МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ГОЛІК МИКОЛА ЮРІЙОВИЧ

УДК: 615.254.1:66.095.83:54.062

СТВОРЕННЯ НОВИХ ДІУРЕТИКІВ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ ХІНОЛОНУ-2

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора фармацевтичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України

Науковий консультант: доктор хімічних наук, професор
УКРАЇНЕЦЬ ІГОР ВАСИЛЬОВИЧ
Національний фармацевтичний університет

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
ЖУРАВЕЛЬ ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА
Харківська медична академія післядипломної освіти, завідувачка кафедри клінічної біохімії, судово-медичної токсикології та фармації

доктор фармацевтичних наук, професор
ДЕМЧЕНКО АНАТОЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ
Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя, професор кафедри хімії та фармації

доктор фармацевтичних наук, професор
КАПЛАУШЕНКО АНДРІЙ ГРИГОРОВИЧ
Запорізький державний медичний університет
завідувач кафедри фізколоїдної хімії

Захист відбудеться «5» травня 2021 року о 10^{00} годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

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

Автореферат розіслано «2» квітня 2021 року.

В.о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради,
професор О. А. Рубан

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Сьогодні створення лікарських сполук є довгий, копіткий та еволюційний процес. Після визначення структури-лідера починається другий етап – її оптимізація. Хімічну модифікацію структури-лідера здійснюють за стратегіями, розробленими в класичних методиках. Цей процес повторюють доти, поки речовина не буде задовольняти всім критеріям, які висувають до кандидата на лікарську сполуку. Оптимізація структури-лідера дозволяє вибрати найкращий варіант з фізико-хімічними властивостями, що відповідають фармацевтичному препарату, та усунути наявні недоліки.

Наразі світовий фармацевтичний ринок з певних причин відчуває дефіцит нових високоактивних та безпечних синтетичних структур-лідерів, проте патентні бази різних країн дають можливість створювати сполуки-клони перспективних біологічно активних речовин (БАР). І цілком зрозуміло, що досить часто конкуренти намагаються використовувати відкриту інформацію для розроблення інноваційних лікарських засобів, застосовуючи різні підходи до хімічної модифікації, на якій будується стратегія фармацевтичної індустрії. Боротьба з такими «псевдоінноваціями» становить значну частину захисту авторських прав у фармацевтичній галузі.

Необхідно також зазначити, що діуретичні препарати міцно посідають провідне місце в лікуванні артеріальної гіпертензії та хронічної серцевої недостатності, що вважають одними з основних питань сучасної медицини. Не постаючи безпосередньо антигіпертензивними препаратами, діуретики сприяють виведенню з організму великої кількості рідини, знижуючи в такий спосіб артеріальний тиск до фізіологічної норми. Варто зауважити, що за останні 40 років на світовому фармацевтичному ринку не з’явилось жодного нового діуретика.

З огляду на вищезазначене можна зробити висновок, що розробка різних методів хімічної модифікації структури-лідера є актуальною темою для фармації та, крім створення нових перспективних сполук, дозволяє захистити інтелектуальну власність розробників.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційну роботу виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету за темою «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (номер державної реєстрації НДР: 0114U000943) та проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України (протокол №101 від 18.01.2017 р.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є цілеспрямований синтез нових сполук з використанням різних методик хімічної модифікації зі сполуками-лідерами: 6-гідрокси-N-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло-[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду під умовною назвою «Хімопірон» та 6-гідрокси-N-(4-метоксибензил)-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-

карбоксаміду, які було розроблено в Національному фармацевтичному університеті, а також виявлення діуретичної дії вперше синтезованих сполук для створення на їх основі потенційних лікарських препаратів.

Для досягнення визначеної мети необхідно було розв'язати такі завдання:

– проаналізувати особливості використання N,N'-дициклогексилкарбодіміду в синтезі етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот;

– розробити й адаптувати під промислове виробництво варіант синтезу етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот, використовуючи безпечні для навколишнього середовища напівпродукти і розчинники;

– опрацювати методики синтезу функційних похідних 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот з використанням доступних реагентів;

– запропонувати методики синтезу бензил- та арилалкіламідів 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін- та 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонових кислот з метою модифікаціїї молекул структур-лідерів;

– дослідити реакцію бромування естеру 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти;

– залучити, керуючись принципами технології «me-too», до кола досліджень із пошуку нових діуретиків напівпродукти, молекули яких містять структурні фармакофорні фрагменти, що входять до складу відомих препаратів (гідрохлортіазид, індапамід) – 2-метиліндолін, сульфамідну групу, атом хлору;

– визначити структуру, вивчити фізико-хімічні властивості синтезованих сполук;

– провести фармакологічний скринінг одержаних похідних 2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот та виявити можливі закономірності зв'язку «структура – активність» у ряду синтезованих речовин, визначити молекулярні фрагменти, які забезпечують діуретичну активність одержаних сполук, провести SAR- та QSAR-аналізи;

– обрати за результатами поглибленого фармакологічного тестування найбільш перспективну сполуку-лідер для доклінічних досліджень;

– розробити на основі проведених досліджень проєкт аналітичної документації МКЯ на перспективну субстанцію.

Об'єкт дослідження – цілеспрямований синтез біологічно активних речовин у ряду похідних 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот та їх структурних аналогів, вивчення фізико-хімічних, структурних та діуретичних властивостей.

Предмет дослідження – способи та методи хімічної модифікації структур-лідерів, фізико-хімічні та діуретичні властивості одержаних сполук; особливості закономірності «хімічна структура – діуретична дія».

Методи дослідження – органічний синтез, хімічні, фізичні та фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (визначення температури плавлення, елементний аналіз, хроматографія в тонкому шарі сорбенту (ТШХ), спектроскопія ІЧ-, УФ-, ЯМР ^{1}Н та ^{13}С, мас- і хромато-мас-спектрометрія, рентгеноструктурний аналіз, поляриметрія). Методи дослідження діуретичної активності з використанням стандартних методик, аналіз одержаних результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Створено науково обґрунтований комплексний підхід до синтезу нових біологічно активних сполук хінолонового ряду, при цьому одержано 224 нові сполуки.

Проаналізовано особливості використання N,N'-дициклогексилкарбодіміду в синтезі етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот.

Здійснено синтез серії 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін- та 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбоксамідів.

Уперше запроновано варіант проведення синтезу етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот, який адаптовано під промислове виробництво.

Розроблено модифіковані методики синтезу арил- та алкіламідів 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]-хінолін-6-карбонової кислоти.

Уперше проведено реакцію бромування етилового естеру 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти, запропоновано ймовірний механізм реакції.

Уперше, відповідно до принципів технології «me-too», запропоновано препаративний спосіб одержання та здійснено синтез серії нових похідних 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти.

Оптимізовано умови синтезу N-(арилалкіл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-ij]хінолін-5-карбоксамідів.

Уперше вивчено оптичну активність хіральних 1-фенілетиламідів 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти.

Уперше вивчено вплив електронної природи замісника в анілідному фрагменті аміну під час одержання N-арил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів, визначено оптимальні умови синтезу.

Уперше виявлено структурні та біологічні закономірності, загальні для більшості вивчених речовин: відсутність діуретичної активності в сполуках із

відкритими алкільними ланцюгами в амідних фрагментах, посилення сечогінних властивостей в окремих циклічних похідних.

Уперше з'ясовано, що розширення анельованого з ядром хінолону циклу на один додатковий метиленовий ланцюжок викликає конформаційну перебудову базової піридохінолонової молекули, що змінює і діуретичні властивості.

Уперше на основі фармакологічних випробувань доведено, що метильна група в положенні 2 піроло[3,2,1-*ij*]хінолінового ядра призводить до збільшення діуретичної дії.

Уперше доведено, що за бромування в положенні 9 піридохінолонового ядра діуретичні властивості 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбоксанілідів значно зростають проти небромованих аналогів, що дає новий напрям у синтезі БАР.

Уперше виявлено сполуки з високою діуретичною активністю, які є перспективними для подальших поглиблених фармакологічних досліджень; одну з них – N-бензил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамід – рекомендовано як нову оригінальну структуру-лідер.

Для підтвердження хімічної структури та вивчення просторової будови синтезованих сполук використано елементний аналіз, ЯМР-спектроскопію (^{1}H та ^{13}C), мас-спектроскопію.

Наукову новизну одержаних результатів підтверджено 3 патентами України на винахід.

Практичне значення отриманих результатів. Результати, одержані під час виконання роботи, є підґрунтям для подальших науково-дослідних робіт зі створення нових синтетичних лікарських засобів і для навчального процесу закладів вищої освіти.

Розроблені практичні рекомендації дозволяють легко позбутися специфічних домішок під час використання N,N'-дициклогексилкарбодіміду в синтезі етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот.

За принципами «зеленої хімії» запропоновано адаптований для промислового виробництва варіант синтезу етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот на основі N-заміщених анілінів та триетилметантрикарбоксилату. Експериментально доведено, що причиною забруднення цільових продуктів специфічними домішками відповідних 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онів є присутня в реагентах вода.

Теоретичний здобуток із виявлення закономірностей зв'язку «хімічна структура–діуретична активність» синтезованих сполук має практичне значення для виробництва нових ефективних синтетичних лікарських засобів із заданою фармакологічною активністю.

Спосіб синтезу етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот апробовано в умовах промислового підприємства ТДВ «ІНХІМФАРМТЕХ».

Результати експериментальної роботи впроваджено в науково-дослідну та навчальну роботу кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету, кафедри медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Співавторами наукових праць є науковий консультант та науковці, які брали участь у вивченні фізико-хімічних та біологічних властивостей досліджуваних речовин.

Автором особисто проведено аналіз та здійснено систематизацію даних наукових першоджерел за темою дисертаційної роботи, визначено мету та сформульовано завдання дослідження, виконано синтетичний експеримент, що викладено в дисертації, проаналізовано та узагальнено результати синтетичних, фізичних, фізико-хімічних, хімічних та біологічних випробувань, одержаних як самостійно, так й у співавторстві.

Рентгеноструктурні дослідження проведено разом із В. Б. Рибаковим, В. В. Чернишовим (Московський державний університет ім. М. В. Ломоносова, Москва, Росія); С. В. Шишкіною (НТК «Інститут монокристалів» НАН України, Харків, Україна) та О. В. Туровим (Київський національний університет ім. Т. Г. Шевченка, Київ, Україна).

Фармакологічні дослідження діуретичної активності проведено на базі Національного фармацевтичного університету за участі та під керівництвом д-ра біол. наук, професора Набоки О. І. та д-ра біол. наук, професора Кравченко В. М.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи виголошено та обговорено на VII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 2010); XXII Українській конференції з органічної хімії (Ужгород, 2010); III міжнародній конференції «Химия гетероциклических соединений», присвяченій 95-річчю з дня народження проф. А. М. Коста (Москва, 2010); II Всеросійській науковій конференції з міжнародною участю «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, 2012); International Conference «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles» (Харків, 2012, 2018); XVth International Conference «Heterocycles in Bio-organic Chemistry» (Riga, 2013); VII Українській конференції «Домбровські хімічні читання – 2017» (Яремче, 2017); III Міжнародній науково-практичній конференції «KyivPharma – 2017. Фармакологія та фармацевтична технологія в забезпеченні активного довголіття» (Київ, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (Харків, 2018); XXV Українській конференції з органічної та біоорганічної хімії (Луцьк, 2019).

Публікації. Матеріали дисертаційної роботи опубліковано в 19 наукових роботах (з яких 10 статей у виданнях, що входять до міжнародних

наукометричних баз), 3 патенти України на винахід та тези 12 доповідей на наукових конференціях різного рівня.

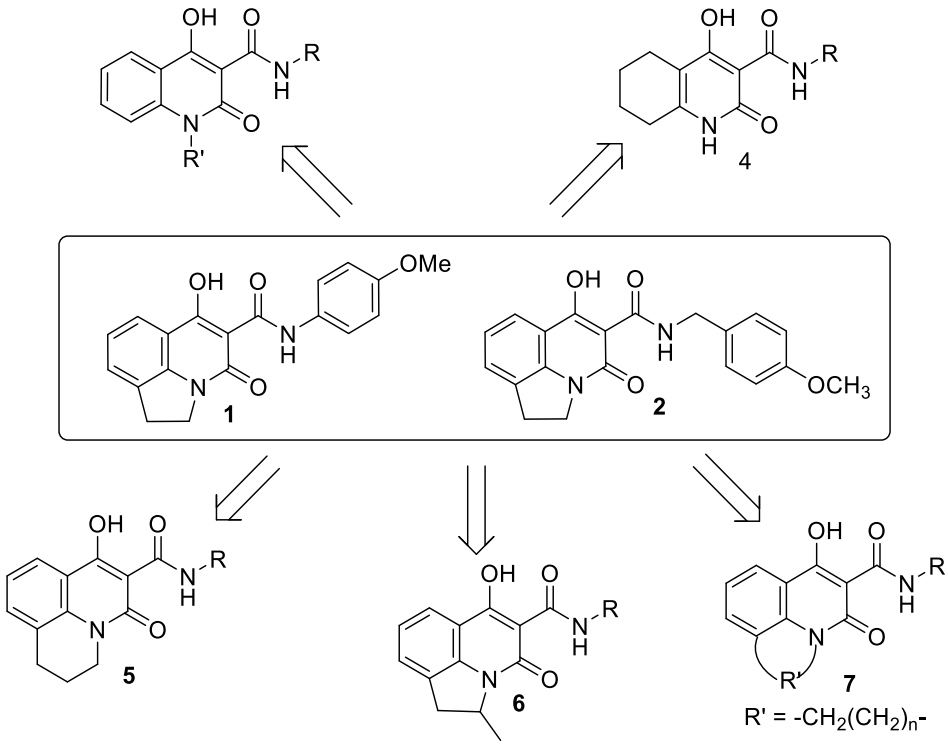
Структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел та 1 додатку. Обсяг основного тексту дисертації складає 266 сторінок друкованого тексту. Роботу ілюстровано 41 таблицею, 58 рисунками та 18 схемами. Список використаних джерел містить 438 найменувань, з них 44 кирилицею та 394 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Оптимізація та модифікація структури-лідера. Фармакологічна активність похідних хінолонів. (Огляд літератури). Проведено аналіз, систематизовано та узагальнено дані наукових першоджерел та патентних баз щодо оптимізації та модифікації структури-лідера з метою цілеспрямованого синтезу нових БАР, а також висвітлено особливості вивчення фармакологічної, зокрема діуретичної, активності похідних хінолонів. Проведений аналіз наявності на ринку України сечогінних лікарських засобів засвідчив недостатність асортименту, насамперед вітчизняних оригінальних діуретичних препаратів.

Розділ 2. Синтез і фізико-хімічні властивості амідів дигідро- та гексагідрохінолін-3-карбонових кислот.

Схема 1



Виявлення діуретичних властивостей у 4-R-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідів та визначення як структур-лідерів 6-гідрокси-N-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло-[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду під умовною назвою «Хімопірон» **1** та 6-гідрокси-N-(4-метоксибензил)-4-оксо-

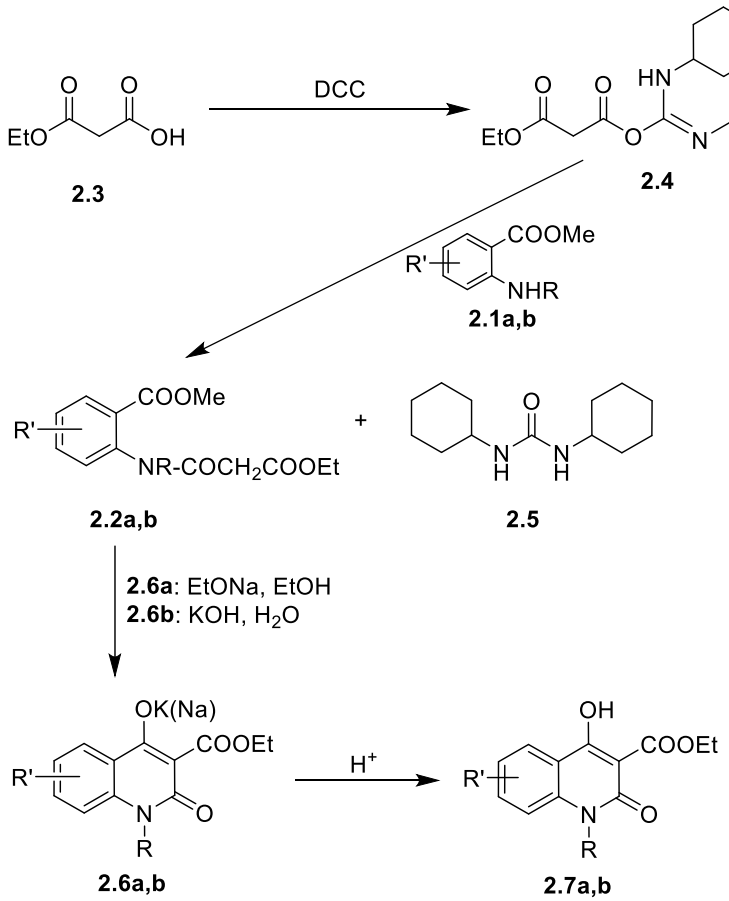
1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду **2** (схема 1) стало підґрунтям для їх модифікації з метою подальшого поглибленого вивчення похідних хіноліну як основи сполук, здатних посилювати діуретичну активність, а також захистити таким чином інтелектуальну власність розробників цих структур-лідерів.

Сполуки типу **7**, за нашим припущенням, повинні мати численні конформації та велику кількість поліморфних модифікацій, що небажано для створення лікарських засобів. Крім того, через високу вартість вихідних реактивів, а отже, і різке збільшення ціни потенційних лікарських сполук, зазначені складні речовини залишились поза нашою увагою, хоча вони, безсумнівно, становлять певний науковий інтерес для медичної хімії.

Для модифікації структур-лідерів **1, 2** у більш просту біциклічну хімічну структуру було здійснено синтез похідних 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової **3** та 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохіно-лін-3-карбонової кислот **4**.

За попередніми висновками, активацію карбонільного атома карбону моноетилового естеру малонової кислоти **2.3** доцільно проводити не шляхом перетворення її на хлорангідрид, а іншими методами (схема 2).

Схема 2



де: 2.6-2.7: **a** R = H, R' = 7-Cl; **b** R = Me, R' = H

Найбільш поширеними реагентами такого типу є N,N'-карбонілдіімідазол та N,N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC). Проте відносно висока вартість N,N'-

карбонілдіімідазолу, а також те, що його використання потребує тільки безводного середовища, його не розглядали, хоча застосування цього реактиву цілком можливе.

Водночас є досить доцільним використання DCC для активування кислоти **2.3**, адже він є більш доступним конденсувальним агентом, який не вимагає спеціальної підготовки розчинників. DCC, вступаючи у взаємодію з кислотами, перетворює карбоксильну групу на активований естер типу **2.4** (О-ацилізосечовину), що надалі реагує з амінами та утворює відповідні аміди з виходами 70-100%.

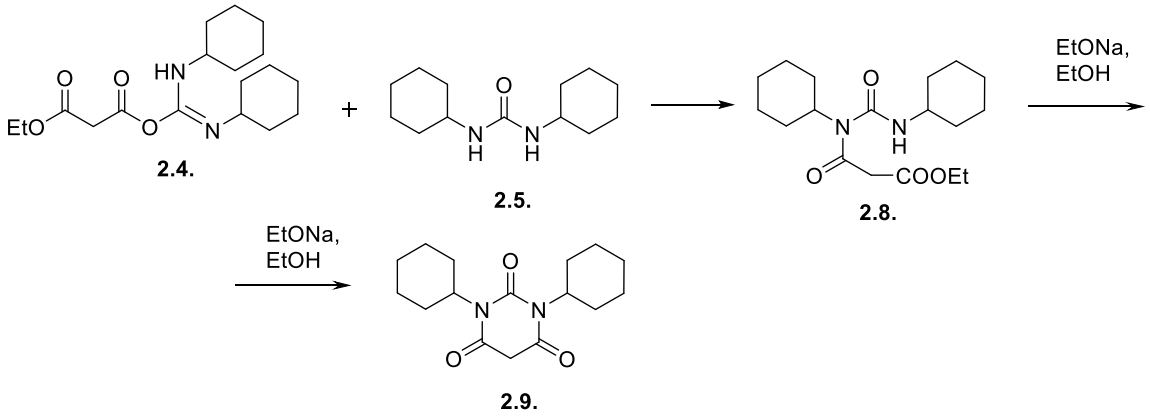
Зазвичай синтез етилових естерів 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот проводять шляхом ацилювання естерів антранілових кислот **2.1** етоксималонілхлоридом з подальшою циклізацією утворених етилових естерів 2-алкоксикарбонілмалонанілових кислот **2.2** за конденсацією Дікмана (Walter Dieckmann). На прикладі метилових естерів 4-хлор- та N-метилантранілових кислот **2.1** доведено, що в присутності DCC ці ароматичні аміни легко ацилюються моноетилмалонатом **2.3** з високими виходами.

Здатність розчинятися у воді 4-О-калієвих або натрієвих солей 4-гідроксі-2-оксо-3-етоксикарбоніл-1,2-дигідрохінолінів **2.6a,b**, які утворюються після гетероциклізації анілідів **2.2**, дозволяє позбутися характерного недоліку методу – утворення N,N'-дициклогексилсечовини **2.5**, що є домішкою і яку досить важко відокремити повністю.

За подальшого підкислення водних розчинів солей **2.6** цільові етилові естери хінолін-3-карбонових кислот **2.7a,b** утворюються з виходами не менш 90% у перерахунку на вихідні метилантранілати **2.1**.

Дослідження чистоти синтезованих естерів, яке контролювали методом ВЕРХ, засвідчило, що навіть без додаткового очищення вміст домішок не перевищує 1%.

Схема 3



У зв’язку з тим, що для одержання естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот як ацилюючий агент була використана похідна малонової кислоти, було виявлено ще одну специфічну домішку, яка може утворюватись у процесі синтезу.

У результаті взаємодії активованого естеру **2.4** з одним із продуктів реакції ацилювання – N,N'-дициклогексилсечовиною **2.5** – утворюється етил-3-(1,3-дициклогексилуреїдо)-3-оксопропаноат **2.8**, який у присутності алкоголятів натрію в безводних спиртах циклізується з утворенням 1,3-дициклогексилбарбітурової кислоти **2.9** (схема 3).

Так само, як і цільові етилові естери 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот **2.7a,b**, цей продукт легко розчиняється у водних розчинах лугів та не розчиняється в кислотах, тому позбавлятися його навіть складніше, ніж N,N'-дициклогексилсечовини **2.5**.

Для формування 1,3-дициклогексилбарбітурової кислоти **2.9** потрібні такі ж умови, як і для одержання хлорозаміщеного естеру **2.7a** (естерна конденсація діестерів **2.2**, отриманих на основі заміщених за ароматичним ядром антранілових кислот, можлива лише в безводному середовищі). Для отримання ж N-метилзаміщеного естеру **2.7b** безводні умови не обов'язкові, а отже, на чистоту цільового продукту ця побічна реакція вплинути вже не може, оскільки N-ацилсечовина **2.8** у водному розчині КОН неминуче гідролізується до N,N'-дициклогексилсечовини та малонової кислоти. Проте на виходах кінцевих продуктів **2.7** вона, безумовно, позначається негативно, і для її уникнення варто застосовувати певний порядок змішування реагентів.

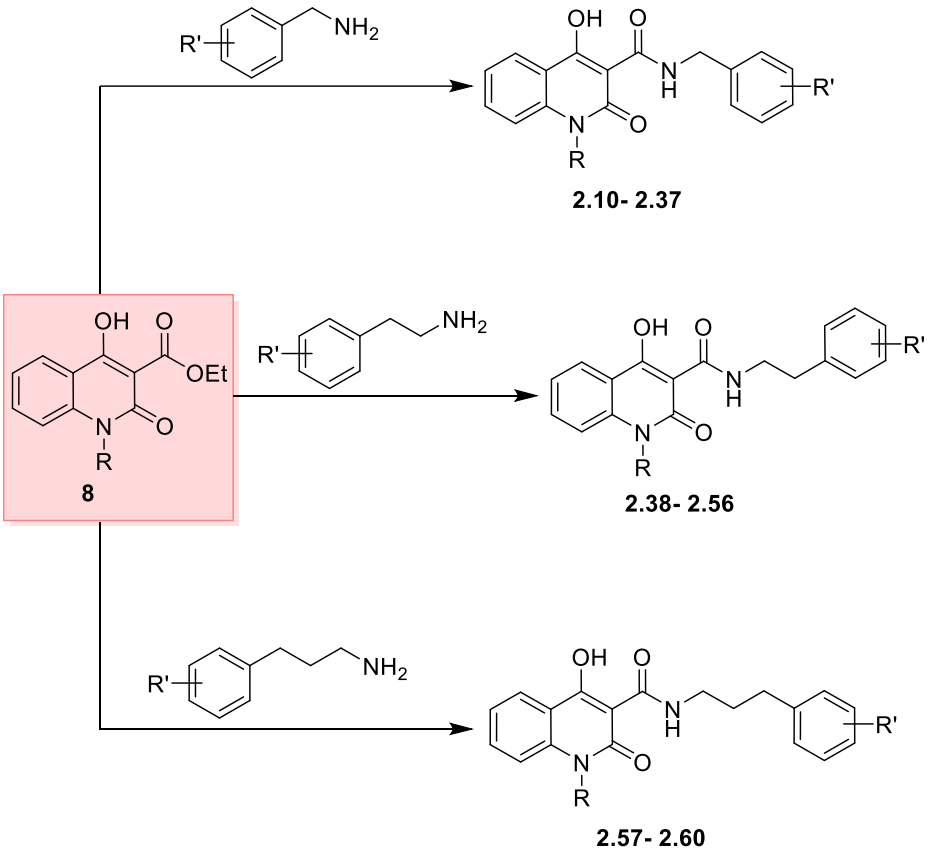
У розглянутому випадку, по-перше, до розчину антранілату **2.1** та DCC в хлористому метилені повільно додають моноетиловий естер малонової кислоти **2.3**, уникаючи тим самим великої концентрації ацилювального агента. По-друге, з огляду на екзотермічність реакції, не можна допускати сильного підвищення температури реакційної суміші, потрібно застосовувати ефективне перемішування та відповідне охолодження. По-третє, якщо завершальну стадію синтезу, тобто гетероциклізацію, з яких-небудь причин передбачено проводити в безводному середовищі, то треба використовувати еквімолярну кількість реагентів, хоча зазвичай застосовують 10%-вий надлишок DCC та кислоти. Дотримання цих рекомендацій дозволяє уникнути утворення небажаної домішки N,N'-дициклогексилбарбітурової кислоти **2.9** та проводити синтез цільових етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот **2.7a,b** більш ефективно.

Для модифікації структури-лідера в біциклічну хімічну структуру здійснено синтез серії бензил- та арилалкіламідів 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот **2.10** – **2.60** (схема 4). У зв'язку з тим, що більшість бензиламідів погано розчиняються в спиртах, амідування етилових естерів **8** виконували в киплячому ДМФА, який дозволяє проводити реакцію без ускладнень та з добрими виходами цільових продуктів.

Для доведення хімічної будови всіх синтезованих бензиламідів **2.10** – **2.37** використали елементний аналіз та спектроскопію ЯМР^{1}Н, яка дозволила досить легко ідентифікувати протоновмісні функційні групи. Для характеристики «ароматичної» ділянки ^{1}Н ЯМР-спектрів кожної із синтезованих сполук використовували спрощену схему інтегрування одним складним мультиплетом

загальної інтегральної інтенсивності, яка є цілком прийнятною для отриманих похідних. Схарактеризовано практично всі сигнали ароматичних протонів.

Схема 4



де: **2.10 - 2.60**: R = H, -Alk; **2.14, 2.19, 2.24, 2.25, 2.30, 2.35 - 2.44, 2.57 - 2.60:** R' = H; **2.10, 2.15, 2.20, 2.26, 2.31:** R' = 4-Me; **2.11, 2.16, 2.21, 2.27, 2.32:** R' = 2-OMe; **2.12, 2.17, 2.22, 2.28, 2.33, 2.49 - 2.52:** R' = 4-OMe; **2.13, 2.18, 2.23, 2.29, 2.34, 2.53 - 2.56:** R' = 3,4-$(OMe)_2$; **2.45 - 2.48:** R' = 4-Cl.

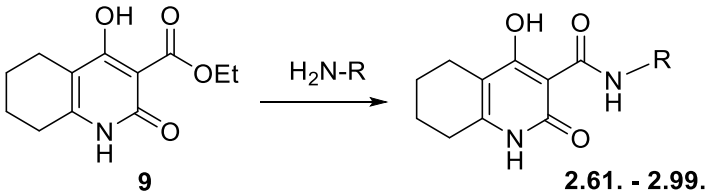
Виняток становлять лише протони 2-метоксибензиламідів **2.11**, **2.16**, **2.21**, **2.27**, **2.32** у положеннях 6 і 4 хінолонового та фенільного фрагментів відповідно**.** Присутність у молекулах цих сполук двох однотипних ABCD-спінових систем призводить до збігу резонансних частот зазначених протонів, унаслідок чого їхні сигнали занадто щільно накладаються один на одного, що і робить неможливим конкретну їх інтерпретацію без застосування спеціальних прийомів ЯМР.

Наступним кроком було дослідження взаємодії етилових естерів хінолін-3-карбонових кислот з арилалкіламінами в киплячому етанолі для синтезу відповідних арилалкіламідів. Це дозволило б частково розв’язати завдання, яке стосується залежності рівня сечогінного ефекту від структури амідного фрагмента. Для доведення хімічної будови всіх синтезованих 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідів **2.38** – **2.60** було використано елементний аналіз та спектроскопію ЯМР^{1}H.

Концепція біоізостерної заміни дозволяє не тільки оптимізувати вже відомі БАР, а і виявляти з тим нові структури з аналогічними або близькими властивостями й певним чином підвищувати патентний захист майбутнього лікарського засобу. Перехід від 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолінового ядра до 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолінового проведено з припущенням, що ця заміна виявиться біоізостерною, хоча гарантувати позитивний результат такої модифікації можна було тільки завдяки експериментальним даним. Саме цей підхід було обрано для з'ясування того, чи зміниться діуретична активність 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот за відновлення бензенової частини хінолонового ядра.

Об'єкти дослідження – алкіл- та арилалкіламіди 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти, загальний синтез яких подано на схемі 5.

Схема 5



де: **2.61** – **2.77:** R = CH_3; C_2H_5; $CH_2CH{=}CH_2$; C_3H_7; *i*-C_3H_7; C_4H_9; *i*-C_4H_9; *s*-C_4H_9; C_5H_{11}; *i*-C_5H_{11}; C_6H_{13}; C_7H_{15}; C_8H_{17}; C_9H_{19}; $C_{10}H_{21}$; $C_{11}H_{23}$; $C_{12}H_{25}$; **2.78** – **2.99:** R = Bn; 2-F-Bn; -3-F-Bn; -4-F-Bn; -2-Cl-Bn; -4-Cl-Bn; -4-Me-Bn; -2-MeO-Bn; -4-MeO-Bn; -3,4-$(MeO)_2$-Bn; -піпероніл; -фурфурил; -тетрагідрофурфурил; -піколіл-2;-піколіл-3; -піколіл-4; -1-Ph-Et; -2-Ph-Et; -2-(4-ClC_6H_4)-Et; -2-(4-$MeOC_6H_4$)-Et; -2-(3,4-$(MeO)_2C_6H_3$)-Et; -3-Ph-Pr.

Алкіламіди 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти **2.61** – **2.77** синтезовано шляхом амідування етилового естеру 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти **9** відповідними первинними алкіламінами.

Для підтвердження хімічної будови цих речовин використано спектроскопію ЯМР^{1}Н. Характерною особливістю ^{1}Н ЯМР-спектрів синтезованих алкіламідів є те, що тетраметиленова ланка гексагідрохінолонового ядра виявляється трьома окремими мультиплетами з інтегральною інтенсивністю 2Н, 2Н і 4Н кожен, причому перший із них збігається з сигналами залишкових протонів розчинника. Однак це не завадило провести аналіз спектрів – точні віднесення зазначених сигналів інтерпретовано за допомогою гомоядерного ефекту Оверхаузера.

Для одержання арилалкіламідів 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти **2.78** – **2.99** було обрано метод синтезу цих сполук у змішаному розчиннику.

Використання ДМФА було зумовлено тим, що у вихідного етилового естеру 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти **9** відносно низька розчинність. Однак було з'ясувано, що за кип'ятіння в цьому

розчиннику відбувається швидке відщеплення естерного фрагмента сполуки **9** з утворенням 3-незаміщеного 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохіноліну. Для того щоб позбутися такої домішки в кінцевих продуктах, було запропоновано варіант – кип'ятіння суміші етилового естеру 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти **9** та відповідного арилалкіламіну в змішаному розчиннику, який становить суміш ДМФА та приблизно 20% метанолу.

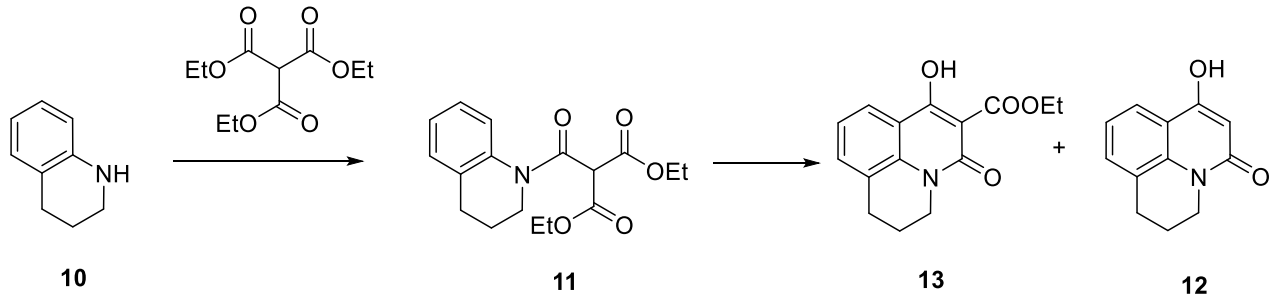
Для підтвердження хімічної будови синтезованих сполук використали спектроскопію ЯМР ^{1}H, аналіз якої доводить, що в розчині ДМСО-D_6 досліджувані сполуки існують тільки в 4-гідроксі-2-оксоформі. Свідченням цього є синглетні сигнали з інтегральною інтенсивністю 1H, зумовлені протонами 4-OH-групи, розташовані в характерній для енолів області спектра – 15,75-16,10 м.ч. Сигнали протонів інших функційних груп арилалкіламідів **2.78-2.99** можна інтерпретувати досить легко. Як і у випадку алкіламідів **2.61-2.77** труднощі виникли лише за віднесення сигналів протонів тетраметиленової ланки 1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолінового ядра. Це завдання також було розв’язано завдяки використанню гомоядерного ефекту Оверхаузера.

Розділ 3. Синтез і будова похідних 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонових кислот. Із метою виявлення нових сполук, що становлять інтерес як основа для створення терапевтично придатних сечогінних лікарських засобів, та для оптимізації описаних раніше діуретиків, що містять у своїй структурі піролохінолонову гетероциклічну систему, було зроблено припущення, що розширення анельованих з ядром хінолону циклу на один додатковий метиленовий ланцюжок має викликати конформаційну перебудову базової молекули, що, зі свого боку, може викликати зміни й у фармакологічних властивостях. Для цього було застосовано принципи створення «me-too-drugs».

Синтез вихідного етилового естеру 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти **13** можна здійснити реакцією 1,2,3,4-тетрагідрохіноліну **10** з триетилметантрикарбоксилатом, використовуючи різні методики: витримуючи суміш аміну з дворазовим надлишком ацилювального агента за 220°C або ж поступово додаючи амін до попередньо нагрітого до 215°C триестеру в еквімолярній кількості. Варто зазначити, що обидва варіанти дають непогані результати тільки в разі напрацювання малих (до 0.1 моль) кількостей естерів **13**. За великих обсягів завантажень з'являються проблеми, специфічні для кожного зі способів. У першому випадку, наприклад, крім нераціонального використання дорогого триетилметантрикарбоксилату, стає неможливим швидке нагрівання великого об’єму реакційної маси до необхідних 220°C (схема 6). У результаті активізуються побічні процеси, основним з яких є часткова трансформація діетил-2-(1,2,3,4-тетрагідрохінолін-1-карбоніл)малонату **11** не в цільовий продукт, а в метанди- або метантри(хінолін-1-іл)карбоксаміди. У разі використання другого способу реакційна суміш наприкінці синтезу стає

занадто в’язкою. За великих кількостей її складно перемішувати з необхідною ефективністю, унаслідок чого останні порції 1,2,3,4-тетрагідрохіноліну **10** значною мірою витрачаються не на реакцію із залишками триетилметантрикарбоксилату, а на амідування трициклічного естеру **13**, який став основним компонентом суміші.

Схема 6



Усунути зазначені недоліки дозволяє модифікована методика проведення реакції, яку адаптовано під промислові завантаження. Своєю суттю це той же другий спосіб, проте амін додають не до триетилметантрикарбоксилату, а до його розчину в інертному висококиплячому розчиннику (наприклад, у дифенілоксиді). Це удосконалення дозволяє синтезувати практично в будь-яких кількостях не тільки естер **13**, а і його численні аналоги. Єдиним обмеженням методу може стати ступінь термічної стійкості вторинного аміну, використовуваного в реакції.

Необхідність застосування дифенілоксиду в синтетичному ланцюзі може становити доволі серйозну проблему, оскільки він належить до списку хімічних речовин, небезпечних для навколишнього середовища.

Розв’язанням цієї проблеми може стати один із принципів «зеленої хімії», а саме, відмова від використання потенційно небезпечних розчинників. У разі розглянутої реакції її практична реалізація особливих труднощів не викликає, бо триетилметантрикарбоксилат (один з основних реагентів) за своїми фізичними характеристиками цілком прийнятний як альтернатива дифенілоксиду.

Додавання N-заміщеного аніліну **10** у потрійний надлишок триетилметантрикарбоксилату, нагрітого до 215-220°C, дозволяє отримувати етиловий естер відповідної хінолінкарбонової кислоти **13** з високими виходами. Однак з тим з'являється додаткове завдання – регенерація триетилметантрикарбоксилату, взятого в надлишку. Було виявлено, що після завершення конденсації надлишок цього дорогого реагенту досить легко повертається у виробництво з втратами не більше 5%.

Варто зауважити, що видалення дифенілоксиду із синтетичної схеми зумовлено не тільки виробничими питаннями, а й екологічною безпекою. Вивчення якості естерів **13** методом ВЕРХ засвідчило, що всі вони містять від 2,4 до 5,6% домішок 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онів **12**. У лабораторних

умовах цими кількостями можна знехтувати, проте для промислового виробництва вони можуть перетворитися на великі фінансові втрати.

Джерелом домішок 3*H*-хінолінів **12** в естерах **13** можуть бути тільки самі естери. Попереднє припущення про те, що їх частковий гідроліз і подальше декарбоксилювання відбуваються на стадії розділення, не було підтверджено. Аналогічні результати було отримано в експериментах, проведених в умовах, що знеможливлюють контакти з водою.

Очевидно, що естерне угруповання частково руйнується не в процесі розподілу кінцевих продуктів, а в ході основної реакції. Важливим аргументом на користь такого висновку є той факт, що етилові естери 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот починають виявляти аномально високу чутливість до води і швидко розкладаються за 95°C. Відомо, що за 215-220°C вода, присутня в реакційній суміші, буде неминуче брати участь у гідролізі отриманого циклічного естеру **13**. Отже, що менше води міститься в початкових реагентах, то нижчий вихід побічних продуктів 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онів **12**. Цей факт став ще одним стимулом для відмови від використання дифенілоксиду як додаткового потенційно небезпечного джерела води.

Видалення води з основних компонентів реакції – N-заміщених анілінів і триетилметанкарбоксилату – можна проводити різними способами. Проте, на нашу думку, доцільно використовувати комерційно доступні молекулярні сита як сушильні агенти. Варто зауважити, що за введення в синтез реагентів, висушених таким чином, небажаний процес утворення 3*H*-хінолінів може бути повністю приглушено. У проведених експериментах їх зміст в естерах **13** не перевищував 0,1%.

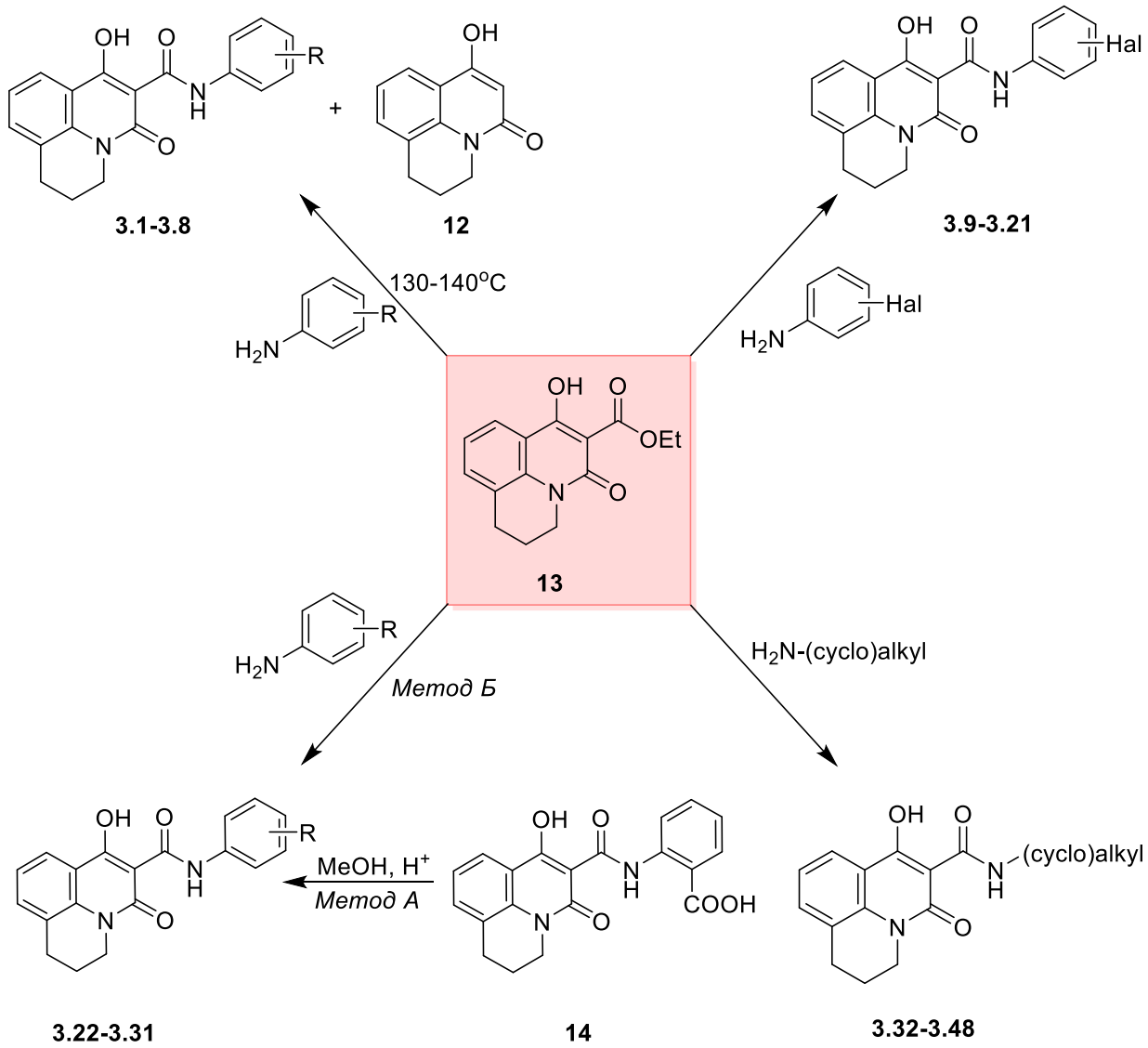
Трициклічний піридохіноліновий аналог нижчих алкіл-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксилатів **13** легко реагує з первинними і навіть вторинними анілінами або гетериламінами з утворенням відповідних амідів за температури 130°C.

Цей метод дозволив уперше отримати кінцеві сполуки **3.1** – **3.8** із високими виходами та чистотою протягом декількох хвилин за еквімолярних співвідношень реагентів. Висококиплячий розчинник для цього, як правило, не потрібен. З тим нагрівання реакційної суміші вище 140°C не є бажане, оскільки через залишкову воду, присутню в аніліні, цей процес може супроводжуватися частковою деструкцією естерних груп вихідного естеру **13** з утворенням як домішки вторинного 7-гідрокси-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-5-ону **12**.

За аналогічною схемою було одержано галогенозаміщені аніліди 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти **3.9** – **3.21** (схема 7). Для підтвердження хімічної структури синтезованих анілідів використовували елементний аналіз, ^{1}H і ^{13}C ЯМР-спектроскопію та мас-спектрометрію.

Аналіз мас-спектрів, зареєстрованих під час іонізації електронним ударом, засвідчив, що аніліди **3.1-3.8** є дуже стабільними сполуками в умовах мас-спектрометричного експерименту й утворюють високоінтенсивні піки молекулярних іонів, які дозволяють визначити молекулярну масу випробовуваних речовин.

Схема 7



де: **3.1** – **3.8:** R = H; 2-OH; 3-OH; 4-OH; 2-OMe; 3-OMe; 4-OMe; 4-OEt; **3.9** – **3.21:** R = 2-F; 3-F; 4-F; 3,4-F_2; 2-Cl; 3-Cl; 4-Cl; 2,3-Cl_2; 2,4-Cl_2, 2-Br; 3-Br; 4-Br; 2-Br-4-Me; **3.22** – **3.31:** R = 2-COOMe; 2-$CONH_2$; 2-CONHMe; 2-C≡N; 2-SO_2NH_2; 4-COOMe; 4-COOEt; 4-COOPr; 4-COOBu; 4-$COOCH_2CH_2N(Et)_2$ HCl; **3.32** – **3.48:** R = Me; Et; All; Pr; *i*-Pr; Bu; *i*-Bu; *s*-Bu; C_5H_{11}; *i*-C_5H_{11}; C_6H_{13}; 2-гідроксіетил; 3-гідроксипропіл; *cyclo*-C_3H_5; *cyclo*-C_5H_9; *cyclo*-C_6H_{11}; *cyclo*-C_7H_{13}

Для вивчення будови анілідів **3.9–3.21** додатково також було використано мас-спектрометрію. Наприклад, у мас-спектрі мета-хлораніліду **3.14** чітко фіксується дублет піків молекулярного іона з *m/z* 354/356 (рис. 1).

Викликана електронним ударом первинна фрагментація молекулярних іонів досліджуваних сполук, яку продемонстровано на прикладі мета-хлораніліду **3.14**, супроводжується розривом ациклічного амідного зв'язку з утворенням загального для всіх зразків трициклічного кетену **15б** із *m/z* 227 та уламка специфічного аміну **17**. Первинну фрагментацію молекулярного іона мета-хлораніліду **3.14** зображено на схемі 8.

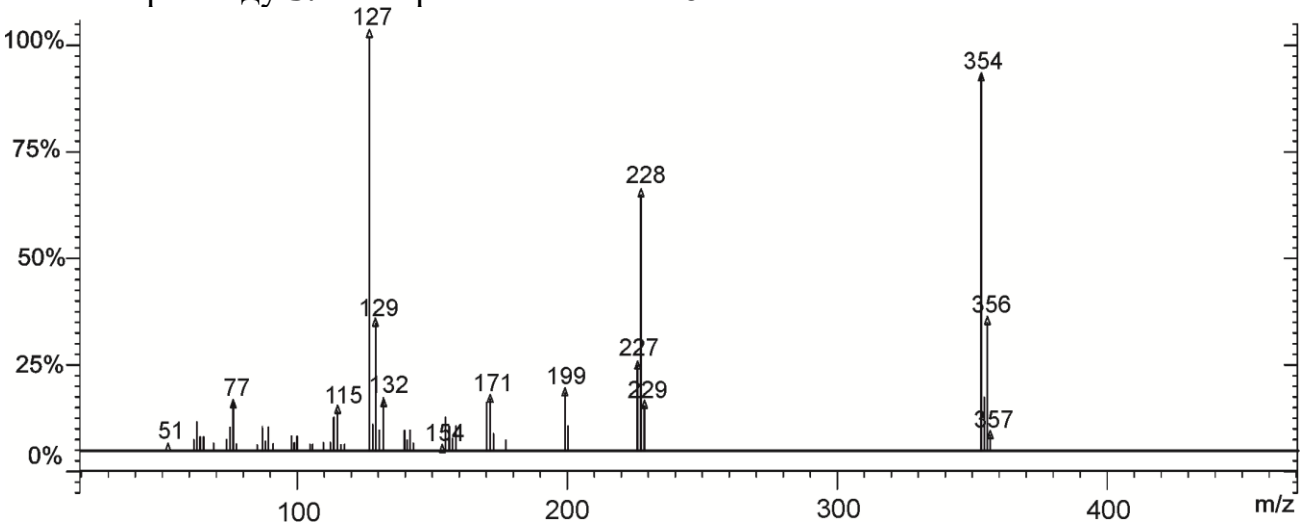
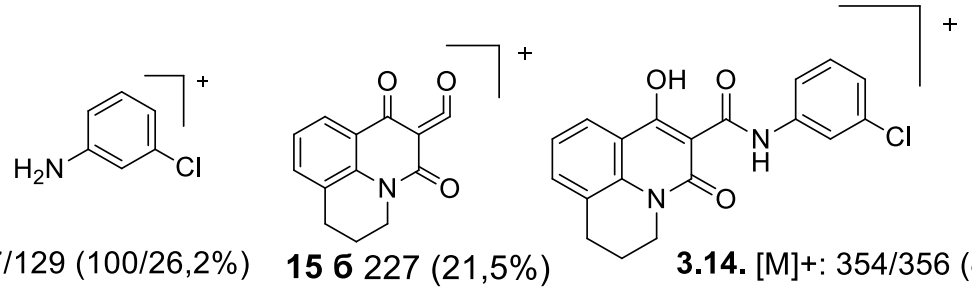


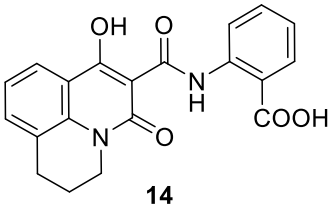
Рис. 1 Мас-спектр мета-хлораніліду **3.14.**

Схема 8.



17 127/129 (100/26,2%) **15 б** 227 (21,5%) **3.14.** [M]+: 354/356 (86,4/23,0%)

У результаті багатьох досліджень амідовані похідні 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти виявили здатність посилювати діурез значно активніше відомих діуретиків, зокрема 2-(7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо-[3,2,1-*ij*]-хінолін-6-ілкарбоксамід)бензойної кислоти **14** у менших дозах перевищує за діуретичною активністю гіпотіазид і виявляє з тим більше ніж утричі нижчу токсичність:



14

Однак наявність вільної карбоксильної групи в структурі цієї речовини навряд чи можна вважати позитивним аспектом. З огляду на цей факт було визначено завдання – вивчити споріднені сполуки вищезазначеного аніліду **14**, але за обов'язкової умови, що в їх структурі COOH-група має бути так чи

інакше заблокована. Модифікувати карбоксильну групу можна і в попередньо отриманому аніліді. Практичну реалізацію такого підходу продемонстровано на прикладі синтезу 2-метоксикарбонільного похідного **3.22.** Однак з урахуванням легкодоступності і відносно низької вартості більшості вже готових відповідних ароматичних амінів найкращим методом синтезу анілідів 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти **3.22**–**3.31** варто визнати традиційний термоліз еквімолярних кількостей естеру **13** та аніліну, що дозволяє отримувати цільові продукти з мінімальними витратами часу й препаративно високими виходами та чистотою.

Алкіламіди 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти **3.32**–**3.48** раніше пропонували одержувати кип'ятінням протягом 20 годин естеру **13** із 40% надлишком відповідного аміну в бромобензолі. Проте накопичений практичний досвід дозволив уперше довести, що такі жорсткі умови є зайвими. У результаті проведених експериментів було з’ясовано, що естер **13** легко амідується алкіламінами в киплячому етанолі. Реакція закінчується через 2-4 години, причому повноту її перебігу цілком забезпечує 10% надлишок алкіламіну.

Для підтвердження хімічної структури було використано елементний аналіз, ЯМР-спектроскопію (^{1}H і ^{13}C).

Для з'ясування особливостей просторової будови отриманої групи речовин було проведено РСА *втор*-бутиламіду **3.39** (рис. 2). Порівняльний аналіз даних РСД *втор*-бутиламіду **3.39** та його прямого аналога – *втор*-бутиламіду 6-гідроксі-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти – засвідчив, що розширення анельованих із хінолоновим ядром циклу викликає конформаційну перебудову молекули. На відміну від абсолютно плоскої піролохінолінової системи, тетрагідропіридинове ядро в піридохінолоні **3.39** набуває чітко вираженої конформації «софи».

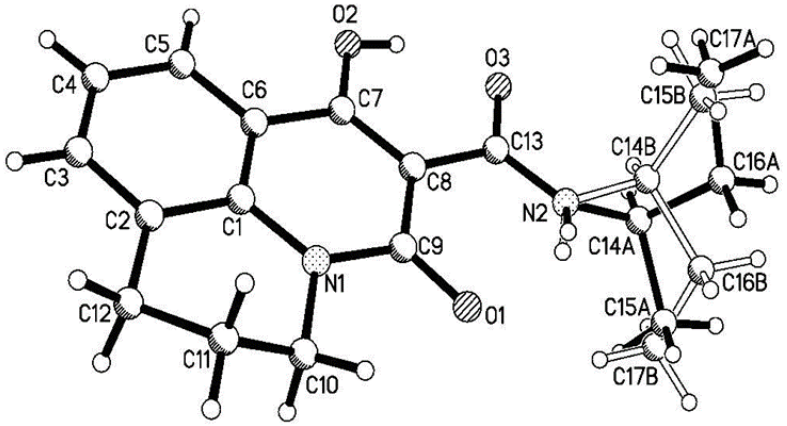
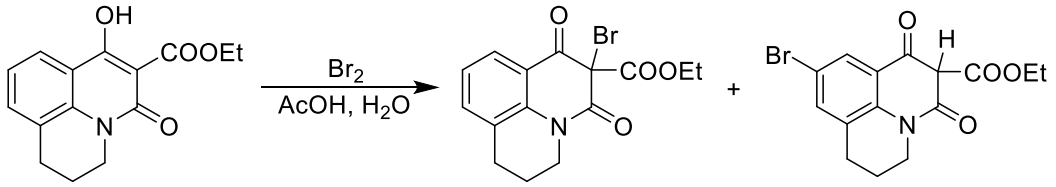


Рис. 2 Будова молекули *втор*-бутиламіду **3.39** з нумерацією атомів

Для виявлення структурно-біологічних закономірностей у ряду досліджуваних похідних хінолону як потенційних діуретиків уперше здійснено бромування естеру **13**. Якщо використовувати молекулярний бром у водному розчині оцтової кислоти, то це викликає бромування не тільки піридонового, але й бензольного фрагмента молекули (схема 9). Синтез естеру 9-бром-7-

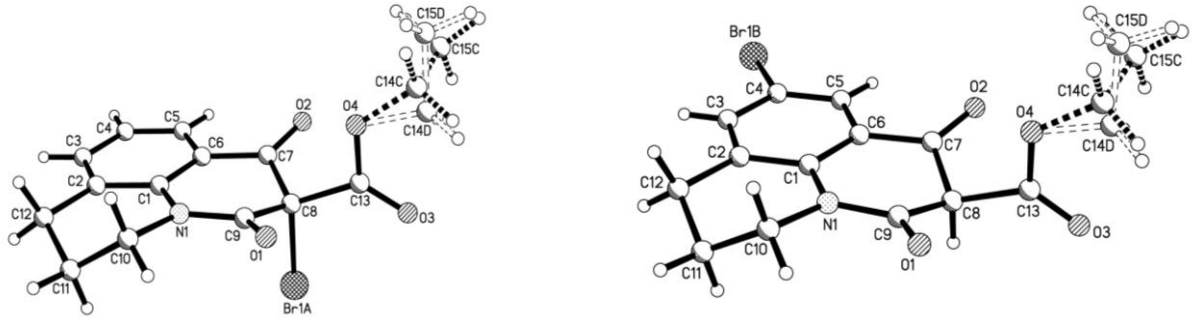
гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти переконливо засвідчив, що основним фактором одержання цільових продуктів є наявність або відсутність у реакційній суміші води. Це було підтверджено особливістю спектра ЯМР ^{1}H 2-бромозаміщеного естеру **3.49.** Проведений рентгеноструктурний аналіз підтвердив висновки щодо особливостей будови 2-бромозаміщенного естеру **3.49**, які було зроблено на підставі аналізу спектра ЯМР ^{1}H: вихідна молекула справді зазнає конформаційної перебудови з уведенням атома брому.

Схема 9



13 **3.49** **3.50**

Не менш цікавим результатом проведеного РСД стало те, що досліджуваний об'єкт виявився співкристалом, у якому містяться естер **3.49** та його 9-бромзаміщений ізомер **3.50** у співвідношенні 94:6. З тим у молекулах основного та мінорного продуктів положення всіх атомів збігаються, за винятком атомів брому й гідрогену біля C(4) та C(8) (рис. 3).



3.49 **3.50**

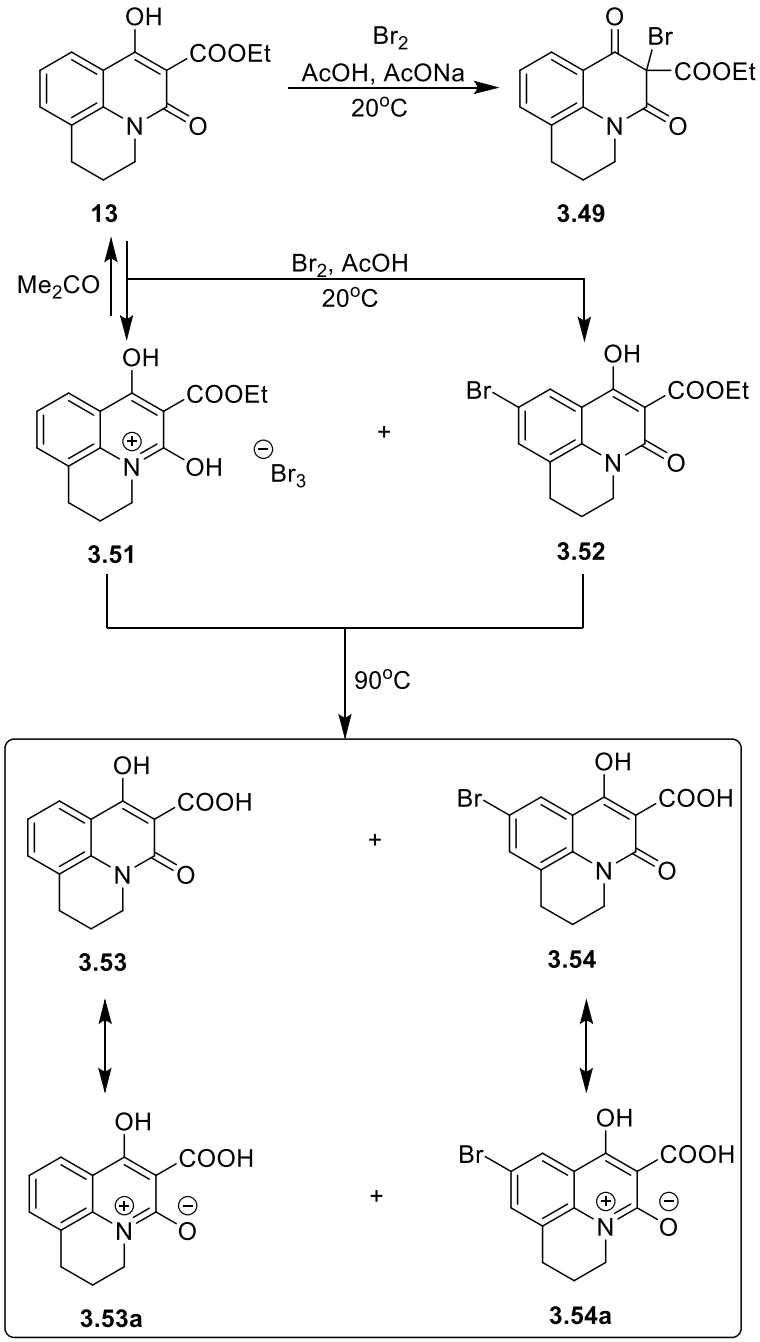
Рис. 3 Будова молекул 2-бромозаміщеного естеру **3.49** та його 9-бромозаміщеного ізомеру **3.50**

Для виявленого етилового естеру 9-бром-1,3-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-2-карбонової кислоти **3.50** варто зазначити такі особливості: по-перше, нетиповий напрямок взаємодії 4-гідроксихінолонів-2 із молекулярним бромом, яка проведена у водному розчині оцтової кислоти, і тому, у разі трициклічного естеру **13**, абсолютно несподіване швидке (хоча й часткове) бромування за бензеновою частиною молекули; по-друге, раніше існування такого роду похідних 4-гідроксихінолонів-2 винятково в діоксоформі ніколи не спостерігалось і було вперше зафіксовано інструментально.

Виявлено, що трициклічний естер **13** певним чином реагує з бромом у безводних умовах. Цей метод становить собою зручний і простий шлях синтезу 6-бромозаміщених похідних у разі біцикличних 1-R-4-гідроксихінолін-2-онів.

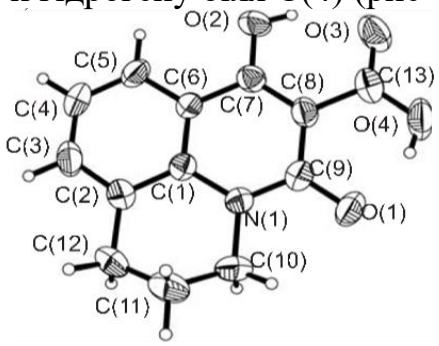
Спроба застосувати його для цілеспрямованого бромування естеру **13** за положенням 9 закінчилася неоднозначно. Зокрема, за додавання сухого молекулярного брому в безводній оцтовій кислоті до розчину естеру практично відразу випадає осад жовто-оранжевого кольору, який за детального вивчення виявився трибромідом 5,7-дигідроксі-6-етоксикарбоніл-2,3-дигідро-1*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолінію **3.51**, який можна перетворити на вихідний естер **13** обробленням ацетоном. Позитивним моментом експерименту є те, що у цій реакції утворюється цільовий етиловий естер **3.52**, хоча варто зазначити, що його вихід не перевищував 50% (схема 10).

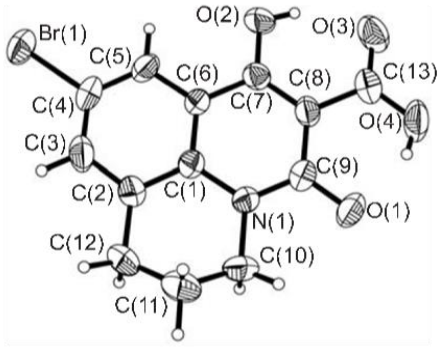
Схема 10



Для збільшення виходу 9-бромозаміщеного естеру **3.52** за рахунок хоча б часткової трансформації трибромiду **3.51** реакційну суміш нагрівали до розчинення **3.51**, який спочатку випадає в осад, і витримували кілька годин.

Після розведення реакційної суміші й перекристалізації з оцтової кислоти отримані монокристали було піддано РСД, у результаті чого з'ясовано, що вони змішані і містять кислоту **3.53** та її 9-бромопохідну **3.54** у співвідношенні 1:1. З тим положення всіх атомів в обох молекулах збігаються, за винятком атомів брому й гідрогену біля С(4) (рис 4).





3.53 **3.54**

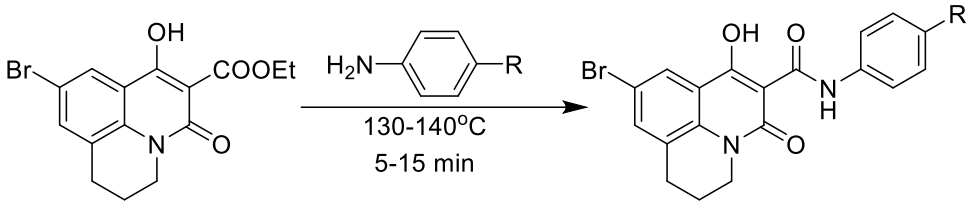
Рис. 4 Будова молекул піридохінолін-6-карбонової кислоти **3.53 а** та її 9-бромзаміщеного аналога **3.54** у зображенні атомів еліпсоїдами теплових коливань із 50% ймовірністю

Процес бромування трициклічного естеру **13** завдяки аналізу отриманих даних можна подати так: бромід-іон, що виділяється з початком утворення 9-бромопохідного **3.52**, реагує з бромом, який ще не вступив у реакцію, і формує трибромід-аніон, який зі свого боку швидко зв'язується біполярною таутомерною формою початкового естеру **13** у погано розчинний в оцтовій кислоті трибромід хінолінію **3.51**. У результаті бромуванню піддається тільки половина взятого естеру **13**. Варто зауважити, що у формуванні трибромiду хінолінію **3.51** у ролі катіона бере участь лише незаміщений естер **13**. Ймовірно, це пов'язано з більш вираженими осно́вними властивостями атома нітрогену, який входить до його складу, проти бромованого продукту **3.52** (за аналогією з аніліном і його *n*-бромозаміщеним похідним).

Розв'язання синтетичної проблеми видається можливим шляхом уловлювання виділюваного бромід-іона, перериваючи в такий спосіб ланцюжок небажаних процесів на самому їх початку. Зокрема, використаний безводний натрій ацетат кардинально змінює напрямок реакції в бік утворення зовсім іншого продукту – етилового естеру 2-бром-1,3-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-2 карбонової кислоти **3.49**.

Після виділення з реакційної суміші кристалічного трибромiду **3.51** на основі бромованого естеру **3.52**, що залишається в розчині, уперше було отримано ряд анілідів **3.55**–**3.57**, які становлять інтерес для виявлення структурно-біологічних закономірностей у ряду досліджуваних похідних хінолону (схема 11).

Схема 11



3.52 **3.55-3.57**

де: **R** = F; Me; OMe.

Для підтвердження будови синтезованих сполук використано спектроскопію ЯМР ^{1}H. Факт присутності саме атома брому в хінолоновій частині молекул анілідів **3.55**–**3.57** доведено мас-спектрометрично.

Розділ 4. Синтез, будова і властивості 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів. Високу діуретичну активність, низьку токсичність, відсутність побічних ефектів і здатність пригнічувати продукцію альдостерону було виявлено у сполук-лідерів **1, 2**. У результаті проведених аналізів та з використанням принципів технології «me-too» було залучено до кола досліджень із пошуку нових діуретиків метильовані аналоги **6** зазначених вище піролохінолінів.

Наступним кроком було здійснено конденсацію 2-метиліндоліну **20** з триетилметантрикарбоксилатом. Отриманий таким чином етиловий естер 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти **21** далі перетворювали реакцією з первинними анілінами у відповідні аніліди **4.1** – **4.18** (схема 12).

Щоб уникнути деструкції, амідування естеру **21** проводили за температури не вище 140°C. В іншому випадку кінцеві продукти забруднюються домішкою 6-гідрокси-2-метил-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-4-ону **23**.

Будову синтезованих сполук підтверджено спектрами ЯМР ^{1}H.

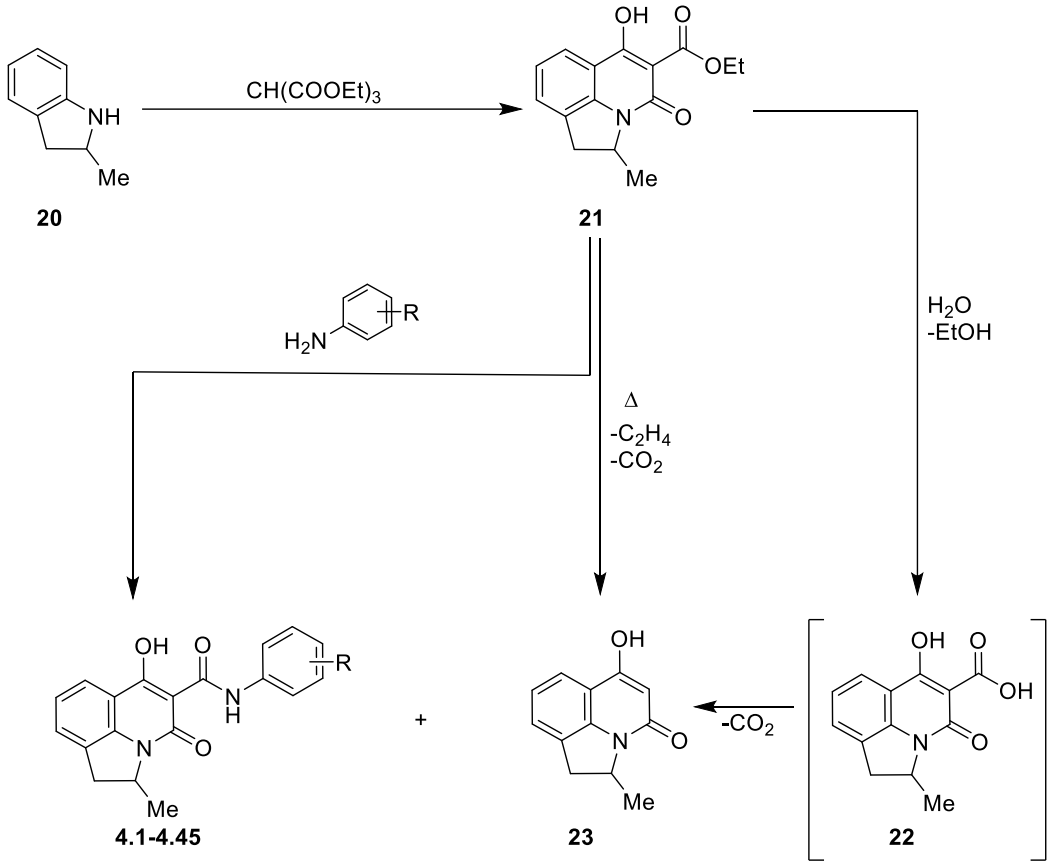
Як правило, амідування естерів хінолін-3-карбонових кислот алкіл-, арил- та гетариламінами перебігає ефективно за досить м'яких умов. Однак, коли для утворення амідів застосовують температуру 120-150°C і вище, може відбуватися часткове руйнування естерного фрагмента і забруднення цільових продуктів домішками – відповідними 4-гідрокси-1,2-дигідрохінолін-2-онами або їх аналогами.

Жорсткий контроль температури є найбільш значущий для амінів з низькою нуклеофільністю, таких, як анілін з електроноакцепторними замісниками в ароматичному кільці. Для підтвердження цього факту і для визначення причини такої небажаної реакції було проведено експерименти безпосередньо в ампулі ЯМР-спектрометра.

Для амідування достатньо висушити етил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксилат до постійної маси за 50°C. Іноді це потрібно робити у вакуумному ексикаторі над P_2O_5, тому що деякі

речовини можуть утворювати кристалічні гідрати. Воду видаляють з амінів різними класичними методами залежно від їхніх структур і фізичних умов.

Схема 12



де: **4.1** – **4.18: R** = H; 2-F; 3-F; 4-F; 3,4-F_2; 2-Cl; 3-Cl; 4-Cl; 2,4-Cl_2; 2,5-Cl_2; 5-Cl-2-OMe; 2-Br; 3-Br; 4-Br; 2-Br-4-Me; 2-CF_3; 3-CF_3; 4-CF_3; **4.19** – **4.34: R** = 2-C≡N; 2-COMe; 2-COOH; 3-COOH; 4-COOH; 2-COOMe; 4-COOMe; 4-COOEt; 4-COOPr; 4-COOBu; 2-$CONH_2$; 2-CONHMe; 2-SO_2NH_2; 5-Cl-2,4-$(SO_2NH_2)_2$; 4-NO_2; 4-NH_2; **4.35** – **4.45: R** = 2-OH; 3-OH; 4-OH; 2-OMe; 3-OMe; 4-OMe; 2-Me-4-OMe; 2,5-Me_2; 4-OEt; 4-OPr; 4-OC_6H_{13}

Згідно з цими рекомендаціями вперше було синтезовано серію нових N-арил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів **4.19**–**4.33** з електроноакцепторними замісниками в анілідному фрагменті молекули та 4-амінопохідна **4.34**.

Алкоксі- та гідроксіаніліди 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти **4.35**–**4.45** було отримано взаємодією етилового естеру **21** з відповідними анілінами за температури близько 140°C в присутності невеликої кількості ДМФА. Але за додавання в розчин синтезованих речовин у гарячому ДМФА активованого вугілля спостерігали появу інтенсивно синього забарвлення.

Дати однозначне пояснення цьому факту досить складно, тому в результаті практичної роботи було висунуто наукову гіпотезу, що джерелом

цієї проблеми служать не самі хінолінкарбоксаміди, а домішки, які формуються в процесі побічних реакцій і далі в присутності активованого вугілля утворюють з ДМФА досить потужні барвники.

Поява забарвлення свідчитиме про необхідність заміни ДМФА іншим розчинником (наприклад, спиртом, етилацетатом або діоксаном). Для перекристалізації також можна використовувати і ДМФА, але без активованого вугілля.

Для ідентифікації синтезованих анілідів 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти **4.35**–**4.45** використали спектроскопію ЯМР ^{1}H. Більш повну інформацію про будову досліджуваного класу речовин було отримано на прикладі N-(4-етоксифеніл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду **4.43** за допомогою РСД (рис.5).

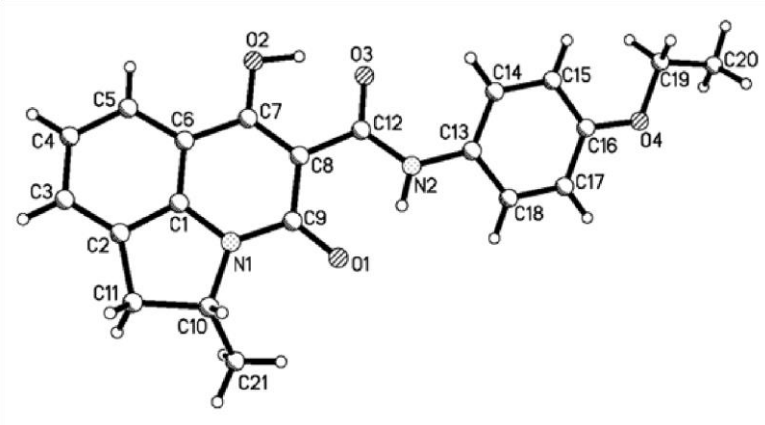


Рис.5 Будова молекули N- (4-етоксифеніл) -6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло [3,2,1-*ij*] хінолін -5-карбоксаміду **4.43** із нумерацією атомів

З цим отримано абсолютне підтвердження зробленому раніше висновку на підставі комп'ютерного моделювання про те, що трициклічна піролохінолінова система таких сполук повинна бути плоскою.

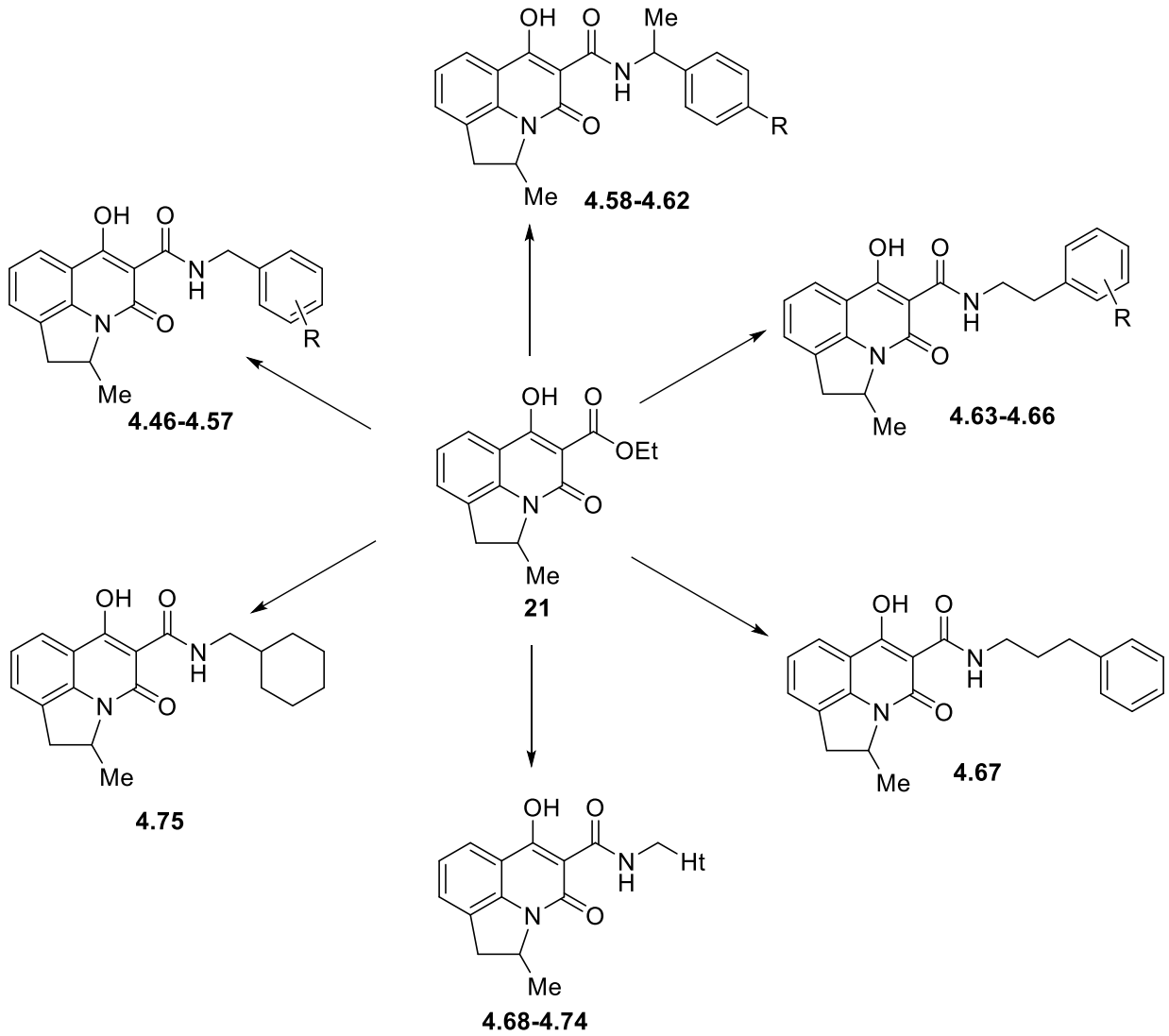
Амідування етилових естерів 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти **21** арилалкіламінами здійснювали в середовищі киплячого етанолу. У такий спосіб було отримано цільові N-(арилалкіл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміди **4.46 – 4.75** (схема 13).

Хімічну структуру всіх синтезованих N-(арилалкіл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів **4.46** – **4.75** підтверджено даними елементного аналізу, ЯМР-спектроскопії (^{1}H та ^{13}C) та мас-спектрометрії.

Під час інтерпретації ^{1}H-ЯМР-спектрів арилалкіламідів **4.46 – 4.75** на увагу заслуговують протони трициклічного ядра, які є загальними для всіх сполук і насамперед фрагмента 2-метилпіроліну. Протони й метильна група цього гетероциклу мають фіксовану орієнтацію, що є джерелом проблем детального структурного аналізу. Наприклад, у спектрі ^{1}H ЯМР бензиламіду **4.46** мультиплет за 4,97 м.ч. відповідає протону метинової групи, дублет за 1,54

м.ч. – метильній групі положення 2, два дублети дублетів за 3,66 і 2,99 м.ч. – протонам метиленової групи. Все без сумніву зрозуміло з першими двома сигналами, але конкретне віднесення протонних сигналів метиленової групи потребує додаткових зусиль. Такі стереохімічні завдання можна розв'язати по-різному. Одна з версій – використовувати формулу Карплуса або її графічне зображення, що пов'язує значення величини двогранного кута між протонами, які взаємодіють, з віцинальною (^3J) КССВ. Розрахунки теоретичних двогранних кутів і віцинальних КССВ та їх подальше порівняння з експериментальними значеннями дозволяють стверджувати, що в більш слабкому полі резонує протон метиленової групи, який перебуває в *цис*-положенні до метинового протона (рис. 6).

Схема 13



де: **4.46** – **4.57**: R = H; 2-F; 4-F; 2-Cl; 4-Cl; 2-Me; 3-Me; 4-Me; 2-OMe; 4-OMe; 3,4-$(OMe)_2$; 3-O-CH_2-O-4; **4.58** – **4.62**: R = *(S)*, H; *(R)*, H; *(±)*, H; *(S)*, OMe; *(R)*, OMe; **4.63** – **4.66**: R = H; 3-Cl; 4-Cl; 3,4-$(OMe)_2$; **4.68** – **4.74**: Ht = піридин-2-іл; піридин-3-іл; піридин-4-іл; 2-фурил; 5-Me-2-фурил; тетрагідрофуран-2-іл; 2-тієніл

Інтерпретувати протонні сигнали другого компонента трициклічного ядра арилалкіламідів **4.46 – 4.75 –** фрагмента хінолону – значно простіше.

Протони 6-гідроксигрупи проявляються як вузькі синглети в області, характерній для енолів – 17,31-16,92 м.ч. Ароматичні хінолонові протони в усіх спектрах ^{1}H-ЯМР мають стабільну картину, що складається з двох дублетів (H-7 та H-9) і одного триплета (H-8), та не відчувають ніякого впливу від кінцевих амідніх фрагментів.

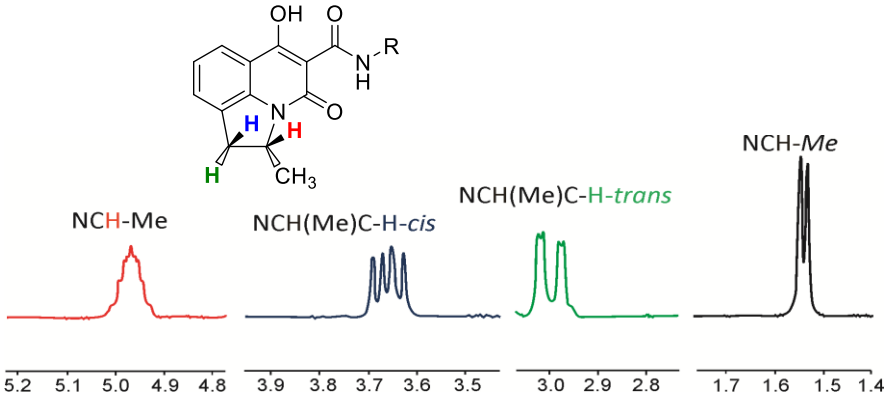


Рис 6 Фрагмент ^{1}H-ЯМР-спектра (сигнали протонів 2-метилпіроліну) N-(бензиламіду)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду **4.46.**

Розділ 5. Діуретична активність синтезованих сполук. SAR- та QSAR-аналіз, оцінка лікоподібності, фармакокінетичного профілю та токсичності перспективних сполук, валідація методики кількісного визначення. Розробка МКЯ на субстанцію сполуки-лідеру. Усі біологічні експерименти проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовують в експериментальних та інших наукових цілях, і Закону України № 3447-IV «Про охорону тварин від жорстокого поводження» (ідентифікатор проєкту 1674U13, затверджений 22 вересня 2012 р.).

Порівняльний аналіз одержаних експериментальних даних дозволяє виснувати, що перехід від трициклічних піроло- та піридохінолінів до біциклічних хінолонів **2.10**–**2.37** супроводжується спадом діуретичних властивостей.

Так, зокрема, усі без винятку 4-метилзаміщені похідні **2.10, 2.15, 2.20, 2.26, 2.31** виявили помірний антидіуретичний ефект. Пригнічення сечовиділення спостерігали і серед більшості представників групи моно- та диметоксибензиламідів, хоча у випадку піролохінолінів найбільш активними завжди були саме 4-метоксипохідні.

Досить виражені діуретичні властивості продемонстрували лише незаміщені в бензильному фрагменті сполуки **2.25**, **2.35**, **2.37** і, особливо, бензиламід 1-ізоаміл-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти **2.36**, який за специфічною активністю переважає в удвічі меншій дозі один із найбільш уживаних діуретиків – гіпотіазид.

Аналіз діуретичних властивостей арилалкіламідів **2.38** – **2.60** однозначно свідчить про те, що з переходом від бензиламідів 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот до 2-арилетильних або 3-фенілпропільних аналогів сечогінна дія істотно знижується, що вкотре підтверджує той факт, що за віддалення ароматичного ядра від амідного атома нітрогену діуретична активність істотно знижується.

Однак у результаті експериментальних даних було виявлено деякі несподівані винятки з цього правила. Так, наприклад, 4-метоксифенілетиламід **2.51** і 3-фенілпропіламіди **2.57** та **2.59** продемонстрували виражене посилення сечовидільних функцій нирок.

Сечогінна активність алкіл- та арилалкіламідів 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонових кислот **2.61.** – **2.99** неоднозначна. Зокрема алкіламіди демонструють практично повне зникнення діуретичного ефекту, а в окремих випадках (наприклад, октиламід **2.73**) виявлено виражену антидіуретичну дію. Водночас серед арилалкіламідів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти в більшості випадків також спостерігали тенденцію до появи антидіуретичного ефекту, що може яскраво виражатися, наприклад, у 4-флуорбензил- **2.81**, 4-метоксибензил- **2.86**, піпероніл- **2.88** та пікололіл-2 **2.91** амідів.

Разом із тим виявлено сполуки, наприклад, тетрагідрофурфуриламід **2.90**, які за специфічним ефектом не поступаються гіпотіазиду, попри значно меншу дозу.

Порівняльний аналіз впливу всіх синтезованих N-арил-7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбоксамідів **3.1** – **3.8** (рис. 7) на сечовидільну функцію нирок засвідчив виражений діуретичний ефект у незаміщеного аніліду **3.1.** 3-Гідрокси-, 2-метокси- та 4-метоксигрупи в анілідній частині молекули збільшують сечогінні властивості досліджуваних речовин **(3.3, 3.5, 3.7)**, перевищивши за активністю гідрохлортіазид, у значно меншій дозі.

Сполука	R
3.1.	H
3.2.	2-OH
3.3.	3-OH
3.4.	4-OH
3.5.	2-OMe
3.6	3-OMe
3.7.	4-OMe
3.8.	4-OEt
Гідрохлортіазид	

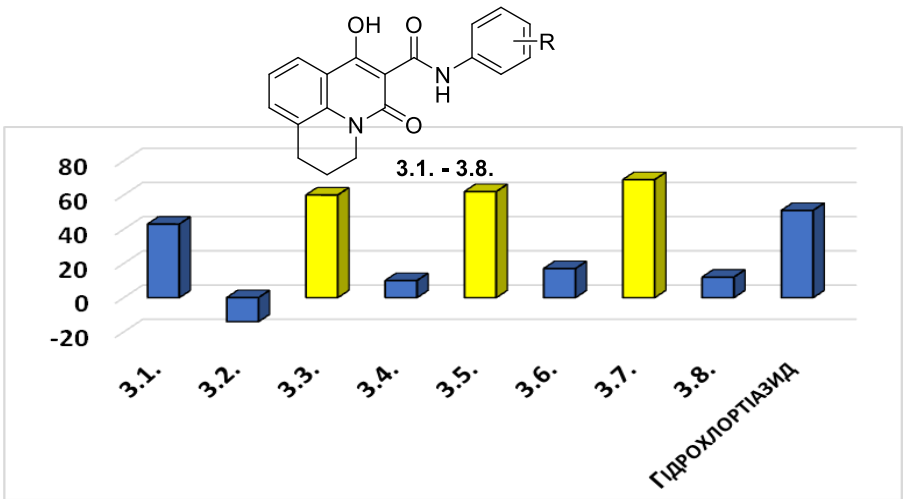


Рис.7 Діуретична активність, % щодо контролю, похідних 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонових кислот **3.1.-3.8.**

З’ясовано, що положення метоксигрупи в анілідній частині молекули має особливості впливу на фармакологічну активність: спочатку високий сечогінний ефект *орто*-ізомеру **3.5** почав втрачатись у *мета*-ізомеру **3.6**, але потім знову відновлювався до приблизно попереднього рівня у *пара*-похідної **3.7.**

Виявити загальні закономірності зв'язку «структура – активність» було досить складно і в разі галогенозаміщених анілідів **3.9** – **3.21.** Проте в більш вузьких рядах залежність діуретичного ефекту від природи і положення галогену в анілідному фрагменті простежити вдалося досить чітко. Так, наприклад, можна впевнено стверджувати, що наявність атома брому в анілідному фрагменті на сечогінних властивостях позначається тільки негативно. Причому його переміщення з *орто*- в *мета*- і далі в *пара*-положення супроводжується появою і поступовим посиленням антидіуретичної активності.

Вплив атома хлору не такий однозначний. Якщо *орто*- та *пара*-ізомери **3.13**, **3.15** слабо інгібують діурез, то *мета*-хлоранілід **3.14** навпаки, помітно його підсилює. Позитивний вплив *мета*-замісника простежуємо і в дихлоранілідів **3.16** та **3.17.** Флуорозамісні похідні виявляють діуретичні властивості незалежно від положення атома флуору. Однак на силу сечогінного ефекту цей фактор теж впливає – з усієї групи звертає на себе увагу тільки *пара*-флуороанілід 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти **3.11.** Ця сполука в значно меншій дозі переважає препарат порівняння – гідрохлортіазид.

Діуретичну активність похідних 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонових кислот **3.22.-3.31** проти гідрохлортіазиду зображено на рис. 8.

Сполука	R
3.22.	2-COOMe
3.23.	2-$CONH_2$
3.24.	2-CONHMe
3.25.	2-C≡N
3.26.	2-SO_2NH_2
3.27.	4-COOMe
3.28.	4-COOEt
3.29.	4-COOPr
3.30.	4-COOBu
3.31.	4-$CO_2CH_2CH_2N(Et)_2$ HCl
Гідрохлортіазид	
Анілід 14	

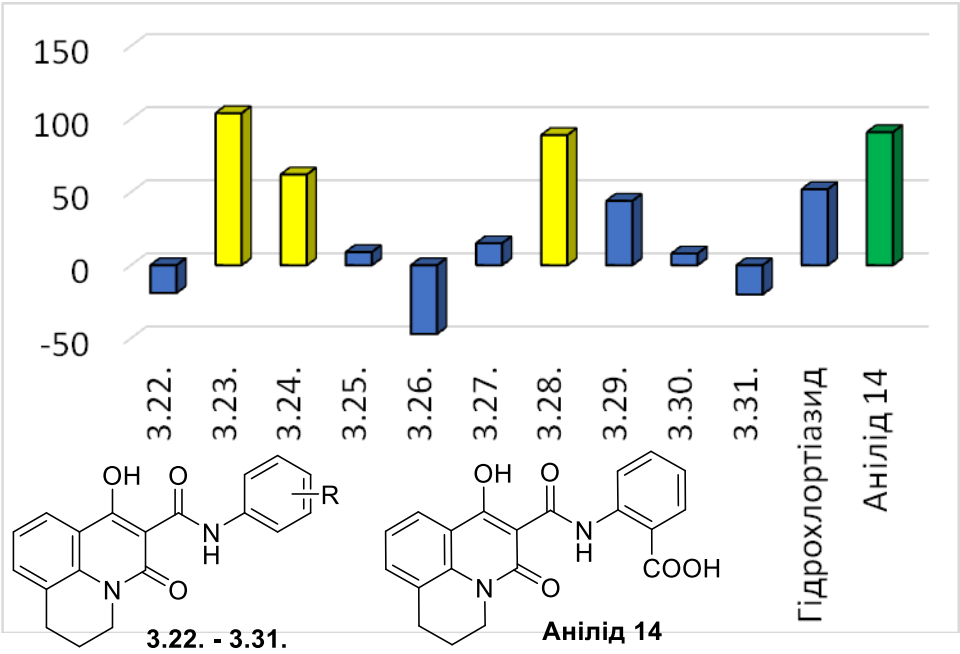
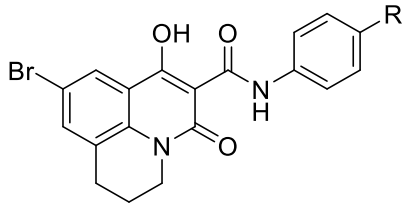


Рис.8 Діуретична активність, % щодо контролю похідних 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*, 5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонових кислот **3.22 -3.31**

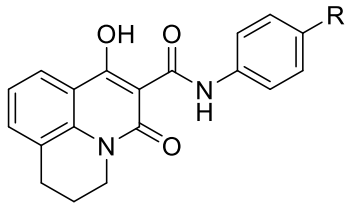
Метилювання амідного угруповання (анілід **3.24**) супроводжується помітним, але не критичним спадом активності, яка все ще залишається на вищому, ніж у гідрохлортіазиду, рівні. А ось із переходом від 2-карбамідної групи до нітрильної (анілід **3.25**) здатність посилювати діурез, всупереч очікуванням, практично повністю втрачається. Заміна 2-карбамідної групи її сульфамоїльним аналогом викликає кардинальні зміни біологічних властивостей, і сульфамід **3.26** уже є досить потужним антидіуретиком.

Із серії естерів 4-(7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-ілкарбоксамідо)бензойної кислоти **3.27** – **3.31** на увагу заслуговує тільки одна сполука – етиловий естер **3.28**, який продемонстрував сечогінну активність на рівні базового 2-карбоксіаніліду **14**. Усі інші зразки цього ряду як потенційні діуретикі інтересу не становлять. Було виявлено структурно-біологічні закономірності для алкіламідів **3.32** – **3.48**, а саме – відсутність активності й навіть антидіуретичний ефект у сполук з відкритими алкільними ланцюгами в амідних фрагментах і посилення сечогінних властивостей з переходом до деяких циклічних похідних.

Вплив синтезованих анілідів **3.55** – **3.57** на сечовидільну функцію нирок вивчали паралельно з їх небромованими аналогами (рис. 9).



3.55-3.57



Сполука	R
3.55	F
3.56	Me
3.57	OMe

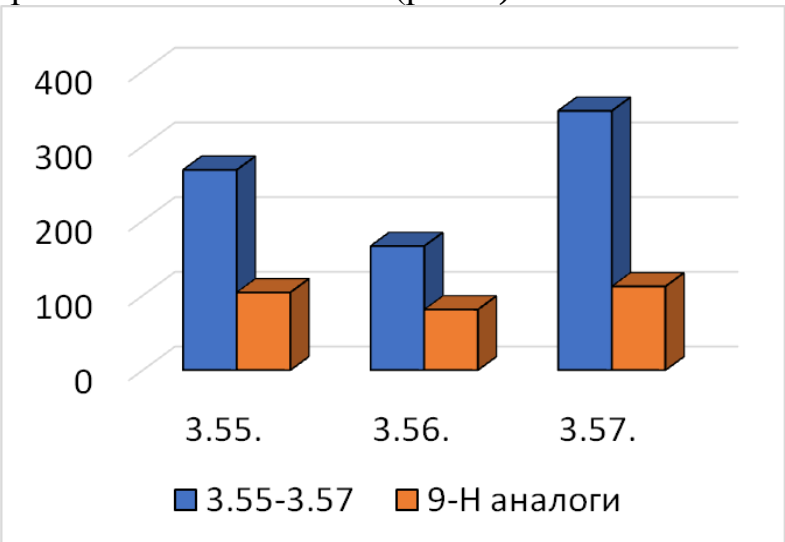


Рис.9 Діуретична активність, % щодо контролю похідних 9-бром-7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонових кислот **3.55-3.57**

Порівняльний аналіз результатів свідчить про те, що з появою в положенні 9 піридохінолонового ядра атома брому діуретичні властивості 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбоксанілідів зростають у 2-3 рази.

Вихідний етиловий естер **21** проявляє слабковиражену сечогінну дію, посилюючи діурез приблизно на 20%. З втратою етоксикарбонільного угруповання біологічний ефект різко змінюється – 6-гідрокси-2-метил-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-4-он **23** вже знижує рівень сечі на 37% проти

контрольних даних і є фактично потужним антидіуретичним засобом. З переходом до галогенозаміщених анілідів 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти **4.1** – **4.18** картина стає більш різноманітною.

Продемонстровані експериментальні показники такі різнопланові, що говорити про якісь загальні для всієї вищеназваної групи закономірності зв'язку «структура – активність» не видається можливим.

Разом із тим у менших рядах залежність діуретичного ефекту від природи і положення галогену в анілідному фрагменті простежуємо досить чітко.

Наприклад, серед флуороанілідів потужні діуретичні властивості, що значно перевершують гідрохлортіазид, характерні тільки для *пара*-ізомеру **4.4**, проте додатковий атом флуору в *мета*-положенні (анілід **4.5**) практично повністю дезактивує молекулу. У разі бромозаміщених аналогів увагу заслуговує тільки *мета*-ізомер **4.13**, тоді як сполука з одним або двома атомами хлору, так само як і трифлуорометильні похідні, переважно є нездатною помітно впливати на діурез піддослідних тварин. Порівняння галогено-заміщених анілідів **4.1** – **4.18** і близьких до них за будовою 6-гідроксі-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів з аналогічними замісниками в анілідних фрагментах засвідчує, що метилування піролінового циклу сприяє посиленню діуретичного ефекту.

Аналіз результатів біологічного скринінгу синтезованих N-(арилалкіл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів **4.19** – **4.34** з електроноакцепторними замісниками в анілідному фрагменті молекули свідчить, що N-ацильні похідні амінобензойної кислоти **4.21** – **4.23** заслуговують на особливу увагу серед сполук цього ряду. Хоча їх доза значно нижча, діуретична активність вища в 2-3 рази, ніж у контрольного препарату. Крім того, існує чіткий зв'язок між рівнем їх сечогінного ефекту й положенням карбоксильної групи в анілідному кільці: 2 > 4 > 3 (**4.21 > 4.23 > 4.22**).

Перетворення кислот **4.21**, **4.23** на естери має змішаний вплив на їхні біологічні властивості. Наприклад, активність *пара*-заміщеного метилбензоату **4.25** залишається на тому ж рівні, що і відповідної кислоти **4.23**, тоді як найближчі гомологи **4.26** – **4.28** втрачають здатність збільшувати вихід сечі Модифікація 2-карбоксильної групи більш категорична – її етерифікація (метиловий естер **4.24**) і амідування (аміди **4.29**, **4.30**) варто розглядати як неперспективні діуретичні сполуки. Незважаючи на очікування, сульфонаміди **4.31**, **4.32** виявилися також майже не активними.

Вивчення діуретичної активності анілідів **4.35** – **4.45** свідчить, що в разі гідроксі- і алкоксіанілідів перехід від піролохінолінових похідних до їх 2-метилзаміщених аналогів супроводжується деяким спадом сечогінних властивостей, хоча характер структурно-біологічних закономірностей загалом залишається незмінним. З усієї групи синтезованих сполук заслуговують на увагу лише дві речовини, які проявили активність вищу, ніж у препарату порівняння, за меншої дози. Це 4-гідрокси- **4.40** та 2,5-диметиланілід **4.42** 6-

гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти.

Аналіз результатів експериментального дослідження засвідчив вплив синтезованих N-(арилалкіл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло-[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів **4.46** – **4.75** на сечовидільну функцію нирок (рис. 10).

Насамперед варто зауважити, що в усіх групах сполук з фенільними ядрами в амідних фрагментах найбільш активними є незаміщені похідні **4.46**, **4.58** та **4.63.** Заміна фенільного ядра в бензиламіді **4.46** ізостеричним гетероциклом (окрім 5-метил-2-фурильної похідної **4.72**) призводить до значного зниження активності й навіть повної втрати діуретичних властивостей. Подібний ефект викликає гідрування ароматичного ядра (амід **4.75**), а також віддалення фенільного фрагмента від карбамідного атома нітрогену більш ніж на два вуглецевих атома (амід **4.67**).

З усіх розглянутих у цьому дослідженні N-(арилалкіл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів на подальше фармакологічне вивчення заслуговують три об'єкти, які за рівнем специфічної активності не поступаються (бензиламід **4.46**, 2-фенілетиламід **4.63**) і навіть дещо переважають (S (+)-1-фенілетиламід **4.58**) виявлену раніше структуру-лідер – 6-гідрокси-N-(4-метоксифеніл)-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамід.

За результатами фармакологічного скринінгу визначено, що серед 224 синтезованих сполук потенційними перспективними діуретиками є 61 сполука. Проведений аналіз зв’язку «структура – дія» (SAR) дозволив констатувати, що найперспективнішою групою для подальшого вивчення є піролохіноліни. У цій групі більша кількість перспективних речовин і вищі показники активності проти піридохінолінів.

За результатами проведених досліджень виявлено фармакофорні фрагменти, що підвищують діурез – анілідний або бензиламідний залишок, а також атом брому в положенні 9 піридохінолонового ядра.

Відкриті алкільні ланцюги в амідних фрагментах молекул речовин навпаки є «антифармакофорами», їх наявність спричиняє відсутність активності і навіть антидіуретичний ефект.

Для розробки нових діуретичних засобів важливим є не тільки виявлення якісних взаємозв'язків «структура – активність», а і визначення кількісних співвідношень цієї залежності. Тому наступним етапом роботи було проведення QSAR-аналізу із застосуванням комп’ютерних програм HyperChem та Dragonta. Як параметр активності використовували значення V – добовий об’єм сечі щурів з водним навантаженням ($\mathbf{V} = \boldsymbol{a}\text{-}\boldsymbol{X}_1 + \boldsymbol{b}\text{-}\boldsymbol{X}_2 + \boldsymbol{c}\text{-}\boldsymbol{X}_3 + \boldsymbol{d}$).

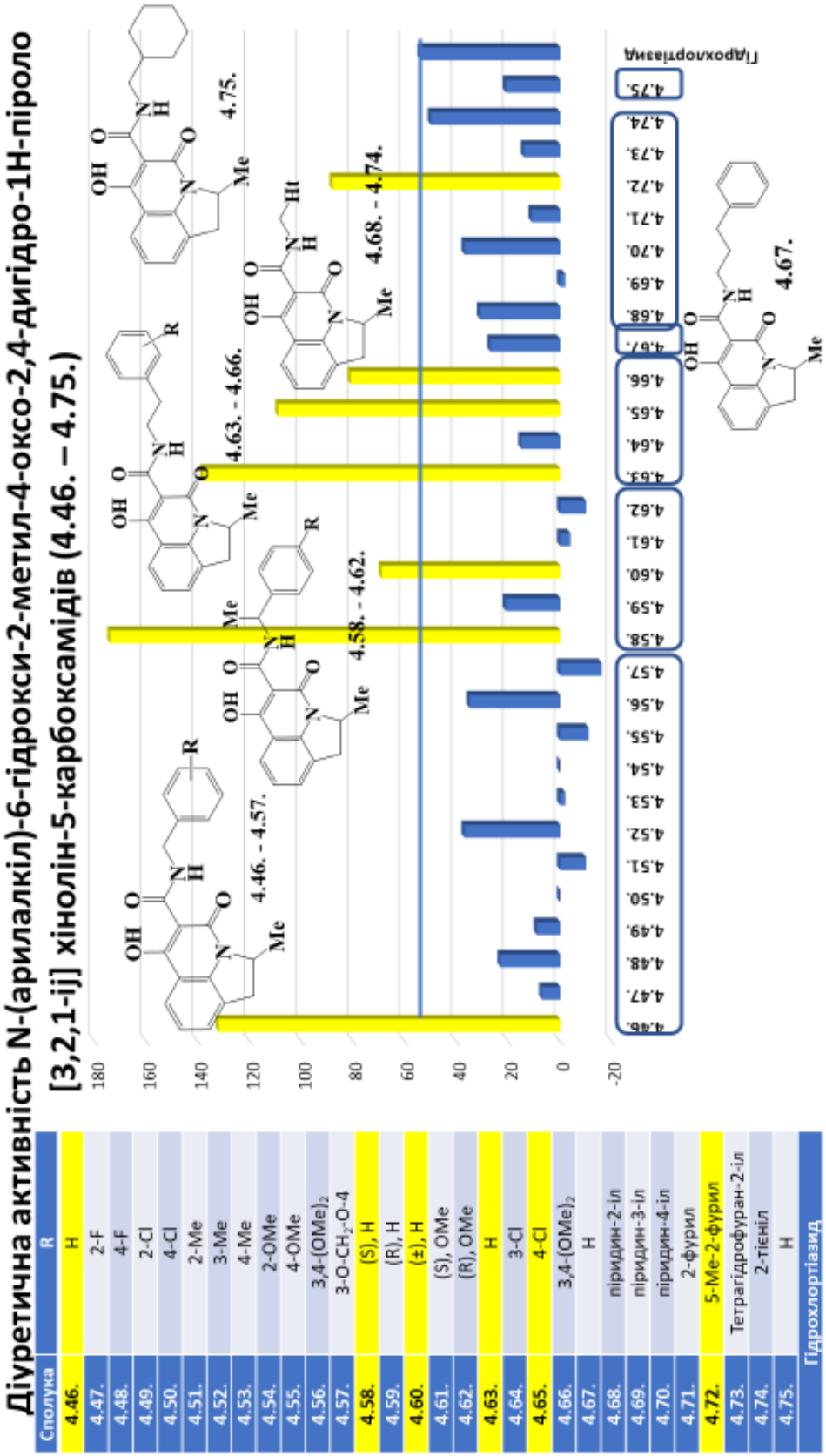


Рис. 10 Діуретична активність, % щодо контролю N-(арилалкіл)-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів **4.46** – **4.75**

У результаті проведеного регресійного аналізу отримано одно-, дво- та трипараметричні статистично вірогідні QSAR-моделі залежності діуретичної дії синтезованих сполук від структурних характеристик їхніх молекул (табл. 1).

Таблиця 1

QSAR-моделі: $V = a\text{-}X_1 + b\text{-}X_2 + c\text{-}X_3 + d$

Модель	*A*	X_1	*b*	X_2	*c*	X_3	*d*
1a	-0.035	S	□	□	□	□	42.643
1б	-0.059	V	□	□	□	□	28.591
2a	-0.545	P	51.429	RDF140*p*	□	□	1545.962
2b	0.010	BE	52.421	Mor05u	□	□	1536.107
2c	-0.056	V	37.113	HOMO	□	□	1432.321
3a	46.320	R	0.512	CCI	132.781	RDF025u	809.120
3b	-0.513	EH	-0.106	S	131.432	HOMO	1304.123
3c	0.618	logP	-0.823	R	145.417	RDF140*p*	1523.015
3d	2.342	logP	-0.071	V	131.545	Mor05u	1231. 878
3e	-0.085	S	0.984	D	145.307	HOMO	1213.293
3f	-0.709	R	54.453	RDF140*p*	163.634	Mor06u	1521.406
3g	-0.087	S	-0.878	RDF140*p*	129.504	HOMO	1298.603
3h	-0.085	S	154.029	H7v	123.622	RDF140*p*	1239.198
3i	-0.056	V	1.876	CCI	138.148	HOMO	1267.251

З’ясовано, що найбільший вплив на прояв сполуками діуретичної активності мають їхні енергетичні характеристики, а саме: енергія вищої зайнятої молекулярної орбіталі (HOMO), енергія міжядерних взаємодій (CCI), енергія зв'язків у молекулі (BE) та енергія гідратації (EH). Активність сполук досліджуваних рядів залежить також від значень рефрактивності (R), поляризованості (P), ліпофільності (logP) та об’єму і площі молекули (V, S).

Серед 3D дескрипторів діуретична активність найбільшою мірою визначається значеннями RDF-дескрипторів (RDF025uRDF140*p*– радіальна функція розподілу, величина, яка характеризує просторове розташування атомів у молекулі в межах певного визначеного сферичного радіуса та може бути інтерпретована як імовірність перебування атома у сферичному об’ємі з певним радіусом). Отримані QSAR-моделі можуть бути використані для віртуального скринінгу та розв’язання практичних завдань оптимізації хімічних структур.

Відібрані моделі аналізували за такими статистичними параметрами: значення коефіцієнта кореляції (r), величина стандартного відхилення (s), сума квадратів похибки прогнозування (SPRESS), коефіцієнт Фішера (F), коефіцієнт крос-валідації (Q^2). Одержані QSAR-моделі характеризуються високим рівнем статистичної якості та прогнозувальної здатності (табл. 2).

Валідацію моделей здійснювали з метою підтвердження прогнозувальної здатності. Перехресну валідацію проводили методом ковзного контролю «*leave-one-out*».

Для всіх дво- та трипараметричних моделей визначено показник коефіцієнта перехресної оцінки Q2 у межах 0,785-0,874. Враховуючи всі дані,

одержані під час валідації моделей, виявили найбільш інформативну двопараметричну QSAR-модель **3a**.

Таблиця 2

Статистичні характеристики QSAR-моделей

Модель	*R*	*s*	*F*	Q^2	*SPRESS*	*p*
1a	0.653	1.215	13.017	0.353	2.669	< 0,0001
1b	0.627	1.508	11.220	0.335	2.980	< 0,0001
2a	0.793	0,026	39,586	0,765	6,103	< 0,0001
2b	0.793	0.360	31.024	0.874	0.627	< 0,0001
2c	0.791	0.396	26.818	0.867	0.698	< 0,0001
3a	0.796	0.403	31.287	0.871	0.696	< 0,0001
3b	0.794	0.355	32.087	0.872	0.689	< 0,0001
3c	0.793	0.386	35.286	0.868	0.735	< 0,0001
3d	0.792	0.432	44.897	0.862	0.794	< 0,0001
3e	0.784	0.455	22.402	0.770	0.712	< 0,0001
3f	0.761	0.375	39.547	0.880	0.577	< 0,0001
3g	0.755	0.542	47.225	0.872	0.681	< 0,0001
3h	0.754	0.346	28.194	0.872	0.678	< 0,0001
3i	0.754	0.352	45.897	0.871	0.711	< 0,0001

Графічне порівняння величин прогнозованої активності та експериментальної активності для моделі **3a** наведено на рис.11.

QSAR-модель (3.a)

Vc= 46,32 (±30.641)R + 0,512 CCI(±0.178) + 132,781(±19.075)RDF 025u ± 809.120

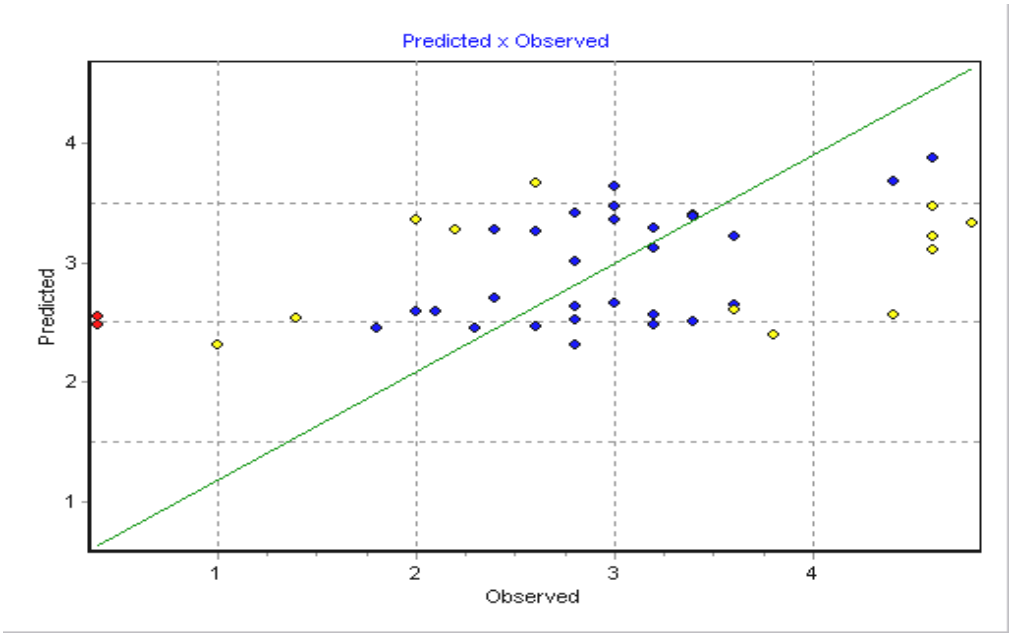


Рис. 11 Залежність прогнозованої та експериментальної діуретичної активності для QSAR-моделі **3a.**

Одержані QSAR-моделі можуть бути використані для прогнозування та окреслення основних напрямків подальшого раціонального дизайну потенційних БАР діуретичної дії.

Наступним етапом дисертаційної роботи стали додаткові поглиблені *in silico* дослідження лікоподібності, фармакокінетичного профілю та токсичності «сполук-лідерів» **4.21** і **4.46**. Дослідження *in silico* дозволило виявити найбільш потенційно ефективні сполуки з діуретичною активністю шляхом прогнозування їх фармакокінетичних властивостей із використанням програмного забезпечення pkCSM.

Результати свідчать, що сполука **4.46** має переваги над сполукою **4.21** за показником адсорбції та вірогідною здатністю метаболізуватися ферментом цитохром P450.

За показниками об'єму розподілу, загального кліренсу, здатністю проходити через гематоенцефалічний бар'єр шляхом пасивної дифузії обидві сполуки мають близькі за значеннями сприятливі характеристики.

За даними досліджень прогнозу канцерогенності в Тесті Еймса обидві сполуки є не токсичними. Результати розрахунків прогнозування гострої токсичності за різних шляхів уведення «сполук-кандидатів» за допомогою програми GUSAR-*online* засвідчили, що в разі перорального введення сполука **4.46** має суттєві переваги над сполукою **4.21** (прогнозована токсичність нижча майже в 1000 разів).

Узагальнення та аналіз одержаних результатів дослідження дозволили створити підґрунтя для подальшого вивчення сполуки N-бензил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду **4.46**.

Розроблено методи ідентифікації N-бензил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду з використанням хімічних реакцій та фізико-хімічних методів аналізу – ІЧ- (рис.12), УФ-спектроскопії (рис.13), спектроскопії ^{1}Н-ЯМР та тонкошарової хроматографії.

Для визначення сторонніх домішок у субстанції рекомендовано метод тонкошарової хроматографії з внутрішнім нормуванням. Визначено, що вміст супутніх домішок складає близько 2,0%.

Розроблено методику кількісного визначення субстанції на основі сполуки **4.46** шляхом кислотно-основного титрування в неводному середовищі з потенціометричним фіксуванням кінцевої точки титрування; проведено процедуру валідації методики кількісного визначення.

Опрацьовані методики внесено до проєкту МКЯ на субстанцію сполуки-лідера, а також запропоновано для впровадження у виробництво.

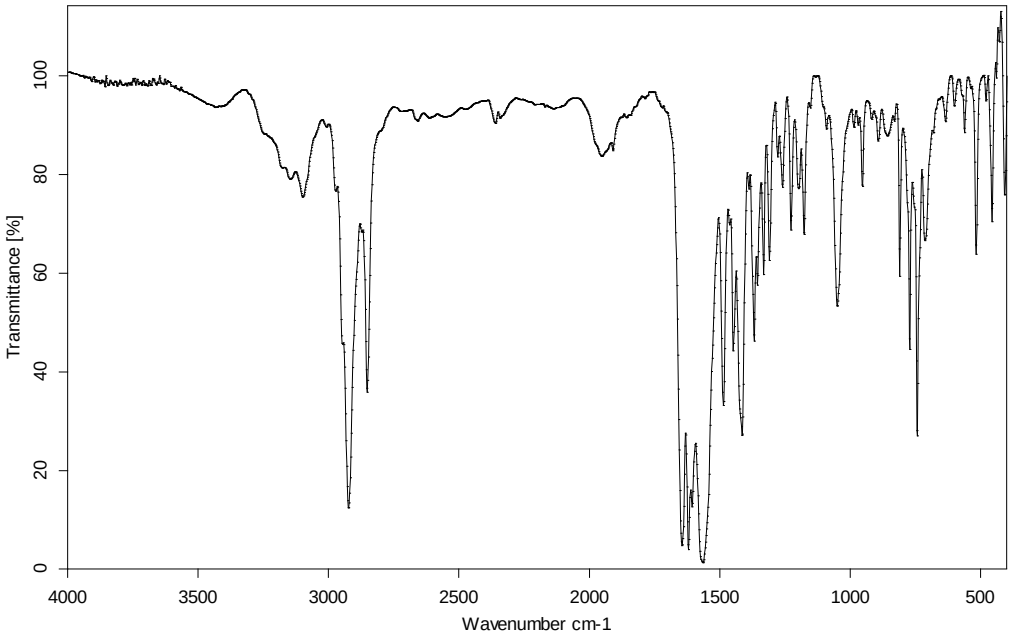


Рис. 12 ІЧ-спектр поглинання N-бензил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду в дисках з калій бромідом

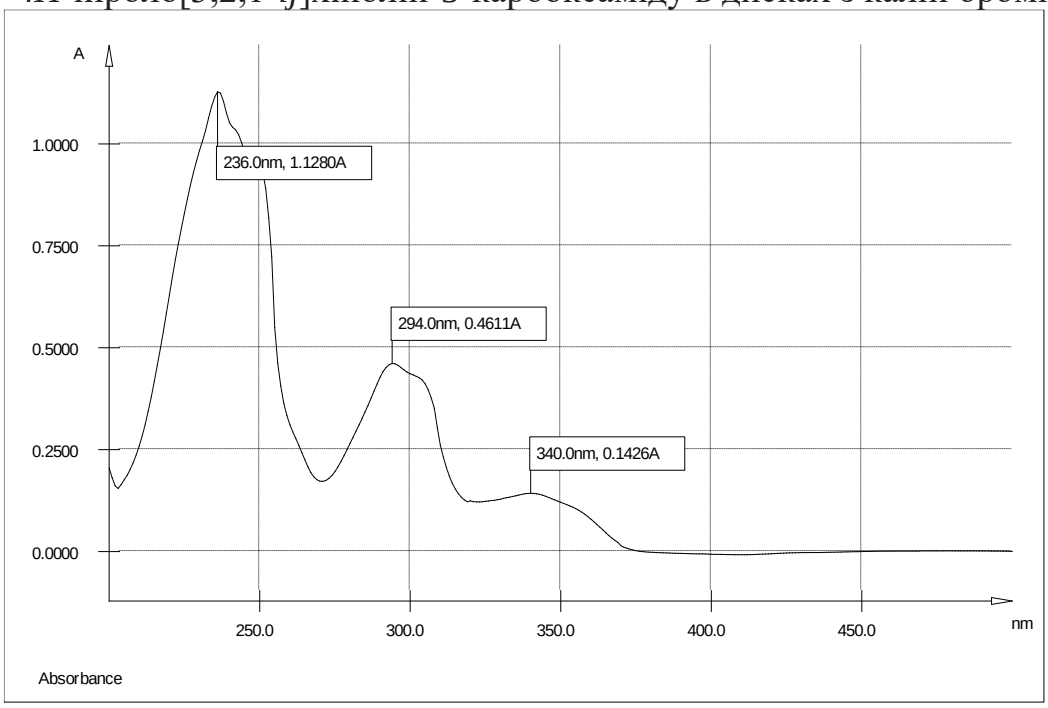


Рис. 13 УФ-спектр поглинання 0,001% метанольного розчину N-бензил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше наведено теоретичне й експериментальне узагальнення даних для цілеспрямованого конструювання біологічно активних сполук у ряду 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот із діуретичною активністю. Виявлено закономірності залежності «структура –

діуретична дія» та запропоновано нову перспективну сполуку для доклінічних досліджень.

1. Опрацьовано синтез етилових естерів 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот шляхом активації моноетилмалонату N,N'–дициклогексилкарбодіімідом у реакціях ацилювання ароматичних амінів. Запропонований метод має переваги над наявними сьогодні методами за виходами й показниками чистоти цільових етилових естерів хінолін-3-карбонових кислот.

2. Для модифікації структури-лідера в біциклічну хімічну структуру здійснено синтез серій бензил- та арилалкіламідів 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот та 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолінових похідних як потенційних біоізостерних аналогів.

3. Адаптовано під промислове виробництво варіант проведення синтезу етилових естерів 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Відповідно до принципів «зеленої хімії» вдалося відмовитись від використання потенційно небезпечних для навколишнього середовища розчинників і скоротити втрати напівпродуктів синтезу.

4. Уперше синтезовано та вивчено будову амідованих похідних 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти. Вивчено вплив синтезованих сполук на прояв діуретичної активності.

5. Досліджено реакцію бромування естеру 7-гідроксі-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти. Запропоновано можливий механізм реакції, експериментально доведено й теоретично обґрунтовано доцільність модифікації: поява атома брому в положенні 9 піридохінолонового ядра зумовлює зростання діуретичних властивостей синтезованих сполук у 2-3 рази.

6. Конденсацією 2-метиліндоліну з триетилметантрикарбоксилатом одержано етиловий естер 6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбонової кислоти, на його основі синтезовано систематичні ряди функційних похідних, визначено оптимальні умови синтезу. Вивчено фізико-хімічні та фармакологічні властивості хіральних 1-фенілетиламідів.

7. Хімічну будову синтезованих речовин підтверджено елементним аналізом, даними спектроскопії ЯМР ^{1}H і ^{13}C, мас- та хромато-мас-спектрометрії, УФ- та ІЧ-спектроскопії, а в окремих випадках – рентгеноструктурним аналізом. Обґрунтовано сучасні фізико-хімічні методи для контролю якості перспективних субстанцій.

8. Проведено фармакологічний скринінг синтезованих похідних 2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот щодо діуретичної активності. Уперше проаналізовано кількісну залежність структурно-біологічних закономірностей та визначено молекулярні фрагменти, які впливають на діуретичну активність амідів хінолонкарбонових кислот.

9. Проведено SAR- та QSAR-аналіз й отримано одно-, дво- та трипараметричні лінійні QSAR-моделі залежності діуретичної активності від дескрипторів різних класів. Сформовано елементи теоретичної платформи для раціонального дизайну сполук діуретичної дії на основі похідних 4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот та їх структурних аналогів.

10. За результатами фармакологічного тестування для поглиблених досліджень рекомендовано N-бензил-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамід **4.46**, що є більш активною проти гіпотіазиду та практично не токсичною сполукою. Здійснено дослідження зі стандартизації цієї субстанції, запропоновано методики ідентифікації, визначення супутніх домішок та кількісного вмісту основної речовини. Розроблено проєкт МКЯ, на основі якого підготовлено фармакопейну статтю.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Андреева К. В., Горохова О. В. 4-гидроксихинолоны-2. 194*. Алкиламиды 1-гидрокси-3-оксо-6,7-дигидро-3*H*,5*H*-пиридо-[3,2,1-*ij*]хинолин-2-карбоновой кислоты. Синтез, строение и биологические свойства. Химия гетероциклических соединений. 2010. Т. 12., С.1806-1815. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
2. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Шемчук А. Л., Набока О. И., Воронина Ю. В., Туров А. В. 4-гидроксихинолоны-2. 197*. Поиск новых диуретиков в ряду галогензамещенных анилидов 1-гидрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигидро-3*H*-пирроло-[3,2,1-*ij*]хинолин-2-карбоновой кислоты. Химия гетероциклических соединений. 2011. Т.7., С.1009-1017. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
3. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Бевз О. В., Горохова О. В. 4-гидроксихинолоны-2. 199*. Использование N,N'-дициклогексилкарбодиимида в синтезе этиловых эфиров 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот. Химия гетероциклических соединений. 2011. Т.7., С.1018-1023. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
4. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Шемчук А. Л., Кравченко В. Н. 4-гидроксихинолоны-2. 201*. Синтез, строение и диуретическая активность гидрокси- и алкоксианилидов 1-гидрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигидро-3*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-карбоновой кислоты. Химия гетероциклических соединений. 2011. Т.9., С.1364-1371. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*

5. Голік М. Ю., Українець І. В., Кравченко В. М., Колісни О. В. Синтез та біологічні властивості бензиламідів 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Вісник фармації. №1 (65). 2011., Харків, НФаУ. С. 33-37. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
6. Голік М. Ю., Українець І. В., Кравченко В. М., Алексєєва Т. В. Арилалкіламіди 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти. Синтез та діуретична активність. Вісник фармації №4(68) 2011., Харків, НФаУ. С.35-38. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті*).
7. Українець І. В., Голік М. Ю., Кравченко В. М., Паршиков В. О. Арилалкіламіди 1-R-4-гідроксі-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Синтез та біологічна активність. Медична хімія – 2011. – Т. 13, №1(46). – С.82-87. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
8. Голік М. Ю., Українець І. В., Кравченко В. М., Петрушова Л. О. Синтез та діуретична дія алкіламідів 4-гідроксі-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагідрохінолін-3-карбонової кислоти. Медична хімія – 2012. – Том 14, №2. – С. 35-38. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
9. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Гриненко В. В. Кристаллические модификации пара-метоксианилида 6-гидрокси-4-оксо-2,4-дигидро-1*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-5-карбоновой кислоты – гемисольват с диоксаном. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2012. – Т.10., вип.3 (39) – С.77-80. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
10. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Черненок И. Н., Шишкина С. В., Паршиков В. А. 4-Гидроксихинолоны-2. 220. Бромирование этилового эфира 7-гидрокси-5-оксо-2,3-дигидро-1*H*,5*H*-пиридо[3,2,1-*ij*]хинолин-6-карбоновой кислоты. Химия гетероциклических соединений. 2012. Т.11., С.1780-1785. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
11. Ukrainets I. V., Chernenok I. N., Golik N. Yu., Kravchenko V. N. Halogen substitution anilides of 7-hydroxy-5-oxo-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido [3,2,1-*ij*]quinoline-6-carboxylic acid as an attempt of optimization of quinolone diuretics by “me-too” method. International Journal of Pharmacy and Pharmacology -2012 - Vol. 1 (2) pp. 19-24. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
12. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Черненок И. Н., Паршиков В. А. Модификация карбоксильной группы как метод усиления диуретических свойств 2-карбоксианилида 7-гидрокси-5-оксо-2,3-дигидро-1*H*,5*H*-

пиридо[3,2,1-*ij*]хинолин-6-карбоновой кислоты. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2013. – Т. 11, вип. 4 (44). – С. 77-82. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*

13. Ukrainets I. V., Gorokhova O. V., Andreeva X. V., Golik N. Yu. "Green" synthesis of ethyl 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates. Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry. – 2013. – Vol. 11, Iss. 3 (43) – P.32-35. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
14. Ukrainets I. V., Golik M. Yu., Shemchuk O. L., Kravchenko V. M. Synthesis and diuretic properties of N-aryl-6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxamides with electron-acceptor substituents in the anilide fragment. Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry. – 2013. – Vol. 11, Iss. 3 (43) – P.16-21. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
15. Українець І. В., Голік М. Ю., Черненок І. М., Алексєєва Т. В. Синтез та діуретична активність арилалкіламідів 7-гідрокси-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5Н-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2013. – Т. 11. – Вип. 1(41). – С. 61-65. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
16. Rybakov V. B., Shishkina S. V., Ukrainets I. V., Golik N. Yu., Chernenok I. N. 6-Ethoxycarbonyl-5,7-dihydroxy-2,3-dihydro-1*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinolinium tribromide. Acta Cryst. (2013). E69, o82. *(Особистий внесок: узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
17. Украинец И. В., Голик Н. Ю., Черненок И. Н. 4-гидроксихинолоны-2. 233. Синтез и диуретическая активность анилидов 9-бром-7-гидрокси-5-оксо-2,3-дигидро-1*H*,5*H*-пиридо[3,2,1-*ij*]хинолин-6-карбоновой кислоты. Химия гетероциклических соединений. 2013. Т.9., С. 1420-1427. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
18. Ukrainets I. V., Sidorenko L. V., Golik M. Y, Chernenok I. M., Grinevich L. A., Davidenko A. A. N-Aryl-7-hydroxy-5-oxo-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido-[3,2,1-*ij*]quinoline-6-carboxamides. The Synthesis and Effects on Urinary Output. Scientia Pharmarmaceutica. 2018, 86, 12. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*
19. Ukrainets I. V., Golik M. Y., Sidorenko L. V., Korniyenko V. I., Grinevich L. A., Sim G., Kryvanych O. V. The Study of the Structure-Diuretic Activity Relationship in a Series of New N-(Arylalkyl)-6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo-[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxamides. Scientia

Pharmarmaceutica. 2018, 86, 31. *(Особистий внесок: узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*

20. Українець І. В., Шемчук О. Л., Голік М. Ю., Набока О. І., Вороніна Ю. В. Патент на винахід, Україна №97750, МПК C07D 215/22, A61K 31/47, A61P 7/10. Аніліди 1-гідрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигідро-3*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-2-карбонової кислоти, які виявляють діуретичну активність; опубл. 12.03.2012, Бюл.№5. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, участь у підготовленні патенту).*
21. Українець І. В., Голік М. Ю., Кравченко В. М. Патент на винахід №98869, Україна. МПК C07D 215/22, A61K 31/47 A61P 7/10. Ариламіди 1-гідроксі-3-оксо-6,7-дигідро-3*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-2-карбонової кислоти, які виявляють діуретичну активність; опубл. 25.06.2012. Бюл. №12. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, участь у підготовленні патенту).*
22. Українець І. В., Голік М. Ю., Сидоренко Л. В., Кравченко В. М. Патент на винахід №122364, Україна. МПК C07D 215/22, A61K 31/47 A61P 7/10. N-арилалкіл-6-гідрокси-2-метил-4-оксо-2,4-дигідро-1*H*-піроло[3,2,1-*ij*] хінолін-5-карбоксаміди, які виявляють діуретичну активність; опубл. 26.10.2020. Бюл. №20. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, участь у підготовленні патенту).*

За результатами проведених досліджень у період 2010-2019 рр. опубліковано ще 12 тез доповідей на наукових конференціях різного рівня, з бібліографічним описом яких можна ознайомитись у дисертаційній роботі.

АНОТАЦІЯ

Голік М. Ю. Створення нових діуретиків на основі похідних хінолону-2. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

Робота присвячена цілеспрямованому синтезу нових сполук з використанням різних методик хімічної модифікації на основі сполук-лідерів – 6-гідрокси-N-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду під умовною назвою «Хімопірон» та 6-гідроксі-N-(4-метоксібензіл)-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксаміду, які були створені науковцями Національного фармацевтичного університету. Проаналізовано особливості використання N,N'-дициклогексилкарбодііміду у синтезі етилових естерів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Розроблено і адаптовано під промислове виробництво варіант синтезу етилових естерів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Опрацьовани методики синтезу функціональних похідних 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот з використанням доступних

реагентів. Досліджена реакція бромування естеру 7-гідрокси-5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти. Проведен фармакологічний скринінг одержаних похідних 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот та встановлена закономірність зв'язку «хімічна структура – діуретична активність» у ряду синтезованих речовин, спрогнозовани молекулярні фрагменти, які визначають діуретичну активність одержаних сполук, проведен SAR та QSAR аналізи. Рекомендована перспективна сполука-лідер для доклінічних досліджень. Розроблен проект аналітичної документаціїї МКЯ на структуру-лідер.

Ключові слова: хінолон-2, аміни, амідування, діуретична активність, QSAR аналіз

АННОТАЦИЯ

Голик Н. Ю. Создание новых диуретиков на основе производных хинолона-2. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2021.

Робота посвящена целенаправленному синтезу новых соединений с использованием различных методик химической модификации на основе соединений-лидеров – 6-гидрокси-N-(4-метоксифенил)-4-оксо-1,2-дигидро-4*H*-пирроло-[3,2,1-*ij*]хиинолин-5-карбоксамида под условным названием «Химопирон» и 6-гидрокси-N-(4-метоксибензил)-4-оксо-1,2-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-5-карбоксамида, которые были созданы сотрудниками Национального фармацевтического университета. Проанализированы особенности использования N,N'-дициклогексилкарбодиимида в синтезе этиловых эстеров 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот. Разработан и адаптирован под промышленное производство вариант синтеза этиловых эстеров 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот. Обработаны методики синтеза функциональных производных 1-R-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот с использованием доступных реагентов. Исследована реакция бромирования эстера 7-гидрокси-5-оксо-2,3-дигидро-1*H*,5*H*-пиридо[3,2,1-*ij*]хинолин-6-карбоновой кислоты. Проведен фармакологический скрининг полученных производных 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот. Установлена закономерность связи «химическая структура – диуретическая активность» в ряду синтезированных соединений, спрогнозированы молекулярные фрагменты, которые отвечают за диуретическую активность, проведен SAR и QSAR анализы. Рекомендовано перспективное соединение-лидер для доклинических исследований. Разработан проект аналитической документации МКЯ для соединения-лидера.

Ключевые слова: хинолон-2, амны, амидирование, диуретическая активность, QSAR анализ.

ANNOTATION

Golik M.Yu. Creation of new diuretics based on quinolone-2 derivatives. - – Qualifying scientific work manuscript copyright.

The thesis for Doctor of sciences in Pharmacy degree, speciality 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

Detection of diuretic properties of 4-R-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides and determination as leader structures of 6-hydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-4-oxo-1,2-dihydro-4*H*-pyrrolo-[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxamide under the conditional name " Himopiron " and 6-hydroxy-N-(4-methoxybenzyl)-4-oxo-1,2-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxamide, which were developed by scientists at the National University of Pharmacy, became the basis for the modification of these structures in order to further in-depth study of quinoline derivatives as bases for compounds capable of enhancing diuretic activity and thus protecting intellectual property of these leading structures. To modify the leader structures into a simpler bicyclic chemical structure, 1-R-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbon and 4-hydroxy-2-oxo-1,2,5,6,7,8-hexahydroquinoline-3-carboxylic acids derivatives were synthesized. The peculiarities of the application of N,N'-dicyclohexylcarbodiimide in the synthesis of ethyl esters of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids were analyzed. Elemental analysis and spectroscopy NMR ^{1}H were used to prove the chemical structure of all synthesized of compounds, which made it possible to easily identify proton-containing functional groups.

In order to identify new compounds of interest as a basis for the development of therapeutically suitable diuretics and to optimize the previously described diuretics containing a pyrroloquinolone heterocyclic system in their structure, it has been suggested that should cause a conformational rearrangement of the base molecule, which, in turn, can cause changes in pharmacological properties. The principles of creating "me-too-drugs" were applied. To solve this problem, a variant for the synthesis of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl esters was developed and adapted for industrial production. Environmentally friendly intermediates and solvents were used. This method made it possible for the first time to obtain final compounds with high yields and purity within a few minutes at equimolar ratios of reagents. To identify structural and biological patterns in a number of studied quinolone derivatives as potential diuretics, bromination of 7-hydroxy-5-oxo-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoline- 6-carboxylic acid. Synthesis of 9-bromo-7-hydroxy-5-oxo-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoline-6-carboxylic acid ester convincingly showed that the main factor in

obtaining the target products is the presence or absence of water in the reaction mixture.

High diuretic activity, low toxicity, no side effects and, most interestingly, the ability to inhibit aldosterone production, have been found in joint leaders. As a result of the above and using the principles of "me-too" technology, methylated analogues of the above pyrroloquinolines were included in the scope of research to find new diuretics. For the first time, a series of new 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-2,4-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxamides was obtained. The chemical structure of the synthesized substances was confirmed by elemental analysis, ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopy data, mass and chromato-mass spectrometry, UV and IR spectroscopy, and in some cases by X-ray diffraction analysis. Modern physicochemical methods for quality control of promising substances are substantiated. Comparative analysis of biological studies allows us to conclude that the transition from tricyclic pyrrolo- and pyridoquinolines to bicyclic quinolones is accompanied by a decline in diuretic properties. Our structure-action (SAR) analysis showed that pyrroloquinolines are a more promising group for further study. In this group, a larger number of promising substances and higher activity rates compared with pyridoquinolines. We also found pharmacophore fragments that steadily increase diuresis. Summing up the comprehensive studies of the most promising leader compound - N-benzyl-6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-1,2-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-5-carboxamide, a study on the standardization of this substance, namely, proposed methods of identification, substantiated the presence of concomitant impurities and developed methods for their determination, developed a method of quantitative determination using acid-base titration in non-aqueous solvents with potentiometric fixation of the end-point of titration, validation procedure The developed methods are included in the MCQ project.

Key words: quinolone-2, amines, amidation reaction, diuretic activity, QSAR analysis

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

δ –	хімічний зсув щодо тетраметилсилану ($\delta_{тмс} = 0$)
Allyl –	алільний залишок
Am –	амільний (*н*-пенильний) залишок
***i*-Am –**	*ізо*-амільний (ізопентильний) залишок
Bn –	бензильний залишок
***i*-Bu** –	*ізо*-бутильний залишок
***n*-Bu** або **Bu –**	*н*-бутильний залишок
***sec*-Bu**	*втор*-бутильний залишок
DCC –	1,3-дициклогексилкарбодіімід
Et –	етильний залишок
Me –	метильний залишок
Ph –	фенільний залишок
Pr –	*н*-пропільний залишок
***i*-Pr** –	*ізо*-пропільний залишок
QSAR –	Quantitative Structure-Activity Relationships
R –	залишок органічної сполуки
SAR –	Structure-Activity Relationships
БАР –	біологічно активна речовина
ВЕРХ –	високоефективна рідинна хроматографія
ДМСО –	диметилсульфоксид
ДМСО-d_6 –	дейтерований диметилсульфоксид
ДМФА –	диметилформамід
ІЧ –	інфрачервона спектроскопія
КССВ (J) –	константа спін-спінової взаємодії (Гц)
м.ч. –	мільйонні частки
РСД –	рентгеноструктурне дослідження
ТМС –	тетраметилсилан
ЯМР –	ядерний магнітний резонанс