

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

АНТИПЕНКО ОЛЕКСІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 547.79'856.057.03/.04-026.8

**ТЕТРАЗОЛО[1,5-*c*]ХІНАЗОЛІН-(6*H*)-5-ОНИ(ТІОНИ):
СИНТЕЗ, ФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЯ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ
ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі органічної та біоорганічної хімії в Запорізькому державному медичному університеті Міністерства охорони здоров'я України

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

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор **Безуглий Петро Овксентійович**, Національний фармацевтичний університет, професор кафедри фармацевтичної хімії;

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

Захист відбудеться « 02 » грудня 2016 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26).

Автореферат розісланий « 28 » жовтня 2016 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

О.А. Рижов

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Проаналізувавши останні тенденції до синтезу потенційних біологічно активних речовин треба зазначити, що серед лідерів постають гетероциклічні сполуки. Особливу увагу треба звернути на заміщені тетразолу та хіназоліну, які проявляють різноманітну біологічну активність. Крім того, синтез та дослідження їх конденсованих гетероциклічних похідних безсумнівно представляє інтерес. Так, вже доведено, що заміщені тетразоло-[1,5-с]хіназоліну виявляють фунгіцидну, пестицидну, протиалергійну, протиульцерогенну, бактерицидну, бронходилаторну, антигіпертензивну, протизапальну, анальгетичну, антианафілактичну та фібронолітичну активності. У зв'язку з тим, що введення атому Сульфуру та Оксигену у 5 положення тетразоло[1,5-с]хіназолінового скелету приведе до синтезу досі неописаних *S*- та *N*-заміщених, які потенційно будуть мати біологічну активність, дослідження саме вказаних похідних є привабливим та перспективним.

Таким чином, синтез ефективних, малотоксичних біологічно активних сполук серед нових тетразоло[1,5-с]хіназолін-(6*H*)-5-онів(тіонів) є актуальним завданням для сучасної фармацевтичної хімії та медицини в цілому.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету за темою: «Пошук хіміотерапевтичних засобів серед 5-заміщених тетразоло[1,5-с]хіназолінів та 2-*R*-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолінів (№ держ. реєстрації 0112U005644). Дисертантом особисто синтезовано тетразоло[1,5-с]хіназолін-(6*H*)-5-они(тіони), їх функціональні похідні, досліджено фізико-хімічні та біологічні властивості.

Мета і задачі дослідження. Дисертаційна робота присвячена пошуку біологічно активних речовин серед тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6*H*)-онів(тіонів) та їх функціональних похідних, встановленню фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук, кореляції залежності «будова-дія» та рекомендації найбільш активних речовин для доклінічних випробувань.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- провести ресинтез та синтезувати ряд нових заміщених тетразоло[1,5-с]хіназолінів та дослідити їх гідролітичне розчеплення (нуклеофільну деградацію піримідинового циклу);
- розробити методи синтезу заміщених тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6*H*)-онів(тіонів) на основі реакції [5+1]-циклоконденсації 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів з різноманітними електрофільними реагентами;
- вивчити реакцію *S*- та *N*-алкілювання тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6*H*)-онів(тіонів) різноманітними галогеновмісними сполуками;
- провести проектування та здійснити синтез 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)- та 2-(5-оксотетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6*H*)-іл)оцтових кислот та їх амідів як перспективних пропукхлинних агентів;
- дослідити особливості поведінки заміщених 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів в реакції з синтетичними еквівалентами фосгену;

- встановити будову та вивчити фізико-хімічні властивості (елементний аналіз, ІЧ-, УФ-, ^1H , ^{13}C ЯМР-, хроматомас-, мас-спектри) синтезованих сполук;
- дослідити *in vitro* інгібування біоломінесценції, антибактеріальну, протигрибкову, протипухлинну активності та *in vivo* гіпоглікемічну, актопротекторну, антигіпоксичну дію синтезованих сполук та гостру токсичність «сполук-лідерів»;
- на основі проведеного первинного фармакологічного скринінгу на гіпоглікемічну активність вибрати ряд «сполук-лідерів» для їх дослідження на експериментальних моделях дексаметазонового індукованого діабету (оральна толерантність до глюкози, інсуліновий та адреналіновий тести);
- на основі одержаних результатів *in vitro* протипухлинної активності та *in silico* методології встановити кількісну залежність «структура-активність» (QSAR-аналіз) серед синтезованих сполук та вивчити їх інгібування щодо протеїнкінази CK2 як одного із можливих механізмів дії;
- ґрунтуючись на одержаних результатах фармакологічного скринінгу та аналізу «структура-активність» виділити високоактивні сполуки для їх подальшої оптимізації, поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних молекул.

Об'єкт дослідження. Дослідження реакцій гідролітичного розщеплення тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів, [5+1]-циклоконденсації 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів, алкілювання тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-онів(тіонів), фізико-хімічні та біологічні властивості.

Предмет дослідження. Заміщені тетразоло[1,5-*c*]хіназоліни, 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)аніліни, тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-они(тіони) та їх функціональні похідні, як вихідні речовини для пошуку потенційних біологічно активних сполук.

Методи дослідження. Експериментальні методи органічної хімії: синтез, фізико-хімічний аналіз із використанням ІЧ-, УФ-, ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопії, хроматомас-спектрометрії та елементного аналізу. Фармакологічний скринінг *in vitro* та *in vivo*, методи математичної статистики, QSAR-аналіз, *in silico* молекулярний докінг, методи варіаційної статистики з визначенням *t*-критерію Стюдента, бібліосемантичний метод та аналіз «будова-біологічна дія».

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблена ефективна поетапна стратегія цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин, що об'єднує підходи препаративної органічної хімії з методологією *in silico*, *in vitro* та *in vivo* фармакологічних досліджень, у межах якої синтезовано ряд заміщених тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів, 2-(1*H*-тетразол-5-іл)анілінів, тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-(6*H*)-онів(тіонів), їх функціональних похідних та 1-(2-(1*H*-тетразол-5-іл)- R_1 -феніл)-3- R_2 -феніл-(етил)сечовин. Обговорено та доведено можливості й умови їх синтетичної модифікації, досліджено фізико-хімічні, спектральні та біологічні властивості. На основі результатів біологічних досліджень встановлена кореляція «будова-дія», доведена перспективність пошуку ефективних протипухлинних, протимікробних, актопротекторних, гіпоглікемічних засобів

серед синтезованого ряду сполук та рекомендовано 3 «сполуки-лідери» для подальших фармакологічних досліджень.

Опрацьовані методи синтезу, досліджене гідролітичне розчеплення заміщених тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів і показано, що у результаті утворюються відповідні 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)аніліни. Встановлено, що зазначені реакції реалізуються поетапно через відповідні інтермедіати – заміщені *N*-(2-(1*H*-тетразоло-5-іл)феніл)формаміди, які в деяких випадках вдалося виділити.

Вперше на основі реакцій [5+1]-циклоконденсації заміщених 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів з сірковуглецем та його «синтетичним еквівалентом» – калію ксантогенатом були синтезовані калій тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-тіолати та відповідні тіони, для яких досліджені реакції алкілування галогеналканами, галогеноспиртами, галогенофенацилами, галогенокарбонowymi кислотами та їх естерами.

Вперше алкілуванням калій тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-тіолатів відповідними *N*-*R*-2-хлороацетамідами було одержано ряд *N*-*R*-2-[тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-іл)тіо]ацетамідів і показана можливість їх синтезу через генерований *in situ* імідазолід 2-[тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-іл)тіо]оцтової кислоти.

Досліджено взаємодію 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів з етил-(арил)-ізоціанатами і доведено, що за кімнатної температури у середовищі оцтової кислоти утворюються 1-(2-(1*H*-тетразоло-5-іл)-*R*₁-феніл)-3-*R*₂-феніл(етил)-сечовини, а у випадку підвищення температури – тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-(6*H*)-они. Для останніх розроблено ряд альтернативних методів синтезу, а саме взаємодія 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів з *N,N'*-карбонілдіімідазолом та з етилхлороформіатом.

Вперше встановлені закономірності алкілування тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-онів галогеновмісними сполуками і показані можливості та обмеження даного підходу щодо синтезу відповідних 2-[(5-оксотетразоло[1,5-*c*]хіназолін-6(5*H*)-іл)оцтових кислот, їх естерів та амідів.

В процесі виконання роботи синтезовано 168 сполук (158 вперше) для яких досліджені спектральні властивості (УФ-, ІЧ-, ¹H та ¹³C ЯМР-, хроматомас-, мас-спектри) та встановлена регіоселективність перебігу *S*- та *N*-алкілування.

Створена комбінаторна бібліотека раніше неописаних біологічно активних речовин із здатністю інгібування *in vitro* біоломінесценцію та антибактеріальною, протипухлинною, гіпоглікемічною, актопротекторною й антигіпоксичною активністю та низькими токсикометричними параметрами.

Вперше створені QSAR-моделі інгібування росту ракових клітин для тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-онів(тіонів), які згідно результатів молекулярного докінгу щодо ферменту СК2 послужили основою вивчення одного із механізмів протипухлинної дії.

Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на корисну модель № 79229 (10.04.2013).

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 тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-онів(тіонів) та 1-(2-(1*H*-тетразол-5-іл)-R₁-феніл)-3-R₂-феніл(етил)сечовин.

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 тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-онів(тіонів) та їх функціональних похідних (етанонів, етанолів, естерів, амідів) та 1-(2-(1*H*-тетразол-5-іл)-R₁-феніл)-3-R₂-феніл(етил)сечовин на *in silico*, *in vitro* та *in vivo* моделях дозволили виявити «сполуки-лідери» з високою протипухлинною, актопротекторною та гіпоглікемічною активністю.

Прикладне значення мають результати протипухлинних скринінгових досліджень та побудованої QSAR-моделі, 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 кафедри технології органічних сполук та фармацевтичних препаратів ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», відділу механізмів органічних реакцій Інституту органічної хімії НАН України, кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету, кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», кафедри фармацевтичної хімії ДВНЗ «Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України».

Особистий внесок здобувача. Визначення мети та задач дослідження, формулювання загальних висновків проведено спільно з науковим керівником. Дисертантом особисто одержані 168 сполук (158 вперше), проаналізовані та узагальнені результати фізико-хімічних та біологічних досліджень. У ході роботи над дисертацією автором особисто виконана експериментальна частина роботи, проведено статистичну обробку та узагальнення одержаних результатів, формування основних положень та висновків. Розроблені та визначені науково-методичні підходи щодо синтезу, встановлення будови та біологічних досліджень тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-оні(тіонів) та їх функціональних похідних і 1-(2-(1*H*-тетразол-5-іл)-R₁-феніл)-3-R₂-феніл(етил)сечовин.

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 Конференції молодих учених та студентів-хіміків південного регіону України (Одеса, 2009), Всеукраїнській конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2010» (Запоріжжя,

2010), Всеукраїнській конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011» (Запоріжжя, 2011), IV Міжнародній конференції з питань навколишнього середовища, промислової та прикладної мікробіології (Торремолинос, Іспанія, 2011), Всеукраїнському конкурсі студентських наукових робіт з природничих, технічних і гуманітарних наук 2010/2011 з напрямку «Фармацевтичні науки» (Запоріжжя, 2011), 7-й Конференції, присвяченій протеїніназам та пошуку нових ліків (Бостон, США, 2012), Всеукраїнській конференції з міжнародною участю «Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2012), Всеукраїнському конкурсі студентських наукових робіт з природничих, технічних і гуманітарних наук 2011/2012 з напрямку «Фармацевтичні науки» (Тернопіль, 2012), Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», присвяченій 90-річчю від дня народження д.фарм.н., професора Дмитра Павловича Сало (Харків, 2013), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» (Запоріжжя, 2013), I Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Сучасна фармація і медицина: досвід, шляхи вдосконалення і розвитку» (Луганськ, 2011), VI Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2014» (Харків, 2014), VI заочній Міжнародній науково-практичній конференції «Теорія та практика актуальних досліджень» (Краснодар, Російська Федерація, 2014), науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Медицина XXI століття» (Харків, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2015» (Запоріжжя, 2015), 69-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні проблеми сучасної медицини і фармації – 2015» (Мінськ, Білорусь, 2015), VII Міжнародній конференції «Хімія азотовмісних гетероциклів ХАГ-2015» (Харків, 2015).

Апробацію роботи проведено 22.04.2016 р. на міжкафедральному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр аналітичної хімії, біологічної хімії, органічної і біоорганічної хімії, технології ліків, токсикологічної та неорганічної хімії, фармацевтичної хімії, фармакогнозії, фармакології та ботаніки, управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства, фізичної та колоїдної хімії Запорізького державного медичного університету.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 26 наукових робіт, із них 7 статей у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз (2 у наукових фахових виданнях України, 4 у виданнях іноземних держав), 1 патент України на корисну модель та 18 тез доповідей.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 232 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту 152 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, трьох експериментальних розділів, висновків, списку літературних джерел, який включає 213 посилань, з них 30 – кирилицею та 183 – латиницею, 4 додатків. Робота ілюстрована 51 рисунками та 32 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Основні способи одержання тетразоло[с]хіназолінів та їх функціональних похідних, їх фармакологічна дія (огляд літератури)

Тетразольний структурний фрагмент привертає увагу хоча б через те, що він не знайдений у природі, але майже всі синтетичні сполуки, що містять його у структурі, проявляють різноманітну біологічну дію. Аналіз літературних джерел показав, що двома основними методами отримання тетразоло[1,5-с]хіназолінів є циклізація похідних 4-гідразинохіназоліну з нітритною кислотою та реакції [5+1]-циклоконденсації 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)аніліну. Крім того, зазначені похідні проявляють різноманітну фармакологічну активність (фунгіцидну, пестицидну, протиалергійну, протиульцерогенну, бактерицидну, бронходилаторну та інші). Проте, конденсовані похідні тетразолу досліджені досить спорадично, а похідні тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6*H*)-онів(тіонів) зовсім не досліджені, що представляє безсумнівний інтерес як для фармацевтичної хімії, так для медицини в цілому.

Синтез, модифікація, фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6*H*)-тіонів

Для формування заміщених тетразоло[1,5-с]хіназолінів (2) в якості вихідних речовин були використані 4-гідразинохіназоліни (1.1-1.10), які утилізували у реакції з натрію нітритом у середовищі оцтової кислоти при 0°C (рис. 1). Встановлено, що присутність електроноакцепторних замісників, а саме галогенів у положенні 8 або 10, призводить до спонтанного гідролітичного розщеплення піримідинового кільця тетразоло[1,5-с]хіназоліну та формування *N*-(3(5)-галогено-2-(1*H*-тетразоло-5-іл)феніл)формамідів. Слід відзначити, що в разі наявності фтору, за даними ¹H ЯМР- та хроматомас-спектрів, відповідні *N*-(3-фтор-2-(1*H*-тетразоло-5-іл)феніл)формамід (2.9) та *N*-(5-фтор-2-(1*H*-тетразоло-5-іл)феніл)формамід (2.10) були виділені як основні продукти. На відміну від цього в спектрах 8-хлоро- (2.4), 8-бромо- (2.7) та 10-хлоротетразоло[1,5-с]хіназоліну (2.6) були присутні тільки сигнали домішок низької інтенсивності, які відповідають формамідним похідним.

Безпосередньо синтез 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів (3.1-3.10) був проведений наступними методами: гідролітичним розщепленням тетразоло[1,5-с]хіназолінів (2.1-2.8) та гідролізом *N*-(3(5)-флуоро-2-(1*H*-тетразоло-5-іл)феніл)формамідів (2.9, 2.10, рис. 1). Крім того, сполуку 3.1 отримували альтернативним методом – взаємодією *o*-амінобензонітрилу (1.1а) з натрію азидом при наявності діетиламіну гідрохлориду.

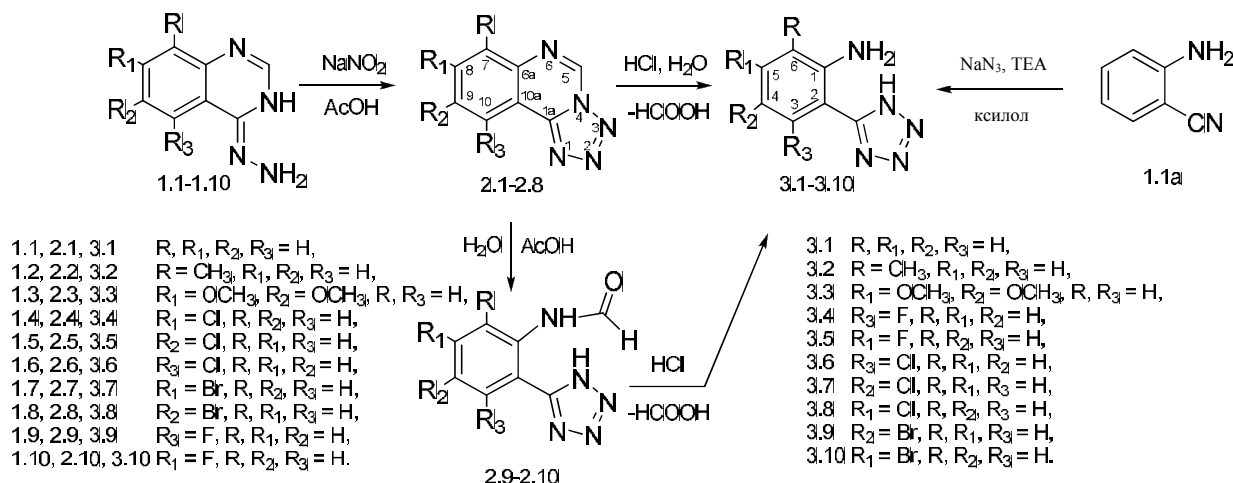


Рис. 1. Синтез та гідролітичне розщеплення 7-R-8-R₁-9-R₂-10-R₃-тетразоло-[1,5-с]хіназолінів

¹H ЯМР-спектри сполук 2.1-2.8 однозначно підтверджують утворення тетразоло[1,5-с]хіназолінів. У сполуках 2.1-2.8 характеристичний сигнал Н-5 резонує у слабкому полі при 9,79-10,91 м.ч. Ароматичні протони для сполуки 2.1 були зареєстровані як ABCD-система: Н-10 при 7,89-8,59 м.ч., Н-7 при 7,60-8,56 м.ч., Н-8 при 7,83-8,12 м.ч. та Н-9 при 7,42-8,05 м.ч. Тоді як для сполук 2.2-2.8 інтегральна картина та хімічні зсуви сигналів зазначених протонів визначаються відповідними замісниками. Для сполук 2.9 та 2.10 характеристичний NH-протон тетразольного циклу реєструвався у слабкому полі у вигляді уширеного синглету при 16,69-16,87 м.ч. та формамідний фрагмент – як однопротонні синглети NH-групи при 10,45-11,02 м.ч. та С(О)Н-групи при 8,41-8,58 м.ч. Тоді як, ¹H ЯМР-спектри сполук 3.1-3.10 характеризуються значним парамагнітним зсувом ароматичних протонів, а обмінні протони NH-групи тетразолу та NH₂-групи сполук 3.1 та 3.2 реєстрували у вигляді низькоінтенсивних уширених синглетів при 8,86-10,46 м.ч. В інших сполуках зазначені обмінні протони не фіксувалися, що пов'язано з прототропною («азол-азольною») таутомерією останніх.

В ¹³C ЯМР-спектрах сполуки 2.1 спостерігались характеристичні сигнали С-6a, С-1a і С-5 тетразоло[1,5-с]хіназолінового циклу при 148,8 м.ч, 143,0 м.ч. та 137,2 м.ч. відповідно. А сполуки 3.1, 3.3, 3.6, 3.8 та 3.10 характеризуються атомами Карбону анілінового фрагменту з особливостями хімічного зсуву С-1 та С-2 при 152,8-147,9 м.ч. та 107,3-94,4 м.ч. відповідно. Додатковим підтвердженням азол-азольної таутомерії є малоінтенсивний сигнал Карбону тетразольного циклу, який у сполуках 3.1 та 3.4 реєструвався при 155,2 м.ч. та 149,3 м.ч. відповідно. В спектрах інших сполук він відсутній, що також пов'язано з його обміном з розчинником.

Встановлено, що взаємодія вихідних сполук (3.1, 3.2, 3.5, 3.7, 3.9) з сірковуглецем у етиловому спирті в присутності калію гідроксиду або взаємодія зазначених сполук з калію етилксантогенатом у пропано-2-олі приводить до утворення калій тіолатів 4.1-4.5 з високими виходами (рис. 2). Для доказу будови відповідні калій тіолати 4.1-4.5 були перетворені у відповідні тіони 4.1a-4.5a.

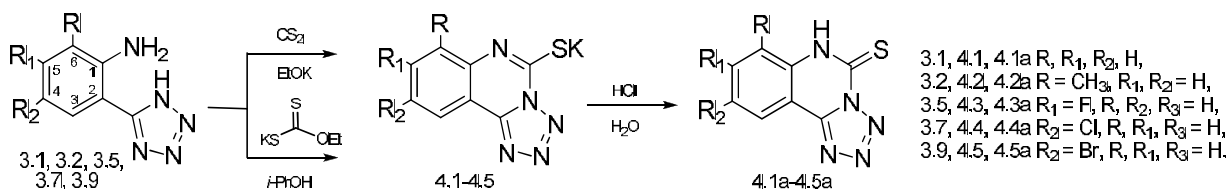


Рис. 2. Методи синтезу калій 7-*R*-8-*R*₁-9-*R*₂-тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-тіолатів та відповідних тіонів

В ¹H ЯМР-спектрах сполук 4.1a-4.5a були зареєстровані протони NH-групи при 13,10-14,39 м.ч, Н-10 при 8,43-8,19 м.ч., Н-8 при 7,62-7,90 м.ч., Н-7 при 7,44-7,73 м.ч. та Н-9 при 7,36-7,59 м.ч.

Безсумнівно, довжина та положення гідрофобної групи, зокрема алкільного ланцюга у біологічно активній молекулі, грає критичну роль у прояві біологічної активності. Враховуючи вищезазначене, даний етап роботи було присвячено структурній модифікації тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)тіонів шляхом введення відповідних алкільних, хлороалкільних, фенетильних, діалкіламіно-(гетерил)-етильних замісників.

Встановлено, що алкілування сполуки 4.1 алкіл(фенетил)галогенідами перебігало з утворенням 5-метилтіотетразоло[1,5-*c*]хіназоліну (5.1) за кімнатної температури та 5-фенетилтіозаміщеного (5.2) при нетривалому нагріванні. 5-(3-Хлоропропілтіо)тетразоло[1,5-*c*]хіназолін (5.3) було синтезовано алкілуванням вихідної речовини 4.1 несиметричним 1-бромо-3-хлоропропаном, а 5-[2-(діалкіламіно-(гетерил)-етил)тіотетразоло[1,5-*c*]хіназоліни (6.1-6.5) було отримано взаємодією калієвої солі 4.1 з гідрохлоридами 2-хлороетиламінів або 1-(2-хлороетил)гетерилів у присутності триетиламіну (рис. 3).

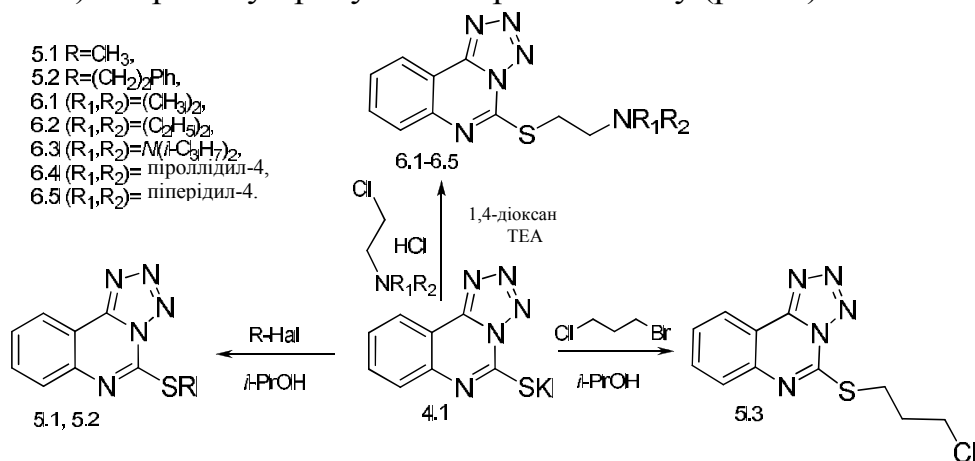


Рис. 3. Синтез 5-алкіл(хлоралкіл)тіотетразоло[1,5-*c*]хіназолінів, 5-(2-(гетерил-1)етилтіо)тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів та *N,N*-діалкіл-2-(тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)етиламінів

Враховуючи здатність конденсованих тетразолів до тетразоло-азидного таутомерного перетворення було проведено детальний ІЧ-спектральний аналіз сполук 5.2, 6.1-6.5. Встановлено, що відсутність піку валентних коливань азидної групи при 2100 см⁻¹ у твердій формі та у розчині хлороформу вказує на перевагу тетразольної форми у молекулі А. Тоді як у розчині хлороформу при наявності

трифтороцтової кислоти спостерігалася малоінтенсивна смуга коливань азидного таутомера при 2145 см^{-1} та його обертону при 2198 см^{-1} (рис. 4).

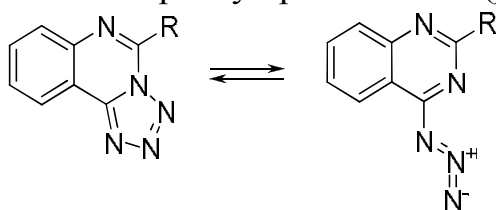
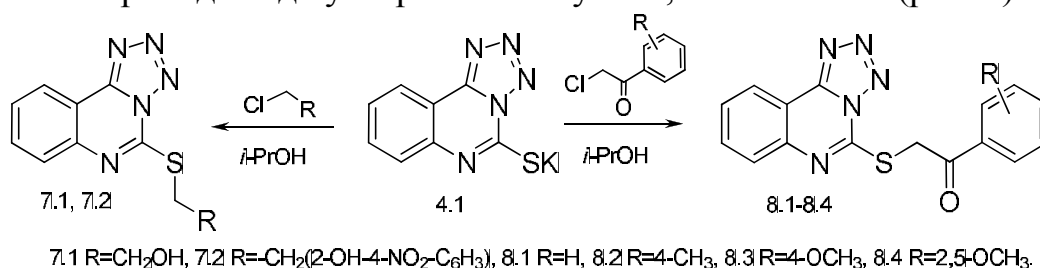


Рис. 4. Схема тетразола-азидного таутомерного перетворення тетразола-[1,5-*c*]хіназолінів

Алкілювання сполуки 4.1 відповідними галогенопохідними (2-хлороетанолом, 2-(хлорометил)-5-нітрофенолом, α -хлороацетофенонами) у пропано-2-олі приводить до утворення сполук 7.1, 7.2 та 8.1-8.3 (рис. 5).



7.1 R=CH₂OH, 7.2 R=CH₂(2-OH-4-NO₂-C₆H₃), 8.1 R=H, 8.2 R=4-CH₃, 8.3 R=4-OCH₃, 8.4 R=2,5-OCH₃.

Рис. 5. Алкілюванням сполуки 4.1 2-хлороетанолом, 2-(хлорометил)-5-нітрофенолом, α -хлороацетофенонами

^1H ЯМР-спектри синтезованих сполук 5.1-5.3 та 6.1-6.5 фіксувались у відповідності з запропонованими структурами, на що однозначно вказує трипротонний синглет SCH₃-групи при 2,86 м.ч. (5.1), та двопротонні триплети SCH₂-групи при 3,72 м.ч.-3,62 м.ч. (5.2, 5.3, 6.1-6.5).

В ^1H ЯМР-спектрах характерний двопротонний синглет SCH₂-групи для сполук 8.1-8.4 резонував при 5,22-5,06 м.ч., а для сполуки 7.1 – при 3,35 м.ч. у вигляді мультиплету, для 7.2 – при 4,74 м.ч. як двопротонний синглет. Протон ОН-групи для 7.2. проявлявся у вигляді уширеного синглету при 11,68 м.ч., а для 7.1 він не реєструвався за рахунок обміну з розчинником. В ^{13}C ЯМР-спектрі сполуки 8.3 специфічними є сигнали Карбону карбонільної групи при 191,50 м.ч., С-5 – при 149,32 м.ч. та SCH₂-групи – при 38,80 м.ч., які однозначно підтверджують будову та *S*-регіоселективність перебігу реакції.

Алкілювання калієвої солі тетразола[1,5-*c*]хіназолін-5-тіону (4.1) галогенокарбоновими кислотами легко проходило у водному лужному розчині, а наступна нейтралізація розведеною хлороводневою кислотою призводила до утворення 2(3)-(тетразола[1,5-*c*]хіназолін-5-їлтію)алкілкарбонових кислот (9.1-9.3, рис. 6). Тоді як естери (тетразола[1,5-*c*]хіназолін-5-їлтію)карбонових кислот (10.1-10.8) були отримані кип'ятінням калієвої солі 4.1 з відповідними естерами галогенокарбонових кислот в пропан-2-олі.

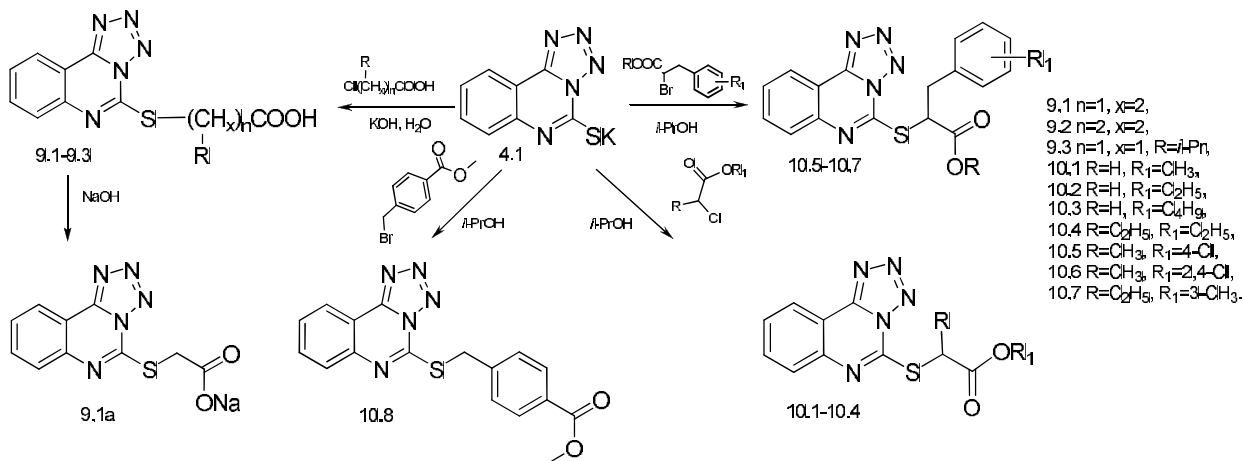


Рис. 6. Схема синтезу (тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтію)карбонowych кислот та естерів

¹H ЯМР-спектри кислот 9.2-9.3 містили сигнали уширеного синглету COOH-групи при 13,54-12,25 м.ч., характеристична SCH-група у сполук 10.4-10.7 резонувала як триплет при 5,17-5,03 м.ч., а SCH₂-група для сполук 9.1, 10.1-10.3, 10.8 фіксувалась як двопротонний синглет при 4,85-4,26 м.ч. В ¹³C ЯМР-спектрах сполук 10.2, 10.4, 10.6 специфічні сигнали Карбону карбоксильної групи реєструвались при 167,84-170,55 м.ч., C-5 – при 142,96-143,36 м.ч. та SCH₂-групи – при 32,88-53,53 м.ч.

(Тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)ацетаміди (11.1-11.2, 12.1-12.40) були отримані алкілуванням калій тетразола[1,5-*c*]хіназолін-5-тіолату (4.1) відповідними галогенацетамідами та альтернативним шляхом, а саме амінолізом активованої кислоти 9.1 *N,N'*-карбонілдіімідазолом (CDI, рис. 7).

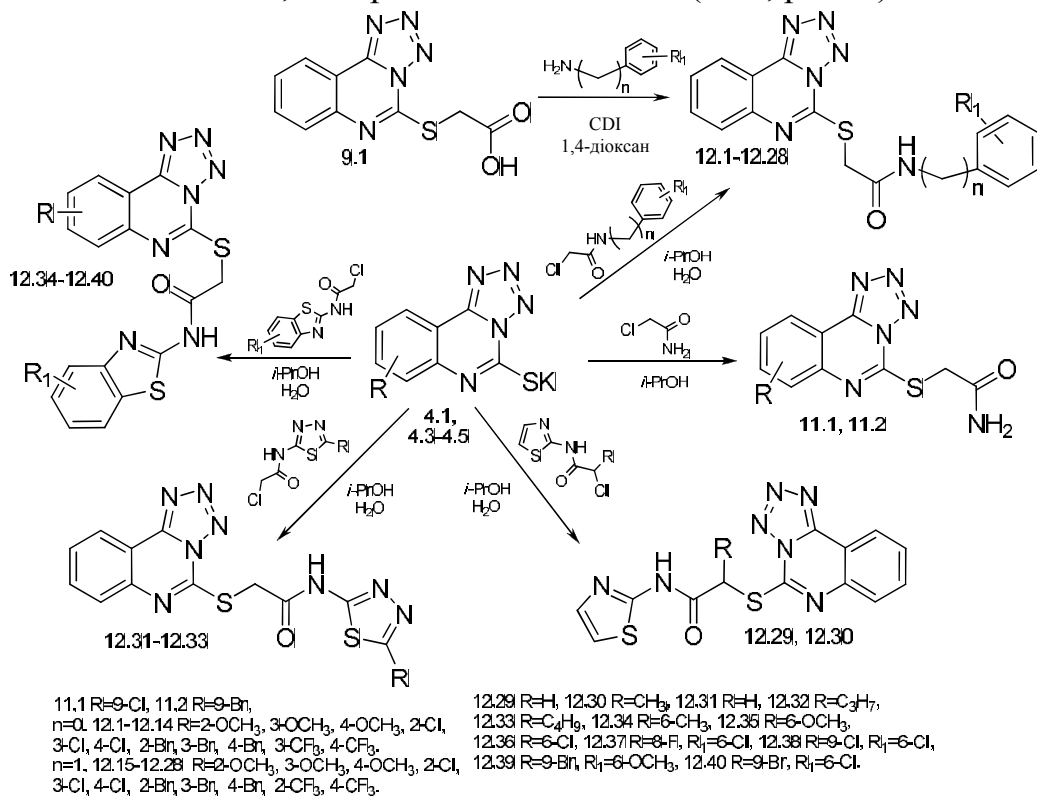


Рис. 7. Схема синтезу (тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетамідів

В ^1H ЯМР-спектрах амідів 11.1-11.2 азіотропна амідна група фіксувалась у вигляді двох однопротонних сиглетів при 7,66-7,65 м.ч. та 7,22 м.ч. Протони SCH_2 -групи для зазначених сполук проявлялись «класично» у вигляді двопротонних синглетів при 4,20 м.ч. Для ариламідів 12.1-12.14 протон NH -групи фіксується як синглет при 10,72-9,56 м.ч., для гетериламідів 12.29-12.40 – при 13,21-12,57 м.ч., а для 12.15-12.28 він реєструється як нерозщеплений триплет при 8,82-8,75 м.ч. Для сполук 12.15-12.28 сигнали протонів NHCH_2 -фрагменту проявилися як двопротонні дублети при 4,43-4,32 м.ч. Протони SCH_2 -групи для сполук 12.1-12.40 фіксуються у вигляді двопротонних синглетів при 4,51-4,26 м.ч. В ^{13}C ЯМР-спектрі сполуки 12.15 характеристичні sp^3 -гібридизовані атоми Карбону реєструвались при 34,79 м.ч. (SCH_2 -), 38,32 м.ч. (NCH_2 -) та 55,79 м.ч. ($-\text{OCH}_3$), що однозначно вказує на утворення відповідних амідів.

Мас-спектр (ЕУ) сполук 2.1, 3.1, 4.1а, 8.1, 12.14, 12.15 та 12.32 характеризуються низькоінтенсивними піками $\text{M}^{+\bullet}$ та подібною фрагментацією, а саме розривом зв'язків $\text{N}_1\text{-N}_2$ та $\text{N}_3\text{-N}_4$ тетразолу і утворенням фрагментарних іонів $[\text{M-N}_2]^{+\bullet}$.

Синтез, модифікація, фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6H)-онів

З врахуванням того, що синтетичні еквіваленти фосгену (алкіл-(арил)-ізоціанати) є вихідними сполуками у синтезі мочевин, наступним етапом досліджень була стратегія пошуку БАР, котрі поєднують у собі два різних структурних фрагмента протидіабетичних препаратів (сечовини та бігуаніди). Ця стратегія вирішувалась через дослідження особливостей взаємодії 2-(1H-тетразоло-5-іл)анілінів з синтетичними еквівалентами фосгену (рис. 8).

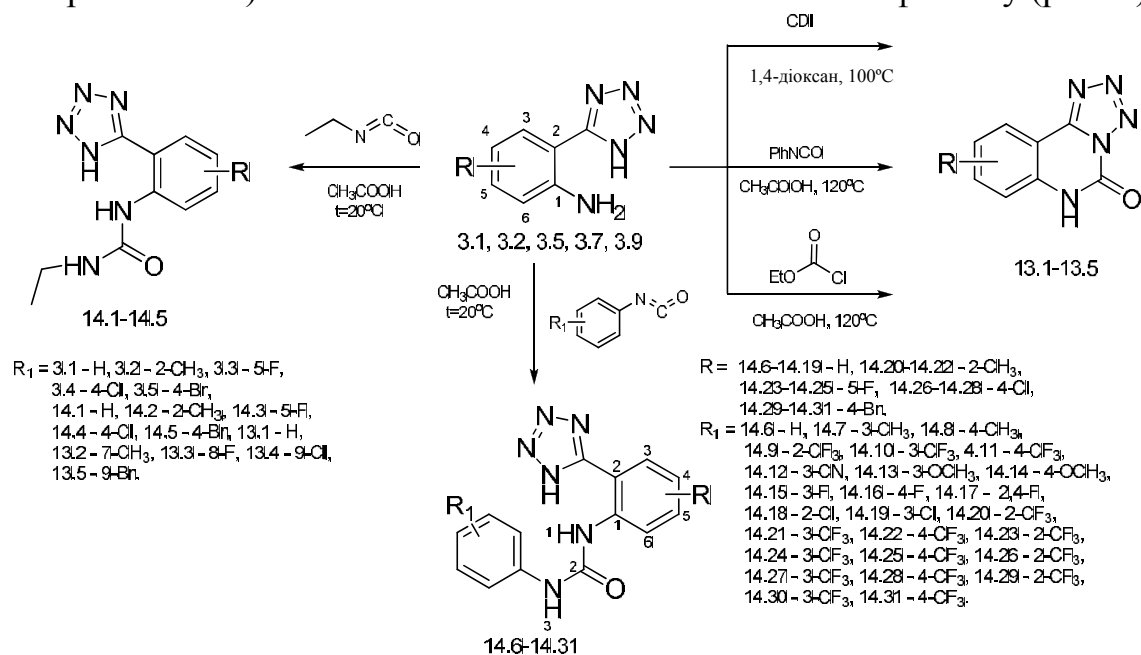


Рис. 8. Схема синтезу 7-R-8-R₁-9-R₂-тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6H)-онів та 1-(2-(1H-тетразоло-5-іл)-R-феніл)-3-R₁-феніл(етил)сечовин

Встановлено, що 2-(1*H*-тетразол-5-іл)аніліни (3.1, 3.2, 3.5, 3.7, 3.9) з арилізоціанатами, в залежності від умов проведення реакції, утворюють тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-они (13.1-13.5) або 1-(2-(1*H*-тетразол-5-іл)-*R*₁-феніл)-3-*R*₂-феніл(етил)сечовини (14.1-14.31). Крім того, для синтезу сполук 13.1-13.5 використані інші підходи: взаємодія *R*₁-2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів (3.1-3.5) з *N,N'*-карбонілдіімідазолом або з *R*₂-фенілізоціанатами, чи з етилхлорформіатом при нагріванні.

Сигнали ароматичних протонів заміщених тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-онів (13.1-13.5) в ¹H ЯМР-спектрах реєструвались з відповідними хімічними зсувами та їх мультиплетність залежала від наявності та положення замісника, а протони NH-групи були зареєстровані в межах 10,11-12,80 м.ч. у вигляді уширеного однопротонного синглету. Протони N¹H та N³H сечовин 14.6-14.31 реєструвались з практично подібним хімічним зсувом – два однопротонних синглету при 10,27-8,92 м.ч. та 10,17-8,20 м.ч. відповідно. Тоді як, у відповідних етилсечовин (14.1-14.5) протон N³H був екранований у сильне поле за рахунок донорних властивостей етильної групи, був обмінним (14.3-14.5) або реєструвався при 7,18-6,49 м.ч. (14.1, 14.2). NH-Група тетразола була зареєстрована у слабкому полі у вигляді широкого синглету при 16,85-16,18 м.ч., тоді як у сполук 14.7-14.9, 14.11, 14.24 та 14.25 цей сигнал не спостерігався (за рахунок обміну з розчинником). Сигнали етильних замісників сполук 14.1-14.5 спостерігаються у сильному полі з відповідними мультиплетностями та хімічними зсувами (мультиплет -NCH₂ при 3,20-3,02 м.ч. та триплет -CH₃-групи при 1,12-1,04 м.ч.).

Алкілювання тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-ону (13.1) галогеновмісними сполуками мало певні особливості. Встановлено, що зазначені реагенти не вступають у взаємодію в середовищі натрію етилату, проте реакція має задовільні виходи при її проведенні у ДМФА за наявності калію карбонату (рис. 9). Проте, алкілювання у ДМФА з еквімолярною кількістю натрію гідриду приводить до максимальних виходів. Тому саме останній метод синтезу був прийнятий за основний.

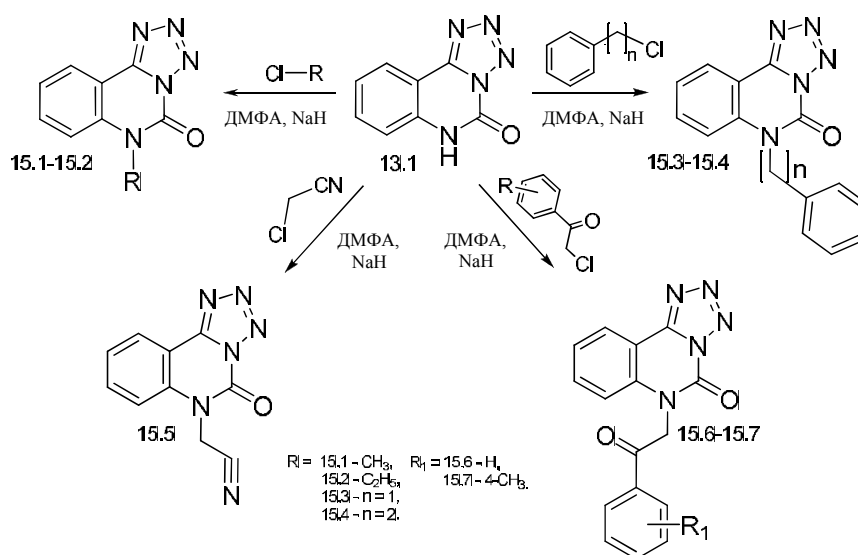


Рис. 9. Алкілювання тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-ону галогеновмісними сполуками

Сигнал $-NCH_2$ -групи сполук 15.2-15.7 у 1H ЯМР-спектрі може бути використаний в якості підтвердження успішного *N*-алкілювання. Так, для сполук 15.3, 15.5-15.7 він був зареєстрований як двупротонний синглет при 6,04-5,54 м.ч., а для 15.4 – як двупротонний триплет при 4,55 м.ч., та для 15.2 – як двупротонний квадруплет. Протон $-NCH_3$ -групи сполуки 15.1 проявлявся у вигляді синглету при 3,80 м.ч. У мас-спектрах сполук було зареєстровано характерний M^{+} з різною інтенсивністю в залежності від природи замісника (13.1 – m/z 187 (48,8 %), 15.1 – m/z 201 (100,0 %) та 15.6 – m/z 305 (26,6 %)). Основний етап фрагментації M^{+} іону пов'язаний з розривом зв'язків N_1-N_2 і N_3-N_4 тетразольного фрагмента та утворенням іонів $[M-N_2]^{+}$: m/z 159 (24,7 %) – сполука 13.1, m/z 173 (50,2 %) – сполука 15.1 та m/z 277 (43,7 %) – сполука 15.6.

Наступна функціоналізація тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-ону (13.1) шляхом алкілювання хлороцтовою кислотою не призвела до бажаного результату. Альтернативно проведений лужний гідроліз естерів 2-(5-оксотетразоло[1,5-*c*]хіназолін-6(5*H*)-іл)оцтових кислот (16.1-16.3), які були синтезовані алкілюванням сполуки 13.1 відповідними естерами хлороцтової кислоти, показав, що в даному випадку спостерігалось гідролітичне розщеплення піримідинового циклу з утворенням 2-((2-(1*H*-тетразол-5-іл)феніл)аміно)оцтової кислоти 17.1 (рис. 10).

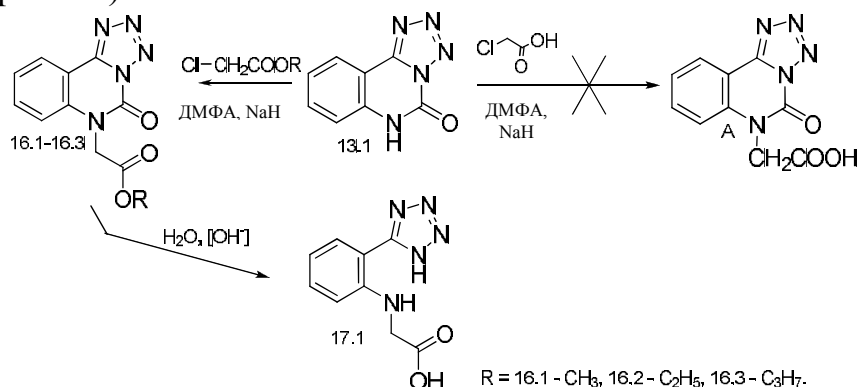


Рис. 10. Синтез естерів 2-(5-оксотетразоло[1,5-*c*]хіназолін-6(5*H*)-іл)оцтової кислоти та їх лужний гідроліз

У 1H ЯМР-спектрі сполуки 17.1 спостерігався діаманітний зсув ароматичних протонів, сигнал Н-3 був зареєстрований при 7,80 м.ч. як дублет, Н-4 при 7,30 м.ч. та Н-5 при 6,72 м.ч. як триплети, а Н-6 при 6,66 м.ч. як дублет. Крім того, на користь утворення сполуки 17.1 вказують протони $-NHCH_2COOH$ залишку, які резонували у вигляді широкого синглету при 8,22-7,93 м.ч. ($-NHCH_2$) та синглету при 4,01 м.ч. ($-NHCH_2$). У 1H ЯМР-спектрах естерів 16.1-16.3 протони $-NCH_2$ -групи були зафіксовані в слабкому полі у вигляді двопротонного синглету при 5,20-5,22 м.ч. Естерне угруповання фіксувалося при 4,19-4,27 м.ч., що відповідає $-OCH_2$ -групі сполук 16.2-16.3, та при 3,80 м.ч. – OCH_3 групі сполуки 16.1.

Цікавим аспектом є *N*-алкілювання тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-ону вторинними галогенацетамидами (рис. 11). Реакція мала певні особливості в залежності від нуклеофільності та доступності амідного фрагменту. Так, були отримані монозаміщені сполуки 18.1, 19.1-19.4 та дизаміщені 18.2-18.5.

Це підтверджується хроматомас-спектрами синтезованих сполук з інтенсивністю піків молекулярних іонів з масою подвійного залишку ацетаміду.

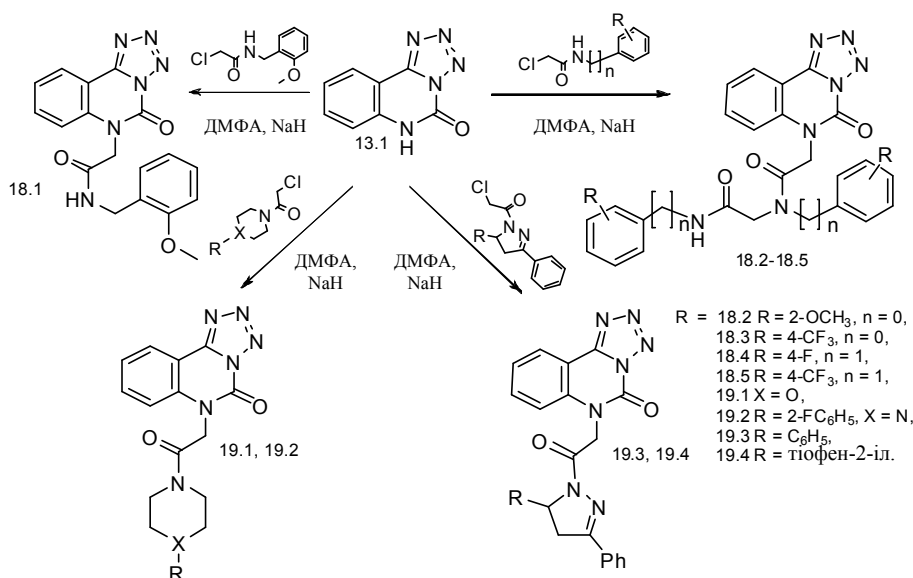


Рис. 11. Алкілювання тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6H)-она вторинними і третинними галогенацетамідами

¹H ЯМР-спектр сполуки 18.1-18.5 характеризуються сигналом протона -NHCO-групи, який фіксується у вигляді нерозщеплених триплетів при 8,86-8,99 м.ч. (18.1, 18.4 та 18.5) або синглетів при 10,42-10,95 м.ч. (18.2 та 18.3). Для сполуки 18.1 -NCH₂-група реєструвалась як двопротонний синглет при 5,01 м.ч., а -NHCH₂-група – двопротонний дуплет при 4,28 м.ч. Тоді як сигнали протонів -NCH₂- та -NHCH₂-груп для сполук 18.2-18.5 фіксувались у інтервалі 5,66-4,46 м.ч. і їх мультиплетність визначалась електронним оточенням. Для амідів 19.1-19.4 сигнал -NCH₂-групи спостерігається при 5,82-5,38 м.ч. як двопротонний синглет.

У мас-спектрах (ЕУ) синтезованих сполук присутній характерний М⁺: 18.2 – m/z 513 (33,0 %), 18.4 – m/z 517 (3,2 %), 19.1 – m/z 314 (1,4 %) та 19.2 – m/z 407 (3,3 %). Фрагментація М⁺ пов'язана з розривом зв'язків N₁-N₂ і N₃-N₄ тетразольного фрагмента (19.1 – m/z 286 (7,9 %), 19.2 – m/z 379 (4,1 %)). А для сполук 18.2 та 18.4 фрагментація М⁺ пов'язана з паралельними процесами: розривом тетразольного кільця та α-розривом ацетамідного фрагмента з утворенням іонів з m/z 335 (51,9 %) – сполука 18.2 та m/z 337 (26,6 %) – сполука 18.4.

Біологічна активність синтезованих сполук

Дослідження *in vitro* інгібування біolumінесценції бактерій *P. leiognathi Sh1* проводилось на кафедрі фармації Кримського державного медичного університету ім. С. І. Георгієвського, м. Сімферополь (д.б.н. А. М. Кацев); вивчення *in vitro* протимікробної активностей проводилось на базі бактеріологічної лабораторії Запорізької обласної клінічної лікарні; дослідження

in vitro протипухлинної активності проводилось у Національному інституті раку США (Бетезда, Меріленд) в рамках міжнародної програми DTP (Development Therapeutic Program); проведення *in silico* молекулярного докінгу до рецептору епідермального фактору росту та пошук кількісних співвідношень структура-активність протипухлинної дії проводилось на кафедрі органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету та у Міждисциплінарному центрі нанотоксичності на базі Державного університету Джексону м. Джескосон, штат Міссісіпі, США (д.х.н. Бахтійора Р.); проведення *in silico* молекулярного докінгу та дослідження *in vitro* клітинних механізмів реалізації протипухлинного ефекту (інгібітори протеїнкінази СК2) проводилося в Інституті молекулярної біології та генетики НАН України (зав. відділом біомедичної хімії, д.х.н., проф. Ярмолюк С. М.); дослідження *in vivo* гіпоглікемічної активності на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д.б.н., доц. Тржецинський С. Д.); вивчення *in vivo* актопротекторної, ангигіпоксичної активностей та гострої токсичності проводилось на кафедрі фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (зав. каф., д.мед.н., проф. Степанюк Г. І.) та кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д.б.н., доц. Тржецинський С. Д., табл. 1).

Таблиця 1

Біологічна активність синтезованих сполук

Види активності	Досліджені сполуки	«Сполуки-лідери»	Еталони порівняння
Інгібування біолоюмінесценції	54	11	Тетрациклін
Антибактеріальна та протигрибкова	87	3/2	Цефметазол Ністатин
Протипухлинна/інгібування протеїнкінази)	33/3	3	5-Фторурацил
Гіпоглікемічна (первинний скринінг / поглибленні дослідження)	36/8	2	Метформін, Гліклазид
Актопротекторна	22	1	Бемітил Мілдронат
Антигіпоксична	1	1	Мілдронат

Зміна інтенсивності біолоюмінесценції є кількісним показником життєдіяльності бактеріальних клітин і дає можливість оцінити інтегральний ефект синтезованих сполук на живі організми. Проведений скринінг на цитотоксичність на морських біолоюмінісцентних бактеріях *P. leiognathi Sh1* дав

можливість визначитись у напрямках подальшого дослідження: цитотоксичні сполуки тестували на антибактеріальну та протипухлинну дію.

Встановлено, що *S*-похідні тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-тіону виявились ефективними протигрибковими речовинами. Найкращі результати продемонстрували 1-(4-метоксифеніл)-2-(тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)-етанон (8.4) та 5-(3-хлоропропілтіо)тетразоло[1,5-*c*]хіназолін (5.3), що затримували ріст *C. albicans* на 22 мм та діяли на рівні ністатину. Серед них виявлені «сполуки-лідери» відносно грампозитивних коків *St. aureus* та *E. faecalis*, що викликають переважно інфекції шкіри, сечових шляхів та бактеріємії. Ними виявилися речовини з *N,N*-діалкіламінім фрагментом (6.1-6.3).

Проведений віртуальний відбір серед усіх синтезованих сполук для проведення досліджень *in vitro* у Національному інституті раку США дозволив відібрати 33 сполуки, які були досліджені на 60 клітинних лініях раку людських пухлин (кишкови́ка, нирок, простати, яєчників, грудної залози, дрібноклітинного раку легень, ЦНС, меланоми та лейкемії) у концентрації $1,00 \times 10^{-5}$ М. Встановлено, що ацетаміди 12.34-12.36 селективно інгібували клітинну лінію IMVI меланоми, в той час як етанон 8.2 та карбонові кислоти 9.2, 9.3 були селективними щодо клітинної лінії CCRF-CEM лейкемії.

Для встановлення імовірного механізму дії, для ацетамідів 12.29, 12.35, 12.36 було проведено молекулярний докінг до АТФ-залежного сайту протеїнкінази CK2 (рис. 12). Показано, що сполука 12.36 утворює зв'язки з ключовими амінокислотними залишками АТФ-залежного сайту CK2 (рис. 12б). 6-Хлоро-1,3-бензотіазольний замісник утворює гідрофобні зв'язки (π -алкіл, π - σ) з Leu45, Glu46, Val53. Тетразоло[1,5-*c*]хіназолиновий гетероцикл утворює гідрофобні зв'язки (π -алкіл, π - π) з Val66, Lys68, Phe113, Ile174, Ile95 та неklasичний водневий зв'язок з Asp175 (між π -хмарою тетразолу та амідною групою амінокислотного залишку).

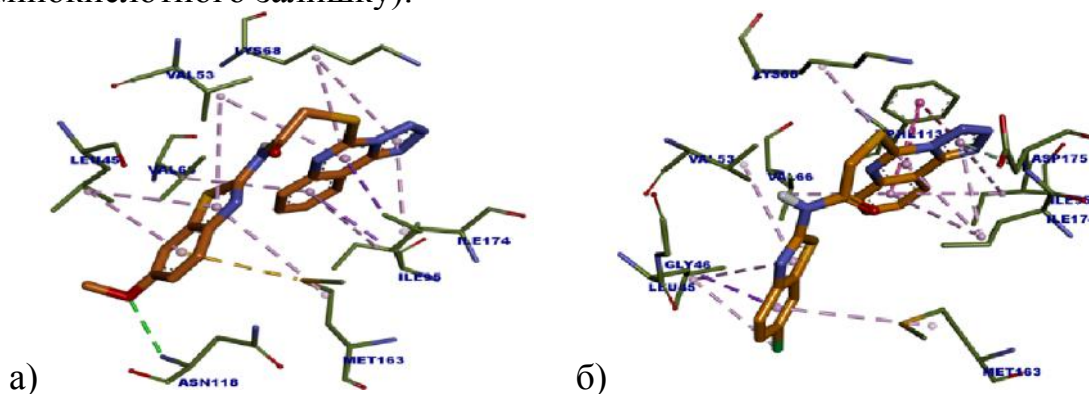


Рис. 12. Механізм зв'язування сполуки 12.35 (а) та 12.36 з активним центром протеїнкінази CK2

Для сполуки 12.35 зникають π - π зв'язки між тетразоло[1,5-*c*]хіназолиновим гетероциклом та Phe113, та з'являються нові гідрофобні зв'язки з Lys68 та між π -хмарою 6-метокси-1,3-бензотіазолового замісника та сульфуром Met163 (рис. 12а). Дані зв'язки, зокрема водневий зв'язок з хінж-ділянкою, вплинули на поліпшення активності сполуки 12.35.

Орієнтуючись на результати молекулярного докінгу, 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтїо)ацетаміди (12.29, 12.35 та 12.36) було відібрано для біохімічного дослідження щодо інгібування протеїнкінази СК2 (табл. 2). Дійсно, сполука 12.36 проявляла активність з $IC_{50} = 5,3$ мкМ, а сполука 12.35 мала $IC_{50} = 4,9$ мкМ.

Таблиця 2

Результати інгібування протеїнкінази СК2
N-гетерил-2-[(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)тіо]ацетамідами

Сполука	Залишкова активність у концентрації 33,3 мкМ, %	IC_{50} , мкМ
12.29	82	-
12.35	3	4,9
12.36	5	5,30

На основі *in vitro* протипухлинних даних вперше були розроблені QSAR-моделі з високим рівнем прогнозування з метою застосування у майбутньому для подальшого аналізу та пошуку потенційних протиракових агентів у межах вивченого класу сполук. Найдостовірніші виявилися моделі прогнозування лінії молочної залози Т-47D та лейкемії (рис. 13).

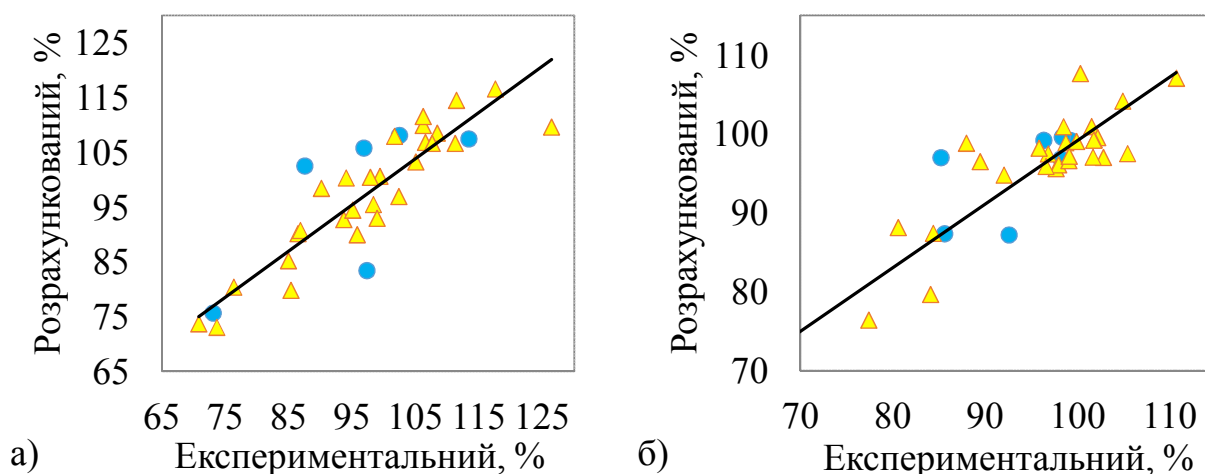


Рис. 13. Графік експериментальних та розрахункових значень відсотку інгібування раку молочної залози лінії Т47D (а) та лейкемії лінії RPMI-8226 (б). Навчальна вибірка – трикутники, тестова вибірка – круги

Структурна подібність, *in silico* дослідження (молекулярний докінг до 11- β -гідроксистероїддегідрогенази 1-го типу, γ -PPAR рецептора та діпептидилпептидази-4) та фармакологічний скринінг дозволили виявити новий клас сполук з гіпоглікемічною дією серед 1-(2-(1H-тетразоло-5-іл)-R₁-феніл)-3-R₂-феніл(етил)сечовин та R₁-тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6H)-онів. Так, сполуки 13.1, 14.4 та 14.21 показали високу активність на моделі дексаметазонового діабету, а саме оральному тесті на толерантність, короткому інсуліновому та адреналіновому тестах, конкуруючи або перевищуючи дію Метформіну та Гліклазиду.

Встановлено, що внутрішньоочеревинне введення щурам похідних тетразола[1,5-*c*]хіназоліну (10 мг/кг) супроводжувалося вірогідним підвищенням фізичної витривалості тварин в умовах нормо-, гіпо- та гіпертермії, що є ознакою наявності у них актопротекторної активності. Найбільша за величиною дія в умовах нормотермії властива сполукам 4.1, 9.1a, 10.5 та 10.8, які за ефективністю в дозах 10 мг/кг переважали Бемітил у 1,5-2 рази. Сполуки 10.2, 6.4 та 10.5 за ступенем фрігопротекторної дії конкурують з Бемітилом. При цьому сполука 9.1a за величиною ЕД₅₀ в даних умовах експерименту у 18 разів переважає Бемітил. Крім того, встановлено, що введення в організм щурів з хронічним іммобілізаційним стресом сполуки 9.1a, сприяє підвищенню як динамічної, так і статичної витривалості тварин. При цьому у фазі резистентності (13 добу дослідження) сполука 9.1a за ефективністю переважає Бемітил у 1,06 та 1,12 рази відповідно.

Встановлено, що натрію 2-(тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)ацетат (9.1a) та тетразола[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-он (13.1) відносяться до IV класу токсичності.

Результати фармакологічних досліджень надали можливість виявити кореляційну залежність «будова-активність» для функціональних похідних тетразола[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-онів(тіонів) та 1-(2-(1*H*-тетразол-5-іл)-R₁-феніл)-3-R₂-феніл-(етил)сечовин (рис. 14).

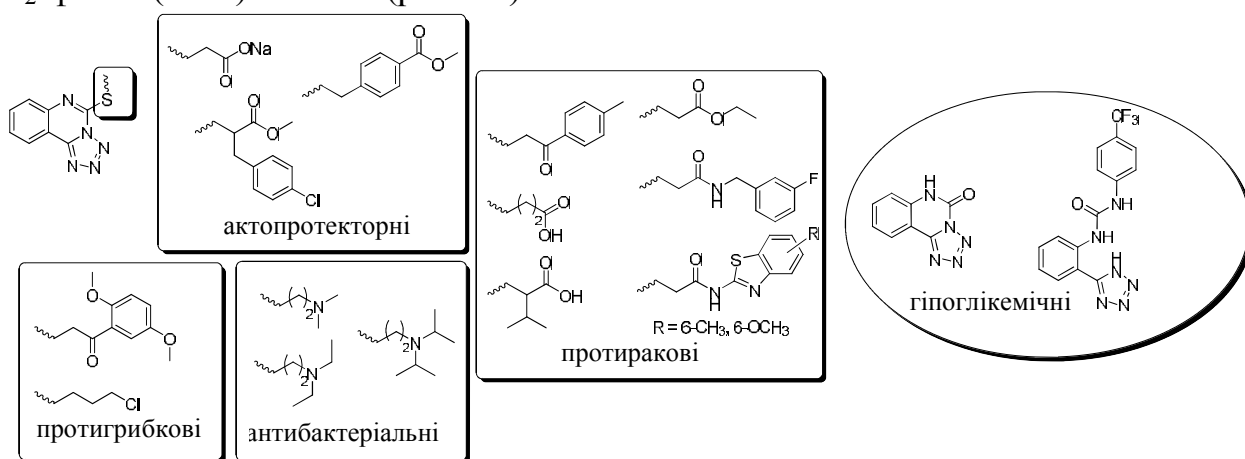


Рис. 14. Найбільш активні сполуки з фармакоформними групами, що виявлено у результаті SAR-аналізу

ВИСНОВКИ

Розроблена ефективна поетапна стратегія цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин, що об'єднує підходи препаративної органічної хімії з методологією *in silico*, *in vitro* та *in vivo* фармакологічних досліджень, у межах якої синтезовано ряд заміщених тетразола[1,5-*c*]хіназолінів, калій 7-R-8-R₁-9-R₂-тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-тіолатів та відповідних тіонів, 5-алкіл-(алкарилетіл)-тіотетразоло[1,5-*c*]хіназолінів, *N,N*-діалкіл-2-(тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)-алкіламінів, (тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)-етанонів(етанолів), (тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)карбонових кислот та естерів, (тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)ацетамідів, заміщених тетразола[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-онів, 6-алкіл-(фенетіл)-тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-онів, 2-(5-оксотетразоло[1,5-*c*]хіназо-

лін-6(5*H*)-іл)карбонових кислот та їх естерів, *N*-арил-(бензил)-2-[(5-оксотетразоло[1,5-*c*]хіназолін-6(5*H*)-іл]ацетамідів та 1-(2-(1*H*-тетразоло-5-іл)-*R*₁-феніл)-3-*R*₂-феніл(етил)сечовин. Обговорено та доведено можливості та умови їх синтетичної модифікації, досліджено фізико-хімічні, спектральні та біологічні властивості. На основі результатів біологічних досліджень встановлена кореляція «будова-дія», доведена перспективність пошуку ефективних протипухлинних, протимікробних, актопротекторних та гіпоглікемічних засобів серед синтезованого ряду сполук та рекомендовано 3 «сполуки-лідери» для подальших досліджень.

1. Опрацьовані методи синтезу, досліджене гідролітичне розчеплення заміщених тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів і показано, що результатом зазначеної реакції є відповідні 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)аніліни. Встановлено, що зазначена реакція реалізується поетапно, через відповідні інтермедіати – заміщені *N*-(2-(1*H*-тетразоло-5-іл)феніл)формаміди, які в деяких випадках вдалося виділити.

2. Вперше на основі реакцій [5+1]-циклоконденсації заміщених 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів з сірковуглецем та його «синтетичним еквівалентом» – калію ксантогенатом синтезовані калій тетразоло[1,5-*c*]хіназолін(6*H*)-5-тіолати та відповідні тіони, для яких досліджені реакції алкілування галогеналканами, галогеноспиртами, галогенофенацилами, галогенокарбоновими кислотами та їх естерами.

3. Вперше алкілуванням калій тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-тіолатів відповідними *N*-*R*-2-хлороацетамідами одержано ряд *N*-*R*-2-[тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-іл)тіо]ацетамідів і показана можливість їх синтезу через генерований *in situ* імідазолід 2-[тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-іл)тіо]оцтової кислоти.

4. Досліджено взаємодію 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів з етил(феніл)-ізоціанатами і показано, що за кімнатної температури у середовищі оцтової кислоти утворюються 1-(2-(1*H*-тетразоло-5-іл)-*R*₁-феніл)-3-*R*₂-феніл(етил)-сечовини, а у випадку підвищення температури – тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-они. Для останніх розроблено ряд альтернативних методів синтезу, а саме взаємодія 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів з *N,N'*-карбонілдіімідазолом чи етилхлороформіатом.

5. Вперше встановлені закономірності алкілування тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-онів галогеновмісними сполуками і показані можливості та обмеження даного підходу щодо синтезу відповідних 2-[(5-оксотетразоло[1,5-*c*]хіназолін-6(5*H*)-іл]оцтових кислот, їх естерів та амідів.

6. В процесі виконання роботи синтезовано 168 сполук (158 вперше) для яких досліджені спектральні властивості (УФ-, ІЧ-, ¹H та ¹³C ЯМР-, хроматомас-, мас-спектри) та встановлена регіоселективність перебігу *S*- та *N*-алкілування.

7. Створена комбінаторна бібліотека раніше неописаних біологічно активних речовин із здатністю *in vitro* інгібувати біolumінесценцію, антибактеріальною, протипухлинною, гіпоглікемічною, актопротекторною та антигіпоксичною активностями.

8. Проведені *in silico* дослідження (молекулярний докінг до 11-β-гідроксистероїддегідрогенази 1-го типу, γ-PPAR рецептора та

діпептидилпептидази-4) та безпосередньо фармакологічний скринінг на моделях дексаметазонового діабету дозволили виявити новий клас сполук з гіпоглікемічною дією серед 1-(2-(1*H*-тетразоло-5-іл)-R₁-феніл)-3-R₂-феніл-(етил)сечовин та R₁-тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5(6*H*)-онів, які перевищують за ефективністю протидіабетичні засоби Метформін та Гліклазид.

9. Вперше створені QSAR-моделі інгібування росту клітинних ліній пухлин для тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-(6*H*)-5-онів(тіонів), які на ряду з молекулярним докінгом та біохімічним дослідженням інгібування протеїнкінази СК2 обґрунтували один із можливих механізмів протипухлинної дії.

10. Вперше встановлено, що похідним тетразоло[1,5-*c*]хіназоліну притаманна актопротекторна активність, яка проявляється у збільшенні тривалості плавального тесту в умовах нормо-, гіпер- та гіпотермії. При цьому натрію 2-(тетразоло[1,5-*c*]хіназолін-5-ілтіо)ацетат (9.1a) за величиною ЕД₅₀ у 19 разів перевищував дію антигіпоксantu Бемітилу.

11. Використовуючи одержані результати фармакологічного скринінгу проведено SAR- і QSAR-аналіз, та виявлені «сполуки-лідери» з низькими токсикометричними даними (IV клас токсичності), які запропоновані для подальших доклінічних досліджень.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Антипенко О. М. Протимікробна та протигрибкова активність 2-(1*H*-тетразоло-5-іл)анілінів і продуктів їх структурної модифікації / О. М. Антипенко, І. М. Васильєва, С. І. Коваленко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2016. – №. 2 (21). – С. 62-67. (Дисертант проаналізував літературні дані, приймав участь у виконанні експерименту та підготував матеріал до друку).

2. Antypenko O. M. Investigation of actoprotective activity in a range of 6-*N*-R-tetrazolo[1,5-*c*]quinazolin-5(6*H*)-ones / O. M. Antypenko, S. I. Kovalenko, S. D. Trzhetsinsky // Zaporozhye Medical Journal. – 2016. – Vol. 1 (94). – P. 81-84. (Дисертант проаналізував літературні дані, приймав участь у виконанні експерименту та підготував матеріал до друку).

3. Похідні тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів як нові інгібітори протеїнкінази СК2 / С. А. Старосила, М. В. Протопопов, О. Ю. Воскобойнік, І. С. Носуленко, Л. М. Антипенко, О. М. Антипенко, І. М. Фесун, С. І. Коваленко, С. М. Ярмолук // Ukrainica Bioorganica Acta. – 2014. – №. 1. – С. 11-17. (Дисертант проаналізував літературні дані, приймав участь у виконанні експерименту та підготував матеріал до друку).

4. Design and evaluation of novel antimicrobial and anticancer agents among tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-5-thione S-Derivatives / L. M. Antypenko, S. I. Kovalenko, O. M. Antypenko, A. M. Katsev, O. M. Achkasova // Scientia Pharmaceutica. – 2013. – Vol. 81. – P. 15-42. (Дисертант проаналізував літературні дані, приймав участь у виконанні експерименту та підготував матеріал до друку).

5. Potential of *N*-aryl(benzyl,heteryl)-2-(tetrazolo[1,5-*c*]quinazolin-5-ylthio)acetamides as anticancer and antimicrobial agents / O. M. Antypenko,

L. M. Antypenko, S. I. Kovalenko, A. M. Katsev, O. M. Achkasova // *Arabian Journal of Chemistry*. Access for journal:

doi:10.1016/j.arabjc.2014.09.009.

(Дисертант проаналізував літературні дані, приймав участь у виконанні експерименту та підготував матеріал до друку).

6. Antypenko O. M. Search for compounds with hypoglycemic activity in the series of 1-(2-(1*H*-Tetrazol-5-yl)-R¹-Phenyl)-3-R²-phenyl(ethyl)ureas and R¹-Tetrazolo-[1,5-*c*]quinazolin-5(6*H*)-ones / O. M. Antypenko, S. I. Kovalenko, G. O. Zhernova // *Scientia Pharmaceutica*. – 2016. – Vol. 84. – P. 233–254. (Дисертант проаналізував літературні дані, приймав участь у виконанні експерименту та підготував матеріал до друку).

7. Antypenko O. M. / Synthesis and hydrolytic cleavage of tetrazolo[1,5-*c*]quinazolines / O. M. Antypenko, S. I. Kovalenko, O. V. Karpenko // *Synthetic Communications* – 2016. – Vol. 46 (6). – P. 551-555. (Дисертант проаналізував літературні дані, приймав участь у виконанні експерименту та підготував матеріал до друку).

8. Патент України на корисну модель № 79229 Україна, МПК А61К 31/00. 5-*R*-тіо-тетразоло[1,5-*c*]хіназоліни, що підвищують фізичну витривалість організму / Степанюк Г. І., Тозюк О. Ю., Коваленко С. І., Чорноіван Н. І., Антипенко Л. М., Антипенко О. М.; заявник і патентовласник Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова. – № u2012 13465 ; заявл. 26.11.12, опубл. 10.04.13, Бюл. № 7. (Дисертант проаналізував літературні дані та підготував матеріал до друку).

9. Антипенко А. Н. Отримання тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів / А. Н. Антипенко // Матеріали XII Конференції молодих учених та студентів-хіміків південного регіону України, 7-8 груд. 2009. – О., 2009. – С. 37.

10. Антипенко О. М. Синтез 5-алкіламіноалкілтіотетразоло-[1,5-*c*]хіназолінів як потенційних біологічно активних речовин / О. М. Антипенко, Л. М. Антипенко // Тези доповідей Всеукраїнської конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2010», 13-14 трав. 2010. – Запоріжжя, 2010. – С. 102. (Дисертант приймав участь у літературному пошуку, виконанні експерименту, підготував матеріал до друку).

11. Synthesis of the novel condensed derivatives of quinazoline / S. I. Kovalenko, A. V. Karpenko, A. Yu. Voskoboynic, L. N. Antipenko, G. G. Berest, D. Yu. Skorina, V. O. Voloschina, A. K. Biluy, N. A. Litvinenko, A. N. Antipenko // *Materials of 3rd International Summer School «Supramolecular Systems in Chemistry and Biology»*, 6-10 Sept. 2010. – Lviv, 2010. – P. 103 (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

12. Антипенко О. М. Протимікробна та протигрибкова дія 5-*R*-тетразоло-[1,5-*c*]хіназолін-5-тіонів / О. М. Антипенко, О. М. Ачкасова // Тези доповідей Всеукраїнської конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011», 12-13 трав. 2011. – Запоріжжя, 2011. – С. 171. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

13. Antimicrobial and anticancer agents among novel tetrazolo[1,5-*c*]-quinazolin-5-thion S-derivatives / L. M. Antypenko, O. M. Antypenko, S. I. Kovalenko, O. M. Achkasova // Materials of IV International conference on environmental, industrial and applied microbiology (BioMicroWorld2011), 14-16 sept. 2011. – Torrenomolinos, 2011. – P. 700. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

14. Антипенко О. М. Синтез 5-S-тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів-5-тіонів як потенційних протипухлинних сполук / О. М. Антипенко // Збірник тез доповідей І Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Сучасна фармація і медицина: досвід, шляхи вдосконалення і розвитку», 21 квіт. 2011. – Луганськ, 2011. – С. 73-74.

15. Antypenko O. M. Docking studies of the tetrazolo[1,5-*c*]quinazolin-5-thion S-derivatives to EGFR / O. M. Antypenko // Poster presentation at the 7th protein kinases in drug discovery conference, 30-31 may 2012.– Boston, 2012.

<https://www.gtcbio.com/conferences>

16. Антипенко О. М. Цілеспрямований пошук протипухлинних засобів серед S-заміщених тетразоло[1,5-*c*]хіназолінів-5-тіону / О. М. Антипенко, Л. М. Антипенко // Тези доповідей Всеукраїнської конференції з міжнародною участю «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє», 19-20 квіт. 2012. – Запоріжжя, 2012. – С. 174. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

17. Antypenko O. M. Novel tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-(6*H*)-5-ones(thiones) derivatives as prospective actoprotectors / O. M. Antypenko, L. M. Antypenko, S. I. Kovalenko // Materials of XX international scientific and practical conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of doctor of science in pharmacy, professor Dmitri Pavlovych Salo, 25-26 april 2013. – Kh., 2013. – P. 7. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

18. Antypenko O. M. Docking studies of the 5-thio-tetrazolo[1,5-*c*]-quinazoline derivatives to human rhinovirus A16 protein / O. M. Antypenko, L. M. Antypenko // Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013», 16-17 трав. 2013. – Запоріжжя, 2013. – С. 247. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

19. Antypenko O. M. Docking studies of the tetrazolo[1,5-*c*]quinazolin-(6*H*)-5-on(thion)s to *Candida albicans* dihydrofolate reductase / O. M. Antypenko, L. M. Racimbazafi, L. M. Antypenko // Тези доповідей VI Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2014», 22-24 квіт. 2014. – Х., 2014. – С. 154-155. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

20. QSAR modeling of anticancer activity based on NCI protocols of quinazoline derivatives / O. M. Antypenko, B. Rasulev, S. I. Kovalenko,

O. Yu. Voskoboynik, J. Leszczynski // Materials of 14th Southern School on Computational Chemistry and Material Science, 24-25 July 2014. – Jackson, 2014. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував стендову презентацію).

21. Antypenko O. M. Tetrazolo[1,5-*c*]quinazolin-(6*H*)-5-on(thion)s binding affinity to histone lysine demethylase / Antypenko O. M., Racimbazafi L. M., Antypenko L. M. // Материалы VI Международной научно-практической конференции «Теория и практика актуальных исследований», 25 марта 2014. – Краснодар, 2014. – С. 10-12. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

22. Malalaniaina L. R. Antimicrobial activity of the novel tetrazolo[1,5-*c*]quinazolin-(6*H*)-5-on(thion)s / L. R. Malalaniaina, L. M. Antypenko, O. M. Antypenko // Материалы 78-ой итоговой студенческой научно-практической конференции, посвящённой 95-летию со дня рождения профессора Ю. М. Лубенського, 22-25 апреля 2014. – Красноярск, 2014. – С. 12-13. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

23. Antypenko O. M. Synthesis of 1-(2-(1*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-3-(*R*-phenyl)ureas as potential antidiabetic agents / O. M. Antypenko, L. M. Racimbazafi, L. M. Antypenko // Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014», 15-16 трав. 2014. – Запоріжжя, 2014. – С. 200. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

24. Antypenko O. M. Synthesis of 5-oxo(thioxo)-5,6-dihydro-tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline, QSAR modeling and anticancer activity / O. M. Antypenko // Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2015», 14-15 трав. 2015. – Запоріжжя, 2015. – С. 169.

25. Antypenko O. M. Search of compounds with hypoglycemic activity in the series of 1-(2-(1*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-3-*R*-phenylureas and 1-*R*-phenyl-3-(2-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)phenyl)ureas / O. M. Antypenko, S. V. Holodnyak // Материалы 69-ой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015», 15-17 апреля 2015. – Минск, 2015. – С. 956. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

26. Antypenko O. M. Substituted Tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline(6*H*)-5-ones(thiones): synthesis, modification and biological activities / Antypenko O. M., Kovalenko S. I. // Abstracts of VII international conference «Chemistry of nitrogen containing heterocycles CNCH – 2015», 9-13 November 2015. – Kh., 2015. – P. 22. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

АНОТАЦІЯ

Антипенко О. М. Тетразоло[1,5-с]хіназолін-(6H)-5-они(тіони): синтез, функціоналізація, фізико-хімічні та біологічні властивості – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2016.

В дисертаційній роботі вирішена поетапна стратегія цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин, що об'єднує підходи препаративної органічної хімії з методологією *in silico*, *in vitro* та *in vivo* фармакологічних досліджень, у межах якої синтезовано ряд заміщених тетразоло[1,5-с]хіназолінів, калій 7-R-8-R₁-9-R₂-тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-тіолатів та відповідних тіонів, 5-алкіл-(алкарилетіл)тіотетразоло[1,5-с]хіназолінів, N,N-діалкіл-2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)алкіламінів, (тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)-етанонів-(етанолів), (тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)карбонових кислот та естерів, (тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)ацетамідів, заміщених тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6H)-онів, 6-алкіл(фенетіл)-тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6H)-онів, 2-(5-оксотетразоло[1,5-с]хіназолін-6(5H)-іл)карбонових кислот та їх естерів, N-арил-(бензил)-2-[(5-оксотетразоло[1,5-с]хіназолін-6(5H)-іл)ацетамідів та 1-(2-(1H-тетразоло-5-іл)-R₁-феніл)-3-R₂-феніл(етил)сечовин. Обговорено та доведено можливості та умови їх синтетичної модифікації, досліджено фізико-хімічні, спектральні та біологічні властивості.

В процесі виконання роботи синтезовано 168 сполук (158 вперше), серед яких знайдені речовини з високою протипухлинною, протимікробною, актопротекторною та гіпоглікемічною активністю, рекомендовано «сполуки-лідери» для подальших досліджень, а також виявлені закономірності зв'язку між хімічною будовою та фармакологічною активністю.

Ключові слова: синтез, 2-(1H-тетразоло-5-іл)аніліни, тетразоло[1,5-с]хіназолін-5(6H)-они(тіони), спектральні характеристики, фармакологічні дослідження, протеїнкаіназа.

АННОТАЦИЯ

Антипенко А. Н. Тетразоло[1,5-с]хиназолин-(6H)-5-оны(тионы): синтез, функционализация, физико-химические и биологические свойства – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Запорожский государственный медицинский университет, МЗ Украины, Запорожье, 2016.

В диссертационной работе решена поэтапная стратегия целенаправленного поиска биологически активных веществ, которая объединяет подходы препаративной органической химии с методологией *in silico*, *in vitro* и *in vivo*

фармакологических исследований, в рамках которой синтезирован ряд замещенных тетразоло[1,5-*c*]хиназолина, калий 7-*R*-8-*R*₁-9-*R*₂-тетразоло[1,5-*c*]-хиназолин-5-тиолатов и соответствующих тионов, 5-алкил-(алкарилэтил)-тиотетразоло[1,5-*c*]хиназолинов, *N,N*-диалкил-2-(тетразоло[1,5-*c*]хиназолин-5-илтио)алкиламинов, (тетразоло[1,5-*c*]хиназолин-5-илтио)этанонов(этанолов), (тетразоло[1,5-*c*]хиназолин-5-илтио)карбоновых кислот и эфиров, (тетразоло[1,5-*c*]хиназолин-5-илтио)ацетамидов, замещенных тетразоло[1,5-*c*]хиназолин-5(6*H*)-онов, 6-алкил-(фенетил)-тетразоло[1,5-*c*]хиназолин-5(6*H*)-онов, 2-(5-оксо-тетразоло[1,5-*c*]хиназолин-6(5*H*)-ил)карбоновых кислот и их эфиров, *N*-арил-(бензил)-2-[(5-оксотетразоло[1,5-*c*]хиназолин-6(5*H*)-ил]ацетамидов и 1-(2-(1*H*-тетразол-5-ил)-*R*₁-фенил)-3-*R*₂-фенил(этил)мочевин. Обсуждены и доказаны возможности и условия их синтетической модификации, исследованы физико-химические, спектральные и биологические свойства.

В процессе выполнения работы синтезировано 168 соединений (158 впервые), среди которых найдены вещества с высокой противоопухолевой, противомикробной, актопротекторной и гипогликемической активностью, рекомендованы «соединения-лидеры» для дальнейших исследований, а также выявленные закономерности связи между химическим строением и фармакологической активностью.

Ключевые слова: синтез, 2-(1*H*-тетразоло-5-ил)анилины, тетразоло[1,5-*c*]-хиназолин-5(6*H*)-оны(тионы), спектральные характеристики, фармакологические исследования, протеинкиназа.

ANNOTATION

Antypenko O. M. Tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline(6*H*)-5-ones(thiones): synthesis, functionalization, physico-chemical and biological properties – Manuscript.

Thesis for the Degree of PhD in Pharmacy, specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Zaporizhzhya State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhya, 2016.

The thesis is devoted to the biologically active substances among tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline(6*H*)-5-ones(thiones) and their functional derivatives, evaluation of their physico-, chemical and biological properties, structure–activity relationship and recommendations of the most active compounds for further pharmacological testing.

Hydrolytic cleavage of substituted tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline was studied and it was shown, that appropriate 2-(1*H*-tetrazol-5-yl)anilines were the products of mentioned reaction. It was established, that reaction was implemented in stages, through appropriate intermediates – substituted *N*-(2-(1*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)formamides, which were extracted in some cases.

Potassium tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-(6*H*)-5-thiolates and related thiones were synthesized for the first time based on the [5+1]-cyclocondensation of substituted 2-(1*H*-tetrazol-5-yl)anilines with carbon disulfide or its synthetic equivalent – potassium xanthogenate. Potassium salts were used for alkylation reaction by halogenoalkanes, halogenoalcohols, halogenophenacyls, carboxylic acids and their esters.

Alkylation of potassium tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-(6*H*)-5-thiolates with proper *N*-R-2-chloroacetamides enabled to obtain a number of *N*-R-2-[tetrazolo[1,5-*c*]quinazolin-5-yl)thio]acetamides. Also, the possibility of their synthesis was shown through *in situ* generated imidazolidine of 2-[tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-5-yl)thio]acetic acid.

Interaction of 2-(1*H*-tetrazol-5-yl)anilines with ethyl(phenyl)isocyanates was studied and it was found, that in case of room temperature and medium of acetic acid 1-(2-(1*H*-tetrazol-5-yl)phenyl-R₁)-3-R₂-phenyl(ethyl)ureas were produced, while in case of refluxing – tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-(6*H*)-5-ones were formed. To synthesize the latter one, a number of alternative methods were developed, namely the interaction of 2-(1*H*-tetrazol-5-yl)anilines with *N,N'*-carbonyldiimidazole or ethylchloroformate.

Peculiarities of tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline(6*H*)-5-ones alkylation with halogen containing compounds were established, and the possibilities and limitations of corresponding 2-[(5-oxotetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-6(5*H*)-yl]acetic acids, their esters and amides formation were shown by this approach.

During the studies 168 compounds (158 for the first time) were synthesized. Their spectral properties (¹H and ¹³C NMR, UV-, IR-, LC-, MS-(EI) – spectra, and elemental analysis data) were established and *S*- and *N*-alkylation regioselectivity was confirmed.

Combinatorial library was built of the previously unknown bioactive substances with bioluminescence inhibition, antibacterial, antitumor, hypoglycemic, actoprotective and antihypoxic activities and toxicity data.

It was found, that the most of compounds have a negative influence on the bioluminescence of bacteria *P. leiognathi Sh1* in acute and chronic tests, showing toxicity. Thus the highest toxicity had 4-nitro-2-((tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-5-ylthio)methyl)phenol- (7.2), 1-phenyl- (8.1), 1-(4-methylphenyl)- (8.2), 1-(4-ethoxyphenyl)- (8.3) and (2,5-dimethoxyphenyl)-2-(tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-5-ylthio)-ethanone (8.4).

The results of molecular docking with the epidermal growth factor receptor and protein CK2 kinase serves as explanation of the proposed mechanism of antitumor activity, and with γ -PPAR, HSD11B1 and DPP4 enzyme – for hypoglycemic activity.

The structural similarity, *in silico* screening and pharmacological studies have identified a new class of compounds with hypoglycemic activity of substances 13 and 14. Compounds 14.4, 14.21 and 13.1 showed high activity in models of dexamethasone diabetes, and in some cases exceeded activity of Metformin and Gliclazide.

It was found, that *N*-aryl(benzyl, heteryl)-2-(tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-5-thio)acetamides (12.34-12.36) were selective against the cell line LOX IMVI of melanoma, while 2-(tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-5-ylthio)-1-(*p*-tolyl)-ethanone (8.2) and carboxylic acids 9.2, 9.3 were selective against the cell line CCRF-SEM of leukemia. To establish the likely mechanism of action, acetamides 12.29, 12.35, 12.36 were tested with protein kinase CK2. Thus, the most active compound was 12.35 with LD₅₀ = 4.9 μ M.

Furthermore, QSAR models of cancer cell lines growth's inhibition were established for RPMI-8226, SR, NCI-H226, NST-15, KM12, OVCAR-3, ACHN and T-47D lines for tetrazolo[1,5-*c*]quinazoline-(6*H*)-5-ones(thiones), which along with

molecular docking results to the enzyme CK2 formed the base for further studies of the antitumor activity mechanisms.

Analyzing the results of pharmacological screening, structure–activity relationship the «lead compounds» were selected. They were suggested for further research and were classified as Class IV by acute toxicity.

Keywords: synthesis, 2-(1*H*-tetrazol-5-yl)anilines, tetrazolo[1,5-*c*]-quinazoline(6*H*)-5-ones(thiones), spectral characteristics, pharmacological studies, protein kinase.

Перелік умовних позначень

АТФ	– аденозинтрифосфат;
ДМСО	– диметилсульфоксид;
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота;
ЕУ	– електронний удар;
ІЧ	– інфрачервоний;
м.ч.	– мільйонна частка;
м/з	– маса/заряд;
ТЕА	– триетиламін;
УФ	– ультрафіолетовий;
ЦНС	– центральна нервова система;
QSAR	– пошук кількісних співвідношень структура-властивість;
SAR	– кореляція будова-активність;
VEGFR	– фактор росту ендотелію судин;
γ -PPAR	– гідроксистероїддегідрогеназа 1-го типу;
CDI	– <i>N,N'</i> -карбонілдіімідазол;
^{13}C ЯМР	– вуглецевий ядерний магнітний резонанс;
^1H ЯМР	– протонний ядерний магнітний резонанс.

Підписано до друку 26.10.2016. Гарнітура Times New Roman
Папір друкарський. Формат 60×90 1/16. Умовн. друк. арк. 1,2.
Наклад – 100 прим. Замовлення № 6995.
Надруковано з оригінал-макету в типографії
Запорізького державного медичного університету
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26

