

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ ІМ. В. П. КУХАРЯ

Карпенко Юрій Вікторович

УДК 547.835:547.271:542.913(043.3)

**Синтез і властивості нових
10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів**

02.00.10 – біоорганічна хімія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата хімічних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі хімії у Запорізькому національному університеті Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
ОМЕЛЬЯНЧИК Людмила Олександрівна,
Запорізький національний університет,
декан біологічного факультету ЗНУ,
професор кафедри хімії

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор,
БРОВАРЕЦЬ Володимир Сергійович
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії
ім. В. П. Кухаря НАН України,
завідувач відділу хімії біоактивних азотовмісних
гетероциклічних основ, заступник директора
з наукової роботи

доктор хімічних наук, професор
АЛЕКСАНДРОВА Катерина В'ячеславівна,
Запорізький державний медичний університет,
завідувач кафедри біологічної хімії

Захист дисертації відбудеться « 07 » червня 2019 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.220.01 в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України за адресою 02094, м. Київ-94, вул. Мурманська, 1

З дисертацією можна ознайомитись в науковій бібліотеці Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України

Автореферат розісланий « 02 » травня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.220.01

В. О. Євдокименко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. У літературі є недостатньо інформації щодо синтезу похідних 10-метилакридин-9(10*H*)-ону, що містять п'ятичленний азотовмісний гетероциклічний фрагмент, в той же час є достатня кількість прикладів, які демонструють синтетичний і біологічний потенціал для сполук подібної структури. Об'єднання в одній молекулі двох фармакофорних фрагментів – акридинового й азольного гетероциклів, зв'язаних метиленовим містком, може привести до одержання сполук, що проявляють широкий спектр біологічної активності.

Актуальність дослідження похідних 1,3,4-оксадіазолів з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом обумовлена синтезом потенційних низькомолекулярних індукторів інтерферону та протипухлинних агентів, пошуком молекулярних дескрипторів їх структури, важливих для встановлення закономірностей «структура – біологічна активність». Зазначена стратегія є досить ефективною з огляду можливості синтезу комбінаторних бібліотек азагетероциклів для подальшого скринінгу їх біологічної дії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького національного університету за темою, що фінансується з державного бюджету України «Створення біологічно активних речовин на основі S-заміщених ендогенних сульфуровмісних сполук» (№ 0115U000763) у рамках пріоритетного наукового напрямку «Створення нових та удосконалення існуючих фармакологічних і косметичних засобів та визначення механізмів їх дії. Розроблення нових методів тестування активності речовин на молекулярному, субклітинному та клітинному рівнях».

Мета і завдання дослідження. Метою даної роботи є синтез нових 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів та їх похідних, спрямована структурна модифікація за двома положеннями акридин-9(10*H*)-ону та 1,3,4-оксадіазолу, вивчення фізико-хімічних властивостей та пошук серед них ефективних біологічно активних речовин.

Для досягнення мети вирішувались наступні завдання:

- провести комп'ютерний прогноз біологічної активності 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів та їх похідних, створити комбінаторну бібліотеку та здійснити цілеспрямований синтез нових малотоксичних і високоефективних молекул;
- дослідити реакції *N*-заміщених акридин-9(10*H*)-ону та 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів, що мають гетероциклічні замісники (утворення *N,N'*-діацилгідразинів з наступною гетероциклізацією, конденсація з карбон дисульфідом), дослідити вплив різних розчинників на реакцію ацилювання та циклодегідратууючих агентів, встановити за допомогою спектральних методів аналізу напрями та обмеження їх перебігу, як шлях спрямованого синтезу нових біологічно активних речовин (БАР);
- на основі реакції гідразидів 2-(2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)ацетатної кислоти з карбон дисульфідом запропонувати методи синтезу нових гібридів

акридин-9(10*H*)-ону та 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіону, функціоналізувати та хімічно модифікувати фрагменти 1,3,4-оксадіазолу по другому положенню, що надає необмежені можливості в синтезі БАР, дослідити їх тіон-тіольну таутомерію у розчинниках з різною діелектричною проникністю за допомогою УФ-спектроскопії;

- провести люмінесцентний аналіз новосинтезованих сполук та зафіксувати його характеристики (максимуми в спектрах абсорбції і люмінесценції, квантовий вихід, зсув Стокса);
- визначити ліпофільність сполук за допомогою розподілення речовини у бінарній системі *n*-октанол/вода та різними видами хроматографії;
- дослідити для синтезованих сполук гостру токсичність, антибактеріальну, діуретичну активність *in vitro*, а також афінність сполук до ДНК;
- на основі одержаних результатів провести кореляційний аналіз «структура-біологічна дія» та виділити високоактивні сполуки для їх подальшої оптимізації, поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних молекул.

Об'єкт дослідження : методи синтезу, дослідження реакційної здатності, фізико-хімічні та біологічні властивості у ряді 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів та продуктів їх хімічних перетворень.

Предмет дослідження : синтез нових високоефективних та малотоксичних похідних нових гібридів 1,3,4-оксадіазолу з акридин-10(9*H*)-оновим фрагментом, хімічні перетворення за їх участю; біологічний скринінг синтезованих сполук.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи використані хімічні методи (реакції ацилювання, алкілування, естерифікації, переестерифікації, нейтралізації, гідразінолізу, циклізації), фізико-хімічні методи (елементний аналіз, УФ-, ІЧ-, ¹H та ¹³C ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, люмінесцентний аналіз, хроматографічні методи, визначення ліпофільності), біологічні методи (гостра токсичність, вивчення протимікробної, діуретичної активності, афінність сполук до геномної ДНК), методи математичної статистики.

Наукова новизна отриманих результатів. Досліджено реакції гідразидів 2-(2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)ацетатної кислоти з хлорангідрідами карбонових кислот і з подальшою їх гетероциклізацією, карбон дисульфідом, метановою кислотою, триетилформіатом та вперше синтезовано невідомі 1,2-діацилгідразини (етил 2-(2-(2-(2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)ацетил)гідразиніл)-2-оксоацетати, метил 4-оксо-4-(2-(2-(2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)ацетил)гідразиніл)бутаноати) з наступною гетероциклізацією, 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)-2-*R*-акридин-9(10*H*)-они, 10-((5-тіоксо-4,5-дигідро-1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)-2-*R*-акридин-9(10*H*)-они та їх тіо похідні, для яких вивчено їх фізико-хімічні та біологічні властивості.

- вперше отримано результати кінетичних досліджень реакції рідкофазного гідразінолізу бутилових естерів 2-(2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)ацетатних кислот, які дозволили встановити механізм реакції;

- вперше одержано серію нових похідних 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів на основі реакції 2-(2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)ацетогідразидів з хлороангідрідами карбонових кислот при подальшій

гетероциклізації, а також з карбон дисульфідом. Розроблено способи отримання вихідних функціональних 1,2-діацилгідразинів при варіюванні розчинників та третинної основи, а також умов їх циклодегідратації;

- вперше розроблено препаративні методи синтезу функціональних похідних по другому положенню 1,3,4-оксадіазольного фрагменту, а саме синтезовано кислоти, водорозчинні солі, естери, амідні реакціями ацилювання, алкілювання, естерифікації, переестерифікації та нейтралізації;

- досліджено тіон-тіольну таутомерію нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіонів з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом. Встановлено, що в нейтральних розчинах (вода, етанол, н-гексан) досліджувальні сполуки існують, переважно, у формі тіону, а у лужному (0,1М NaOH) та кислих розчинах (0,1М HCl і 1М H₂SO₄) проявляють в більшій мірі форму тіолу.

- вперше досліджено люмінесцентні характеристики синтезованих сполук та зафіксовано максимуми в спектрах абсорбції ($\lambda_{\text{погл.}}$) і люмінесценції. Запропоновано сполуки, як нові флуоресцентні барвники, зонди і мітчики, що придатні для застосування при вирішенні медико-біологічних завдань;

- вперше отримано результати щодо протимікробної, діуретичної активності, побудовані QSAR-моделі гострої токсичності нових 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів та їх похідних.

- досліджено для чотирьох сполук спорідненість до ДНК за допомогою спектрофотометричного титрування. Встановлено, що на всіх кривих УФ-спектрів наявна значна гіперхромність та легкий батохромний зсув при підвищенні концентрації ДНК, що свідчить про утворення складного комплексу «ліганд-ДНК». Розраховані значення константи зв'язування підтверджують високу аффіність нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіону з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом до нуклеїнових основ ДНК.

У процесі виконання роботи синтезовано 105 сполук (91 вперше), серед яких ідентифіковано речовини з високою афінністю до ДНК, низькою токсичністю та протимікробною і діуретичною активністю.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено препаративні методи синтезу та створена комбінаторна бібліотека нових 5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-карбонових кислот, 3-(5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)пропанових кислот, 2-((5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)ацетатних кислот, 2-((5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот та їх водорозчинних солей, естерів, амідів з високою афінністю до ДНК, низькою токсичністю та протимікробною і діуретичною активністю. Встановлено кореляції «структура-дія», побудовані QSAR-моделі для гострої токсичності та сформульовано ряд критеріїв для спрямованого пошуку БАР. Запропоновано сполуки (5.9, 5.31, 5.34), як нові флуоресцентні барвники, зонди і мітчики, що придатні для застосування при вирішенні медико-біологічних завдань.

Фрагменти роботи впроваджено в освітній процес кафедр Запорізького державного медичного університету, кафедр Національного фармацевтичного університету, кафедр біологічного факультету Запорізького національного

університету та в роботу клініко-діагностичної лабораторії СП «С/п Славутич» ДП «Прогресс» ім. академіка А.Г. Івченко.

Особистий внесок здобувача. Аналіз і систематизація літературних даних, синтетичні експериментальні дослідження виконані особисто автором. Постановка завдань, узагальнення отриманих результатів, формулювання основних положень та висновків здійснено спільно з науковим керівником.

У ході виконання дисертаційної роботи спільно з кафедрами токсикологічної і неорганічної хімії (зав. каф., д. фарм. н., проф. Панасенко О.І.), фізколоїдної хімії (зав. каф., д. фарм. н., проф. Каплаушенко А.Г.), клінічної фармації, фармакотерапії і управління та економіки фармації факультету післядипломної освіти (зав. каф., д. фарм. н., проф. Білай І.М.) Запорізького державного медичного університету та відділів органічної та біоорганічної хімії і органічних люмінофорів і барвників НТК «Інститут монокристалів» НАН України (м. Харків) реалізовано виконання та узагальнення результатів фізико-хімічних методів аналізу та результатів вивчення біологічної активності.

Результати власних експериментальних досліджень висвітлено у наукових працях, опублікованих у співавторстві. Співавторами наукових праць є науковий керівник, а також науковці, разом з якими проводились спільні дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися на IV, V Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 2015, 2017); VII, VIII інтернаціональній конференції «Chemistry of nitrogen containing heterocycles CNCH-2015, 2018» (Харків, 2015, 2018); VI, VII Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук» (Запоріжжя, 2015, 2018); XXIV Українській конференції з органічної хімії (Полтава, 2016); LXXI Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2017» (Мінськ, 2017); VII Всеукраїнській конференції «Домбровські читання – 2017» (Яремче, 2017); I Міжнародній (XI Українській) науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2018)» (Вінниця, 2018); XI університетській науково-практичній конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Молода наука-2018» (Запоріжжя, 2018); Всеукраїнській науковій конференції «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (Житомир, 2018).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедри хімії та кафедр біологічного факультету Запорізького національного університету 16 січня 2019 року.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 19 наукових робіт, із них: 6 статей у наукових фахових виданнях України (4 статті включені до наукометричних баз Scopus та Web of Science, 2 статті до бази Index Copernicus) та 13 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 132 сторінках друкованого тексту (повний обсяг дисертації 223 сторінки) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, чотирьох експериментальних

розділів, висновків, списку використаних джерел, який включає 213 посилань. Робота ілюстрована 49 схемами, 25 рисунками та 41 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Синтез та біологічна активність *N*-заміщених похідних акридин-9(10*H*)-ону та 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів (огляд літератури)

Аналіз літературних джерел дав можливість зробити висновок, що *N*-заміщені похідні акридин-9(10*H*)-ону та 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів широко застосовуються з метою пошуку нових оригінальних біологічно активних сполук.

Серед гетероциклічних сполук акридин-9(10*H*)-он став важливою основою для розробки нових біологічно активних речовин з протипухлинною, противірусною, антибактеріальною, протималярійною, протигрибковою та протизапальною діями. З іншого боку, на сучасному етапі розвитку органічної хімії відомо немало основних синтетичних підходів до синтезу похідних 1,3,4-оксадіазолу, які проявляють високу біологічну активність: антибактеріальну, фунгіцидну, протизапальну, знеболюючу, гіпоглікемічну, протиракову, антигіпертензивну, протисудомну, гіпоглікемічну, протималярійну і багато інших.

Крім того, в літературній базі відсутні дані щодо методів синтезу і властивостей 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів. Систематизація та узагальнення літературних даних стосовно вищезгаданих гетероциклів сформулювали мету та задачі досліджень даної дисертаційної роботи.

Комп'ютерний прогноз біологічної активності серед 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів та їх похідних

Метою даного етапу дослідження є спрямований пошук у ряду 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів на основі раціонального дизайну, а саме структурної подібності до ряду інноваційних та відомих лікарських препаратів, прогнозування ймовірної біологічної дії з використанням методів комп'ютерного моделювання потенційних інтеркаляторів ДНК з низькою токсичністю та високою противірусною, антибактеріальною та фунгіцидною активністю. Комп'ютерний прогноз біологічної дії показав імовірність прояву протипухлинної, противірусної, антибактеріальної, діуретичної, імуностимулюючої та гіполіпімічної активності.

З метою пошуку потенційних інтеркаляторів та синтезу відповідних сполук нами була обрана класична методологія раціонального драг-дизайну (rational drug design) з застосуванням наступних фільтрів : ADME, Ліпінського.

Встановлено, що присутність 1,3,4-оксадіазолу в структурі тестованих сполук надзвичайно необхідна для зв'язування по відношенню до ДНК-полімерази і відповідно ДНК. Згідно з результатами моделювання, цей гетероцикл бере участь у формуванні водневих зв'язків з тирозиною ділянкою, а плоска молекула акридин-9(10*H*)-ону зв'язується з двома активними сайтами зв'язування даної полімерази.

Синтез і фізико-хімічні властивості 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів

Важливим аспектом функціоналізації та хімічної модифікації, при поєднанні двох гетероциклів, є пошук похідних по другому положенню 1,3,4-оксадіазольного фрагменту, що надає необмежені можливості в синтезі біологічно активних речовин. Отже, метою даного етапу дослідження було опрацювання методів синтезу нових гібридів акридин-9(10H)-ону з 1,3,4-оксадіазольним циклом, вивчення їх структурних особливостей.

На початку дослідження було проведено синтез 2-(2-R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)ацетогідразидів та дослідження кінетики рідкофазного гідразінолізу відповідних бутилових естерів (квантово-хімічним та експериментальним методом) для підбору оптимальних умов синтезу сполук, як вихідних прекурсорів для синтезу 1,3,4-оксадіазолів.

На рис. 1 наведені кінетичні криві рідкофазного гідразінолізу бутилових естерів 2-(2-R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)ацетатних кислот, отримані по даним витрачення гідразин-гідрату в реакції.

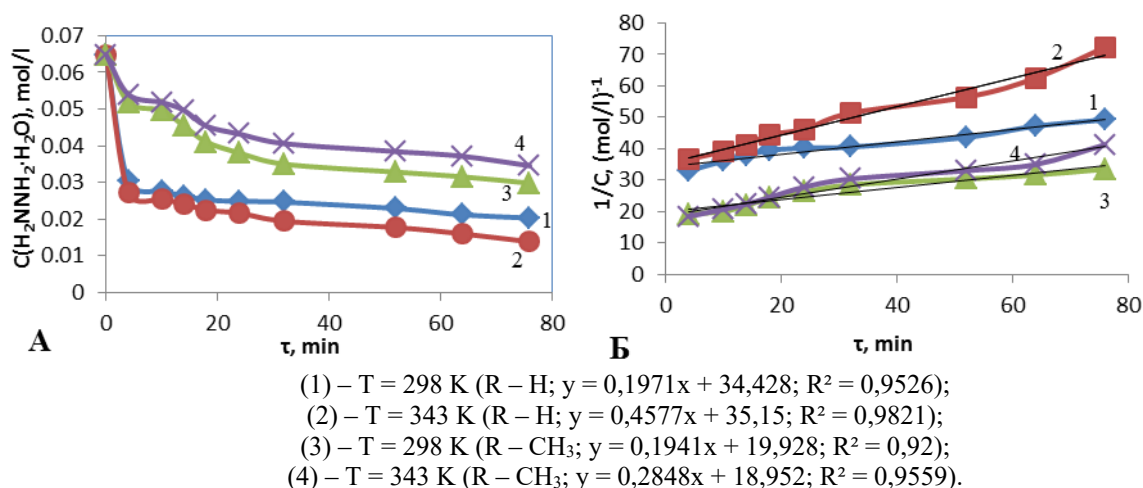
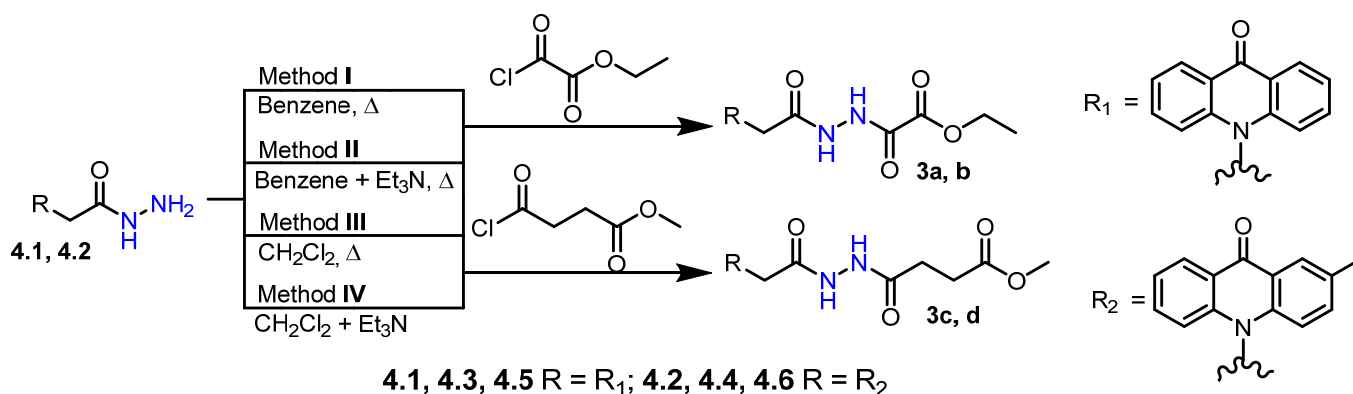


Рис. 1. Залежність концентрації гідразин-гідрату від часу (А) та кінетичні криві рідкофазного гідразінолізу (Б)

Енергія активації ($E_{акт.}$) знайдена за графіком залежності $\lg k$ від величини зворотної абсолютної температури (тангенс кута нахилу цієї прямої чисельно дорівнює $E_{акт.}$) і дорівнює 15,78 та 7,24 кДж/моль, а відповідні квантово-хімічні розрахунки становлять 60,47 кДж/моль і 27,09 кДж/моль. Отже, реакція гідразину з бутил 2-(2-метил-9-оксоакридин-10(9H)-іл)ацетатом відбувається в 2,2 рази швидше, ніж з бутил 2-(9-оксоакридин-10(9H)-іл)ацетатом та теоретичні розрахунки дуже наближені до експериментальних.

Наступним етапом роботи було отримати несиметричні діацильні похідні гідразину за допомогою реакції ацилювання галогеноангідридами карбонових кислот. Вихідні 1,2-діацилгідразини (4.3, 4.4, 4.5, 4.6) отримували ацилюванням гідразидів (4.1, 4.2) етил хлороксоацетатом та метил 4-хлоро-4-оксобутиратом (схема 1).



Для встановлення найкращих умов проведення реакції ацилювання в залежності від розчинника був застосований хромато-мас-спектрометричний метод. Нами проведена зміна синтетичних протоколів шляхом підбору різноманітних розчинників (бензен та дихлорометан у відсутності та при додаванні триетиламіну) дозволила встановити, що найбільш оптимальним розчинником є дихлорометан. Найбільш неочікувані результати були одержані при дослідженні реакції ацилювання в середовищі дихлорометану у присутності триетиламіну – високий вихід продукту та реакція закінчувалась впродовж 15 хвилин при кімнатній температурі.

Аналізуючи ¹H ЯМР-спектри синтезованих сполук можна зробити певні висновки: наявні характерні для *N,N'*-діацилгідрозинів розширені синглети -NH-NH- в діапазоні від 12,05 м.ч. до 9,69 м.ч, що дозволяє однозначно говорити про проходження реакції по первинній аміногрупі гідрозидного залишку. Підтвердженням даного факту є зникнення синглету при 4,32 м.ч., що характерно для даної групи. В свою чергу сигнал метиленової групи реєструється у вигляді двопротонного синглету при 5,17-5,31 м.ч. Варто відзначити, що аналіз ¹H ЯМР-спектрів сполук (4.3, 4.4, 4.5, 4.6) показав, що в спектрах досліджуваних розчинів, знятих в ДМСО-d₆, реєструються дублюючі сигнали двох конформерів при різному співвідношенні.

Додатково підтверджує факт формування *N,N'*-діацилгідрозину ¹³C ЯМР-спектр сполуки (4.6), в якому наявні характеристичні сигнали чотирьох *sp*²-гібридизованих атомів Карбону при 166,06, 169,66, 172,36 та 176,68 м.ч. Сигнал метиленової групи реєструється при 51,21 м.ч., а фрагмент пропанової кислоти при 28,37 м.ч. та 27,80 м.ч.

Сполуки (4.9-4.12) отримували по реакції циклодегідратації *N,N'*-діацилгідрозинів (4.3-4.6) в трьох різних дегідратуючих агентах – фосфор(V) трихлорооксиду, поліфосфорній (РРА) та концентрованій сульфатній кислоті (рис. 2).

Проведена зміна синтетичних протоколів шляхом підбору різноманітних дегідратуючих агентів дозволила встановити, що найбільшу препаративну значимість запропонованої нами схеми синтезу подібних сполук (4.9-4.12) є використання поліфосфорної кислоти. Цей метод дозволяє синтезувати похідні

акридин-9(10*H*)-ону, що містять 1,3,4-оксадіазольний фрагмент в м'яких умовах з високими виходами та чистотою.

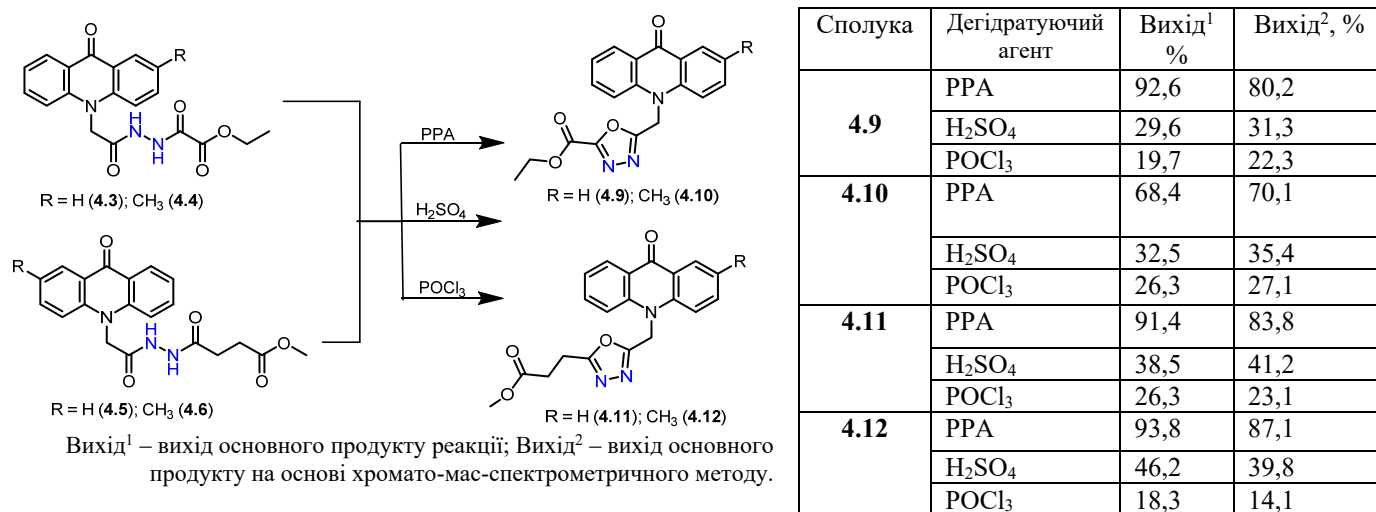
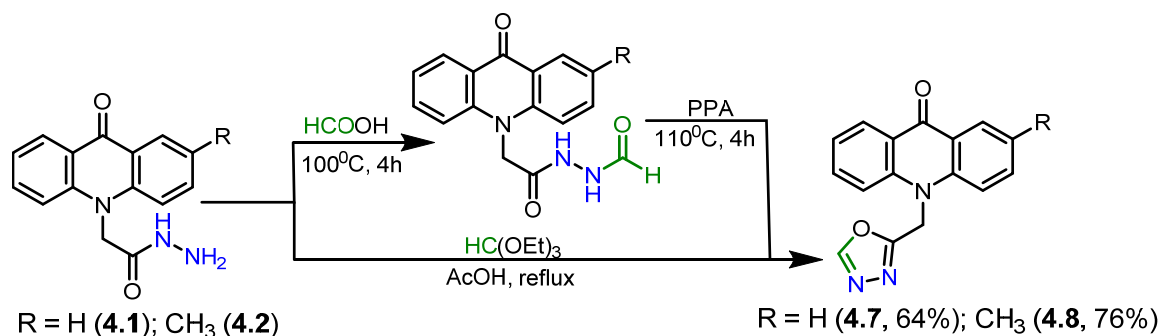


Рис. 2. Гетероциклізація 1,2-діацилгідразинів (4.3-4.6) та вихід продукту реакції (4.9-4.12) в залежності від дегідратуючого агента

Про успішність протікання реакції гетероциклізації і, отже, утворення 1,3,4-оксадіазольного циклу свідчать результати ¹H ЯМР-спектроскопії. В спектрі зникають два розширених синглета, які характерні для атомів Гідрогену в амідному зв'язку -C(O)-NH-NH-C(O)- вихідного *N,N'*-діацилгідразину (4.3-4.6) в діапазоні 12,23-9,69 м.ч. Сигнал протонів метиленової групи проявляється у вигляді двопротонного синглету з хімічним зсувом при 6,10-6,21 м.ч. Вивчення значень сигналів хімічних зсувів для метиленової групи у сполук (4.9-4.12) вказує на те, що 1,3,4-оксадіазольний фрагмент проявляє акцепторний вплив на даний зв'язок та акридинової остов в порівнянні з вихідними *N,N'*-діацилгідразинами (4.3-4.6) та змішує його в більш слабе поле.

Наступним етапом роботи був синтез 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)-2-*R*-акридин-9(10*H*)-онів (4.7, 4.8) (схема 2). Для цього отримані раніше гідрази (4.1, 4.2) нагрівали в льодяній оцтовій кислоті з надлишком триетилортоформиату протягом 6 годин (вихід 64-76%).

Схема 2



У ¹H ЯМР-спектрі оксадіазолів (4.7, 4.8) однопротонний синглет оксадіазольного фрагменту реєструється з хімічним зсувом при 9,28-9,51 м.ч., а сигнал протонів, що відноситься до метиленової групи, реєструється у вигляді

двопротонного синглету з хімічним зсувом при 6,15 м.ч. При цьому варто відзначити, що величина хімічного зсуву протонів CH_2 -групи зміщена в область слабого поля в порівнянні з хім. зсувом (5,30 м.ч.) вихідного гідразиду (4.1, 4.2), що вказує на акцепторний вплив 1,3,4-оксадіазольного циклу по відношенню до акридонового остову.

Для збільшення функціоналізації по другому положенню 1,3,4-оксадіазольного фрагменту був проведений синтез нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіонів з акридин-9(10*H*)-оном. Гідразиди (4.1, 4.2) були використані нами для отримання калій 5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіолатів (4.13, 4.14) під дією карбон дисульфід з гідроксидом калію в етанолі (рис. 3). Подальше підкислення сполук (4.13, 4.14) дало змогу отримати відповідні тіони (4.15, 4.16).

На користь реакції циклізації і, отже, утворення 1,3,4-оксадіазольного гетероциклу свідчить комплекс аналітичних і спектральних методів. Зокрема, в ^{13}C ЯМР-спектрах сполук (4.15, 4.16) присутні сигнали атомів C-17 і C-22 при 159,93-159,96, 176,92-177,1 м.ч., що узгоджується з попередніми та літературними даними (рис. 3). В ^1H ЯМР-спектрі сигнали протонів, що входять до складу метиленової групи, реєструються у вигляді синглету з хімічним зсувом 5,9 м.ч. Втім зникає характерний розширений синглет (-NH-) в 9,6 м.ч. і синглет в 4,32 м.ч., що характерно для сполук (4.1, 4.2).

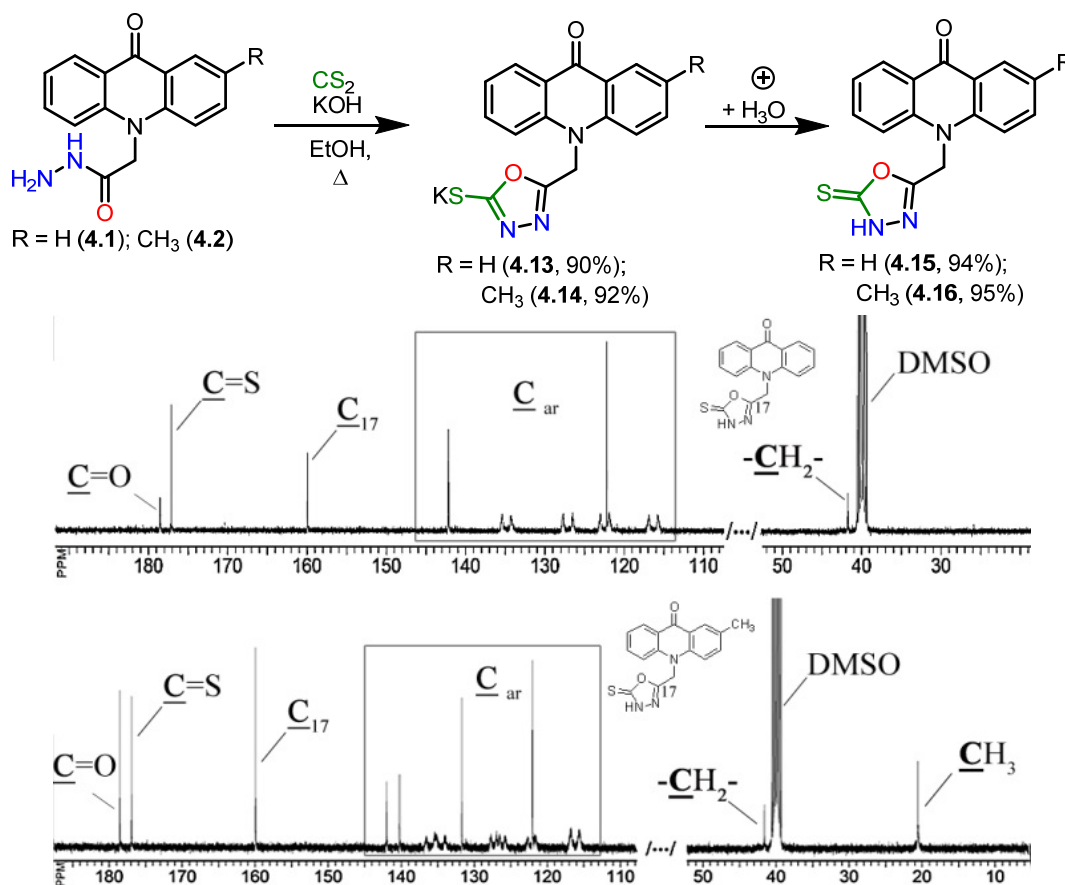


Рис. 3. Синтез нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіонів з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом

Було досліджено експериментально (УФ-, ІЧ-спектроскопією та хромато-мас-спектрометрією) і теоретично тіон-тіольну таутомерію нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіону з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом.

Даний факт був встановлений за допомогою ВЕРХ-ДМД-МС системи, який показав наявність відповідних піків іонів, що відповідають іонізованим сполукам-таутомерам. Встановлено, що в нейтральних розчинах (вода, етанол, *n*-гексан) досліджувані сполуки існують, переважно, у формі тіону, а у лужному (0,1М NaOH) та кислих розчинах (0,1М HCl і 1М H₂SO₄) проявляють в більшій мірі форму тіолу. Електронний перехід, пов'язаних метиленовим лінкером, гетероциклів – акридин-9(10*H*)-оном та 1,3,4-оксадіазолом від основного до збудженого стану буде змішаним (π - π^* та n - π^* стани). Найбільш вигідні енергетичні переходи електронів з НОМО на LUMO – орбіталі сполук представлені на рис. 4 з принципу найменшої енергії для переходу. Електронні хмари рівнів енергії НОМО-орбіталі переважно розташовані на акридин-9(10*H*)-оні та метиленовому зв'язку – область біполярної молекули. Електронні хмари рівнів енергії LUMO – орбіталі переважно зосереджені на ядрі оксадіазолу, як більшого акцептору, проте також залишаються на акридин-9(10*H*)-оні.

Встановлено, що на атомі Сульфуру через акцепторний вплив 1,3,4-оксадіазольного кільця спостерігається дефіцит електронів (+0,094). Це сприяє проведенню реакції електрофільного заміщення (наприклад, алкілювання).

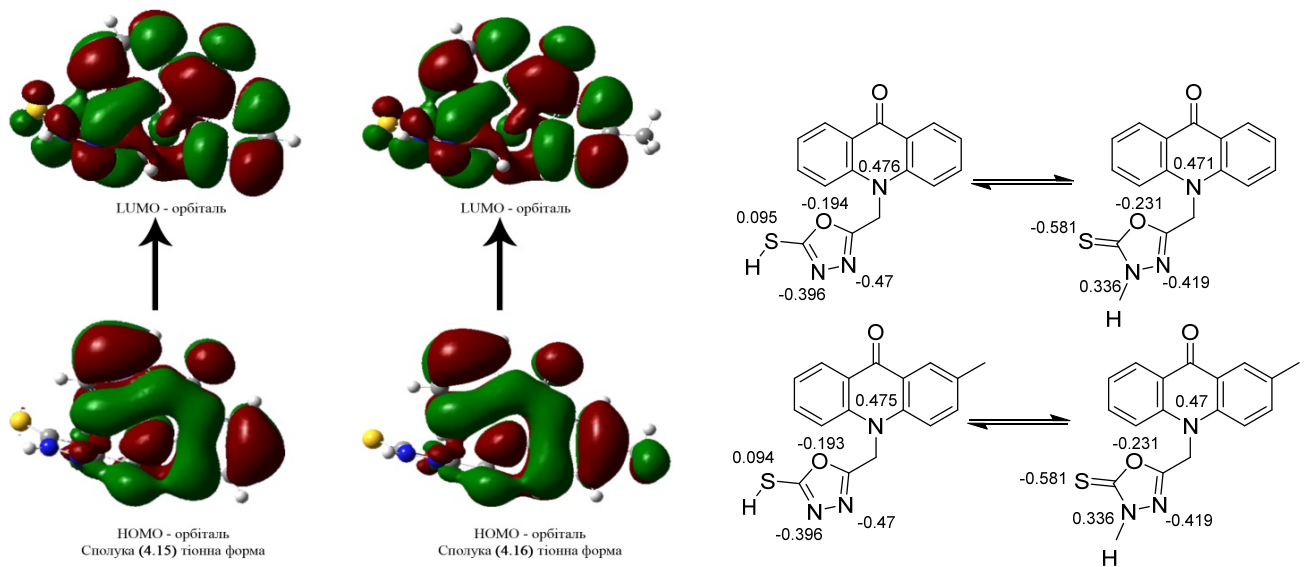
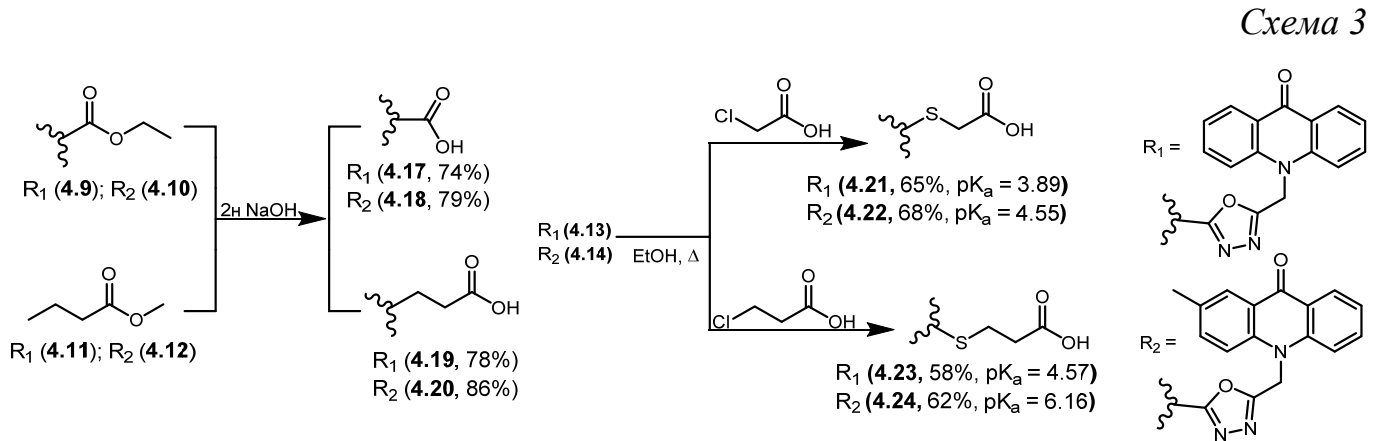


Рис. 4. Енергетичні переходи електронів з НОМО на LUMO – орбіталі для сполук (4.15, 4.16) та заряди атомів досліджуваних сполук при розгляді факту тіон-тіольної таутомерії

В якості замісників в друге положення 1,3,4-оксадіазольного фрагменту можуть бути введені різні ароматичні, гетероциклічні або алкільні групи. Це засвідчує, що тема синтетичного дизайну таких сполук до кінця не вичерпана і є актуальною на даний час. Отже, для подальшої функціоналізації сполук було доцільно отримати вільні карбонові кислоти. Також відомо, що наявність алкільних

замісників при атомі Сульфуру в 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіонах підвищує їх біологічну активність.

В якості вихідних реагентів для синтезу сполук (4.17-4.20) були використані естери (4.9-4.12), які піддавали лужному гідролізу. Реакція гідролізу проходить в середовищі 2*n* розчину гідроксиду натрію (схема 3).



Кислоти (4.21-4.24) були отримані шляхом взаємодії, попередньо синтезованих, калієвих солей сполук (4.13, 4.14) з монохлорооцтовою та 3-хлоропропіоною кислотою в середовищі полярного розчинника – етанолу. Виходячи з даних константи іонізації (pK_a , схема 3) для сполук (4.21-4.24), можна зробити висновок, що карбонові кислоти є слабкими та зі збільшенням карбонового ланцюга константа іонізації збільшується.

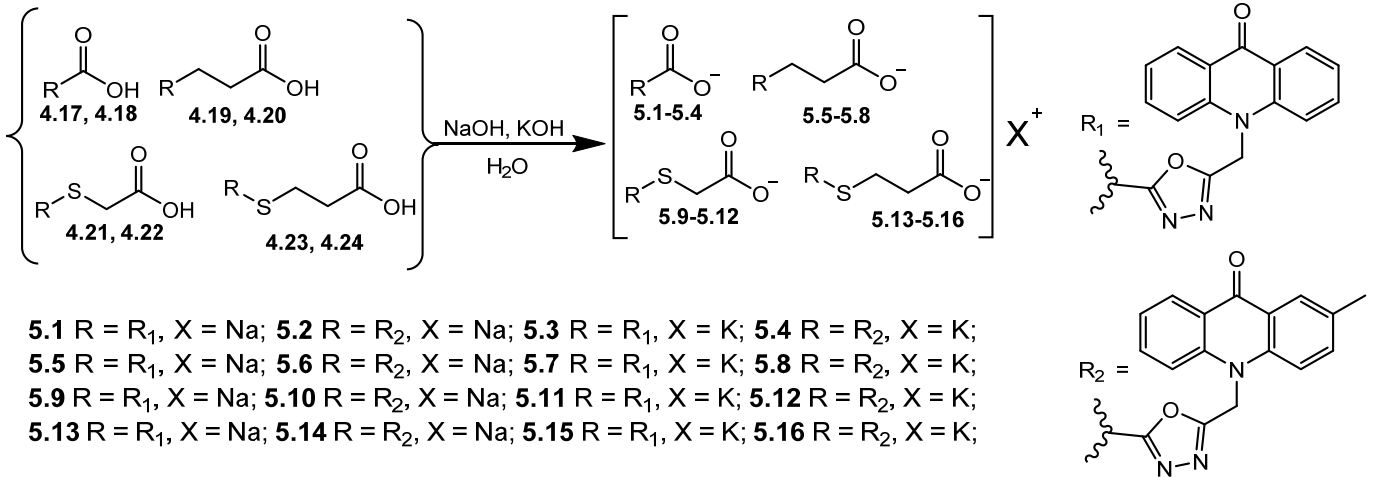
Спектри ЯМР ^1H сполук (4.21, 4.22) характеризуються синглетним сигналом протонів -S-CH₂CO-групи при 3,97 та 3,71 м.ч. відповідно, а у випадку сполук (4.23, 4.24) сигнал -S-CH₂CH₂CO-групи проявляється у вигляді двох триплетів при 2,71 та 3,31 м.ч. відповідно. Наявність даних піків підтверджує проходження реакції алкілування саме по атому Сульфуру.

Синтез естерів, амідів, солей (5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)карбонових кислот та їх тіо похідних

Згідно літературних джерел відомо, що похідні акридин-9(10*H*)-ону володіють вкрай низькою розчинністю, та навіть розчинні сполуки не стабільні у вигляді водних розчинів або таблеток (наприклад «Камедон®»). З метою покращення розчинності отриманих кислот (4.17-4.24), були синтезовані їх солі з неорганічними основами (схема 4).

Перспективним є синтез нових естерів, які можуть бути важливими не лише як субстанції біологічно активних сполук, але і як об'єкти для подальших хімічних перетворень (синтез амідів, гідразидів, тощо).

Сполуки (5.17-5.28) отримані двома методами : естерифікація кислот (4.17, 4.18, 4.19, 4.20) одноатомними спиртами у присутності каталітичної кількості концентрованої сульфатної кислоти та переестерифікація естерів (4.9, 4.10, 4.11, 4.12) одноатомними спиртами в присутності невеликої кількості етилату натрію (схема 5).

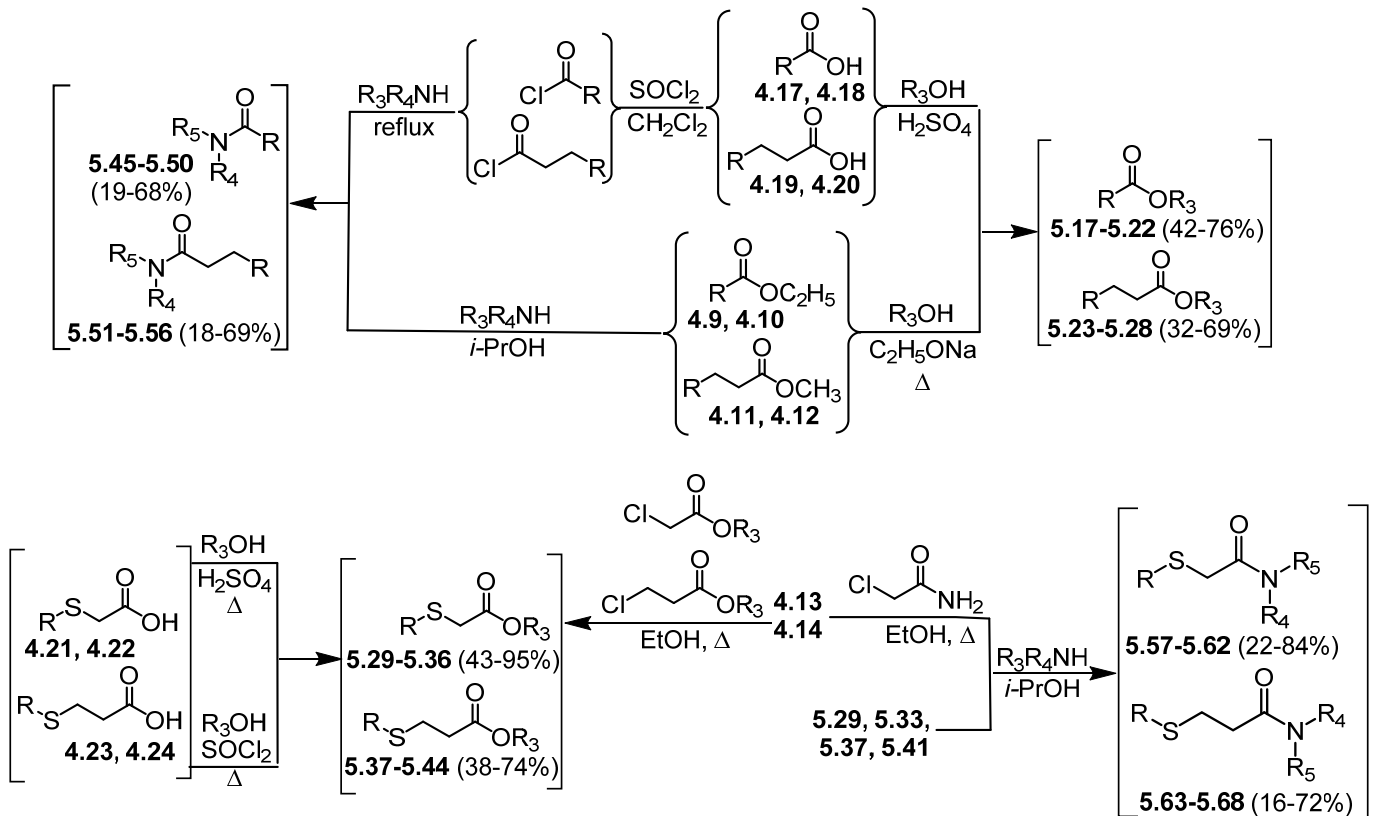


Естери (**5.29-5.44**) отримані трьома різноманітними методами: перший метод передбачав естерифікацію кислот (**4.21-4.24**) одноатомними спиртами у присутності каталітичної кількості концентрованої сульфатної кислоти; другий метод полягав у нагріванні карбонових кислот (**4.21-4.24**) з тіонілхлоридом впродовж 8 год. у присутності каталітичної кількості ДМФА в середовищі відповідного спирту; третій метод – алкілування тіолів (**4.13, 4.14**) естерами монохлороцтової (**2.1-2.4**) та 3-хлоропропіонової (**2.5-2.8**) кислоти. Найбільш високі виходи сполук спостерігали при застосуванні третього методу (схема 5).

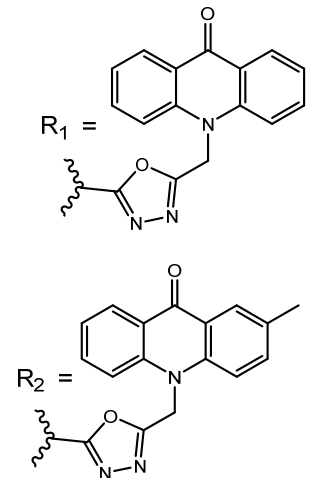
Спектри сполук (**5.29-5.36**) характеризуються хімічним зсувом протонів метиленової групи при 5,97-6,03 м.ч. Двопротоний синглет метиленової групи сильно залежить від замісників у 1,3,4-оксадіазольному кільці. Так, в сполуках (**5.17-5.28**) він реєструється при 6,04-6,11 м.ч, а для сполук (**5.37-5.44**) – при 6,01-6,05 м.ч. Додатково підтверджує структуру естерів (**5.29-5.36**) аналіз ¹³C ЯМР-спектрів, в яких наявні характерні сигнали 2' та 5' – положення для 1,3,4-оксадіазолу при 156,1 та 169,2 м.ч. відповідно, *sp*²-гібридизовані атоми Карбону карбоксильної групи при 170,4 м.ч., а кето-групи акридин-9(10*H*)-ону при 178,2 м.ч. Сигнал метиленової групи реєструється при 60,2-64,2 м.ч.

Важливим етапом даної роботи став синтез 5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-карбонових кислот. Так, амід (**5.45-5.56**) одержано двома методами (схема 5): перший метод передбачає амідкування сполук (**4.9-4.12**) високоосновними (рK_{вн+}=11,1±8,5) первинними амінами. У випадку вторинного аміну амідкування не відбувається, ймовірно, внаслідок просторових ускладнень. Другий метод передбачає утворення проміжних хлорангідридів карбонових кислот, які в подальшому вступають в реакцію Шоттена-Баумана. Утворення хлорангідридів карбонових кислот та подальше ацилювання амінів проводили в дихлорометані та застосовували триетиламін, як акцептор хлороводню.

У випадку тіо похідних, метилові естери (**5.29, 5.33, 5.37, 5.41**) при обробці аміаком, первинними і вторинними амінами в пропан-2-олі перетворювалися в амід (**5.57-5.68**) з сумарними виходами 22-76%. Найпростіші амід (**5.57, 5.60**) були отримані зустрічним синтезом шляхом алкілування сполук (**4.13, 4.14**) хлороацетамідом.



5.17 R = R₁, R₃ = Me; **5.18** R = R₁, R₃ = *i*-Pr; **5.19** R = R₁, R₃ = Bu; **5.20** R = R₂, R₃ = Me;
5.21 R = R₂, R₃ = *i*-Pr; **5.22** R = R₂, R₃ = Bu; **5.23** R = R₁, R₃ = Et; **5.24** R = R₁, R₃ = *i*-Pr;
5.25 R = R₁, R₃ = Bu; **5.26** R = R₂, R₃ = Et; **5.27** R = R₂, R₃ = *i*-Pr; **5.28** R = R₂, R₃ = Bu;
5.29 R = R₁, R₃ = Me; **5.30** R = R₁, R₃ = Et; **5.31** R = R₁, R₃ = *i*-Pr; **5.32** R = R₁, R₃ = Bu;
5.33 R = R₂, R₃ = Me; **5.34** R = R₂, R₃ = Et; **5.35** R = R₂, R₃ = *i*-Pr; **5.36** R = R₂, R₃ = Bu;
5.37 R = R₁, R₃ = Me; **5.38** R = R₁, R₃ = Et; **5.39** R = R₁, R₃ = *i*-Pr; **5.40** R = R₁, R₃ = Bu;
5.41 R = R₂, R₃ = Me; **5.42** R = R₂, R₃ = Et; **5.43** R = R₂, R₃ = *i*-Pr; **5.44** R = R₂, R₃ = Bu;
5.45 R = R₁, R₄, R₅ = H; **5.46** R = R₁, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.47** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃;
5.48 R = R₂, R₄, R₅ = H; **5.49** R = R₂, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.50** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃;
5.51 R = R₁, R₄, R₅ = H; **5.52** R = R₁, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.53** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃;
5.54 R = R₂, R₄, R₅ = H; **5.55** R = R₂, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.56** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃;
5.57 R = R₁, R₄, R₅ = H; **5.58** R = R₁, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.59** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃;
5.60 R = R₂, R₄ = H, R₅ = H; **5.61** R = R₂, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.62** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃;
5.63 R = R₁, R₄ = H, R₅ = H; **5.64** R = R₁, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.65** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃;
5.66 R = R₂, R₄ = H, R₅ = H; **5.67** R = R₂, R₄ = H, R₅ = CH₃; **5.68** R = R₁, R₄, R₅ = CH₃



При аналізі ¹H ЯМР спектрів синтезованих сполук варто відзначити, що в найпростіших амідах наявні сигнали протонів амідної групи, які фіксуються у вигляді двопротонних синглетів при 7,35-7,8 м.ч. Протони метиленової групи амідів проявляються у вигляді синглетів при 6,00-6,05 м.ч.

Виникнення новітніх технологій та галузей практичного застосування вимагає створення барвників і люмінофорів з поліпшеними характеристиками і специфічними властивостями. Для досліджуваних сполук виявлено багатосмугову флуоресценцію у сильно полярному розчиннику – воді ($\epsilon = 78,3$), а при переході до метанолу ($\epsilon = 32,63$) для сполук (**5.9**, **5.14**) присутній тільки один максимум флуоресценції.

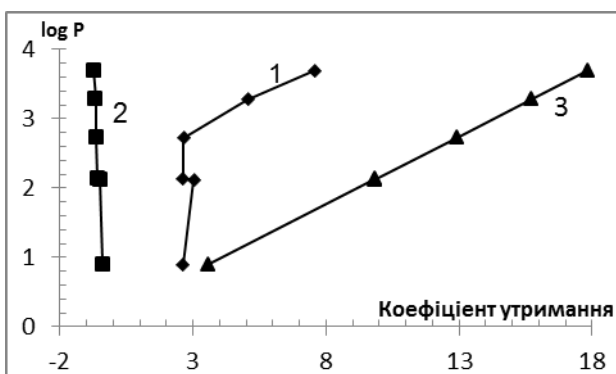
Квантові виходи флуоресценції (ϕ) досліджених сполук істотно залежать від акцепторного гетероциклу – 1,3,4-оксадіазолу та його замісників у другому

положенні. У сполуки (5.31) спостерігається найбільший квантовий вихід, а у сполуки (5.14) – найменший. Виходячи з будови синтезованих сполук, збільшення квантового виходу спостерігається при переході від водорозчинних солей до складних естерів. Кількість електроноакцепторних центрів і природа замісників у другому положенні 1,3,4-оксадіазольного фрагменту дозволяє збільшити квантовий вихід флуоресценції. На основі вищенаведеного, нами запропоновані сполуки (5.9, 5.31, 5.34), як нові флуоресцентні барвники, зонди і мітчики, що придатні для застосування, заснованих на аналізі та кількісному визначенні протеїнів та нуклеїнових кислот ДНК та РНК, в імунології – для спостереження взаємодії антигенів з антитілами, в гібридизаційному аналізі, заснованому на взаємодії комплементарних пар олігонуклеотидів, для одержання біологічних зображень методом флуоресцентної мікроскопії та при вирішенні інших медико-біологічних завдань.

Дослідження ліпофільності та біологічної активності 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів

Ліпофільність має вирішальне значення в біоорганічній, фармацевтичній та медичній хімії, оскільки досягнення оптимальних фізико-хімічних властивостей біомолекул, включаючи ліпофільність, є сучасним науковим викликом щодо орального шляху введення ліків. З цієї причини було актуально дослідити ліпофільність даних сполук.

Показник ліпофільності *S*-похідних 10-((5-меркапто-1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)-2-*R*-акридин-9(10*H*)-онів визначений різними хроматографічними методами (тонкошаровою, газовою і високоефективною рідинною хроматографією), методом розподілення в бінарній системі *n*-октанол/вода та комп'ютерними методами. Відповідно до директиви OECD 117 з тестування хімічних сполук, щоб співвіднести виміряні коефіцієнти затримки в різних видах хроматографії (t_R , R_M , $\log k_w$) з відомими значеннями ліпофільності, шість сполук були обрані як стандартні ($\log P_{OW}$): анілін (0,9), ацетофенон (1,7), бензен (2,1), толуен (2,7), тимол (3,3), антрон (3,7) (рис. 5).



1 – GCMS ($y = 0,3847 \cdot t_R + 0,9664$; $R^2 = 0,6134$);

2 – TLC ($y = -7,7556 \cdot R_M - 1,9741$; $R^2 = 0,9357$);

3 – LCMS ($y = 0,1964 \cdot \log k_w + 0,1967$; $R^2 = 1$).

	$\log P_{OW}$	$\log P_{LCMS}$	$\log P_{GCMS}$	$\log P_{TLC}$	ChemAxon	$\log P_{HCh}$
$\log P_{OW}$		0,903	0,033	0,537	0,848	0,893
$\log P_{LCMS}$	0,903		0,190	0,523	0,967	0,944
$\log P_{GCMS}$	0,033	0,190		0,195	0,169	0,008
$\log P_{TLC}$	0,537	0,523	0,195		0,547	0,512
ChemAxon	0,848	0,967	0,169	0,547		0,975
$\log P_{HCh}$	0,893	0,944	0,008	0,512	0,975	

Рис. 5. Криві залежності коефіцієнтів утримання стандартних сполук від коефіцієнта розподілення для різних видів хроматографії та кореляційна матриця

Були розраховані теоретичні показники ліпофільності за допомогою комп'ютерних програм. Екстрапольовані параметри ($\log P_{GCMS}$, $\log P_{TLC}$, $\log P_{LCMS}$) порівнювали між показниками ліпофільності, знайденими в системі *n*-октанол/вода і теоретичними методами (рис. 5). Порівнюючи експериментальні значення ($\log P_{OW}$, $\log P_{GCMS}$, $\log P_{TLC}$, $\log P_{LCMS}$) і розраховані значення $\log P$, найкраща кореляція спостерігалась в залежності: ChemAxon = $\log P_{LCMS}$ (0,967), HyperChem = $\log P_{LCMS}$ (0,944), $\log P_{OW} = \log P_{LCMS}$ (0,903). Встановлено, що найбільш експресним методом визначення ліпофільності є високоефективна рідинна та тонкошарова хроматографія, що дають високі коефіцієнти кореляції між теоретично та практично розрахованими показниками ліпофільності. Метод розподілення речовини у бінарній системі *n*-октанол/вода дає найбільш точні розрахунки, але має також свої недоліки: недосконалість процесу розподілення та трудоємність процесу.

З практичної точки зору, доцільність дослідження гострої токсичності полягає у подальшому використанні значень LD_{50} задля розрахунку доз досліджуваних речовин при введенні у наступних експериментах по визначенню біологічної активності. При дослідженні гострої токсичності S-похідних нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіонів з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом було встановлено, що всі досліджувані сполуки відносяться до IV-го класу токсичності за класифікацією К.К. Сидорова. Дослідження гострої токсичності дозволило встановити, що найменш токсичною серед сполук є амід (**5.60**) $LD_{50} = 720 \pm 35$ мг/кг, а найтоксичнішою сполука (**4.13**) зі значенням $LD_{50} = 268 \pm 25$ мг/кг.

В подальшому дослідженні було проведено QSAR-аналіз гострої токсичності сполук відповідних похідних за допомогою регресійної моделі та показано, що опис гострої токсичності похідних здійснюється комбінацією 2D-дескрипторів. Встановлена ефективність запропонованих QSAR-моделей, стабільність та доцільність використання для визначення гострої токсичності. Слід зазначити, що різниця між показниками гострої токсичності, що одержані як позаекспериментальним, так і експериментальним методами, була незначною. Це надає перспективи використання комп'ютерного методу QSAR-аналізу при подальших дослідженнях та дизайні нових біологічно активних сполук.

Згідно результатів комп'ютерного прогнозу було доцільно дослідити антибактеріальну активність. Значною антибактеріальною активністю відрізняється сполука (**5.16**), яка блокує ріст *Bacillus subtilis* за 31,2 мкг/мл і *Staphylococcus aureus* за > 125 мкг/мл, та сполука (**5.13**) – за 62,5 і 31,2 мкг/мл відповідно. Катіонно-аніонна структура синтезованих сполук призводить до появи антибактеріальної активності. Збільшення карбонового ланцюга кислот на $-CH_2$ -групу (з оцтової до пропіонової) також зменшує антибактеріальну активність. Введення естерного залишку та його розгалуження не приводить до збільшення антибактеріальної активності, а навпаки її зменшує.

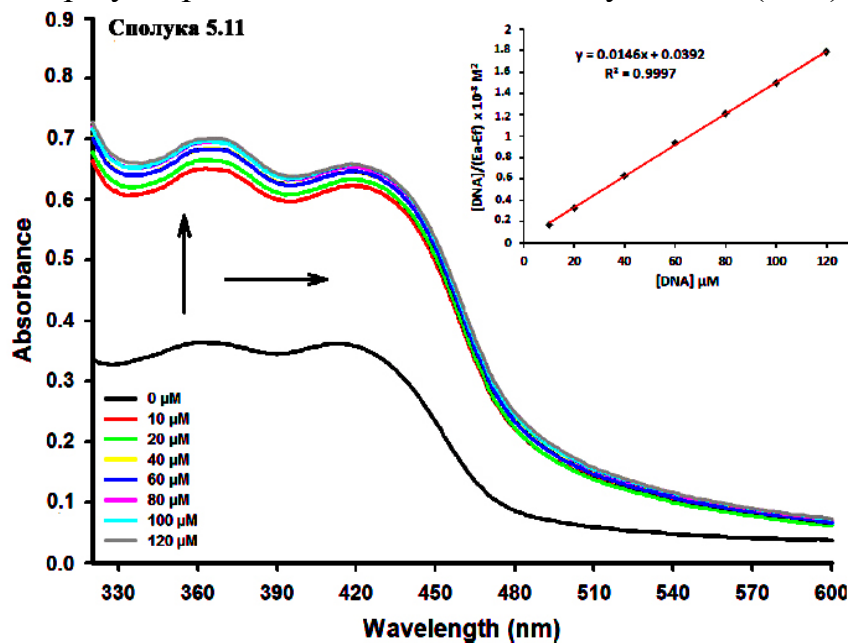
Варто відзначити особливості при дослідженні антибактеріальної активності, а саме виключну дію похідних тільки на штами грампозитивних бактерій (*B. subtilis*, *S. aureus*). Переважно, дана дія синтезованих сполук націлена на інтеркаляцію між сусідніми парами нуклеїнових основ або інгібування ДНК-полімерази бактерій. Підтвердженням впливу на ДНК бактерій також є факт більшої активності до

S. aureus, ніж до *B. subtilis*, тому що останні мають більше мільйонів нуклеїнових пар основ ДНК своєї хромосоми – 4,2 проти 2,8.

Аналіз діуретичної дії залежно від хімічної будови сполук виявив деякі закономірності «хімічна структура – діуретична дія». Так, введення алкільних залишків у друге положення 1,3,4-оксадіазольного фрагменту в цілому підвищувало діуретичну дію. Введення залишку метилацетату сприяло підвищенню діуретичної дії в сполуці (5.33). А при введенні до цієї ж молекули катіонів калію взагалі спостерігається відсутність діуретичної дії (5.11, 5.12). Варто відзначити, позитивно впливає іонізація молекул, що містять у залишку пропіонову кислоту (5.13-5.16) та характеризуються проявом виразної діуретичної дії.

Акридин-9(10*H*)-они – це біоізостери фенотіазину та феноксазину, які зворотним чином зв'язуються з ДНК шляхом інтеркаляції, чому сприяє катіонна іонізація та молекулярна планарність. Вивчення взаємодій між «ліганд-ДНК» є дуже важливим для повного розуміння процесу реплікації та транскрипції, що додатково сприяє створенню нових протиракових засобів та антибіотиків.

УФ-спектри сполуки (5.11, 50 μM) як у відсутності, так і в присутності ДНК (0-120 μM) наведені на рис. 6. Крива показує значну гіперхромність (92,58% при 120 μM ДНК) та легкий батохромний зсув ($\Delta\lambda = 6$ нм) з підвищенням концентрації ДНК, що свідчить про утворення складного комплексу «ліганд(5.11)-ДНК».



Сполука	$\lambda_{\text{погл.}}$ (max) сполуки, нм	$\lambda_{\text{погл.}}$ (max) комплексу, нм	$\Delta\lambda$, нм	Гіперхромія, %	K_b (M^{-1})
Акридин (літер.)					$0.66 \cdot 10^3$
2-нітроакридин-9(10 <i>H</i>)-он (вольтамперометрія, літер.)					$3.19 \cdot 10^4$
5.11	361	367	6	93,48	$3,87 \cdot 10^5$
5.12	376	373	3	29,03	$1,89 \cdot 10^5$
5.15	378	374	4	24,12	$6,42 \cdot 10^4$
5.16	364	364	0	23,90	$9,81 \cdot 10^4$

Рис. 6. Спектри поглинання сполуки (5.11, 50 μM) з підвищенням концентрації ДНК. $[\text{ДНК}] = 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100$ і 120 μM . Стрілки (\uparrow) і (\rightarrow) відносяться до гіперхромних та батохромних ефектів.

Розраховані значення K_b лежать в діапазоні від $6,42 \cdot 10^4$ до $3,87 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$, що підтверджує високу аффіність нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіону з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом для пар нуклеїнових основ ДНК. Збільшення карбонового ланцюга кислот на $-\text{CH}_2$ -групу (з оцтової до пропіонової) зменшує константу зв'язування (K_b), що свідчить про слабку або помірну міцність зв'язування між ними.

Даний факт підтверджується дослідженням антибактеріальної активності, при дослідженні якої сполуки (5.15, 5.16) проявляли також значно менший ефект. Варто відзначити, що рівномірність величин K_b для різних сполук (5.11, 5.12, 5.15, 5.16), підтверджує припущення, що механізм зв'язування ДНК сильно залежить від загального структурного компонента всіх досліджених систем, тобто акридинового остову, тоді як його бічні замісники впливають на зв'язування в набагато меншій мірі.

ВИСНОВКИ

У роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі з синтезу нових біологічно активних сполук прогнозованої дії серед 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів та їх похідних, встановлено їх будову, вивчено фізико-хімічні та біологічні властивості. У процесі виконання роботи синтезовано 105 сполук (91 вперше), серед яких на підставі встановленої залежності між хімічною будовою і біологічною активністю ідентифіковані речовини з високою афінністю до ДНК, низькою токсичністю та протимікробною і діуретичною дією.

1. Комп'ютерний прогноз біологічної активності 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів та їх похідних продемонстрував перспективний пошук речовин з антибактеріальною, діуретичною активністю та зв'язуванням з ДНК, що дає можливість в свою чергу проявити сполукам протипухлинну, протівірусну та імуностимулюючу активність. За результатами прогнозу здійснено створення комбінаторної бібліотеки та цілеспрямований синтез нових малотоксичних і високоефективних молекул.

2. Вперше отримано результати кінетичних досліджень реакції рідкофазного гідразинолізу бутилових естерів 2-(2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)ацетатних кислот, які дозволили встановити механізм реакції. На основі реакції гідразидів з хлорангідридами карбонових кислот при подальшій гетероциклізації, а також з карбон дисульфідом одержана серія нових похідних 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів. Синтезовано водорозчинні солі, естери, аміди в даному ряду реакціями ацилювання, алкілування, естерифікації, переестерифікації та нейтралізації.

3. Вперше досліджено тіон-тіольну таутомерію нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіонів з акридин-9(10*H*)-оновим фрагментом в розчинниках з різною полярністю та діелектричною проникливістю. Електронний перехід пов'язаних метиленовим лінкером гетероциклів – акридин-9(10*H*)-оном та 1,3,4-оксадіазолом від основного до збудженого стану буде змішаним (π - π^* та n - π^* стани).

4. Досліджено спектральні характеристики синтезованих сполук та зафіксовані максимуми в спектрах абсорбції ($\lambda_{\text{погл.}}$) і люмінесценції ($\lambda_{\text{фл.}}$), визначений квантовий вихід (Φ), обрахований зсув Стокса. Запропоновано сполуки (**5.9**, **5.31**, **5.34**), як нові флуоресцентні барвники, зонди і мітчики, що придатні для застосування при вирішенні медико-біологічних завдань.

5. Вперше запропоновано дослідження ліпофільності похідних акридин-9(10H)-ону різними видами хроматографії. Встановлено лінійні співвідношення між параметрами утримання (t_R , R_M , $\log k_w$) та показниками ліпофільності.

6. Вперше отримано результати щодо протимікробної, діуретичної активності, побудовані QSAR-моделі гострої токсичності нових 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів та їх похідних. Встановлено, що S-похідні 10-((5-меркапто-1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)-2-R-акридин-9(10H)-онів відносяться до IV-го класу токсичності за класифікацією К.К. Сидорова та виявлено деякі закономірності впливу різних замісників на показники біологічної активності.

7. Для сполук (**5.11**, **5.12**, **5.15**, **5.16**) досліджено спорідненість до ДНК за допомогою спектрофотометричного титрування. Встановлено, що на всіх кривих УФ-спектрів наявна значна гіперхромність та легкий батохромний зсув при підвищенні концентрації ДНК, що свідчить про утворення складного комплексу «ліганд-ДНК».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О.; Близнюк, Ю. Е.; Омелянчик, В. М. Синтез та біологічна активність похідних N-заміщених акридин-9-ону та 2,5-заміщених 1,3,4-оксадіазолів (огляд літератури). *Вісник Запорізького національного університету*. **2016**, 2, 156 – 168. (Особистий внесок здобувача : проведений літературний пошук, обговоренні результати та підготовка тексту статті).

2. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик Л. О. Синтез гетерилопохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. **2017**, 4(15), 21 – 32. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, обговорення результатів та підготовка тексту статті).

3. **Карпенко, Yu.**; Omelyanchik, L.; Panasenko, T. Experimental and theoretical spectroscopic study of thione-thiol tautomerism of new hybrids 1,3,4-oxadiazole-2-thion with acridine-9(10H)-one. *Journal Chemistry & Chemical Technology*. **2018**, 4(12), 419 – 428. (Особистий внесок здобувача : участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та підготовка тексту статті).

4. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О. Studying the kinetics of liquid phase hydrazinolysis butyl 2-(2R-9-охоacridine-10(9H)-yl)acetates. *Journal of Chemistry and Technologies*. **2018**, 1(26), 31 – 39. (Особистий внесок здобувача : участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та написанні статті).

5. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О.; Самура, Т. О.; Омелянчик, В. М. Синтез та дослідження залежності «структура – гостра токсичність» нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2-тіону з акридин-9(10*H*)-оном. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. **2018**, 4(119), 5 – 13. (Особистий внесок здобувача : участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та написанні статті).

6. **Карпенко, Ю. В.**; Omelyanchuk, L. O.; Panasenko, T. V.; Kuchmenko, A. R. Chromatographic evaluation of the lipophilic properties of some derivated acridin-9(10*H*)-one. *Methods and objects of chemical analysis*. **2018**, 3(13), 115 – 120. (Особистий внесок здобувача : проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та написання статті).

7. Omelyanchuk, L. O.; **Карпенко, Ю. В.**, Gencheva, V. I.; Petrusha, Yu. Yu.; Labenskaya, I. B. Biological activity of S-heterilsbstitutes carboxylic acid. Chemistry of nitrogen containing heterocycles CNCH-2015: VII International Conference, Kharkiv, 9-13 November 2015; p. 46.

8. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О. Реакція алкілування акридону етиловими естерами моногалогеноцтових кислот. Сучасні проблеми біології, екології та хімії : Збірник матеріалів IV Міжнародної науково-практичної конференції, м. Запоріжжя, 13-15 травня 2015; с. 179-180.

9. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О.; Близнюк, Ю. Е. Гетероциклічні сполуки на основі акридінооцтової кислоти. Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук: IV регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених, м. Запоріжжя, 27 листопада 2015; с. 152-153.

10. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О. Нова стратегія синтезу 2-заміщених 5-([9-оксоакридин-10(9*H*)-іл]метил)-1,3,4-оксадіазолів та проведення їх віртуального скринінгу. XXIV Українська конференція з органічної хімії, м. Полтава, 19-23 вересня 2016; с.123.

11. Омелянчик, Л. О.; **Карпенко, Ю. В.**; Макуха, А. В. Синтез 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)-2-*R*-акридин-9(10*H*)-он. Сучасні проблеми біології, екології та хімії : V Міжнародна науково-практична конференція, м. Запоріжжя, 26-28 квітня 2017; с. 289-290.

12. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О. Проведение молекулярного моделирования, связывание соединений производных 10-азолилметилакридонов с ДНК-полимеразой. Актуальные проблемы современной медицины и фармации, LXXI Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных, г. Минск, 17-19 апреля 2017; с. 199.

13. Омелянчик, Л. О.; **Карпенко, Ю. В.** Нова стратегія синтезу похідних 10-((5-меркапто-1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-он та їх використання в дизайні біоактивних сполук. Домбровські читання – 2017: VII Всеукраїнська конференція, м. Яремче, 12-16 вересня 2017; с. 24.

14. **Карпенко, Ю. В.**; Омелянчик, Л. О.; Панасенко, Т. В.; Кучменко А. Р. Хроматографічна оцінка ліпофільних властивостей похідних 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів як потенційних низькомолекулярних індукторів інтеферону. Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2018) : збірник тез доповідей

І Міжнародної (ХІ Української) наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених, м. Вінниця, 27–29 березня 2018; с. 23.

15. **Карпенко, Ю. В.**; Омельянчик, Л. О.; Бекасова, О. Ф. Особливості реакції алкілування акридин-9(10*H*)-ону бутиловим естером монохлорооцтової кислоти. *Молода наука-2018* : Збірник наукових праць студентів, аспірантів і молодих вчених у 4 т., м. Запоріжжя, 11 квітня 2018; с. 54.

16. **Карпенко, Ю. В.**; Омельянчик, Л. О.; Маслов, Д. В.; Бекасова, О. Ф. Квантово-хімічні розрахунки механізму гетероциклізації 1,3,4-оксадіазолу-2-тіону. Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи : Всеукраїнська наукова конференція, м. Житомир, 16 травня 2018; с. 273.

17. **Karpenko, Yu. V.**; Omelyanchuk, L. O. Synthesis and transformation of 10-((5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl)-2-R-acridin-9(10*H*)-ones. *Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles (CNCH-2018)* : International conference in memoriam of Prof. Valeriy Orlov, Kharkiv, 12-16 November 2018; p. 96.

18. **Карпенко, Ю. В.**; Омельянчик, Л. О.; Панасенко Т. В. Застосування тонкошарової хроматографії для дослідження ліпофільності деяких похідних акридин-9(10*H*)-ону. Тези доповідей Київської конференції з аналітичної хімії «Сучасні тенденції 2018», м. Київ, 17-20 жовтня 2018; с. 37.

19. **Карпенко, Ю. В.**; Омельянчик, Л. О. Синтез та тіон-тіольна таутомерія нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2-тіону з акридин-9(10*H*)-оном. Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук : VII регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених, м. Запоріжжя, 15 грудня 2018; с. 28-29.

АНОТАЦІЯ

Карпенко Ю.В. Синтез та властивості нових 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 02.00.10 «Біоорганічна хімія». – Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України, Київ, 2019.

У дисертаційній роботі проведено розробку зручних препаративних методів синтезу нових похідних 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів на основі реакції гідразидів з хлороангідрідами при подальшій гетероциклізації, а також з карбон дисульфідом. Синтезовано низку нових водорозчинних солей, естерів, амідів в даному ряду реакціями ацилювання, алкілування, естерифікації, переестерифікації та нейтралізації. Вперше досліджено тіон-тіольну таутомерію нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіонів з акридин-9(10*H*)-оном.

На основі цілеспрямованого синтезу більше ніж 105 сполук (91 вперше) даного ряду, запропоновано три сполуки, як нові флуоресцентні барвники, зонди і мітчики, що придатні для застосувань при вирішенні медико-біологічних завдань. Вперше отримані результати щодо протимікробної, діуретичної активності, побудовані QSAR-моделі гострої токсичності. Для чотирьох сполук вперше досліджено спорідненість до ДНК за допомогою спектрофотометричного

титрування, розраховані значення константи підтверджують високу аффіність нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3*H*)-тіону з акридин-9(10*H*)-оном до ДНК.

Будова всіх синтезованих сполук підтверджена комплексом фізико-хімічних методів аналізу (елементний аналіз, УФ-, ІЧ-, ¹H та ¹³C ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія).

Ключові слова: синтез, фізико-хімічні, біологічні властивості, акридин-9(10*H*)-он, 1,3,4-оксадіазол, SAR, QSAR, ДНК.

ANNOTATION

Karpenko Yu.V. Synthesis and properties of new 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl)acridine-9(10*H*)-ones. – Qualification scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of a Candidate of Chemical Sciences (Doctor of Philosophy) in specialty 02.00.10 – bioorganic chemistry. – V. P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2019.

One of the important problems of medical and organic chemistry is the creation of new highly active and safe medical substances. Among the heterocyclic compounds, acridine-9(10*H*)-one has become an important framework for obtaining a wide range of dyes, corrosion inhibitors and the development of new biologically active substances as antitumor, antiviral, antibacterial, antimalarial, antifungal and anti-inflammatory agents. On the other hand, at the present stage of the development of organic chemistry, there are many basic synthetic approaches to the synthesis of derivatives of 1,3,4-oxadiazole, which exhibit high biological activity: antibacterial, fungicidal, anti-inflammatory, analgesic, hypoglycemic, anticancer, antihypertensive, anticonvulsant, hypoglycemic, antimalarial and many others.

Actuality of the study in the series of newly synthesized derivatives of 1,3,4-oxadiazoles from acridine-9(10*H*)-one is due to the synthesis of potential low molecular inducers of interferon and antitumor agents, the search for molecular descriptors of their structure, important for the establishment of the laws of "structure - biological activity". The said strategy is very effective in view of the possibility of synthesis of azacetherocyclic combinatorial libraries for further screening of their biological effects.

The purpose of this work was to synthesize new 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl)acridine-9(10*H*)-ones and their derivatives, their directed structural modification under the 2 positions of acridine-9(10*H*)-one and 1,3,4-oxadiazole, the study of physico-chemical properties and the search for effective biologically active substances among them.

The computerized prediction of the biological activity of 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl)acridine-9(10*H*)-ones and their derivatives demonstrated a promising search for substances with antibacterial, diuretic activity and DNA binding, which makes it possible in turn to exhibit antitumor, antiviral and immunostimulatory activity of the compounds.

The preparative synthesis methods have been developed and a combined library of new 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl)acridine-9(10*H*)-ones acids and their water-soluble salts, esters, amides. Based on the purposeful synthesis of more than 105 compounds (91 for the first time), three compounds have been proposed, such as new fluorescent dyes,

probes and taps suitable for use in the solution of medical and biological tasks. Results for antimicrobial, diuretic activity, QSAR-model of acute toxicity were constructed for the first time. For the four compounds, the affinity for DNA was investigated for the first time by means of spectrophotometric titration, the calculated values of the constants are confirmed by the high affinity of the new hybrids of 1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-thione with acridine-9(10*H*)-one to DNA.

It is worth noting that the uniformity of K_b values for various compounds confirms the assumption that the DNA binding mechanism strongly depends on the overall structural component of all the systems studied, that is, the acridone core, whereas its lateral substitutions affect binding to a much lesser degree.

The structure of all synthesized compounds is confirmed by a set of physico-chemical methods of analysis (elemental analysis, UV, IR, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, chromatography-mass spectrometry).

Keywords: synthesis, physico-chemical, biological properties, acridine-9(10*H*)-one, 1,3,4-oxadiazole, SAR analysis, QSAR analysis, DNA.