

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

ЗАВАДА ОКСАНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 615.011:54.057:547.781

**СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА
АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ 2-АМІНО/АМІНОАЛКІЛІМІДАЗОЛІВ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук**

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

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

Науковий керівник: доктор хімічних наук, професор
ЖУРАВЕЛЬ ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри токсикологічної хімії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ДЕМЧЕНКО АНАТОЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ
Інститут фармакології та токсикології НАМН України,
завідувач відділу синтезу фізіологічно активних речовин

доктор фармацевтичних наук, доцент
КАПЛАУШЕНКО АНДРІЙ ГРИГОРОВИЧ
Запорізький державний медичний університет,
завідувач кафедри фізикоїдної хімії

Захист відбудеться «13» травня 2016 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

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

Автореферат розісланий «12» квітня 2016 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В. А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Природні та синтетичні похідні імідазолу – добре відомий клас біологічно активних сполук, які знайшли застосування в фармації та медичній практиці. Значна увага дослідників приділяється розробці методів сполучення в одній молекулі імідазольного та інших фармакофорних фрагментів, вивченню властивостей та можливостей застосування таких речовин. Однак, все ще малодослідженими залишаються структури з нітрогеновмісними аліфатичними замісниками, зокрема аміноалкілімідазоли, які представляють безперечний інтерес, оскільки є унікальними фрагментами, що придатні для використання як структурні блоки в дизайні і низькомолекулярних біорегуляторів, і поліпептидних молекул – інгібіторів патогенних полімераз.

Слід зазначити, що лише окремі публікації присвячено хімії 2-аміноалкілімідазолів, а відомі на сьогодні методики синтезу мають значну обмеженість щодо варіювання замісниками, що значно звужує можливості їх синтетичного використання для потреб комбінаторної хімії.

Зростання уваги до лінійних та конденсованих алкілзаміщених імідазолів вказує на необхідність подальшого розширеного вивчення хімії 2-аміно/аміноалкілімідазолів, вдосконалення існуючих та пошуку нових підходів до синтезу і модифікації зазначених сполук. Значні перспективи також має дослідження фармакологічного потенціалу таких молекул.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Дисертацію виконано згідно з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету за темами «Хімічний синтез і аналіз біологічно активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (№ державної реєстрації 0103U000475, 2010 – 2013 рр.), «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (№ державної реєстрації 0114U000943, 2014 – 2016 рр.), «Молекулярний дизайн і цілеспрямований синтез нових біологічно активних органічних речовин та їх фокусованих комбінаторних бібліотек» (№ державної реєстрації 0114U000944, 2014 – 2015 рр.) та проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України.

Мета і завдання досліджень. Метою дисертаційної роботи є цілеспрямований синтез біологічно активних похідних на основі 2-аміно/аміноалкілімідазолів, визначення будови та фізико-хімічних властивостей одержаних сполук, оцінка потенційної фармакологічної активності та проведення біологічних досліджень синтезованих речовин.

Для досягнення зазначеної мети було поставлено такі завдання:

- оцінити хімічний та фармакологічний потенціал малих молекул, що містять фрагмент аміноалкілімідазолу;
- розробити препаративні методики синтезу 2-(α,β,ω -аміноалкіл)імідазолів;
- дослідити можливість хімічної модифікації 2-(α,β,ω -аміноалкіл)імідазолів та перспективи їх застосування як комбінаторних агентів;

- здійснити дизайн бібліотеки похідних з фрагментом 3-*N*-(алкілімідазоліл-2)-піримідину, провести її віртуальний скринінг, синтезувати найбільш перспективні сполуки;
- здійснити синтез анельованих гетероциклічних систем з фрагментом 2-аміно/аміноалкілімідазолу та дослідити шляхи їх хімічної модифікації;
- дослідити фізико-хімічні властивості одержаних сполук, підтвердити їх структуру та чистоту за допомогою спектральних та хроматографічних методів аналізу;
- провести фармакологічний скринінг синтезованих речовин та встановити для них закономірності зв'язку «хімічна будова – антибактеріальна дія»; визначити сполуку-лідер для подальших фармакологічних випробувань;
- розробити методики контролю якості для біологічно активної речовини з ознаками найбільшої активності.

Об'єкт дослідження. Синтез та дослідження похідних 2-аміноалкілімідазолів, арил/гетариланельованих 3-*N*-(алкілімідазоліл-2)піримідинів, імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину.

Предмет досліджень. Методи синтезу, хімічні, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 2-аміно/аміноалкілімідазолів, арил/гетариланельованих 3-*N*-(алкілімідазоліл-2)піримідинів, імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину. Прогнозування біологічної активності, проведення фармакологічного скринінгу та дослідження закономірностей зв'язку «структура – біологічна дія».

Методи дослідження. Методи органічного синтезу; фізичні та фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопія, УФ- та ІЧ-спектроскопія, ВЕРХ, хроматомас-спектрометрія, елементний аналіз, потенціометричне титрування); вивчення біологічних властивостей з використанням стандартних методик; аналіз одержаних результатів та їх узагальнення проводили за допомогою статистичних методів обробки експериментальних даних, кореляційного та регресійного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено шляхи формування 2-аміноалкільного залишку на основі похідних імідазолу та побудови імідазольного фрагмента на основі амінокарбонільних сполук та амінокислот. Розроблено нову ефективну та універсальну методику синтезу 2-аміноалкілімідазолів із α, β, ω -амінокислот (патент України на винахід №106083).

Вперше отримано ряд біологічно активних сполук, що поєднують в одній молекулі фрагменти хіназоліну, бензофуоро[3,2-*d*]піримідину, тієно[3,2-*d*]піримідину та імідазолу, зокрема 6,7-заміщених 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідрохіназолін-4(1*H*)-онів, 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів і 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідротієно[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів, та досліджено їх поведінку в реакції алкілування.

Оптимізовано методики синтезу похідних імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину, одержано гідровані продукти зазначених сполук. Вперше показано, що каталітичне гідрування похідних імідазо[1,2-*a*]піримідину відбувається з утворенням мінорного продукту часткового гідрування імідазольного фрагмента – не описаного раніше 2,3,5,6,7,8-гексагідроімідазо[1,2-*a*]піримідину.

Визначено фармакологічний профіль синтезованих сполук із залученням методів віртуального скринінгу та сплановано біологічні дослідження синтезованих сполук на наявність протимікробної, фунгіцидної та антигістамінної активності.

Встановлені закономірності зв'язку «хімічна будова – антибактеріальна активність» в ряду анельованих похідних 2-тіоксо-3-*N*-(алкілімідазоліл-2)піримідин-4-онів, зокрема вплив довжини вуглецевого ланцюга між гетероциклами, природи анельованого циклу та замісника в положенні 2, дозволили визначити основні напрямки модифікації структури з метою пошуку молекул направленої дії.

За результатами фармакологічного скринінгу обрано сполуку-лідер для подальших фармакологічних випробувань, досліджено її фізико-хімічні властивості та розроблено методики контролю якості.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено прості і зручні препаративні методики одержання похідних 2-аміноалкілімідазолів, які відкривають нові можливості цілеспрямованого синтезу біологічно активних сполук з конденсованим або ізольованим фрагментом імідазолу. Запатентовано спосіб синтезу 2-(α,β,ω -аміноалкіл)імідазолів на основі амінокислот різноманітної будови. Згенеровано комбінаторну бібліотеку та здійснено синтез низки нових сполук, зокрема 6,7-заміщених 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідрохіназолін-4(1*H*)-онів, 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів та 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідротієно[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів.

Методами віртуального та біологічного скринінгу підтверджено доцільність пошуку протимікробних лікарських засобів в ряду синтезованих сполук. Встановлено кореляції «структура – антибактеріальна активність».

Вдосконалено методики одержання конденсованих гетероциклічних систем з ядром імідазо[1,2-*a*]піридину та імідазо[1,2-*a*]піримідину, досліджено умови каталітичного відновлення синтезованих сполук.

Як перспективний протигрибковий засіб для поглибленого вивчення рекомендовано субстанцію 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину, для якої розроблено методики контролю якості.

Результати досліджень впроваджено в науково-дослідний процес кафедри органічної і біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету; кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; кафедри хімії Харківського національного педагогічного університету імені Г. С. Сковороди; кафедри органічної хімії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна; відділу медичної хімії ДУ «Інститут ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»; кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного університету імені Данила Галицького; модуля «Фармацевт-аналітик» Казахського національного медичного університету ім. С. Д. Асфендіярова, що підтверджено відповідними актами впровадження.

Особистий внесок здобувача полягає у систематизації літературних даних, проведенні експериментальних досліджень, обробці отриманих результатів, формулюванні основних положень і висновків дисертаційної роботи. Постановку завдань та обговорення результатів досліджень виконано разом з науковим керівником д. х. н., проф. І. О. Журавель.

Автор висловлює особливу подяку академіку НАН України, д. фарм. н., д. х. н., проф. В. П. Черних за надання можливості проведення наукових досліджень на сучасному науковому рівні; д. х. н., проф. І. О. Журавель за керівництво напрямком досліджень; к. х. н. О. В. Борисову за обговорення окремих етапів роботи та проведення спектральних досліджень; д. х. н., проф. Н. О. Водолазькій за вивчення кислотно-основних властивостей синтезованих сполук та обговорення результатів; д. фарм. н., проф. Л. В. Яковлєвій, к. мед. н., с. н. с. В. В. Казмірчуку за співпрацю в проведенні біологічних досліджень.

Апробація результатів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи доповідався на Всеукраїнських науково-практичних конференціях студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2010, 2012); VII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 2010); VI Міжнародній конференції «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles» (Харків, 2012); VII та VIII Науково-практичній конференціях з міжнародною участю «Управління якістю в фармації» (Харків, 2013, 2014); дистанційній науково-практичній конференції студентів і молодих вчених «Інновації в медицині і фармації» (Мінськ, 2015); VI Українській конференції «Домбровські хімічні читання – 2015» (Чернівці, 2015).

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи опубліковано у 15 наукових роботах, серед яких 5 статей у наукових фахових виданнях (в тому числі 1 за кордоном), 1 патент України на винахід, 10 тез доповідей на науково-практичних конференціях різного рівня.

Структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, 5 розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію викладено на 221 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту 143 сторінок), ілюстровано 23 таблицями та 26 рисунками. Перелік використаної літератури містить 241 джерел, серед яких 47 кирилицею та 194 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** розкрито актуальність роботи, сформульовано мету та завдання дослідження, відображено наукову новизну, показано практичну цінність одержаних результатів.

Перший розділ (огляд літератури) містить систематизовані дані щодо одержання похідних аміноалкілзаміщених імідазолів, узагальнені відомості стосовно їх реакційної здатності та біологічної активності.

Другий розділ присвячено обґрунтуванню загальної методології роботи та опису методів і об'єктів дослідження.

Синтез 2-аміноалкілімідазолів

В ході виконання дисертаційної роботи досліджено можливість використання різних підходів до синтезу 2-аміноалкілімідазолів та проведено їх порівняльний аналіз.

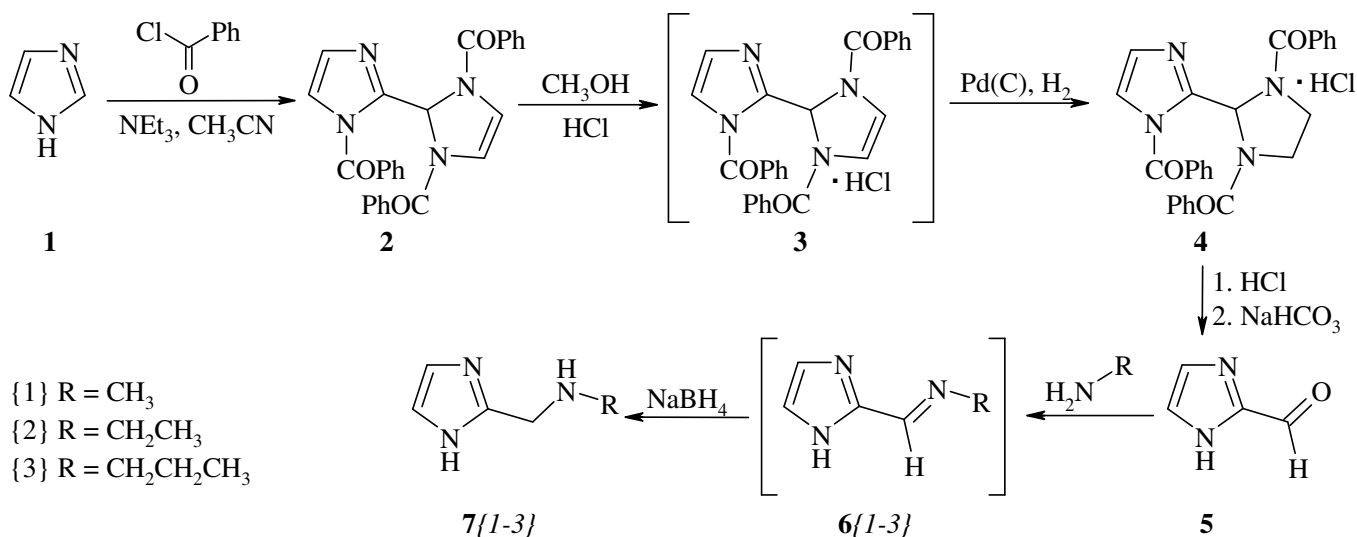
Синтез 2-аміноалкілімідазолів на основі похідних імідазолу

Синтез 2-аміноалкілімідазолів на основі похідних імідазолу здійснювали двома способами на основі відомих методик, які в ході роботи було модифіковано та удосконалено.

Перший з них полягає в постадійному перетворенні N^1 -заміщеного імідазолу за реакціями гідроксиметилування та заміщення гідроксильної групи на 2-хлорометилпохідне, на основі якого далі одержували 2-амінометилімідазол (обробкою амоніаком) та 2-аміноетилімідазол (взаємодією з натрій ціанідом з наступним відновленням).

Більші препаративні можливості побудови 2-(N -заміщених амінометил)імідазолів надає метод з використанням імідазол-2-карбальдегіду **5**, який одержували за реакцією димеризації імідазолу **1** карбеним методом. Реакція перебігає через стадію утворення N^1 -бензоїл-2-(1,3-добензоїл-4-імідазолін-2-іл)імідазолу **2**, який переводили у гідрохлорид **3** та відновлювали. Кип'ятінням сполуки **4** в розчині HCl здійснювали руйнування імідазолідинового циклу та дебензоїлювання за положенням 1 імідазолу. Далі в реакції відновного амінування 2-формілпохідного **5** алкіламінами з високими виходами отримували цільові 2-(N -заміщені амінометил)імідазоли **7{1-3}** (Схема 1).

Схема 1



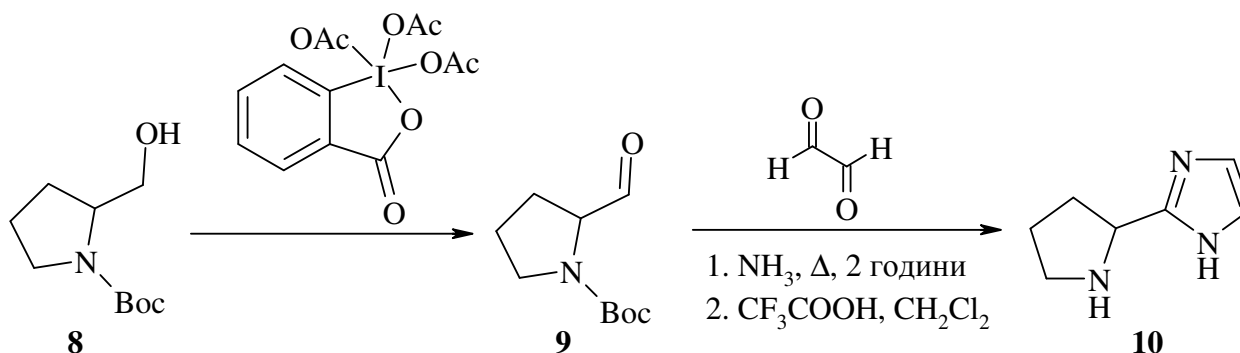
Синтез 2-аміноалкілімідазолів на основі амінокарбонільних сполук

Методи синтезу заміщеного імідазолу, що базуються на взаємодії α -амінокарбонільних сполук з 1,2-дикарбонільними реагентами в присутності амоніаку, дозволяють більше урізноманітнити аміноалкільні замісники в положенні 2 та отримати 4,5-заміщені імідазоли. Оскільки не всі аміноальдегіди є стабільними та комерційно доступними, в зазначених перетвореннях також було використано аміноспирти та ацеталі аміноальдегідів.

Зокрема, ряд 2-заміщених імідазолів було одержано на основі аміноспиртів. Попередньо методику було апробовано на 2-(1-амінопропіл)імідазолі. На першій стадії процесу проводили захист аміногрупи 2-амінобутанолу-1 ди-*трет*-бутилдикарбонатом (Boc_2O) в середовищі хлористого метилену. Окиснення спиртового гідроксилу в молекулі здійснювали за допомогою перйодату Десса–Мартіна.

Найбільш привабливим даний метод виявився для синтезу сполук, що містять циклічну аміногрупу – 2-гетерилімідазолів, зокрема 2-(2-піролідиніл)імідазолу **10** та 2-(2/3-піперидиніл)імідазолів (Схема 2).

Схема 2



Циклізація бутандіону-2,3 з диметилацеталем амінооцтового альдегіду з захищеною аміногрупою відбувається з утворенням 2-амінометил-4,5-диметилімідазолу і не потребує додаткового гідролізу ацетальної групи.

Основні обмеження розглянутого способу накладаються природою вихідних реагентів (стійкість відповідних альдегідів) та високою вартістю як аміноспиртів, так і реагенту Десса–Мартіна.

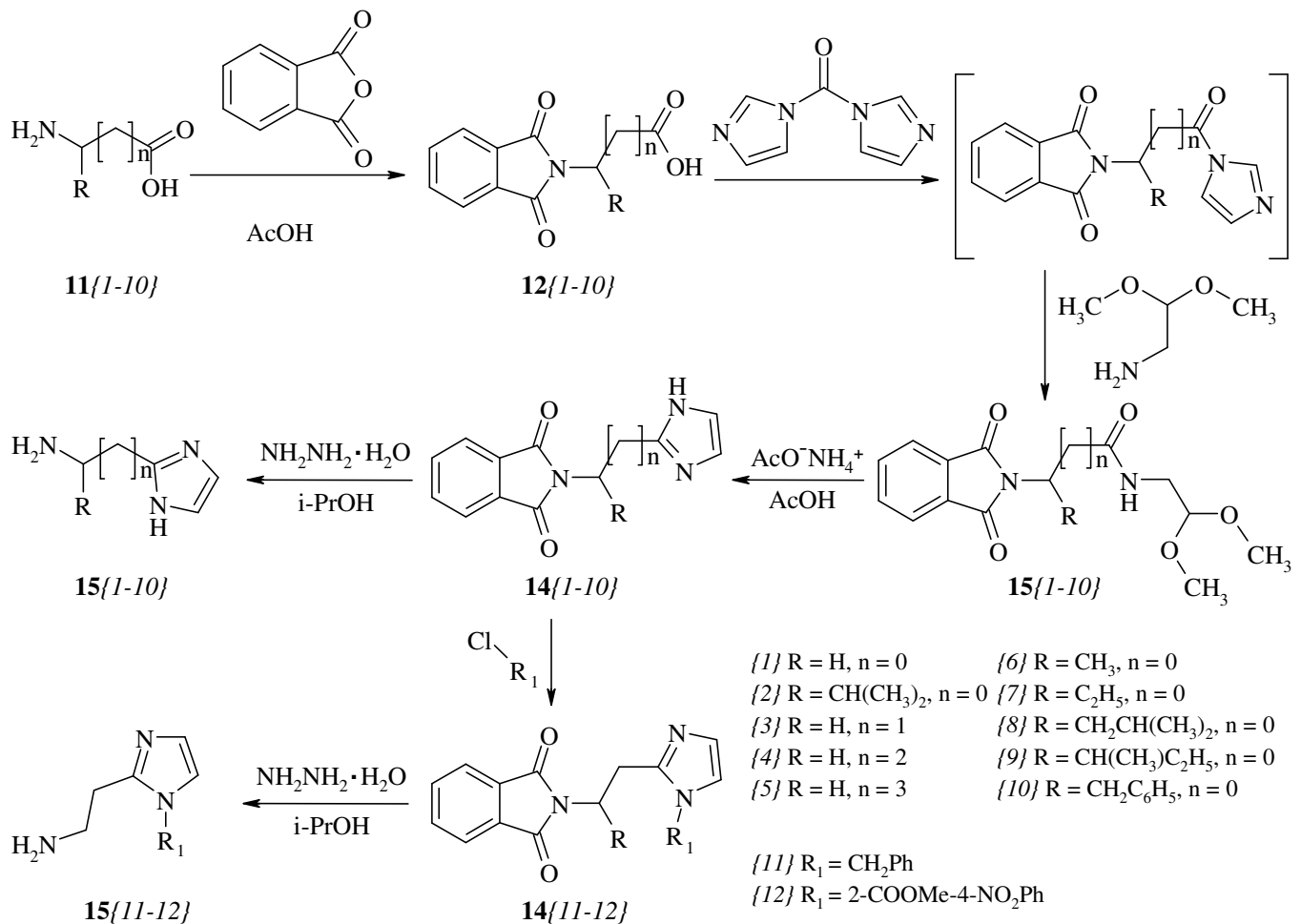
Синтез 2-аміноалкілімідазолів на основі амінокислот

Більш препаративним та придатним для потреб комбінаторної хімії виявився синтез 2-аміноалкілімідазолів на основі амінокислот із захищеною аміногрупою. В літературі описано синтез лише декількох сполук на основі відповідних α -амінокислот.

Нами розроблено нову універсальну методику одержання 2-(α,β,ω -аміноалкіл)імідазолів **15**{1-10}, яка базується на побудові фрагмента імідазолу на основі активованої карбоксильної групи *N*-захисненої амінокислоти будь-якої будови. Подана схема синтезу передбачає формування імідазольного циклу шляхом циклізації 2,2-диметоксиетиламідів відповідних амінокислот **13**{1-10} при їх сплавленні з амоній ацетатом (Схема 3).

Фталімідний захист аміногрупи вихідних амінокислот надає змогу проводити модифікацію молекули по положенню N^1 імідазолу (сполуки **15**{11-12}), ефективно видаляється обробкою гідразин гідратом за стандартною процедурою. Оптимальним шляхом активації карбоксильної групи є реакція з 1,1'-карбонілдіімідазолом.

Застосування зазначеного підходу дозволило значно збільшити число синтетично доступних речовин даного ряду. Цей шлях забезпечує одержання відповідних N^1 -незаміщених або N^1 -алкіл/арил-2-аміноалкілімідазолів з будь-яким вуглецевим ланцюгом достатнього ступеня чистоти.



В ^1H ЯМР-спектрах кінцевих 2-(1-аміноалкіл)-1*H*-імідазолів **15** спостерігаються синглетні сигнали магнітноквівалентних протонів імідазольного фрагмента $\text{CH}=\text{CH}$ (при δ 7.72 – 7.78 м. ч.), уширені синглетні сигнали протонів NH імідазолу в слабких полях (близько δ 14.73 – 14.96 м. ч.) та протонів аміногрупи при δ 9.12 – 9.36 м. ч. В межах δ 0.8 – 4.68 м. ч. реєструються сигнали протонів метильних, метиленових та метинових груп аліфатичних замісників (рис. 1). В ^{13}C ЯМР-спектрі продукту **15**{7} спостерігаються сигнали атомів Карбону при 142.9 м. ч. ($\text{C}-2$ імідазолу) та при 120.4 м. ч. ($\text{C}-4$ і $\text{C}-5$ імідазолу), що підтверджує утворення циклічної системи.

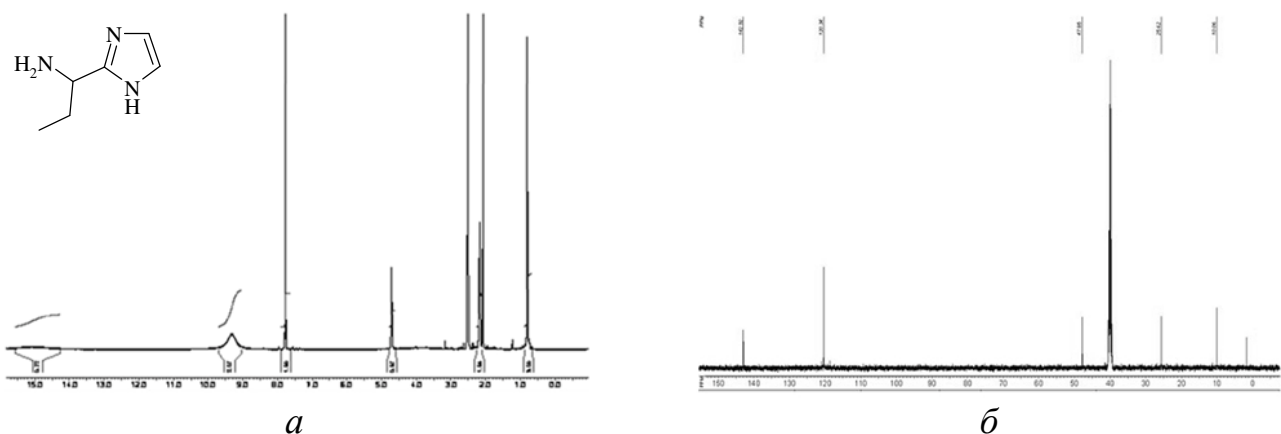


Рис. 1. ^1H ЯМР- (а) і ^{13}C ЯМР-спектри (б) 2-(1-амінопропіл)-1*H*-імідазол дигідрохлориду **15**{7}

**Цілеспрямований синтез біологічно активних сполук,
що містять арил/гетариланельований фрагмент
3-*N*-(алкілімідазоліл-2)піримідину**

Для ефективного проведення цілеспрямованого пошуку нових біологічно активних сполук раціональним є підхід, що ґрунтується на комбінації методів віртуального скринінгу та комбінаторної хімії. Останні, в свою чергу, надають можливість одночасного синтезу сотень сполук на основі однієї базової структури та їх подальшої оптимізації за результатами біологічних скринінгових процедур.

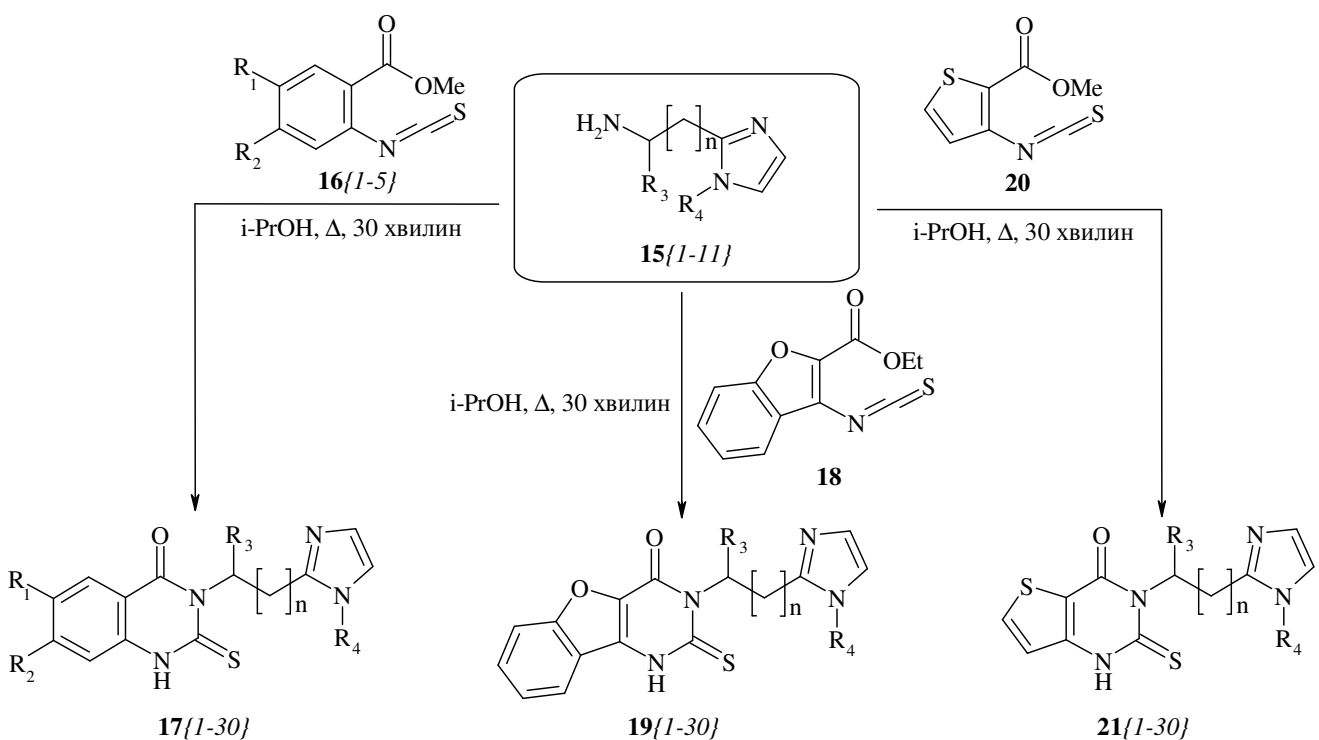
Досліджено можливість побудови комбінаторної бібліотеки потенційних фармацевтичних агентів шляхом поєднання в одній молекулі декількох фармакофорних фрагментів, зокрема хіназоліну, бензофуоро[3,2-*d*]піримідину, тієно[3,2-*d*]піримідину та імідазолу, сполучених алкільним ланцюгом.

Таким чином було згенеровано віртуальну бібліотеку похідних 6,7-заміщених 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідрохіназолін-4(1*H*)-онів, 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів, 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідротієно[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів із 1000 сполук.

Для сформованої віртуальної бібліотеки за допомогою комп'ютерної експертної системи Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) проведено відбір вірогідних структур-кандидатів з протимікробною, протигрибковою, антигістамінною та протисудомною активністю. Застосування даного підходу дозволило обрати систематичні ряди сполук та здійснити синтез нових речовин з прогнозованим фармакологічним профілем.

Для синтезу обраних молекул використано синтетичний потенціал екзоциклічної аміногрупи 2-аміноалкілімідазолів **15**{1-11} – як амінної компоненти в реакції гетероциклізації з *o*-ізотіоціанатоестерами (Схема 4).

Схема 4



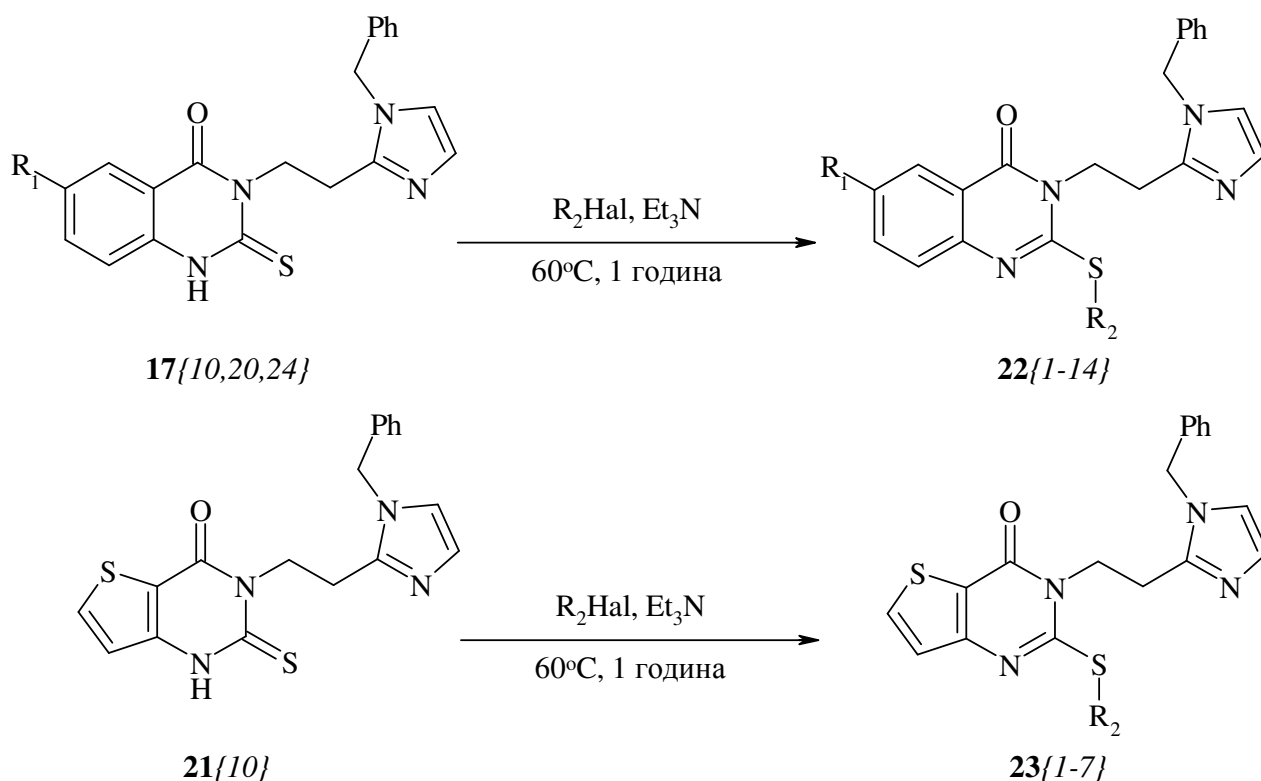
R₁ = H, CH₃, F, Cl; R₂ = H, Cl, COOCH₃; R₃ = H, CH₃, CH(CH₃)₂, CH₂CH(CH₃)₂, CH(CH₃)C₂H₅, CH₂C₆H₅; R₄ = H, Bn; n = 0, 1, 2, 3

Вихідні естери **16**{1-5}, **18**, **20** одержували обробкою метилових естерів 4,5-заміщених 2-амінобензойних кислот, етилового естеру 3-амінобензо[*b*]фуран-2-карбонної кислоти та естеру 3-амінотіофен-2-карбонної кислоти тіофосгеном у двофазній системі хлороформ–вода при кімнатній температурі. Циклізацію здійснювали в лужному середовищі (50% водний розчин KOH).

Кінцеві продукти – 6,7-заміщені 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідрокіназолін-4(1*H*)-они **17**{1-30}, 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-они **19**{1-10} і 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідротієно[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-они **21**{1-10} виділено у формі піримідин-4-тіонів, що підтверджено наявністю в ¹H ЯМР-спектрах сигналу протона *NH* піримідинового циклу у вигляді уширеного синглету при δ 12.90 – 13.88 м. ч.

З метою забезпечення більш широкого різноманіття структур нами проведено реакцію алкілування низки синтезованих сполук метилйодидом, бензилхлоридом, бромацетофеноном, хлороцтовою кислотою та амідами хлороцтової кислоти. Алкілування 6-заміщених 3-[2-(1-бензил-1*H*-імідазол-2-іл)-етил]-2-тіоксо-2,3-дигідрокіназолін-4(1*H*)-онів **17**{10,29,24} та 3-[2-(1-бензил-1*H*-імідазол-2-іл)-етил]-2-тіоксо-2,3-дигідротієно[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-ону **21**{10} здійснювали в безводному ДМФА в присутності триетиламіну при 60°C (Схема 5).

Схема 5



$\text{R}_1 = \text{H, CH}_3, \text{F}$

$\text{R}_2 = \text{CH}_3, \text{CH}_2\text{Ph, CH}_2(2\text{-CH}_3\text{Ph}), \text{CH}_2\text{COOH, CH}_2\text{COPh, CH}_2\text{CO}(4\text{-FPh}), \text{CH}_2\text{CONHR}_3$

$\text{R}_3 = \text{CH}_2\text{Ph, CH}_2(4\text{-ClPh}), 4\text{-C}_2\text{H}_5\text{OPh}$

Для визначення фармакологічного потенціалу синтезованих речовин та встановлення кореляції «структура – мікробіологічна активність» проведено експериментальне вивчення протимікробної та протигрибкової активності 85 синтезованих сполук. Роботу виконано у співпраці з к. мед. н., с. н. с. В. В. Казмірчуком на базі лабораторії протимікробних засобів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова НАМН України». Вивчення протимікробної дії проводили методом двократних серійних розведень у рідкому та твердому поживному середовищах і методом дифузії речовини в агар з використанням стандартних тест-штамів мікроорганізмів. За результатами досліджень встановлено:

- при збільшенні довжини вуглецевого ланцюга до трьох атомів вуглецю між циклами 2-тіоксо-2,3-дигідрокіназолін-4(1*H*)-ону та імідазолу спостерігається посилення протимікробної та протигрибкової дії;
- поєднання в молекулі фрагментів хіназоліну та 2-аміноалкілімідазолу сприяє посиленню активності до *Staphylococcus aureus*;
- наявність в базовій структурі фрагмента бензофуоро[3,2-*d*]піримідину сприяє прояву активності до *Proteus vulgaris*;
- поєднання в молекулі структурного фрагмента тієно[3,2-*d*]піримідину та 2-аміноалкілімідазолу посилює дію сполук щодо *Bacillus anthracoides*;
- алкілування похідних 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідротієно[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-ону та 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідрокіназолін-4(1*H*)-ону амідами хлороцтової кислоти сприяє прояву активності до *Pseudomonas aeruginosa*, а збільшення просторового об'єму замісника посилює цю дію.

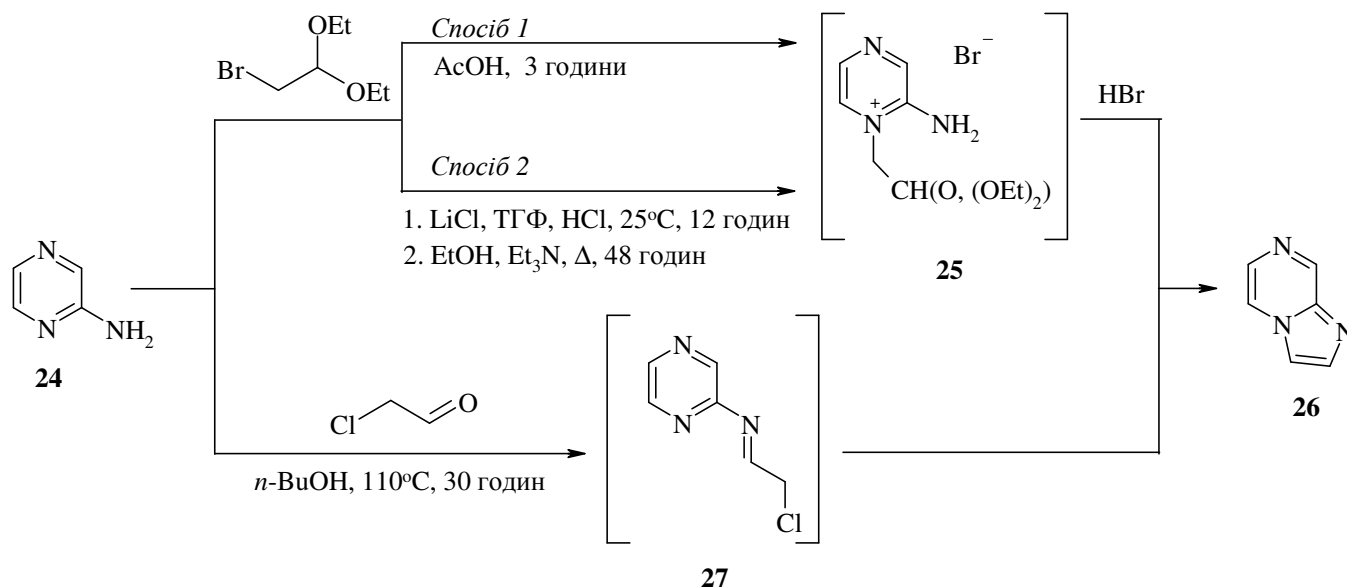
Синтез та дослідження біологічної активності конденсованих гетероциклічних систем з фрагментом 2-аміно/аміноалкілімідазолу

Об'єктами дослідження третьої частини роботи обрано похідні імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину як сполуки, що містять «скритий» фрагмент 2-аміно/аміноалкілімідазолу. Даний розділ досліджень виконано у співпраці з к. х. н. О. В. Борисовим на базі НВП «Єнамін» (Київ, Україна).

Синтез імідазо[1,2-*a*]піразину та його похідних

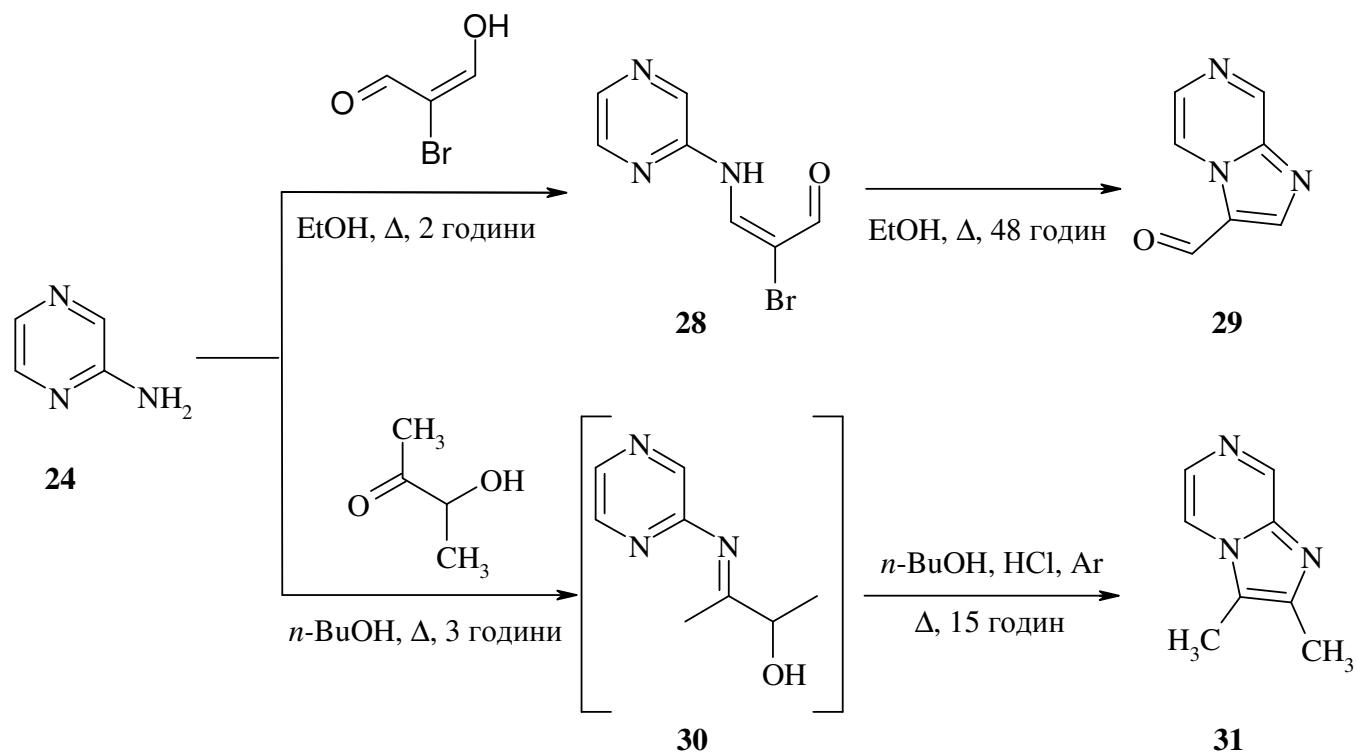
Реалізовано стратегію синтезу похідних імідазо[1,2-*a*]піразину, що ґрунтується на реакції 2-амінопіразину з α -галогенокарбонільними реагентами.

Так, взаємодія 2-амінопіразину **24** з ацеталем бромцтового альдегіду відбувається через стадію утворення четвертинної солі **25**, яка при подальшій обробці концентрованою HBr циклізується на імідазо[1,2-*a*]піразин **26** (спосіб 1, вихід близько 10%). Процес ускладнюється внаслідок руйнування піразинового циклу під дією мінеральної кислоти. Тому найбільш ефективним способом підвищення виходу продуктів реакції, на наш погляд, є активація карбонільної групи шляхом зняття ацетального захисту за допомогою розведеної хлористоводневої кислоти в ТГФ в присутності літій хлориду (спосіб 2). Однак, час перебігу реакції – понад 60 годин – робить її малоприсадною (Схема 6).



Використання хлорацетальдегіду значно спрощує синтез та скорочує час синтезу біциклу **26** до 30 годин. Речовини, одержані зустрічними методами, мають ідентичні аналітичні характеристики.

У разі реакції 2-амінопіразину **24** з бромомалоновим діальдегідом при кип'ятінні в спирті протягом 2 годин нами також був виділений в чистому вигляді і охарактеризований інтермедіат **28**, що підтверджує перебіг реакції з утворенням енамінів як проміжних продуктів. Подальше кип'ятіння реакційної суміші протягом 48 годин веде до замикання циклу і утворення імідазо[1,2-а]піразин-3-карбальдегіду **29**. Наявність в структурі сполуки **29** активної альдегідної групи є сприятливим фактором для подальшої модифікації структури (Схема 7).

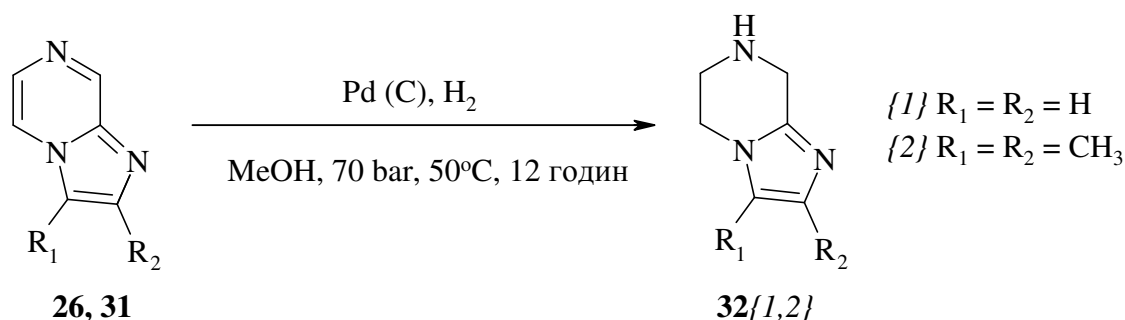


Реакцію 2-амінопіразину **24** з 3-хлоробутаноном здійснити не вдалося, тому було розроблено метод синтезу 2,3-диметилімідазо[1,2-*a*]піразину **31** з використанням відповідного кетоспирту. Циклізація 2-амінопіразину з 3-гідроксибутаноном відбувається в кислому середовищі в атмосфері аргону протягом 15 годин.

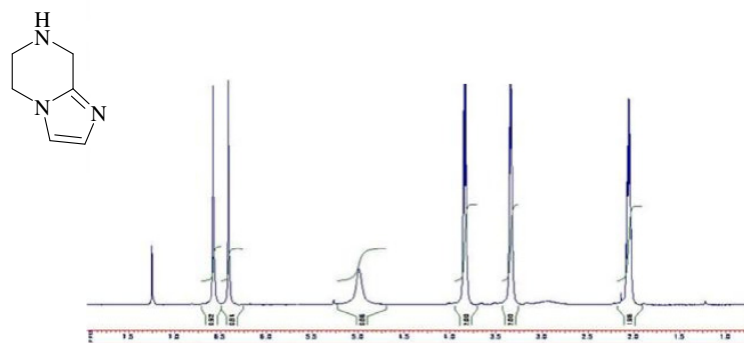
Утворення анельованої імідазо[1,2-*a*]піразинової структури в усіх випадках підтверджено даними елементного аналізу, ^1H і ^{13}C ЯМР-спектроскопії.

При відновленні синтезованих імідазо[1,2-*a*]піразинів **26** і **31** воднем на паладієвому каталізаторі з високими виходами (95 – 98%) одержано відповідні 5,6,7,8-тетрагідропохідні **32** (Схема 8).

Схема 8



Наявність в спектрах ^1H ЯМР гідрованих похідних сигналів аліфатичних протонів в області сильного поля підтверджує структуру відновлених циклів (рис. 2).

Рис. 2. ^1H ЯМР-спектр 5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-*a*]піразину **32{1}**

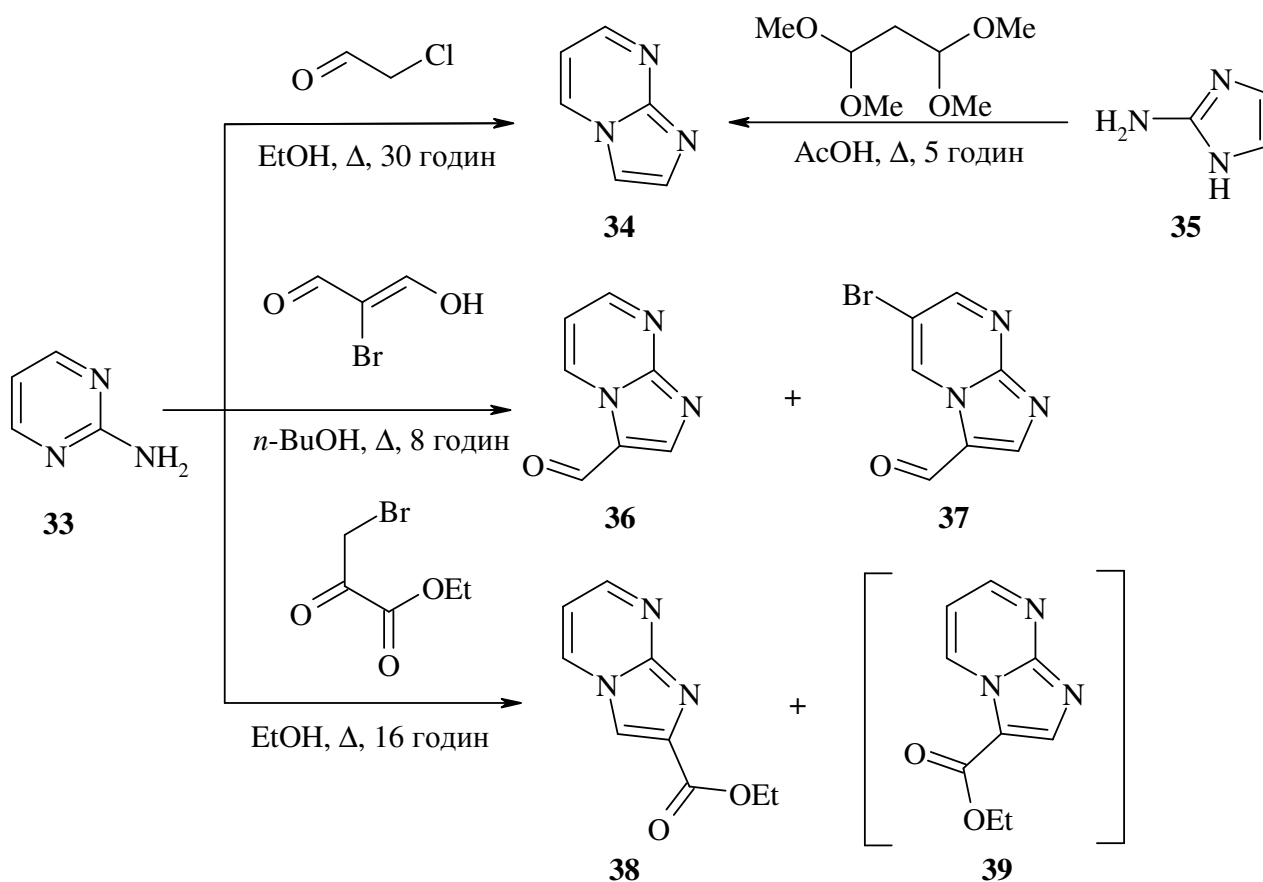
Синтез імідазо[1,2-*a*]піримідину та його похідних

Синтез імідазо[1,2-*a*]піримідину **34** здійснювали двома зустрічними методами: циклізацією 2-амінопіримідину **33** із хлороцтовим альдегідом і реакцією 2-аміноімідазолу **35** з 1,1,3,3-тетраметоксипропаном. Слід зазначити, що другий шлях має ряд переваг, зокрема значне скорочення часу реакції (з 30 до 5 годин), збільшення виходів кінцевих продуктів (до 80 – 85%) і відсутність стадії хроматографічного очищення (Схема 9).

Взаємодія 2-амінопіримідину **33** із бромомалоновим діальдегідом ускладнюється побічними процесами. В результаті як мінорний продукт (близько 2,5%) до основного імідазо[1,2-*a*]піримідин-3-карбальдегіду **36** виділено 6-бромімідазо[1,2-*a*]піримідин-3-карбальдегід **37**, утворення якого можна пояснити бромуючими властивостями бромомалонових похідних.

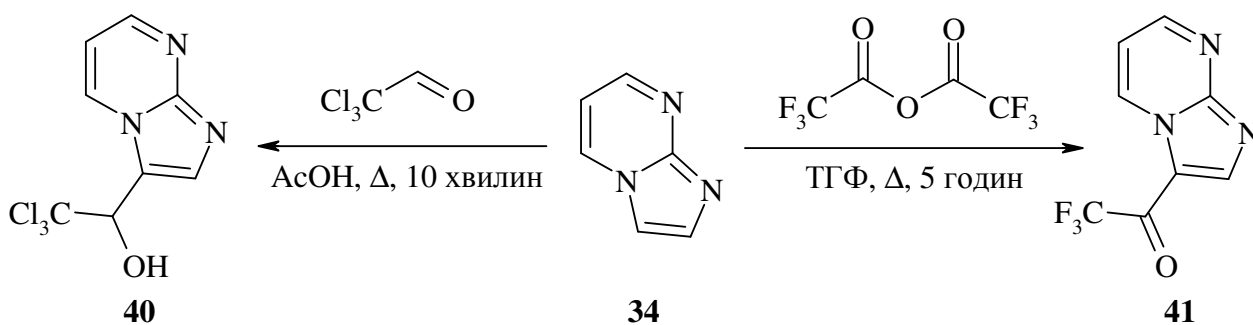
Як результат циклізації 2-амінопіримідину **33** із бромопіровіноградним естером нами одержано суміш ізомерів **38** і **39**, з якої в чистому вигляді виділено 2-карб-етоксиімідазо[1,2-*a*]піримідин **38** (вихід 30%).

Схема 9

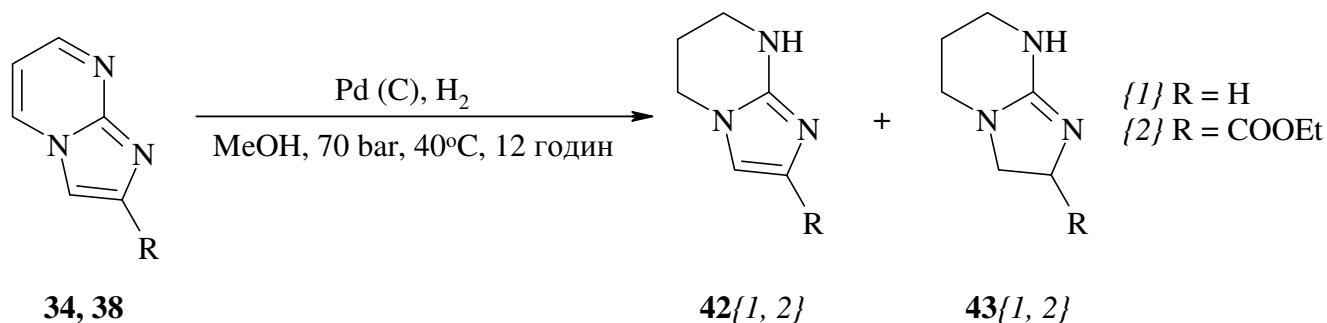


З метою збільшення ліпофільних властивостей кінцевих продуктів нами здійснено реакції імідазо[1,2-*a*]піримідину **34** з трихлороцтовим альдегідом і трифлуороцтовим ангідридом з утворенням 3-(2,2,2-трихлоро-1-гідроксиетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину **40** і 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину **41** відповідно (Схема 10).

Схема 10



Досліджено реакцію каталітичного відновлення імідазо[1,2-*a*]піримідину **34**, яка відбувається з утворенням суміші продуктів – 5,6,7,8-тетрагідропіримідину **42**{1} і не описаного раніше 2,3,5,6,7,8-гексагідропіримідину **43**{1}. Окремо провести відновлення 5,6,7,8-тетрагідропіримідину **42**{1} до гексагідропіримідину **43**{1} нам не вдалося (Схема 11).



Каталітичне відновлення етилового естеру імідазо[1,2-*a*]піримідин-2-карбонової кислоти **38** відбувається аналогічно – продукт реакції **42**{2} було одержано з домішкою гексагідропохідного.

Попередня оцінка фармакологічного потенціалу синтезованих сполук з використанням методів комп'ютерного скринінгу показала, що більшість речовин має високу ймовірність прояву протигрибкової та антигістамінної активності.

Протигрибкову активність вивчали методом двократних серійних розведень в рідкому та твердому поживному середовищах з використанням набору клінічних і референс-штамів грибів роду *Candida*. За результатами експериментальних досліджень для поглибленого вивчення як перспективний протигрибковий засіб рекомендовано субстанцію 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину.

Вивчення антигістамінної активності у тесті «офтальмореакція» на мурчаках підтвердило результати віртуального прогнозу та показало, що обрані сполуки 2,3-диметил-5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-*a*]піразин та 2,3-диметилімідазо[1,2-*a*]піразину проявляють антигістамінну дію, знижуючи виразність реакції на введення гістаміну на 67%.

Вивчення фізико-хімічних властивостей та стандартизація 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину як етап фармацевтичної розробки

На стадії фармацевтичної розробки формулюються алгоритм проведення наукових досліджень, які визначають аналітичне забезпечення якості ЛЗ. Головними компонентами досліджень на цьому етапі є вивчення фізико-хімічних властивостей активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ), які, в першу чергу, впливають на характеристики лікарського засобу, визначають умови його виробництва і застосування, методи контролю якості.

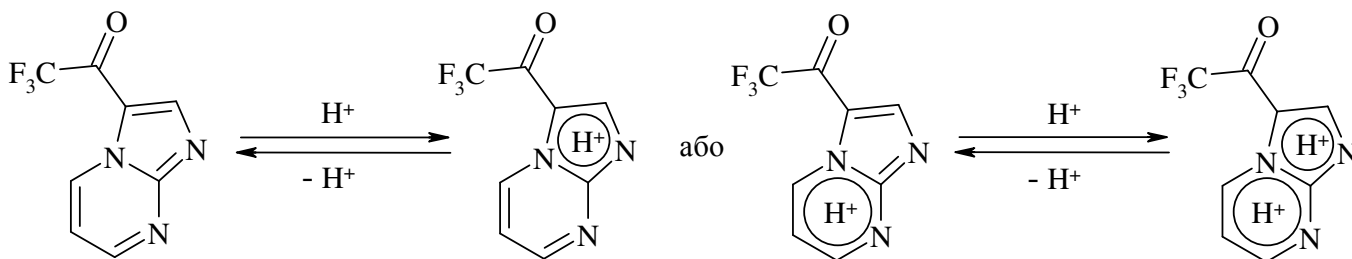
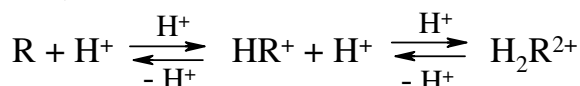
Аналіз результатів біологічного скринінгу синтезованих сполук показав, що найбільш перспективною для поглибленого вивчення як потенційного протигрибкового засобу є субстанція 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину.

Для моделювання кислотно-основних перетворень БАР у біологічних системах широко використовують організовані середовища, найпростішим різновидом яких є міцели, що утворюються в розчинах поверхнево активних речовин (ПАР). Нами досліджено спектральні та кислотно-основні властивості 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину у міцелах ПАР різного типу: аніонній ПАР – натрій *n*-додецилсульфаті, неіонних ПАР – Бридж-35, Кремофор® EL, цвіттерійонній ПАР – цетилдиметиламонійпропансульфонаті; протолітичні перетворення також було вивчено у розчинах, що містять макромолекули циклодекстринів.

Даний фрагмент роботи виконано на базі Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ у співпраці з д. х. н., проф. кафедри фізичної хімії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Н. О. Водолазькою.

Вплив мікрооточення на кислотно-основні властивості речовини проявляється у відмінності значень «уявної» константи кислотно-основної дисоціації pK_a^a , яка є основною характеристикою сполуки в організованих розчинах, від константи кислотно-основної дисоціації у воді pK_a^w ; мірою цієї різниці є ефект середовища $\Delta pK_a^a = pK_a^a - pK_a^w$, який обумовлено як сольватаційною, так і електростатичною складовою.

Вивчення кислотно-основних рівноваг у водних розчинах 3-(трифлуороацетил)-імідазо[1,2-*a*]піримідину показало, що в спектрах поглинання зазначеної речовини в інтервалі кислотності від рН 0 до 12 спостерігаються дві ізобестичні точки, які характеризують дві протолітичні рівноваги. Встановлено, що у лужних водних розчинах в діапазоні рН 7 – 12 спостерігається молекулярна депротонувана форма **R**, при подальшому зменшенні рН середовища з'являється форма **HR⁺**, яка існує в діапазоні рН від 7 до 4, кінцевим продуктом протонування 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину є дикатіон **H₂R²⁺**, який з'являється в сильно кислому середовищі:



При дослідженні впливу кислотності розчинів на спектральні характеристики 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину в міцелярних розчинах та розчинах, що містять циклодекстрини, встановлено, що в області рН від 0 до 12, так само, як і у водних розчинах, мають місце дві рівноваги. У міцелярних розчинах Кремофор® EL спостерігається найбільший ефект середовища (ΔpK_a^a) та сильна диференціююча дія розчинника, що дозволяє рекомендувати його як розчинник для розробки лікарської форми та кількісного визначення методом потенціометричного титрування.

На базі Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ у співпраці з к. фарм. н. С. М. Губарь проведено стандартизацію АФІ у відповідності до європейських правил, концепції «GxP» та національних настанов. З урахуванням вимог загальної монографії Державної фармакопеї України «Субстанції для фармацевтичного застосування» та керуючись даними щодо фізико-хімічних властивостей 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину розроблено методики якісного та кількісного визначення зазначеної субстанції.

До проекту МКЯ ЛЗ пропонується включення таких показників якості як опис, розчинність, ідентифікація, супровідні домішки, втрата в масі при висушуванні, сульфатна зола, залишкові кількості органічних розчинників, мікробіологічна чистота, кількісне визначення. Специфікацію до проекту МКЯ ЛЗ наведено в табл. 1.

**Специфікація до МКЯ ЛЗ на субстанцію
3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-а]піримідину**

Показники	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Аморфний порошок блідо-жовтого кольору	За п. 1 МКЯ Візуально, ДФУ, 5.11
Розчинність	Легко розчинний у диметилсульфоксиді <i>P</i> , триетиламіні <i>P</i> , малорозчинний в метанолі <i>P</i> , етанолі <i>P</i> та у воді <i>P</i>	За п. 2 МКЯ ДФУ, 1.4, 5.11
Ідентифікація	А. УФ-спектр поглинання розчину субстанції в області від 250 до 450 нм повинен мати максимуми 257±2 нм та 318±2 нм.	За п. 3.1 МКЯ ДФУ, 2.2.25
	В. Інфрачервоний спектр субстанції, одержаний в дисках з калію бромідом <i>P</i> , має відповідати ІЧ-спектру, що наведений в МКЯ ЛЗ	За п. 3.2 МКЯ ДФУ, 2.2.24
Супровідні домішки	Площа піку будь-якої домішки не більше 0.2%. Сума площ піків усіх домішок не більше 1.0%. Піки, площа яких становить менше, ніж 0.1 площі піку на хроматограмі розчину порівняння (0.1%), не враховують	За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.2.29, метод ВЕРХ
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 0.5%	За п. 5 МКЯ ДФУ, 2.2.32
Сульфатна зола	Не більше 0.1%	За п. 6 МКЯ ДФУ, 2.4.14.
Залишкові кількості органічних розчинників	2-пропанол: не більше 5000 ppm	За п. 7 МКЯ ДФУ, 2.4.24, 5.4, 2.2.28
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10 ³ КУО/г. Загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС): 10 ² КУО/г	За п. 8 МКЯ ДФУ, 5.1.4, 2.6.12, 2.6.13
Кількісне визначення	Не менше 99.0% і не більше 101.0% (C ₇ H ₄ F ₃ N ₃ O) у перерахунку на суху речовину	За п. 9 МКЯ ДФУ, 2.2.20

Ідентифікацію запропоновано проводити методами абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та інфрачервоній області, визначення залишкових кількостей органічних розчинників – методом газової хроматографії. Для визначення супровідних домішок перевага надана методу високоефективної рідинної хроматографії. Дане випробування контролює присутність домішок синтезу – залишки вихідних речовин (2-амінопіримідин), напівпродуктів (імідазо[1,2-*a*]піримідин) та продуктів розкладання, які виникають внаслідок витримування зразка у стресових умовах.

Через низьку розчинність АФІ у воді для кількісного визначення основної речовини в субстанції запропоновано використовувати метод кислотно-основного титрування у неводних розчинниках. Грунтуючись на попередніх дослідженнях кислотно-основних властивостей 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину як розчинник запропоновано застосовувати розчин Кремофору® EL.

Проведено валідацію методики визначення супровідних домішок у субстанції методом ВЕРХ та методики кількісного визначення методом неводного титрування. Результати експериментальних досліджень показали, що всі валідаційні параметри відповідають необхідним критеріям прийнятності.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі, яка полягає в обґрунтуванні доцільності та перспективності пошуку нових фармацевтичних агентів в ряду похідних на основі 2-аміно/аміноалкілімідазолів. Вдосконалено існуючі та розроблено нові методи одержання низки сполук, що містять анельований чи ізольований фрагмент імідазолу, визначено їх профіль та досліджено фармакологічний потенціал.

1. На основі аналізу даних літератури обґрунтовано вибір структури 2-аміноалкілімідазолу як базової для цілеспрямованого синтезу на її основі низки біологічно активних речовин з прогнозованими антибактеріальними властивостями.
2. Розроблено та модифіковано ряд препаративних методик синтезу 2-аміноалкілімідазолів на основі імідазолу, аміноспиртів та аміноальдегідів, з'ясовано синтетичні межі кожного з них. Запропоновано новий ефективний спосіб одержання 2-(α, β, ω -аміноалкіл)імідазолів на основі амінокислот різноманітної будови шляхом модифікації активованої карбоксильної групи *N*-захисених амінокислот. Експериментально підтверджено його універсальність, економічність та привабливість для потреб комбінаторної хімії.
3. Досліджено можливість використання ряду 2-аміноалкілімідазолів як аміної компоненти в реакції гетероциклізації з *o*-ізотіоціанатоестерами для створення фокусованої бібліотеки структур, що поєднують в одній молекулі фрагменти хіназоліну, бензофуоро[3,2-*d*]піримідину, тіено[3,2-*d*]піримідину та імідазолу, зокрема 6,7-заміщених 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідрохіназолін-4(1*H*)-онів, 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідро[1]бензофуоро[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів і 3-[2-(1*H*-імідазол-2-іл)-алкіл]-2-тіоксо-2,3-дигідротіено[3,2-*d*]піримідин-4(1*H*)-онів, та продуктів їх *S*-алкілування.

4. За результатами мікробіологічного скринінгу синтезованих речовин встановлено закономірності зв'язку «хімічна будова – антибактеріальна дія», які дозволяють цілеспрямовано здійснювати подальшу модифікацію структури з метою пошуку молекул направленої дії.
5. На основі аналізу факторів, що визначають напрямок побудови біциклічних систем, анельованих ядром імідазолу, розроблено і реалізовано нові модифікації синтезу похідних імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину. Знайдено оптимальні умови синтезу низки нових гідрованих похідних імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину. Вперше показано, що каталітичне гідрування похідних імідазо[1,2-*a*]піримідину відбувається з утворенням мінорного продукту часткового гідрування імідазольного фрагмента, в той час як безпосереднє гідрування 5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-*a*]піримідину не приводить до утворення імідазолінового фрагмента.
6. За результатами мікробіологічного тестування для поглибленого вивчення як перспективний протигрибковий засіб рекомендовано субстанцію 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину. Методом спектрофотометрії з потенціометричним контролем рН водної фази вивчено протолітичні перетворення 3-(трифлуороацетил)-імідазо[1,2-*a*]піримідину у воді та організованих розчинах. Розраховано константу дисоціації у водному розчині та «уявні» константи дисоціації у міцелярних розчинах та розчинах, що містять молекули циклодекстрину. Встановлено, що в міцелярних розчинах Кремофор® EL спостерігається найбільший ефект середовища та диференціююча дія розчинника. Це дозволяє рекомендувати його як розчинник у методі кислотного-основного титрування у неводних розчинниках для кількісного визначення основної речовини у субстанції.
7. Запропоновано методи якісного і кількісного визначення субстанції 3-(трифлуороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину, придатні для внесення до МКЯ ЛЗ. Валідаційні параметри методики визначення супровідних домішок у субстанції методом ВЕРХ та методики кількісного визначення методом неводного титрування відповідають необхідним критеріям прийнятності.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyrazine and imidazo[1,2-*a*]pyrimidine derivatives / A. V. Borisov, A. A. Tolmachev, O. A. Zavada, I. A. Zhuravel', S. N. Kovalenko // Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 2013. – V. 49, №5. – P. 704 – 711. (*Особистий внесок здобувача – проведення синтетичних досліджень, аналіз одержаних результатів, підготовка статті*).
2. Пошук речовин з антигістамінною активністю в ряду похідних імідазо[1,2-*a*]піразину / О. О. Завада, О. Ю. Кошева, І. О. Журавель, Л. В. Яковлева // Укр. журн. клініч. та лаборатор. медицини. – 2012. – Т. 7, №4. – С. 204 – 207. (*Особистий внесок здобувача – виконання синтетичної частини роботи, узагальнення результатів*).

3. Структурна модифікація амінокислот: синтез 2-(α,β,ω -аміноалкіл)імідазолів / О. В. Борисов, О. О. Завада, І. О. Журавель, С. М. Коваленко // Журн. орган. та фармац. хімії. – 2013. – Т. 11, вип. 1 (41). – С. 66 – 69. (*Особистий внесок здобувача – аналіз літератури, синтез 2-(α,β,ω -аміноалкіл)імідазолів, підготовка статті до друку*).
4. Розробка та валідація методики визначення супровідних домішок у субстанції 3-(трифлюороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину на стадії фармацевтичної розробки лікарського препарату / О. О. Завада, В. І. Гусаров, С. М. Губарь, І. О. Журавель, С. М. Коваленко // Упр., економіка та забезп. якості в фармації. – 2013. – №5 (31). – С. 4 – 8. (*Особистий внесок здобувача – розробка схеми проведення та виконання експерименту, підготовка статті до друку*).
5. Синтез та вивчення похідних імідазо[1,2-*a*]піримідину як потенційних протигрибкових засобів / О. О. Завада, О. В. Борисов, О. М. Щербак, І. О. Журавель, С. М. Коваленко // Укр. біофармац. журн. – 2013. – №5 (28). – С. 50 – 54. (*Особистий внесок здобувача – аналіз фахової літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація спектральних даних, підготовка тексту статті*).
6. Патент на винахід 106083 Україна, МПК C07D233/54 (2006.01), C07D233/64 (2006.01). Спосіб одержання заміщених 2-(α,β,ω -аміноалкіл)імідазолів / Коваленко С. М., Журавель І. О., Борисов О. В., Завада О. О. – № а 2012 02260; заявл. 27. 02. 2012; опубл. 25. 07. 2014, Бюл. №14. – 8 с. (*Особистий внесок здобувача – узагальнення літературних даних щодо синтезу цільових сполук, здійснення хімічного експерименту, участь у підготовці тексту патенту*).
7. Синтез анельованих похідних піримідину, які містять гістаміновий та ізогістаміновий фрагменти / О. О. Завада, О. В. Ткаченко, О. В. Борисов, І. О. Журавель, С. М. Коваленко // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали всеукр. наук.-практ. конф. студ. та молодих вчен., 21 – 22 квіт. 2010 р., Харків. – Х.: Вид-во НФаУ, 2010. – С. 11.
8. Синтез біологічно активних сполук, що містять цикл імідазолу / О. О. Завада, О. В. Заремба, О. В. Борисов, І. О. Журавель, С. М. Коваленко // Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України, 15 – 17 верес. 2010 р., Харків. – Х., 2010. – Т. 1. – С. 46.
9. Синтез гідрованих похідних імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину / О. О. Завада, О. В. Борисов, І. О. Журавель, С. М. Коваленко // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та молодих вчен., 19 – 20 квіт. 2012 р., Харків. – Х.: Вид-во НФаУ, 2012. – Т. 1. – С. 16.
10. Synthesis of Imidazo[1,2-*a*]pyrazin and Imidazo[1,2-*a*]pyrimidine Derivatives / A. V. Borisov, A. A. Tolmachev, T. O. Borisova, O. A. Zavada, I. A. Zhuravel', S. N. Kovalenko // Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles (CNCH-2012): Book of Abstracts. – Kharkiv: Ekskluziv Publ., 2012. – P. P-9.
11. Дослідження солюбілізації важкорозчинних у воді лікарських речовин азольного ряду в мицелярних розчинах ПАР / О. О. Завада, О. Г. Фетісова, Л. М. Андрюкова, С. М. Коваленко, І. О. Журавель // Управління якістю в фармації: матеріали VII Наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 17 трав. 2013 р., Харків. – Х., 2013. – С. 60.

12. Кисотно-основні властивості 3-(трифлюороацетил)імідазо[1,2-*a*]-піримідину в розчинах, що містять різні циклодекстрини / О. О. Завада, Н. О. Водолазька, І. О. Журавель, С. М. Коваленко // Управління якістю в фармації: матеріали VIII Наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23 трав. 2014 р., Харків. – Х., 2014. – С. 44 – 45.
13. Завада, О. О. Цілеспрямований синтез конденсованих гетероциклічних систем, що містять фрагмент 3-(2-алкілімідазоліл)піримідину – перший етап фармацевтичної розробки протигрибкового лікарського засобу / О. О. Завада, В. В. Казмірчук, І. О. Журавель // Управління якістю в фармації: матеріали IX Наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 22 трав. 2015 р., Харків. – Х., 2015. – С. 45 – 46.
14. Завада, О. О. Визначення константи дисоціації 3-(трифлюороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину у суміші вода–етанол / О. О. Завада, Н. О. Водолазька, І. О. Журавель // Управління якістю в фармації: матеріали IX Наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 22 трав. 2015 р., Харків. – Х., 2015. – С. 47.
15. Завада, О. О. Синтез похідних N^3 -(алкіл-2-імідазоліл)тієно[3,2-*d*]піримідину / О. О. Завада, О. В. Борисов, І. О. Журавель // Домбровські хімічні читання – 2015: матеріали VI Укр. конф., 22 – 25 верес. 2015 р., Чернівці. – Чернівці, 2015. – С. 68.
16. Завада, О. А. Изучение противогрибкового действия производных имидазо[1,2-*a*]пиразина и имидазо[1,2-*a*]пиримидина / О. А. Завада, И. А. Журавель, В. В. Казмирчук // Инновации в медицине и фармации 2015: материалы дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. – Минск: БГМУ, 2015. – С. 861 – 863.

АНОТАЦІЯ

Завада О. О. Синтез, фізико-хімічні властивості та біологічна активність похідних 2-аміно/аміноалкілімідазолів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

У дисертаційній роботі досліджено шляхи одержання 2-аміноалкілімідазолів на основі похідних імідазолу, амінокарбонільних сполук та амінокислот. Запропоновано та запатентовано нову препаративну методику синтезу 2-аміноалкілімідазолів на основі α, β, ω -амінокислот. Розроблено підходи до побудови комбінаторної бібліотеки поліядерних сполук, що поєднують фрагменти хіназоліну, бензофуоро[3,2-*d*]піримідину, тієно[3,2-*d*]піримідину та імідазолу. Вдосконалено методики синтезу анельованих гетероциклічних систем імідазо[1,2-*a*]піразину та імідазо[1,2-*a*]піримідину; досліджено реакції їх каталітичного відновлення.

Проведено експериментальні дослідження біологічної активності, які підтвердили високий фармакологічний потенціал синтезованих сполук. Для поглибленого вивчення – як потенційний протигрибковий засіб – запропоновано субстанцію 3-(трифлюороацетил)імідазо[1,2-*a*]піримідину, для якої розроблено проект методів контролю якості.

Ключові слова: 2-аміноалкілімідазоли, імідазо[1,2-*a*]піразин, імідазо[1,2-*a*]піримідин, синтез, біологічна активність.

АННОТАЦИЯ

Завада О. А. Синтез, физико-химические свойства и биологическая активность производных 2-амино/аминоалкилимидазолов. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2016.

Диссертация посвящена синтезу 2-аминоалкилимидазолов и гетероциклических производных на их основе, изучению их физико-химических свойств и оценке фармакологического потенциала. В работе сделан акцент на поиск простых и удобных подходов, позволяющих эффективно осуществлять целенаправленный синтез биологически активных соединений, содержащих в своей структуре аннелированный или изолированный фрагмент имидазола.

Проведен сравнительный анализ различных способов получения 2-аминоалкилимидазолов – на основе производных имидазола, аминоспиртов и аминокальдегидов. Изучены возможности и ограничения каждого метода, оптимизированы методики синтеза.

Установлено, что наиболее препаративным является синтез 2-аминоалкилимидазолов на основе аминокислот различного строения. Развивая данное синтетическое направление, разработана новая эффективная и универсальная методика синтеза 2-аминоалкилимидазолов на основе широкого ряда аминокислот с защищенной аминогруппой. Использование фталимидной защиты дает возможность избирательно модифицировать положение 1 имидазола. Предложенный подход значительно ускорил реакцию, удешевил и увеличил число синтетически доступных веществ данного ряда, позволяя получать соответствующие N^1 -незамещенные или N^1 -алкил/арил-2-аминоалкилимидазолы практически с любой углеродной цепью, что имеет неоспоримое практическое значение для решения задач комбинаторной химии.

Впервые химический потенциал 2-аминоалкилимидазолов использован для конструирования комбинаторной библиотеки структур, содержащих несколько фармакофорных групп, в частности, конденсированный пиримидиновый и имидазольный фрагменты, которые соединены алкильной цепью. Осуществлен дизайн виртуальной библиотеки из 1000 соединений, молекулы которых содержат структурные фрагменты хиназолина, бензофуоро[3,2-*d*]пиримидина, тиено[3,2-*d*]пиримидина и имидазола, для которой с помощью компьютерной экспертной системы PASS проведен отбор структур-кандидатов с противомикробным, противогрибковым, антигистаминным и противосудорожным действием.

Осуществлен синтез систематических рядов 6,7-замещенных 3-[2-(1*H*-имидазол-2-ил)-алкил]-2-тиоксо-2,3-дигидрохиназолин-4(1*H*)-онов, 3-[2-(1*H*-имидазол-2-ил)-алкил]-2-тиоксо-2,3-дигидро[1]бензофуоро-[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов, 3-[2-(1*H*-имидазол-2-ил)-алкил]-2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов с прогнозируемой активностью. Проведенный микробиологический скрининг синтезированных соединений с использованием стандартных тест-штаммов микроорганизмов показал, что подавляющее большинство тестируемых веществ проявляют высокую

противомикробную активность. Полученные экспериментальные данные позволили установить некоторые элементы взаимосвязи «структура – микробиологическая активность».

В работе реализованы новые модификации синтеза производных имидазо[1,2-*a*]пиразина и имидазо[1,2-*a*]пиримидина. Найдены оптимальные условия синтеза ряда новых гидрированных производных на их основе. Впервые показано, что восстановление производных имидазо[1,2-*a*]пиримидина протекает с образованием 5,6,7,8-тетрагидроимидазо[1,2-*a*]пиримидина и минорного продукта частичного гидрирования имидазольного фрагмента на уровне 12 – 15%, в то время как непосредственное восстановление тетрагидропроизводного не приводит к гексагидрированному продукту.

Структура синтезированных соединений подтверждена спектральными данными, элементным анализом, а их индивидуальность – методами тонкослойной и жидкостной хроматографии.

Методами виртуального скрининга с помощью программы PASS определены основные направления биологических исследований синтезированных соединений. По результатам скрининговых испытаний как перспективное противогрибковое средство рекомендована субстанция 3-(трифторацетил)имидазо[1,2-*a*]пиримидина. Изучены протолитические превращения 3-(трифторацетил)имидазо[1,2-*a*]пиримидина в воде и организованных растворах, таких как мицеллярные растворы поверхностно активных веществ и растворы, содержащие молекулы циклодекстринов. Показано, что во всех исследуемых системах существуют два равновесия: $R + H^+ \leftrightarrow HR^+ + H^+ \leftrightarrow H_2R^{2+}$.

Разработан проект методов контроля качества на субстанцию 3-(трифторацетил)имидазо[1,2-*a*]пиримидина исходя из требований Государственной фармакопеи Украины. В проект внесены такие показатели качества как «Описание», «Растворимость», «Идентификация», «Сопутствующие примеси», «Потеря в массе при высушивании», «Сульфатная зола», «Остаточные количества органических растворителей», «Микробиологическая чистота», «Количественное определение». Для идентификации субстанции предложено использовать методы абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и инфракрасной области спектра. Проведена разработка и валидация методики определения сопутствующих примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии; для определения остаточных количеств органических растворителей выбран метод газовой хроматографии.

Вследствие плохой растворимости 3-(трифторацетил)имидазо[1,2-*a*]пиримидина в воде количественное определение основного вещества в субстанции предложено проводить методом кислотно-основного титрования в неводных растворителях. По результатам изучения кислотно-основных свойств субстанции в качестве растворителя предложено использовать раствор Кремофор® EL. Проведена валидация методики количественного определения.

Ключевые слова: 2-аминоалкилимидазолы, имидазо[1,2-*a*]пиразин, имидазо[1,2-*a*]пиримидин, синтез, биологическая активность.

SUMMARY

Zavada O. O. Synthesis, physical and chemical properties and biological activity of 2-amino/aminolkylimidazoles derivatives. – A manuscript.

Thesis for a Candidate of Pharmaceutical Science degree on the speciality 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Ministry of Public Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The ways of preparation of 2-aminoalkylimidazoles on the basis of imidazole derivatives, aminocarbonyl compounds and amino acids have been investigated in the thesis. The new preparative procedure of synthesis of 2-aminoalkylimidazoles on the basis of α,β,ω -amino acids has been offered. The approaches to construction of combinatoric library of compounds combined the fragments of quinazoline, benzofuro[3,2-*d*]pyrimidine, thieno[3,2-*d*]pyrimidine and imidazole have been developed. The synthesis procedures for annelated heterocyclic systems of imidazo[1,2-*a*]pyrazine and imidazo[1,2-*a*]pyrimidine have been improved; the reactions of their catalytic reduction have been investigated.

Experimental researches of biological activity have been carried out; it has been confirmed the high pharmacological potential of the synthesized compounds. The substance of 3-(trifluoroacetyl)imidazo[1,2-*a*]pyrimidine has been offered for advanced study as a potential antifungal medicine; the draft methods of quality control for the substance have been developed.

Key words: 2-aminoalkylimidazoles, imidazo[1,2-*a*]pyrazine, imidazo[1,2-*a*]pyrimidine, synthesis, biological action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ	– активний фармацевтичний інгредієнт;
БАР	– біологічно активна речовина;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ДУ	– державна установа;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
ІЧ	– інфрачервоний;
КУО	– колонієутворювальна одиниця;
ЛЗ	– лікарський засіб;
МКЯ	– методи контролю якості;
МОЗ	– Міністерство охорони здоров'я;
НАМН	– Національна академія медичних наук;
НАН	– Національна академія наук;
НВП	– науково-виробниче підприємство;
НФаУ	– Національний фармацевтичний університет;
ПАР	– поверхнево-активна речовина;
ТГФ	– тетрагідрофуран;
УФ	– ультрафіолетовий;
ЯМР	– ядерний магнітний резонанс;
PASS	– Prediction Activity Spectra for Substances.