зазначені характеристики вже багато десятиріч обумовлюють пильну увагу дослідників, які працюють у галузі медичної хімії. Однак, незважаючи на багату історію пошуку потенційних біологічно активних агентів серед речовин, що містять гетероциклічний фрагмент, їх потенціал залишається не вичерпаним. Можна стверджувати, що різноманіття будови гетероциклічних каркасів, з урахуванням сучасних досягнень препаративної органічної хімії та прогресу у розробці методів високоефективного біологічного скринінгу, надає майже безмежні можливості у конструюванні фізіологічно активних молекул з заданим типом дії. Отже, досить актуальними є дослідження спрямовані на розробку нових біоактивних агентів, які відносяться до піримідинів та їх анельованих похідних. Тим більш, що відома велика кількість піримідинвісних лікарських засобів з різноплановою дією, зокрема, снодійною (барбітурати), противірусною (ідоксуридин, тенофовір, пецикловір), антиметаболітною (ралтітрексел), сечогінною (триамтерен), протираковою (4-амінохіназоліни) тощо.

Одним з можливих шляхів хімічної модифікації піримідину та його анельованих похідних можна вважати введення тіольної групи, що надасть додаткові можливості їх подальшої функціоналізації та забезпечить здатність впливати на оксидативні процеси в організмі. Цікаво відмітити, що, незважаючи на перспективність зазначеного напрямку, на сьогоднішній день зареєстровано лише один лікарський препарат з 2-тіопіримідиновим фрагментом, а саме антиагрегант тікагрелор (Brilinta®). До перспективних потенційно біологічно активних сполук з фрагментом 2-тіопіримідину також можна віднести 3-R-6-тіоксо-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-2-они, продукти модифікації яких є предметом представленого дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету за темою: «Спрямований пошук біологічно активних сполук серед заміщених триазинохіназолінів» (№ держ. реєстрації 0112U005643) та держбюджетною тематикою МОЗ України за темою: «Спрямований пошук біологічно активних сполук серед заміщених триазинохіназолінів та створення кандидатів у лікарські препарати на їх основі» (№ держ. реєстрації 0114U000968) згідно пріоритетного напрямку «Впровадження нових технологій створення лікарських засобів на основі спрямованого дизайну біологічно активних речовин та їх високопродуктивного скринінгу».

Мета і задачі дослідження. Дисертаційна робота присвячена розробці методів синтезу калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]-хіназолін-6-тіолатів та 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]-хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних, вивченню фізико-хімічних та біологічних властивостей, встановленню взаємозв'язку

«будова-дія» поміж синтезованими речовинами та рекомендації найбільш активних сполук для подальших фармакологічних досліджень.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- обґрунтувати можливість поєднання біологічного потенціалу пріоритетних в медичній хімії «скаффолдів» з малодослідженою триазино[2,3-с]-хіназоліновою системою через «лінкерну» функціональну групу з метою пошуку нових субстанцій для створення хіміотерапевтичних засобів;
- дослідити методи формування та особливості протікання реакції гетероциклізації у синтезі невідомих калій 3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]-хіназолін-6-тіолатів та їх галогеновмісних аналогів;
- дослідити реакцію алкілування калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-тіолатів хлороцтовою кислотою та її функціональними похідними (естерами, амідами, нітрилами), розробити альтернативні методи їх синтезу та встановити за допомогою спектральних методів S-регіоселективність її протікання;
- покращити фармако-технологічні характеристики 2-[(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино-[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот шляхом структурної модифікації (синтез солей);
- розробити препаративні методи синтезу галогеновмісних N-циклоалкіл-(алкаріл-, арил-, гетерил-)-2-[(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів та встановити фактори, які впливають на цей процес;
- встановити будову та вивчити фізико-хімічні властивості (елементний аналіз, ІЧ-, ¹H, ¹³C ЯМР-, хромато-мас-, мас-спектри) синтезованих сполук;
- дослідити методами *in vitro* інгібування біолоюмінесценції, антибактеріальну, противірусну, протипухлинну активності синтезованих сполук;
- на основі одержаних результатів протипухлинної активності *in vitro* провести QSAR-аналіз та молекулярний докінг потенційних протиракових агентів та вивчити їх механізм дії щодо протеїнкінази СК2 з метою подальшого раціонального дизайну нових хіміотерапевтичних засобів;
- дослідити методами *in vivo* актопротекторну, церебропротекторну активність синтезованих сполук та вплив «сполуки-лідера» на центральну та церебральну гемодинаміку піддослідних тварин;
- на основі одержаних результатів фармакологічного скринінгу *in vivo* провести кореляційний аналіз «структура-біологічна дія» та виділити високоактивні сполуки для їх подальшої оптимізації, поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних молекул.

Об'єкт дослідження. Реакції [5+1]-циклоконденсації у синтезі нових біологічно активних калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино-[2,3-с]хіназолін-6-тіолатів, реакції алкілування, гідролізу, амінолізу, нейтралізації у синтезі потенційно біологічно активних 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних.

Предмет дослідження. Калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]-триазино[2,3-с]хіназолін-6-тіолати та галогеновмісні 2-[(3-R-2-оксо-2H-

[1,2,4]триазино-[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтові кислоти як вихідні сполуки для пошуку потенційних біологічно активних сполук.

Методи дослідження. Експериментальні методи органічної хімії: синтез, фізико-хімічний аналіз з використанням ІЧ-, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, хроматомас- та мас-спектрометрії, елементного аналізу, фармакологічний скринінг *in vitro* та *in vivo*, QSAR-аналіз, молекулярний докінг.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше модифіковані методики синтезу калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]-хіназолін-6-тіолатів та відповідних тіонів на основі галогеновмісних 6-R-3-(2-аміно-3-R₁-4-R₂-5-R₃-феніл)-1,2,4-триазин-5-онів. Показано, що наявність галогену в молекулі останніх значно впливає на тривалість реакції.

Вперше синтезовані галогеновмісні 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтові кислоти та їх функціональні похідні (естери, амід, нітрил) алкілуванням відповідних калій тіолатів та тіонів. Показана можливість взаємоперетворень похідних 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот, які можуть бути використані як альтернативні препаративні методи.

Вперше на основі методології «*in silico*» (QSAR-модель, молекулярний докінг) проведено дизайн та синтез комбінаторної бібліотеки галогеновмісних N-циклоалкіл-(циклогетерил-, арил-, бензил-, фенетил-, азоліл)-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів як потенційних біологічно активних сполук.

Вперше досліджені спектральні властивості (^1H та ^{13}C ЯМР-, ІЧ-, мас-спектри) галогеновмісних 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]-хіназолін-2-онів та 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних (естерів, амідів, нітрilів) та встановлений вплив структурних особливостей зазначених сполук на спектральні характеристики. Вперше виявлено нетипове розщеплення метиленових протонів віддаленого від центру хіральності -SCH₂CO- фрагменту у вигляді двох дублетів з КССВ 18.6-15.9 Гц.

У процесі виконання роботи синтезовано 199 сполук (121 вперше), серед яких виявлені речовини з антигіпоксичною, церебропротекторною, антибактеріальною, противірусною, протипухлинною активністю.

Вперше на основі QSAR-моделі, молекулярного докінгу обґрунтована здатність синтезованих сполук пригнічувати рівень активності ферменту СК2 та, за допомогою біотестів, доведено один із можливих механізмів протиракової дії.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані автором результати мають теоретичне значення в галузях медичної, синтетичної та структурної органічної хімії. Значну цінність має розроблена автором методологія формування комбінаторної бібліотеки галогеновмісних N-циклоалкіл-(циклогетерил-, арил-, бензил-, фенетил-, азоліл)-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів, яка може бути використана для формування та хімічної модифікації гетероциклічних сполук з фрагментом 2-тіопіримідину.

Одержані автором результати спектральних досліджень з успіхом можуть бути використані при розробці підходів щодо ідентифікації та кількісного визначення сполук подібних до тих, що синтезовані.

Проведені дослідження біологічної дії галогеновмісних 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів та 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)-тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних (естерів, амідів, нітрилів) на «*in silico*», «*in vitro*» моделях дозволили виявити «сполуки-лідери» з високою протипухлинною та антибактеріальною активністю.

Прикладне значення мають результати скринінгових досліджень та QSAR-моделі, одержані на основі одержаних даних, адже вони можуть стати основою подальших робіт по створенню протиракових агентів на основі зазначеного класу сполук.

Фрагменти роботи впроваджено у науково-дослідний та навчальний процес кафедр органічної хімії, фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»; кафедри технології органічних сполук та фармацевтичних препаратів ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет» (м. Дніпропетровськ), кафедри органічної хімії Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара та відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології та генетики НАН України (акти впровадження від 09.09.2014, 09.09.2014, 12.09.2014, 16.09.2014, 17.09.2014, 20.09.2014, 24.09.2014).

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто одержані 199 сполук (121 вперше), проаналізовані та узагальнені результати фізико-хімічних та біологічних досліджень. У ході роботи над дисертацією автором особисто визначена мета дослідження, шляхи її реалізації, планування та виконання експериментальної частини роботи, проведена статистична обробка та узагальнення одержаних результатів, формування основних положень та висновків, які захищаються. Розроблені та визначені науково-методичні підходи щодо синтезу, встановлення будови та біологічних досліджень калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-тіолатів, галогеновмісних 2-[(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних. Співавторами наукових праць є науковий керівник, а також науковці, разом з якими проводились спільні дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на IV International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (Torremolinos (Spain), 2011), 4-й науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2011), науково-практичній конференції «Инновационные процессы в лекарствоведении» (Ярославль, 2012), науково-

практичній конференції «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2012), I міжнародній конференції молодих вчених та студентів «Сучасні досягнення медичної і фармацевтичної науки» (Запоріжжя, 2012), XX міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», присв. 90-річчю з дня народж. д.фарм.н., проф. Д.П.Сало (Харків, 2013), 73 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченої Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» (Запоріжжя, 2013), 5 науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013), науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (Запоріжжя, 2014).

Апробацію роботи проведено 27.11.2014 року на міжкафедральному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр аналітичної хімії, біохімії та лабораторної діагностики, органічної та біоорганічної хімії, технології ліків, токсикологічної та неорганічної хімії, фармацевтичної хімії, фармакогнозії, фармакології та ботаніки, управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства, фізикоїдної хімії Запорізького державного медичного університету (Запоріжжя, 2014).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 18 наукових робіт, із них 7 статей, 10 тез доповідей на з'їздах, симпозіумах, науково-практичних конференціях та 1 патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох експериментальних розділів, висновків, додатків та списку використаних літературних джерел. Дисертація викладена на 267 сторінках, ілюстрована 67 рисунками (24 с.) та 45 таблицями (63 с.) та 8 додатків (53 с.). Список використаних джерел містить 199 найменувань.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Методи формування та біологічні властивості 2-тіопіримідинів та їх конденсованих похідних (огляд літератури)

Літературний огляд є спробою узагальнення методів синтезу 2-тіопіримідинів та їх конденсованих похідних, їх функціоналізації, фізико-хімічних та біологічних властивостей. В огляді розкриті основні підходи до синтезу зазначених гетероциклів, в основі яких лежать [5+1]-, [4+2]-, [3+3]-гетероциклізації та «доміно-реакції».

Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості 3-R-6-тіо-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-c]хіназолін-2-онів та їх галогеновмісних аналогів

[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів, а також дією гідразин гідрату на естери 2-арил-[(3*H*-хіназолін-4-іліден)гідразоно]оцтових кислот.

Взаємодія вихідних сполук (**1.1-1.27**) з сірковуглецем у спирті етиловому в присутності калій гідроксиду (метод А) або взаємодія зазначених сполук з калій етилксантогенатом у пропанолі-2 (метод Б, рис. 2) приводить до утворення калій тіолатів **2.1-2.27** з високими виходами. Формування цільових продуктів проходить при кип'ятінні в органічному розчиннику (етанол, пропанол-2) протягом 4 годин. У випадку галогеновмісних вихідних сполук (**1.12-1.27**) необхідно було подовжувати тривалість реакції до 8 годин, що, вірогідно, пов'язано з пониженням нуклеофільності аміногрупи за рахунок виражених електронно-акцепторних властивостей галогенів.

При одержанні цільових сполук **2.1-2.27** метод Б має ряд переваг, по-перше, це відсутність високотоксичних та летючих реагентів, по-друге, високі виходи і чистота кінцевих продуктів реакції. Для доказу будови відповідні калій тіолати **2.1-2.27** були перетворені у відповідні тіони **3.1-3.27** (рис. 2).

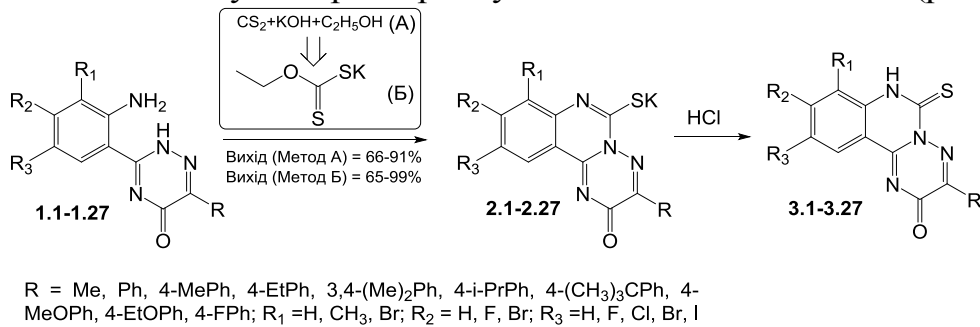


Рис. 2. Методи синтезу калій 3-*R*-8-*R*₁-9-*R*₂-10-*R*₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолін-6-тіолатів та відповідних тіонів

¹H ЯМР-спектри сполук **3.1-3.27** характеризуються синглетним протоном тіоамідної групи при 13.92-13.83 м.ч. та специфічним резонуванням в «ароматичній» частині спектру протонів гетероциклу у вигляді ABCD-системи. Поява у ¹³C ЯМР-спектрі сполук **3.1**, **3.3**, **3.5**, **3.8** характеристичних сигналів дезекранованих атомів карбону положення 6 і 2 при 171.05-168.79 м.ч. та 158.68-160.25 м.ч. відповідно, підтверджує утворення нової гетероциклічної системи і, що важливо, відрізняє їх від вихідних сполук **1.1-1.27**.

Алкілування калієвих солей **2.1-2.6**, **2.8-2.11**, **2.13**, **2.15**, **2.17**, **2.24** хлороцтовою кислотою проводили при кип'ятінні у водно-спиртових розчинах на протязі 30-120 хвилин при додаванні еквімолекулярної кількості калій гідроксиду (метод А, рис. 3). При цьому, після підкислення реакційної суміші до рН 3, із високими виходами утворювались відповідні кислоти **4.1-4.14**. Тоді як алкілування сполук **2.1-2.27** функціональними похідними хлороцтової кислоти проводили у середовищі пропанолу-2, продукт реакції виділяли вливанням реакційної маси у воду (**5.1-5.3**, **6.1-6.14**, **7.1-7.19**). Слід також зазначити, що відповідні тіони **3.1-3.6**, **3.8-3.11**, **3.13**, **3.15**, **3.17**, **3.24** легко алкілюються вищезазначеними галогеновмісними сполуками у середовищі спирту при додаванні калій гідроксиду (метод Б, рис. 3).

Провести альтернативні методи синтезу, зокрема амоніліз естерів **5.1-5.3**, не вдалося внаслідок низької реакційної здатності останніх. В той час, амідні **6.2, 6.5, 6.8, 6.12** шляхом дегідратації перетворені у відповідні нітрили **7.2, 7.5, 7.8, 7.13** (рис. 3).

В ^1H ЯМР-спектрах сполук **4.1-4.14, 5.1-5.3, 6.1-6.14** та **7.1-7.19** характеристичним є двопротонний синглет $-\text{S}-\text{CH}_2-$ групи при 4.33-3.89 м.ч. Протон $-\text{COOH}$ -групи кислот **4.1-4.14** у спектрах резонує як синглет у слабкому полі при 13.63-12.72 м.ч., а $-\text{NH}$ амідної групи сполук **6.1-6.14** проявляються у вигляді двох нееквівалентних синглетів при 7.56-7.50 м.ч. та 7.14-7.07 м.ч., в результаті впливу анізотропної $\text{C}=\text{O}$ -групи.

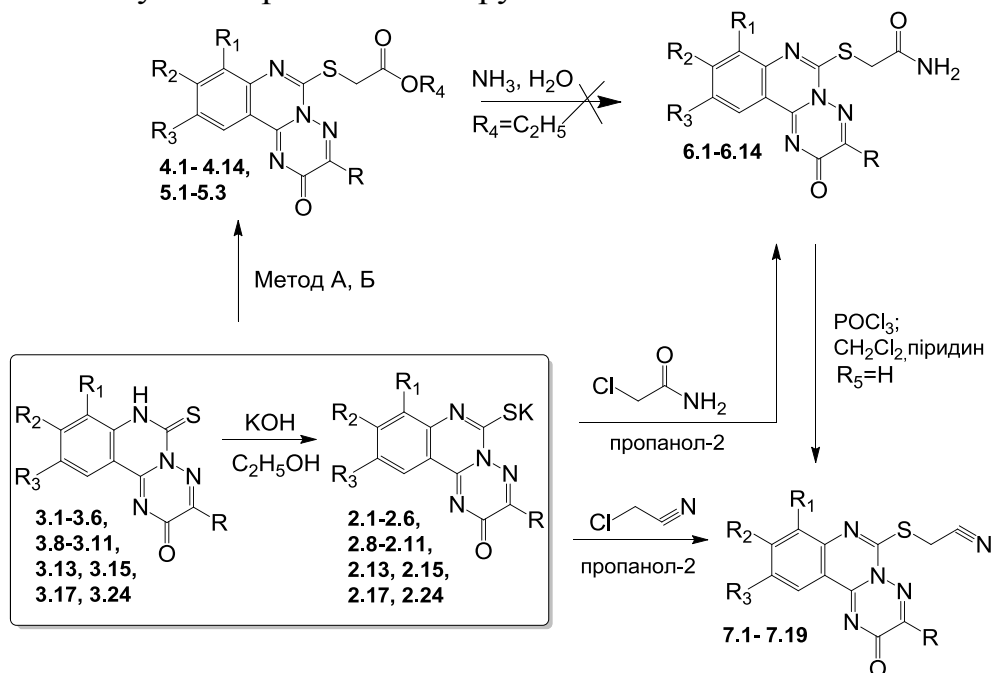


Рис. 3. Методи синтезу 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних

У ^{13}C ЯМР-спектрі сполук **4.1, 4.7, 7.8** у сильних полях спостерігаються сигнали sp^3 -гібридизованих атомів карбону, які, згідно хімічних зсувів, належать до наступних структур: $-\text{CH}_3-$ (18.19 м.ч.), $-\text{S}-\text{CH}_2-$ (34.21-38.94 м.ч.), $-\text{S}-\text{CH}_2-$ (16.59 м.ч.), $\text{CH}_3-\text{O}-$ (55.94 м.ч.). Найбільш дезекранованими є атоми sp^2 -гібридизованого карбону $-\text{COOH}$ -групи (170.04-170.08 м.ч.) та положень 2 і 6 [1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолінової системи. Крім того, у спектрі нітрилу **7.8** спостерігається характеристичний сигнал sp -гібридного атома карбону $-\text{CN}$ -групи при 116.25 м.ч.

Синтез натрій 2-[(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино-[2,3-c]хіназолін-6-іл)-тіо]ацетатів (**8.1-8.5**) проведено шляхом взаємодії кислот **4.1-4.3, 4.5, 4.7** з натрій гідроксидом у водному середовищі (рис. 4). Кінцеві продукти реакції виділяли шляхом відгону розчинника під вакуумом.

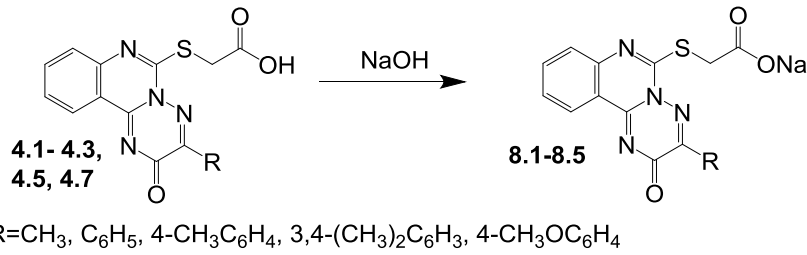


Рис. 4. Методи синтезу натрій 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетатів

ІЧ-спектри солей **8.1-8.5** характеризуються наявністю двох інтенсивних смуг поглинання симетричних та асиметричних валентних коливань карбонільного фрагменту карбонілу CO в COOH при 1650-1550 см⁻¹ та 1400-1300 см⁻¹.

Синтез та фізико-хімічні властивості N-(циклоалкіл-, цикліл-, бензил-, арил-, гетерил)-2-[(3-R- 8-R₁- 9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів

Комбінація декількох фармакофорів у одній молекулі передбачає ретельне планування синтетичних робіт по створенню відповідних «скаффолдів» та «лінкерних» груп, що, в кінцевому результаті, дозволяє ефективно формувати масивні комбінаторні бібліотеки. Тим більше, що амідний фрагмент займає особливе місце серед відомих фармакофорів, перш за все внаслідок його спорідненості до пептидного зв'язку. Саме пептидний зв'язок є об'єктом активності ряду ензимів, зокрема гідролаз, що спонукає дослідників, які працюють у галузі медичної хімії проводити активний пошук потенційних біологічно активних агентів саме серед амідів.

Синтез амідів **9.1-9.18** проведено алкілуванням калій 3-R-9-R₁-10-R₂-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-тіолатів (**2.3, 2.8, 2.10, 2.13, 2.14, 2.15, 2.16, 2.20, 2.24, 2.26**) N-циклоалкіл-(циклоаралкіл)-2-хлороацетамідами (метод А) у пропанолі-2, суміші пропанолу-2-вода або діоксані (рис. 5). Крім того, відповідні аміді **9.1-9.18** синтезовані амінолізом активованих кислот **4.3, 4.7, 4.9, 4.11, 4.12, 4.14**. В якості активуючої компоненти для кислот обрано N,N'-карбонілдіімідазол (CDI, метод Б).

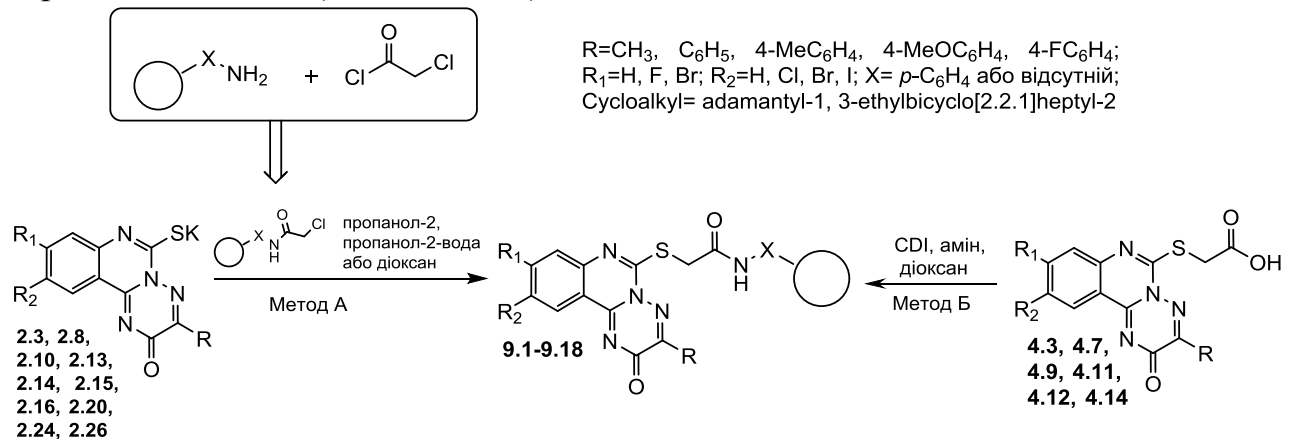


Рис. 5. Підходи до синтезу 2-[(3- R -9- R_1 -10- R_2 -2-оксо-2 H -[1,2,4]-триазино[2,3- c]-хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів з фрагментами каркасних амінів

Характеристичними сигналами в ^1H ЯМР-спектрах амідів **9.1-9.19** є двопротонний синглет $-\text{SCH}_2-$ групи при 4.25-3.93 м.ч. та сигнали NH-групи, який в залежності від електронного оточення резонує як синглет або мультиплет при 7.88-7.67 м.ч. (**9.1-9.7**), дублет – при 8.18-7.82 м.ч. (**9.12-9.18**). Тоді, як у амідів **9.8-9.11** зазначений протон резонує у більш слабкій частині магнітного поля при 10.40-10.36 м.ч.

Синтез амідів **10.1-10.8** проведено алкілюванням калій тіолатів (**2.10, 2.21, 2.24-2.27**) N -цикліл-2-хлороацетамидами (метод А) та амінолізом активованої кислоти **4.9** (метод Б) з пірролідином, піперидином, морфоліном (рис. 6). Проведені експерименти показали, що зазначені методи синтезу не мають особливостей, протікають при обговорених вище умовах і тривалості у часі.

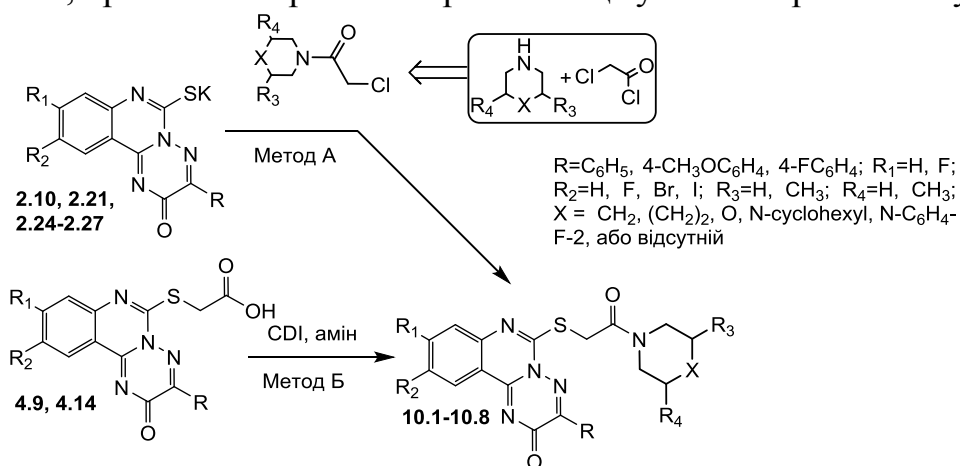


Рис. 6. Основні підходи до синтезу галогеновмісних N -цикліл-2-[(3- R -9- R_1 -10- R_2 -2-оксо-2 H -[1,2,4]триазино[2,3- c]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів

^1H ЯМР-спектри амідів **10.1-10.8** характеризується двопротонним синглетом $-\text{SCH}_2-$ групи при 4.23-4.29 м.ч. Будову амідів **10.1-10.8** також підтверджують сигнали аліфатичних протонів насичених азотовмісних гетероциклів у сильному магнітному полі.

Для формування серії N -арил-(бензил-, фенетил-)2-[(3- R -9- R_1 -10- R_2 -2-оксо-2 H -[1,2,4]триазино[2,3- c]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів (**11.1-11.40**) нами було використано два альтернативних підходи, а саме аміноліз утворених «*in situ*» імідазолідів відповідних карбонових кислот **4.1-4.3, 4.7, 4.11** та алкілювання калій 3- R -9- R_1 -10- R_2 -2-оксо-2 H -[1,2,4]триазино[2,3- c]хіназолін-6-тіолатів (**2.1-2.3, 2.8, 2.13, 2.14, 2.16, 2.23**) 2-хлоро- N -арил-(бензил-, фенетил-)ацетамідами, які попередньо одержані ацилюванням відповідних заміщених анілінів, бензил- (фенетил-)амінів хлорангідридом хлороцтової кислоти (рис. 7).

Незважаючи на задовільні характеристики обох підходів, для формування комбінаторних бібліотек більш препаративним виявився саме метод алкілювання, адже він характеризується експресністю, більшою гнучкістю, масштабністю та відтворюваністю, а також більш високою чистотою продуктів, що виключає необхідність додаткової очистки.

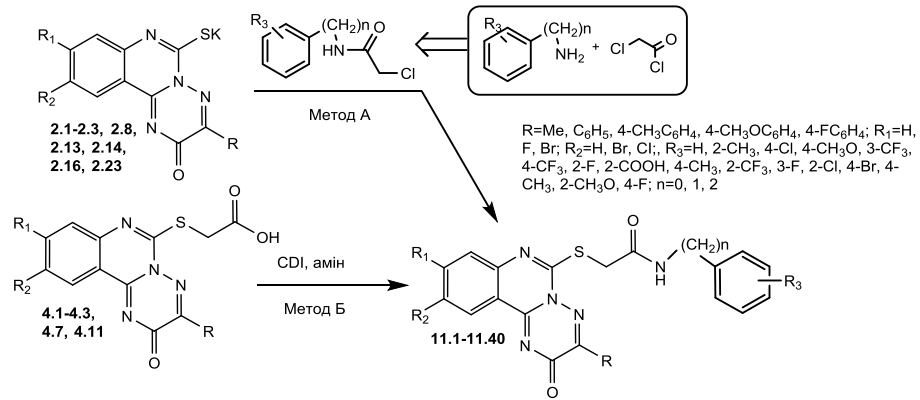


Рис. 7 Основні підходи до синтезу *N*-арил-(бензил-, фенетил)-2-[(3-*R*-9-*R*₁-10-*R*₂-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів

¹H ЯМР-спектри сполук **11.1-11.40** є досить інформативними. Так, в «ароматичній» частині спектру сигнали протонів триазино[2,3-*c*]хіназолінового фрагменту в залежності від наявності замісника у положенні 9 та 10, реєструються у вигляді ABCD (**11.1-11.13**, **11.18-11.32**, **11.39**, **11.40**) або ABC системи (**11.14-11.17**, **11.33-11.38**) з відповідною мультиплетністю. Сигнали ароматичного замісника в положенні 3 проявляються у вигляді A₂V₂-системи, яка характерна для *n*-феніленового фрагменту (**11.2**, **11.3-11.13**, **11.15-11.17**, **11.36**), серії сигналів, яка складається з дублету та мультиплету (**11.2**, **11.14**, **11.19**, **11.21**, **11.23**, **11.25**, **11.28**, **11.30**, **11.32**, **11.35**, **11.38**, **11.40**) або двох триплетів (**11.33**, **11.34**, **11.37**). В аліфатичній частині ¹H-ЯМР спектру резонують сигнали -SCH₂CO- (синглет при 4.33-3.98 м.ч.), C₆H₅CH₂- (дублет при 4.45-4.26 м.ч.), C₆H₅CH₂CH₂-фрагментів (триплети при 2.75-2.74 та 3.36-3.35 м.ч.). Також необхідно зазначити наявність сигналу амідного протону, який, в залежності від хімічного та магнітного оточення, проявляється як синглет при 11.77-9.61 м.ч. (**11.1-11.17**) або триплет (**11.18-11.40**) при 8.97-8.36 м.ч.

У ¹³C-ЯМР спектрах сполук **11.1**, **11.18**, **11.24**, **11.28**, **11.31**, **11.39** найбільш інформативними є сигнали *sp*³-гібридного атома карбону при 36.83-35.35 м.ч., які відповідають -SCH₂CO-фрагменту, та дезекрановані сигнали при 160.11-154.83 м.ч., 163.53-160.07 м.ч. і 167.59-166.16 м.ч, які відповідають атомам карбону C-6, C-2 та C(O)NH-групи.

Модифікацію вихідних сполук **2.1-2.3**, **2.8**, **2.10**, **2.13-2.15**, **2.17**, **2.20**, **2.24**, **2.27** проводили алкілуванням *N*-азоліл-2-хлороацетамідами, які одержані ацилуванням відповідних аміноазолів хлорангідридом хлороцтової кислоти у діоксані або суміші діоксан-вода (2:1) (рис. 8).

¹H ЯМР-спектри сполук **12.1-12.10**, **13.1-13.6** та **14.1-14.4** характеризуються наявністю сигналів 3-заміщеної [1,2,4]триазино[*c*]хіназолінової системи та «лінкерної» групи. Останній фрагмент у спектрі представлений двома синглетами, а саме сигналом протону -C(O)NH-групи у слабкопольній частині спектру (13.09-11.27 м.ч.) та -SCH₂-групи (4.45-4.17 м.ч.).

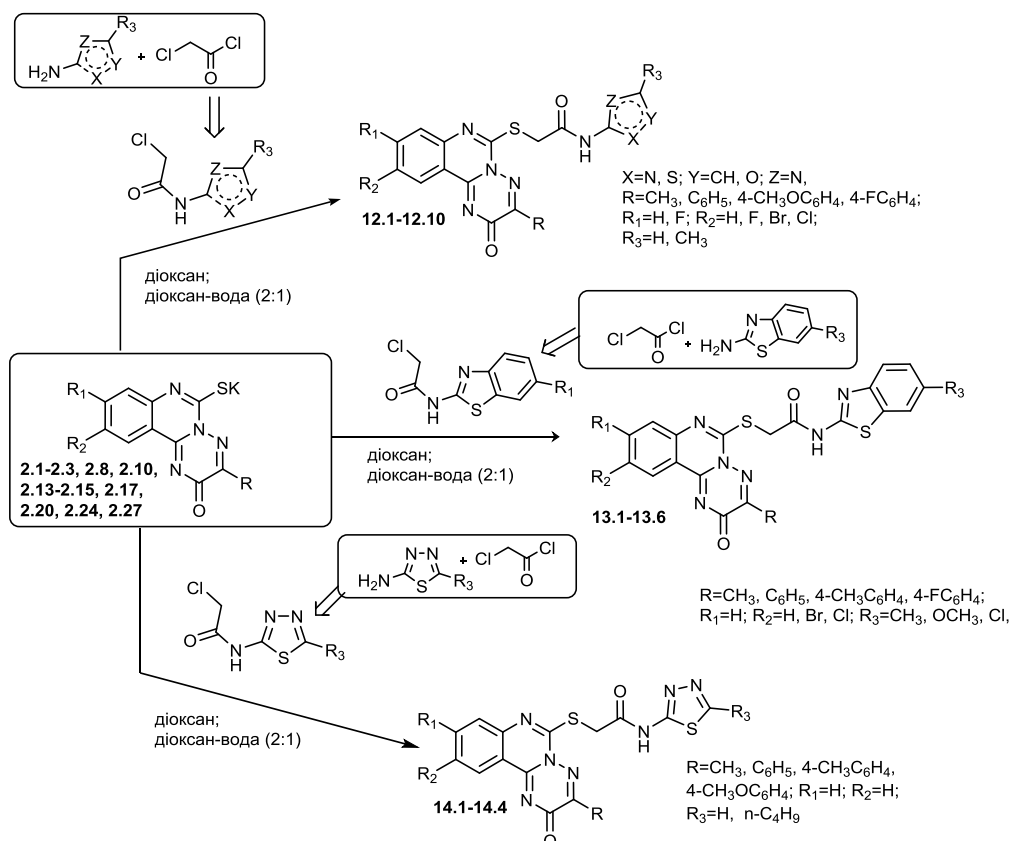


Рис. 8. Основні підходи до синтезу *N*-азоліл-2-[(3-*R*-9-*R*₁-10-*R*₂-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів

Синтез сполук **15.1-15.13** здійснювався алкілюванням калій тіолатів **2.2, 2.5, 2.6, 2.9, 2.10, 2.11, 2.16, 2.17, 2.18, 2.24** відповідними 1-(хлорацетил)-3-арил(гетерил)-5-арил-4,5-дигідро-1*H*-піразолами (рис. 9). Останні були одержані за допомогою серії послідовних перетворень, а саме синтез халконів конденсацією метиларил-(гетерил)-кетонів з ароматичними альдегідами, формуванням на їх основі 3-арил(гетерил)-5-арил-4,5-дигідро-1*H*-піразолів та ацилювання вище зазначених сполук хлорацетилхлоридом.

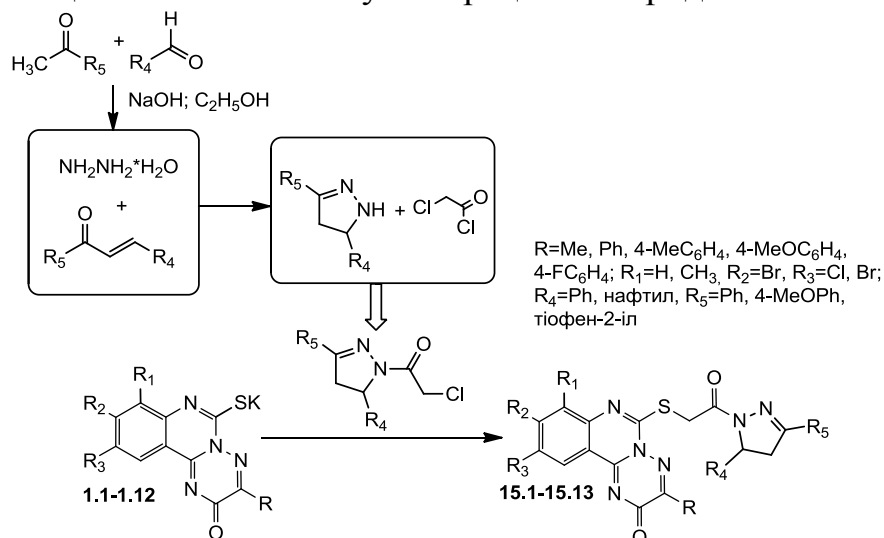


Рис. 9. Основні підходи до синтезу *N*-(3-*R*₄-5-*R*₅-4,5-дигідро-1*H*-піразол-1-іл)-2-[(3-*R*-9-*R*₁-10-*R*₂-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів

Піразоліновий фрагмент у ^1H ЯМР-спектрі представлено у вигляді АВМ-системи, яку формують сигнали магнітно-нееквівалентних протонів метиленової групи у вигляді двох триплетів або дублетів при 3.98-3.93 м.ч. та 3.28-3.18 м.ч. ($J=17.5-16.4$ Гц) та протону асиметричного атому карбону у вигляді дублет-дублету при 5.65-5.59 м.ч. ($J=11.4-9.7$ Гц). Вкрай цікавим виявився характер сигналу $-\text{SCH}_2\text{CO}$ -фрагменту, який, як правило, проявляється у вигляді двох дублетів при 4.83-4.36 м.ч. та 4.53-3.93 м.ч. відповідно. Зазначене розщеплення обумовлено наявністю центру асиметрії у піразоліновому залишку, але є досить несподіваним, враховуючи віддаленість даного метиленового фрагменту та константу спін-спінової взаємодії (18.6-15.9 Гц). Фенільні протони положень 3 та 5 піразолінового циклу в ^1H -ЯМР-спектрах сполук **15.2-15.6** реєструються у вигляді мультиплетів, які складаються з двох двопротонних дублетів (положення 2, 6) та двох трипротонних мультиплетів (положення 3, 4, 5). В той самий час, сигнали протонів нафтенного залишку у сполуці **15.7** проявляються у вигляді складно інтерпретованої мультиплетної системи при 8.24-7.40 м.ч. В найбільш інформаційному спектрі сполуки **15.9** сигнал протону положення 5 тіофену проявляється спільно з дублетом Н-10 при 7.66-7.59 м.ч., протон положення 3 – у вигляді дублету при 7.42 м.ч. ($J = 2.3$ Гц), Н-4 – у вигляді триплету при 7.12 м.ч. ($J = 3.6$ Hz). В сполуках **15.8, 15.10-15.13** зазначені сигнали у більшості випадків резонують спільно з ароматичними протонами положення 9 та 10.

Біологічна активність синтезованих сполук

Спочатку нами проведено відбір структур-кандидатів і вибір напрямків досліджень з урахуванням цитотоксичності. Цитотоксичність визначали за тестом **інгібування біоломінесценції** на бактеріях *Photobacterium leiognathi Sh1* на кафедрі фармації Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського (д.б.н. А.М. Кацев). Проведене дослідження показало, що цитотоксичність 3-*R*-6-тіоксо-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів та їх *S*-заміщених щодо бактерії *Photobacterium leiognathi Sh1* визначається базовим гетероциклом і залежить від замісника положення 3 та 6. Критичними «фармакофорами» серед замісників положення 3 є фенільна, 4-метокси(етокси)фенільна та 4-флуорофенільна групи. Важливо, що модифікація молекули шляхом введення у положення 9 та 10 триазинохіназолінового циклу флуора, хлора та брома приводить до значного посилення цитотоксичності. Найбільшу цитотоксичність як в гострому, так і в хронічному тесті у концентрації 0,025-0,25 мг/мл проявляють сполуки **2.1-2.3, 2.8-2.15, 2.24, 3.1-3.4, 3.6-3.11, 3.19, 3.21, 3.24, 4.9-4.14, 7.2, 7.4, 7.7, 7.12-7.14 та 7.16-7.19**, тоді як інші синтезовані сполуки проявляють інгібуючі властивості у значно більших концентраціях (0,1-0,25 мг/мл).

Результати дослідження синтезованих сполук на моделі інгібування біоломінесценції бактерій стали обґрунтуванням спрямованого пошуку біологічно активних речовин з різною направленістю дії в залежності від їх цитотоксичності. Сполуки з незначною цитотоксичністю були досліджені на

актопротекторну та церебропротекторну дію, з високою – на протимікробну, противірусну та протипухлинну активність.

Дослідження **актопротекторної, церебропротекторної активності, впливу на центральну та церебральну гемодинаміку** проводилось на кафедрі фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (зав. каф., д.мед.н., проф. Степанюк Г.І.). **Актопротекторну активність** сполук **8.1-8.5** оцінювали за тестом плавальної проби з додатковим навантаженням (10% від власної маси тіла) у воді в умовах гіпо- (10-12°C) та гіпертермії (39-41°C) у дозі 5 мг/кг. Ефективність сполук порівнювали з дією еталонного актопротектора «Бемітил» (доза 25 мг/кг) в аналогічних умовах експерименту. Встановлено, що в умовах гіпотермії найбільш ефективною виявилися сполука **8.2**, тоді як для сполуки **8.3** спостерігалася тенденція до підвищення фізичної витривалості щурів тільки в умовах гіпертермії. Сполуки **8.2** та **8.3** за силою дії конкурують з бемітилом.

Церебропротекторну активність (у %) сполук **8.1-8.5** оцінювали на експериментальній моделі ГПМК (двобічна перев'язка загальних сонних артерій) за динамікою показника летальності щурів. Досліджувані сполуки (10 мг/кг), мексидол (100 мг/кг) та пірацетам (100 мг/кг) вводили в профілактичному режимі одноразово в/о за 60 хв до відтворення патологічного стану. Проведене дослідження показало, що церебропротекторний ефект на ішемізований мозок сполуки **8.1**, як і мексидолу, був статистично вірогідним на протязі 36 год спостереження. Проте, свій захисний ефект сполука **8.1** проявляє у значно меншій дозі.

Оскільки при ГПМК має місце прогресуюче зниження мозкового кровотоку з наступним розвитком гіпоксичних та ішемічних процесів, кінцевою точкою яких є розвиток некрозу нейронів, цікаво було дослідити вплив сполуки **8.1** (10 мг/кг, в/в) та препарату порівняння «Вінпоцетин» (5 мг/кг, в/в) на кровопостачання головного мозку та показники центральної гемодинаміки. Оцінюючи результати проведених досліджень, можна зазначити, що сполуці **8.1** притаманна спроможність посилювати кровопостачання головного мозку у інтактних тварин, не впливаючи при цьому на рівень артеріального тиску (АТ). Разом з цим сполука **8.1**, як і вінпоцетин, в умовах ГПМК сприяє нормалізації показників центральної та церебральної гемодинаміки.

Вивчення **антимікробної та протигрибкової активності** проводилось на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д.м.н., доц. Камишний О.М.). Результати проведених досліджень на антибактеріальну активність показали, що 3-R-6-тіоксо-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-2-они (**3.1-3.10**), як і калій тіолати (**2.1-2.10**) – ефективні антибактеріальні сполуки щодо штаму *St.aureus* (МІК 6.25-100 мкг/мл). Найбільшу бактерицидну та бактеріостатичну дію щодо *St.aureus* проявляють сполуки **2.12, 2.13, 2.15, 2.16** та **2.24**, які у положенні 8, 9 та 10 містять флуор або бром, а у положенні 3 – фенільний або 4-флуорофенільний замісники. Тоді, як 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтові кислоти (**4.1-4.14**), ацетаміди (**6.1-6.8**), ацетонітрили (**7.1-7.19**) – малоперспективна група антибактеріальних

речовин щодо штаму *St.aureus* (МІК 12.5-200 мкг/мл), у порівнянні з відповідними тіонами (3.1-3.27) та калій тіолатами (2.1-2.27). Сподівання щодо наявності високої антибактеріальної дії у 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6- $\{[(3-R_4-5-R_5-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)-2-оксоетил]тіо\}-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-2-онів$ (15.1-15.13) також не виправдалися (МІК 25.0-200.0 мкг/мл).

Іншим цікавим аспектом дослідження є підвищення фунгіцидної активності сполук 6.1-6.14, 7.10, 7.11, 15.1-15.13 (МІК 12.5-100 мкг/мл) щодо штаму *C. Albicans*, у порівнянні із калій тіолатами (2.1-2.27), тіонами (3.1-3.27) та кислотами 4.1-4.14. Так, наприклад амід 6.9 (МІК 12.5 мкг/мл; МФЦК 12.5 мкг/мл), нітрили 7.10 та 7.11 (МІК 12.5-25.0 мкг/мл) перевищують активність триметоприму (МІК 62.5 мкг/мл).

Проведені дослідження на протівірусну активність у Національному інституті алергічних та інфекційних хвороб США в рамках міжнародної програми AACF (Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility), виявили ряд активних сполук з інгібуючим впливом на вірус: *Influenza Virus Type A H₃N₂* (9.2, EC₅₀=3.2-129 мкг/мл, SI₅₀=>2.2), *Influenza Virus Type A H₅N₁* (9.2, EC₅₀=3.3-9.7 мкг/мл, EC₉₀=18 мкг/мл, SI₅₀>18-49, SI₉₀>11), *Influenza Virus Type B* (9.1, EC₅₀=3-3.24 мкг/мл, SI₅₀=1-1.2; 9.6, EC₅₀=24-28 мкг/мл, SI₅₀=1.3; 9.15, EC₅₀=23-32 мкг/мл, SI₅₀=1-1.3; 9.16, EC₅₀=30-32 мкг/мл, SI₅₀=1-1.1), *Influenza Virus Type A H₁N₁* (9.2, EC₅₀=3-8.5 мкг/мл, EC₉₀=77 мкг/мл, SI₅₀>4-35, SI₉₀>2.61).

В подальшому нами розроблені «*in silico*» підходи для раціонального дизайну потенційних протипухлинних агентів, які базуються на методології QSAR-аналізу. Для проведення QSAR-аналізу відібрано 76 структур з групи 3-R-6-тіоксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-2-онів та їх S-заміщених з встановленою протипухлинною активністю *in vitro* за програмою DTP (Development Therapeutic Program) Національного інституту раку США (NCI; <http://dtp.nci.nih.gov/>). Згідно з GA-MLRA ми одержали сім моделей з високим ступенем передбачення, а саме лейкемії (клітинні лінії MOLT-4 та SR), недрібноклітинного раку легень (NCI-H522), раку товстої кишки (KM12), яєчників (SK-OV-3) та молочної залози (MDA-MB-468). Більшість дескрипторів, які використовувались для формування моделі, відносяться до 3D типу (RDF, 3D-MoRSE, WHIM, GETAWAY тощо).

В результаті прогнозованих за допомогою QSAR-моделі значень % росту клітин раку та результатів віртуального прескринінгу із 126 синтезованих сполук для I фази досліджень відібрано 10 перспективних речовин. Проведений в подальшому протипухлинний *in vitro* скринінг на 60 лініях людських ракових клітин у концентрації 10,00 μM показав, що серед досліджених сполук 7.7, 7.15, 9.15, 10.1, 10.6, 11.10, 11.12, 11.17, 11.18 та 11.21 найвищу активність проявляють N-арил- (11.12, 11.17)- бензил- (11.18)- 2- $[(3-R-9-R_1-10-R_2-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-6-іл)тіо]ацетаміди$. Так, наприклад, сполука 11.17 ефективно інгібує ріст 54 клітинних ліній раку, а найбільш виражена дія (інгібування понад 50% росту) характерна щодо ліній лейкемії (SR), меланоми (SK-MEL-5), недрібноклітинного раку легень (HOP-62, NCI-H46), раку ЦНС (SF-539, SNB-75, U251), яєчників (OVCAR-4, 786-0, RXF 393, SN12C) та молочної залози (MCF7, MDA-MB-231, HS 578T, BT-549, табл. 1).

Цитотоксична активність синтезованих сполук у концентрації 10.00 μM на 60 лініях ракових клітин (для найбільш чутливих ліній)

№ сполук	Діапазон приросту, %	Ріст в % клітинних ліній раку*
7.7	71.73 – 115.21	71.73 (MDA-MB-468/BC)
7.15	65.56 – 120.46	65.56 (SK-OV-3/OV), 67.26 (UO-31/RC)
9.15	49.15 – 110.55	49.15 (SNB-75/CNSC), 56.01 (MDA-MB-231/ATCC/BC)
10.1	73.03 – 124.17	73.03 (UO-31/RC)
10.6	83.21 - 114.46	83.21 (UO-31/RC)
11.10	72.13 - 112.55	72.13 (SNB-75/CNSC)
11.12	31.43 – 113.99	51.04 (SR/L), 62.20 (SF-539/CNSC), 31.43 (BT-549/BC)
11.17	-22.85- 121.09	8.19 (SR/L), 42.33 (HOP-62/nscLC), 34.04 (NCI-H460/nscLC), 5.51 (SF-539/CNSC), -17.60 (SNB-75/CNSC), 49.00 (U251/CNSC), 15.18 (SK-MEL-5/M), 26.57 (OVCAR-4/OV), 29.75 (786-0/RC), 35.46 (RXF 393/RC), 30.91 (SN12C/RC), 49.04 (MCF7/BC), -22.85 (MDA-MB-231/ATCC/BC), 39.51 (HS 578T/BC)
11.18	-34.81 -106.95	10.06 (SR/L), -34.81 (OVCAR-4/OV)
12.1	74.53 – 125.53	74.53 (NCI-H226/nscLC)

Примітки: L – лейкемія, nscLC – недрібноклітинний рак легень, ColC – епітеліальний рак товстої кишки, CNSC – рак ЦНС, M – меланома, OV – рак яєчників, RC – рак нирок, PC – рак простати, BC – рак молочної залози

Проведені дослідження на протипухлинну активність дозволи одержати ряд аргументованих доказів щодо її наявності у *N-R-2-[(3-R-9-R₁-10-R₂-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів* і послужили передумовою для проведення **молекулярного докінгу** (199 сполук) та **дослідження клітинних механізмів** реалізації протипухлинного ефекту, а саме інгібіторів протеїнкінази СК2. Зазначені дослідження проведені в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України (зав. відділом біомедичної хімії, д.х.н., проф. Ярмолюк С. М.). Дослідження клітинних механізмів реалізації протипухлинного ефекту показало, що при інгібуванні СК2 сполукою **6.2**, залишкова активність кінази становила 4%, а сполукою **11.27** – 80 %. Отже, серед досліджених сполук найбільшу активність щодо інгібування СК2 проявив *2-[(2-оксо-3-феніл-2H-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамід* (**6.2**).

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

Показано ефективність розробленої та реалізованої стратегії пошуку хіміотерапевтичних субстанцій, що передбачає використання методології *in silico* скринінгу, в рамках якої синтезовано ряд *2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино-[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот* та їх функціональних похідних, для яких досліджено фізико-хімічні, спектральні та біологічні властивості. Встановлені можливості та обмеження модифікації *3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів* та їх S-калієвих солей, з метою введення до складу зазначеної гетероциклічної

системи відомих фармакофорних фрагментів за допомогою ацетамідної «лінкерної» групи. На основі результатів біологічних досліджень встановлено перспективність пошуку протипухлинних, протигрибкових, противірусних, актопротекторних та церебропротекторних агентів серед синтезованих сполук та виявлені «сполуки-лідери».

1. Вперше модифіковані методики синтезу калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-тіолатів та відповідних тіонів на основі галогеновмісних 6-R-3-(2-аміно-3-R₁-4-R₂-5-R₃-феніл)-1,2,4-триазин-5-онів. Показано, що наявність галогену в молекулі останніх значно впливає на тривалість реакції.
2. Вперше синтезовані галогеновмісні 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтові кислоти та їх функціональні похідні (естери, аміді, нітрили) алкілуванням відповідних калій тіолатів та тіонів. Показана можливість взаємоперетворень функціональних похідних 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот, які можуть бути використані як альтернативні препаративні методи.
3. Вперше встановлені лінійні кореляційні взаємозв'язки «структура-протипухлинна активність» в ряду N-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів та розроблені QSAR-моделі, що дозволило провести *in silico* скринінг комбінаторних бібліотек і спрямований синтез сполук із значним протипухлинним потенціалом, який підтверджено експериментально.
4. Вперше досліджені спектральні властивості (¹H та ¹³C ЯМР-, ІЧ-, мас-спектри) галогеновмісних 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів та 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних (естерів, амідів, нітрilів) та встановлений вплив структурних особливостей зазначених сполук на спектральні характеристики. Вперше виявлено нетипове розщеплення метиленових протонів віддаленого від центру хіральності -SCH₂CO- фрагменту у вигляді двох дублетів з КССВ 18.6-15.9 Гц.
5. Проведені скринінгові дослідження біологічної дії галогеновмісних 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів та 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних (естерів, амідів, нітрilів) на «*in silico*», «*in vitro*» та «*in vivo*» моделях дозволили виявити «сполуки-лідери» з високою актопротекторною, церебропротекторною, антибактеріальною, протипухлинною та противірусною активністю.
6. Встановлено, що водорозчинні натрій 2-[(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетати проявляють актопротекторну, церебропротекторну активність, а сполука **8.1** в дозі 10 мг/кг в/в посилює кровопостачання головного мозку у інтактних тварин, не впливаючи при цьому на рівень артеріального тиску.

7. Встановлено, що S-заміщені 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-они, які інгібують ріст люмінісцентної бактерії *Photobacterium leiognathi* Sh1, проявляють високу протимікробну активність щодо *St. aureus* та противірусну щодо *C. albicans*.
8. Встановлено, що 2-[(3-R-9-R₁-10-R₂-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетаміди з фрагментами каркасних амінів проявляють противірусну активність щодо штамів вірусу грипу і деякі із них конкурують по EC₅₀ з референс-препаратом «Рибавірином».
9. Експериментально встановлено, що ефективним напрямком оптимізації хіміотерапевтичної активності 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів є функціоналізація положення 6 базового гетероциклу, шляхом впровадження ацетамідних молекулярних фрагментів з різноманітними гетероциклами, що може бути використано в подальшому при плануванні спрямованого синтезу потенційних протиракових агентів.
10. Вперше для N-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів одержано експериментальне підтвердження реалізації протиракової активності шляхом інгібування протеїнкінази СК2, що відкриває шлях до подальшого системного вивчення анельованих аналогів хіназолінів як потенційних лікарських засобів в терапії онкозахворювань.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Synthesis and modification of 2-[8-R₁-9-R₂-10-R₃-3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetic acids aimed to the search of effective substances with antibacterial and antifungal activity / I. S. Nosulenko, O. Yu. Voskoboynik, G. G. Berest, S. I. Kovalenko, O. M. Kamyshnyi, N. M. Polishchuk // *Вісник фармації*. – 2015. – № 1. – С. 11–20. (Аналіз літературних джерел, виконання експериментальної хімічної частини, підготовка статті до друку – 30%).
2. Methodology for prediction of anticancer action of 2-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-c]-quinazolin-6-yl)thiones via QSAR and docking studies / Nosulenko I. S, Voskoboynik O. Y, Antypenko O. M, Berest G. G., Kovalenko S. I // *Запорізький медичний журнал*. – 2015. – № 1 (88). – С. 99–104. (Аналіз літературних джерел, виконання експериментальної хімічної частини, підготовка статті до друку – 40%).
3. Synthesis and antiviral activity [9-R¹-10-R²-3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetamides derivatives with the fragments of carcass amines / I. S. Nosulenko, O. Yu. Voskoboynik, G. G. Berest, S. L. Safronyuk, S. I. Kovalenko, A. V. Katsev, R. S. Sinyak // *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. – 2014. – Vol. 12, Iss. 1 (45). – P. 17–27. (Аналіз літературних джерел, виконання експериментальної хімічної частини, підготовка статті до друку – 30%).
4. Synthesis 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-R-6-thio-6,7-dihydro-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]-

- quinazolin-2-ones, its antibacterial and antifungal activity / I. S. Nosulenko, O. Yu. Voskoboynik, G. G. Berest, S. L. Safronyuk, S. I. Kovalenko, O. M. Kamyshnyi, N. M. Polishchuk, R. S. Sinyak, A. V. Katsev // *Sci. Pharm.* – 2014. – Vol. 82: – P. 483–500. (*Аналіз літературних джерел, виконання експериментальної хімічної частини, підготовка статті до друку – 45%*).
5. Мас-спектральне дослідження поведінки [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінів під дією електронного удару / Воскобойнік О. Ю., Карпенко О. В., Берест Г. Г., Скорина Д. Ю., Носуленко І. С., Коваленко С. І., Коломоєць О. С. // *Ученые записки ТНУ серія «Биология, химия»*. – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С.229–241. (*Участь у аналізі літературних джерел, обробка результатів фізико-хімічних досліджень, участь у підготовці статті до друку – 25%*).
 6. Novel N-aryl(alkaryl)-2-[(3-R-2-охо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]quinazoline-6-yl)thio]acetamides: synthesis, cytotoxicity, anticancer activity, compare analysis and docking. / S. I. Kovalenko, I. S. Nosulenko, A. Yu. Voskoboynik, G. G. Berest, L. M. Antypenko, A. N. Antipenko, A. M. Katsev // *Medicinal Chemistry Research*. – 2013. – V. 22. – Issue 6. – P. 2610–2632. (*Аналіз літературних джерел, виконання експериментальної хімічної частини, участь у підготовці статті до друку – 30%*).
 7. N-R-2-[(3-R-2-охо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]quinazoline-6-yl)thio]acetamides with thiazole and thiadiazole fragments in a molecules. Synthesis, physico-chemical properties, cytotoxicity research by bioluminescence inhibition, anticancer activity / Sergey I. Kovalenko, Inna S. Nosulenko, Alexey Yu. Voskoboynik, Galina G. Berest, Lyudmyla M. Antypenko, Alexey N. Antipenko, Andrey M. Katsev // *Sci. Pharm.* – 2012. – Vol. 80. – P. 837–865. (*Аналіз літературних джерел, виконання експериментальної хімічної частини, участь у підготовці статті до друку – 30%*).
 8. Пат. 94614 Україна, МПК C07D 277/08 (2006.01). 2-[(8-R₃-9-R₄-10-R₅-3-R₁-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]-N-(4-R₂-1,3-тіазол-2-іл)ацетаміди, що виявляють протипухлинну активність / Носуленко І. С., Воскобойнік О. Ю., Коваленко С. І., Берест Г. Г., Антипенко Л. М., Антипенко О. М. – № u 2014 04813 ; – заявл. 05.05.14 ; опубл. 25.11.14, Бюл. № 22. (*Аналіз літературних джерел, виконання експериментальної хімічної частини, участь у підготовці патенту до друку – 40%*).
 9. Носуленко І. С. Похідні 2-((3-R₁-8-R₂-9-R₃-10-R₄-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]-хіназолін-6-іл)тіо)оцтових кислот – потенційні інгібітори рецепторних тирозинкіназ. Дизайн, синтез та протиракова активність / І. С. Носуленко // Мат. всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (15-16 травня 2014 р.). – 3.: Видавничий дім КЕРАМІСТ, 2014. – С. 184.
 10. Носуленко І. С. Спрямований пошук хімотерапевтичних агентів серед N-гетерил-2-((3-R₁-8-R₂-9-R₃-10-R₄-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо)-ацетамідів / Носуленко І. С. Сафронюк С. Л., Воскобойнік О. Ю. // Мат. підсумкової науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (21 травня 2014 р.). – Т.: ТДМУ

«Укрмедкнига», 2014. – С.127.

11. Nosulenko I. S. Combinatorial library of 2-((2-oxo-3-aryl-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio)acetamides with heterocyclyl fragment: design and synthesis. / Nosulenko I. S., Berest G. G., Palchikov V. A. // XX International scientific and practical conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of D.Sc. in pharmacy, professor D. P. Salo (April 25-26, 2013). – Kh.: “НТМТ” Publishing, 2013. – С.20.
12. Носуленко І. С. Заміщені 2-(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо)ацетонітрили: Синтез, фізико-хімічні властивості та можливі напрямки подальшої модифікації / І. С. Носуленко // Мат. 73 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченої Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» (16-17 травня 2013 р.). – Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2013, № 2 (13), дод. – З.: Видавничий дім КЕРАМІСТ, 2013. – С. 224-225.
13. Похідні 2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх білтіоаналоги як перспективні біологічно активні речовини / Скорина Д. Ю., Воскобойнік О. Ю., Коваленко С. І., Носуленко І. С., Берест Г. Г. // Мат. 5-ї Міжнародної науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (27-28 вересня 2013 р.). – Т.: ТДМУ «Укрмедкнига», 2013. – С.23-24.
14. Носуленко І. С. Дизайн комбінаторної бібліотеки 2-[(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]-хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних / І. С. Носуленко // Мат. 72 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченої Дню науки «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє». – Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2012, № 2 (9), дод. – З.: Видавничий дім КЕРАМІСТ, 2012. – С. 205.
15. Дизайн комбинаторных библиотек на основе 2-азагетериланилинов / Воскобойник А. Ю., Антипенко Л. Н., Билый А. К., Скорина Д. Ю., Носуленко И. С., Антипенко А. Н., Берест Г. Г., Шабельник К. П., Холодняк С. В., Михайлова Н. С., Малкова Т. С., Лось Т. И. // Мат. I междунар. интернет-конф. молодых ученых и студентов «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» (23-25 октября 2012 г.). – Запорожье, 2012. – С.99.
16. Дизайн комбинаторных библиотек потенциально биологически активных веществ на основе 2-азагетериланилинов / Коваленко С. И., Воскобойник А. Ю., Антипенко Л. Н., Билый А. К., Скорина Д. Ю., Носуленко И. С., Антипенко А. Н., Берест Г. Г., Холодняк С. В., Михайлова Н. С., Малкова Т. С. // Мат. Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные процессы в лекарствоведении» (18-19 декабря 2012 г.) – Я.: Аверс Плюс, 2012. – С. 167–168.

17. 3-R-6-thio-6,7-dihydro-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline-2-one S-derivatives – new perspective chemotherapeutical agents / S. I. Kovalenko, G. G. Berest, O. Yu. Voskoboynik, I. S. Nosulenko, O. M. Antypenko // IV International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld2011, 14-16 September 2011). - Torremolinos (Spain), 2011. – P. 702.
18. Дослідження протипухлинних властивостей у ряді заміщених хіназоліну / Коваленко С. І., Антипенко Л. М., Білий А. К., Скорина Д. Ю., Посилкіна Ю. Ю., Берест Г. Г., Антипенко О. М., Носуленко І. С., Шабельник К. П., Воскобойнік О. Ю., Кривошей О. В., Карпенко О. В., Нікітін В. О. // Матеріали 4-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (29-30 вересня 2011 р.). – Т.: ТДМУ «Укрмедкнига», 2011. – С. 10–11.

АНОТАЦІЯ

Носуленко І. С. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-[(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх похідних. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Міністерство охорони здоров'я України, Львів, 2015.

Розроблена та реалізована стратегія пошуку хіміотерапевтичних засобів, що передбачає використання методології *in silico* скринінгу, в рамках якої синтезовано ряд 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-6-іл)тіо]оцтових кислот та їх функціональних похідних, для яких досліджено фізико-хімічні та біологічні властивості. Встановлені можливості та обмеження модифікації 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тіоксо-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-2-онів та їх S-калієвих солей з метою введення до складу зазначеної гетероциклічної системи відомих фармакофорних фрагментів за допомогою ацетамідної «лінкерної» групи. На основі результатів біологічних досліджень встановлено перспективність пошуку протипухлинних, протигрибкових, противірусних, актопротекторних та церебропротекторних агентів серед синтезованих сполук та ідентифіковані «сполуки-лідери».

Встановлені лінійні кореляційні взаємозв'язки «структура-протипухлинна активність» в ряду N-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів та розроблені QSAR-моделі, що дозволило провести *in silico* скринінг комбінаторних бібліотек і спрямований синтез сполук із значним протипухлинним потенціалом, який підтверджено експериментально.

Вперше для N-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів одержано експериментальне підтвердження реалізації протиракової активності шляхом інгібування протеїнкінази CK2, що

відкриває шлях до подальшого системного вивчення хіназолінів та їх анельованих аналогів як потенційних лікарських засобів в терапії онкозахворювань.

Ключові слова: синтез, галогеновмісні 6-R-3-(2-аміно-3-R₁-4-R₂-5-R₃-феніл)-1,2,4-триазин-5-онів, калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-тіолати, 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)тіо]оцтові кислоти та їх функціональні похідні, спектральні характеристики, фармакологічний скринінг.

АННОТАЦІЯ

Носуленко І. С. Синтез, физико-химические и биологические свойства 2-[(3-R-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)тио]уксусных кислот и их производных. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Львовский национальный медицинский университет, Министерство здравоохранения Украины, Львов, 2015.

Разработана и реализована стратегия поиска химиотерапевтических средств, предусматривающая использование методологии *in silico* скрининга, в рамках которой синтезирован ряд 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)тио]уксусных кислот и их функциональных производных, исследованы физико-химические и биологические свойства. Установлены возможности и ограничения модификации 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-тиоксо-6,7-дигидро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хиназолин-2-онов и их S-калийевых солей с целью введения в состав гетероцикла известных фармакофорных фрагментов с помощью ацетамидной «линкерной» группы. На основе результатов биологических исследований установлена перспективность поиска противоопухолевых, антибактериальных, противовирусных, актопротекторных и церебропротекторных агентов среди синтезированных веществ и выявлены «соединения-лидеры».

Установлены линейные корреляционные взаимосвязи «структура-противоопухолевая активность» в ряду *N*-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)тио]ацетамидов, разработаны QSAR-модели, позволившие провести *in silico* скрининг комбинаторных библиотек и направленный синтез веществ с существенным противоопухолевым потенциалом.

Впервые для *N*-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)тио]ацетамидов экспериментально подтверждена реализация противораковой активности ингибированием протеинкиназы СК2, что открывает путь для дальнейшего системного изучения хиназолинов и их анелированных аналогов как потенциальных лекарственных средств в терапии онкозаболеваний.

Ключевые слова: синтез, галогеносодержащие 6-R-3-(2-аміно-3-R₁- 4-R₂-5-R₃-феніл)-1,2,4-триазин-5-оны, калій 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолин-6-тіолати, 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолин-6-ил)тіо]уксусные кислоты и их

функциональные производные, спектральные характеристики,
фармакологический скрининг.

ANNOTATION

Nosulenko I. S. Synthesis, physico-chemical and biological properties of 2-[(3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetic acids and then substituted. – Manuscript.

Thesis for the Ph.D. Degree in Pharmacy, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Public Health of Ukraine, Lviv, 2015.

The strategy of the search of the novel chemotherapeutic agents which assume the using of *in silico* screening methods was elaborated and implemented in presented work. As a part of presented work series of 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino-[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetic acids and their derivatives were synthesized, their spectral characteristics physicochemical and biological were described. The potential and limitations of 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-thioxo-6,7-dihydro-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones and their S-potassium salts modification aimed to the introduction of known “pharmacophores” to mentioned heterocycle system via acetamide “linker” group were estimated. Based on the results of biological assays the prospectivity of the searching of novel anticancer, antifungal, antiviral, actoprotective and cerebroprotective agents among studied compounds was shown and “lead-compounds” were identified. The synthetic methods applied to the synthesis of 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-thiolates and corresponding thiones using halogen-containing 6-R-3-(2-amino-3-R₁-4-R₂-5-R₃-phenyl)-1,2,4-triazine-5-ones as initial compounds were modified for a first time. It was shown that presence of halogen in molecule significantly effect to the duration of reaction.

Halogen-containing 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetic acid and their derivatives (esters, amides, nitriles) were obtained for a first time. Mentioned synthetic protocols were based on alkylation of proper potassium thiolates and thions. The possibility of interconversion of functional derivatives of 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetic acid, which may be used as preparative methods was showed.

Linear correlational relationships “structure – anticancer activity” for series of N-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetamides was established for a first time, QSAR models which allowed to conduct *in silico* screening of combinatorial libraries and purposeful synthesis of compounds with high anticancer action.

The spectral characteristics (¹H та ¹³C NMR-, IR-, mass-spectra) of halogen-containing 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-thioxo-6,7-dihydro-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones and 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetic acid and their functional derivatives were described. Non-typical signal of remote from chiral carbon atom SCH₂CO fragment as two doublets with coupling constant 18.6-15.9 Hz were shown.

Conducted assays for biological action of halogen-containing 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-thioxo-6,7-dihydro-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones and 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)thio]acetic

acid and their derivatives (esters, amides, nitriles) using «*in silico*», «*in vitro*» and «*in vivo*» models allowed to reveal “lead-compounds” with high actoprotective, cerebroprotective, antibacterial, anticancer and antiviral activity.

It was shown, that soluble in water sodium 2-[(3-R-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)thio]acetates revealed actoprotective and cerebroprotective action and compound **8.1** in dosage 10 mg/kg increase the blood supply of the brain of intact animal without any effects on arterial tension.

It was shown that S-substituted 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-6-thioxo-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones, which inhibited bioluminescence of *Photobacterium leiognathi Sh1* also revealed high activity against *St. aureus* and antifungal action against *C. albicans*. It was estimated, that 2-[(3-R-9-R₁-10-R₂-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)thio]acetamides with fragment of carcass amines revealed antiviral activity which were comparable to action of «Ribavirine».

For the first time experimental confirmation of CK2-protein kinase inhibiting action of N-R-2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)thio]acetamides was showed. Mentioned ability may be considered as possible mechanism of anticancer, what opened up a new chapter in the searching of the novel antitumor agents among quinazolines and its condensed derivatives.

Keywords: synthesis, halogen-containing 6-R-3-(2-amino-3-R₁-4-R₂-5-R₃-phenyl)-1,2,4-triazin-5-ones, potassium 3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2*H*-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-thiolates, 2-[(3-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-2-oxo-2*H*-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)thio]acetic acids and their functional derivatives, spectral data, pharmacological screening.

Підписано до друку 17.09.2015. Гарнітура Times New Roman
Папір друкарський. Формат 60×90 1/16. Умовн. друк. арк. 0,96.
Наклад – 100 прим. Замовлення № 6576.
Надруковано з оригінал-макету в типографії
Запорізького державного медичного університету
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26