

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
Інститут молекулярної біології і генетики

СИНЮГІН АНАТОЛІЙ РОСТИСЛАВОВИЧ

УДК 547.831.9, 547.831.7

СИНТЕЗ НОВИХ ІНГІБІТОРІВ ПРОТЕЇНКІНАЗИ СК2
НА ОСНОВІ 3-ЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ ХІНОЛІНУ

02.00.10 – біоорганічна хімія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата хімічних наук

Київ – 2017

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (м. Київ).

Науковий керівник: доктор хімічних наук, професор
Ярмолюк Сергій Миколайович,
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
завідувач відділу біомедичної хімії

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, старший науковий співробітник
Смолій Олег Борисович,
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України,
завідувач відділу хімії білків та пептидів

доктор хімічних наук, професор
Обушак Микола Дмитрович,
Львівський національний університет
імені Івана Франка,
завідувач кафедри органічної хімії

Захист дисертації відбудеться 24 лютого 2017 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.220.01 Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України за адресою: 02660, м. Київ, вул. Мурманська, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України за адресою: 02660, м. Київ, вул. Мурманська, 1.

Автореферат розіслано 24 січня 2017 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої
ради Д 26.220.01
к.х.н.

В. О. Євдокименко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Протеїнкіназа СК2 (Casein Kinase 2) є молекулярною мішенню для розробки нових лікарських засобів у форматі раціонального дизайну ліків. Постійно відбувається пошук нових низькомолекулярних інгібіторів СК2 як для вивчення її ролі в біохімічних шляхах у клітині та як потенційних протипухлинних і антивірусних препаратів.

Значна кількість відомих інгібіторів СК2 мають у своїй структурі хіноліновий фрагмент. Зокрема, селективний інгібітор Silmitasertib (CX-4945), що має в структурі піридохіноліновий гетероцикл, є ефективним протипухлинним препаратом і проходить клінічні випробування. Знайдено інгібітори СК2 серед похідних піримідинохіноліну та 1*H*-хінолін-4-ону, проте в літературі не представлено інгібіторів серед класу 4*H*-хінолін-2-онів.

Більшість методів синтезу 4*H*-хінолін-2-онових систем ґрунтуються на взаємодії важкодоступних о-нітро- та (чи) о-амінобензальдегідів з естерами, що мають активну метиленову групу в α -положенні, і тому не дають змоги широко варіювати замісниками по положенню 3 та в бензеновому кільці хіноліну.

Отже, розробка методів синтезу нових похідних 4*H*-хінолін-2-ону, заміщених по положенню 3, і пошук серед них інгібіторів кінази СК2 є актуальним завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалася в рамках бюджетних тем відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України: «Вивчення протеїнкіназ як молекулярних мішеней для розробки терапевтичних засобів методами комбінаторної хімії та комп'ютерного моделювання» (номер державної реєстрації 0107U003345, 2008–2012 рр.), «Раціональний дизайн інгібіторів протеїнкіназ як попередників лікарських засобів» (номер державної реєстрації 0112U004110, 2013–2017 рр.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є розробка методів синтезу 3-заміщених похідних 4*H*-хінолін-2-ону та пошук серед них нових інгібіторів протеїнкінази СК2.

Для досягнення мети було поставлено такі завдання:

1. Проаналізувати способи синтезу 3-заміщених 4*H*-хінолін-2-онів з можливістю варіювання замісників у бензеновому кільці хіноліну й підготувати базу таких похідних для віртуального скринінгу.

2. Розробити методи синтезу нових 3-заміщених похідних 4*H*-хінолін-2-ону з функціональними групами як вихідних речовин для синтезу комбінаторних бібліотек.

3. Провести комбінаторний синтез серій похідних амідів і сульфамідів з 4*H*-хінолін-2-оновим фрагментом, які передбачені докінгом. Синтезувати похідні 4*H*-хінолін-2-ону з вільною карбоксильною групою з метою дослідження їх як інгібіторів кінази СК2.

4. Вивчити залежності інгібувальної активності протестованих сполук щодо протеїнкінази СК2 від їх хімічної структури та визначити напрями подальшої хімічної оптимізації.

5. Синтезувати спрогнозовані інгібітори і дослідити залежність «хімічна структура – інгібувальна активність».

Об'єкт дослідження: інгібувальна активність нових низькомолекулярних органічних сполук – 3-заміщених похідних 4*H*-хіноліну – щодо протеїнкінази СК2 людини.

Предмет дослідження: інгібітори СК2, методи синтезу 3-заміщених похідних 4*H*-хінолін-2-ону, комплекси інгібіторів із протеїнкіназою СК2.

Методи дослідження: органічний синтез, комбінаторний синтез, гнучкий молекулярний докінг, фізико-хімічні методи аналізу органічних речовин (ЯМР-спектроскопія ¹H і ¹³C, хромато-мас-спектрометрія, тонкошарова хроматографія).

Наукова новизна одержаних результатів.

Розроблено нові методи синтезу похідних 3-(амінометил)- та 3-(аміноетил)-хінолін-2-онів, 3-(хінолін-2-он-3-іл)пропіонових кислот і похідних 2,3-дигідро-1*H*-піроло[2,3-*b*]хіноліну з використанням модифікованого методу Отто Меша-Кона.

Уперше проведено синтез арилзаміщених похідних 5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти, 2-хінолон-3-іл- та тетразоло-[1,5-*a*]-хінолін-4-ілкарбонових кислот з відповідних бромопохідних і фенілборних кислот із використанням реакції Сузукі.

Серед синтезованих 3-заміщених похідних 4*H*-хіноліну виявлено 42 сполуки, що інгібують кіназу СК2 із значенням IC₅₀ у межах 0,65-20 μM.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено нові методи, що дають змогу одержувати широкий спектр похідних 1*H*-хінолін-2-ону з різноманітними замісниками в положенні 3 та бензеновому кільці 2-хінолону. Опрацьовані синтетичні методики мають перевагу перед існуючими завдяки високим виходам реакцій і доступності вихідних речовин.

У результаті виконання дисертаційної роботи знайдено нові інгібітори СК2 серед 3-карбокси-4*H*-хінолінів, які можна застосовувати в біохімічних дослідженнях та для розробки нових фармацевтичних препаратів.

Особистий внесок здобувача. У процесі виконання дисертаційної роботи автором власноруч сплановано й виконано препаративну хімічну частину роботи, інтерпретовано дані спектральних досліджень і встановлено будову синтезованих сполук, проаналізовано дані «хімічна структура – інгібувальна активність» і вибрано напрями хімічної оптимізації інгібіторів.

Постановку наукових завдань досліджень та інтерпретацію отриманих результатів здійснено спільно з науковим керівником д.х.н., проф. С. М. Ярмолюком.

Автор висловлює подяку к.б.н. О. П. Кухаренку, к.б.н. О. В. Остринській і к.б.н. Г. П. Волинець за проведення біохімічних досліджень *in vitro* та к.х.н. В. Г. Бджолі за проведення докінгу й допомогу у встановленні кореляційних залежностей «хімічна структура – інгібувальна активність».

Апробація результатів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи був представлений на конференціях молодих вчених (Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, 2008-2010, 2013), наукових конференціях з біоорганічної хімії та нафтохімії (Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ, 2010, 2013, 2014, 2016), Міжнародній конференції «Advanced Science

in Organic Chemistry 2010» (Місхор, Крим, Україна, 2010), Науково-технічній конференції «Актуальні питання біологічної фізики та хімії БФФХ-2011» (Севастополь, Крим, Україна, 2011), Всеукраїнській конференції молодих вчених і студентів з актуальних питань сучасної хімії (Дніпропетровськ, 2015, 2016).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 7 статей у провідних міжнародних і вітчизняних фахових виданнях та 5 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, літературного огляду, матеріалів і методів дослідження, основної частини, що складається із шести розділів, висновків, списку використаних джерел (115 найменувань) і додатка. Дисертація містить 15 рисунків, 23 таблиці та 41 схему. Загальний обсяг дисертації становить 142 сторінки.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Огляд літератури. Присвячений аналізу відомих методів синтезу класів 3-заміщених похідних 4*H*-хіноліну.

Розділ 2. Матеріали і методи досліджень. У розділі наведено параметри й налаштування проведеного гнучкого докінгу, методу біологічного тестування *in vitro* та визначення IC₅₀ для синтезованих сполук, параметри застосованих приладів для визначення структури й чистоти синтезованих речовин (ЯМР-спектроскопія ¹H та ¹³C, хромато-мас-спектрометрія).

Розділ 3. Пошук інгібіторів протеїнкінази СК2 серед 3-заміщених похідних 4*H*-хінолін-2-ону.

Пошук інгібіторів протеїнкінази СК2 здійснювали за класичною методологією раціонального драг-дизайну (rational drug design). На першому етапі проводили рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг бібліотеки 3-заміщених похідних 2-хінолінону (2786 сполук) за допомогою гнучкого докінгу. Докінг сполук здійснювався в АТФ-зв'язувальну кишеню каталітичної субодиниці протеїнкінази СК2 людини (Protein Data Bank ID: 1JWH_A).

Серед відібраних за результатами докінгу сполук було визначено 4 основні класи амідів і сульфамідів 3-заміщених похідних хінолін-2-ону (BB1-BB4), ряд похідних піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну BB5 та 3-заміщених похідних хінолін-2-ону з вільною карбоксильною групою (A1, A2), які подані в табл. 1.

Розробка підходів для синтезу комбінаторних бібліотек на основі похідних 4*H*-хінолін-2-ону.

У ході аналізу літературних даних методів синтезу 3-заміщених похідних 4*H*-хінолін-2-ону, відібраних за допомогою гнучкого докінгу (табл. 1), нами було виявлено, що вони майже не описані, а ті, що описані, не є зручними. Нами був вибраний та застосований універсальний і препаративно зручний спосіб конструювання хінолінового фрагмента з використанням методу Отто Меша-Кона (Otto Meth-Cohn).

Основні класи відібраних докінгом 3-заміщених похідних хіноліну

№ класу	Загальна хімічна структура	Кількість відібраних речовин	№ класу	Загальна хімічна структура	Кількість відібраних речовин
BB1		10	BB5		10
BB2		15	A1		3
BB3		15	A2		3
BB4		70			

Його універсальність полягає в тому, що як вихідні сполуки використовуються аміди комерційно доступних та відносно недорогих анілінів, завдяки чому є можливість широко варіювати замісники в бензеновому кільці хіноліну, а змінюючи залишки карбонових кислот – одержувати широкий спектр похідних з різними залишками й функціональними групами в положенні 3 хіноліну. Однак, відомо, що в цього методу є і свої недоліки: це доволі низькі виходи реакції циклізації у випадку наявності акцепторів в орто- і пара- положенні анілінового залишку та негативний вплив сильних акцепторів у бета- положенні залишку карбонової кислоти. Негативно впливає на виходи реакції лабільність фрагментів вихідної молекули до досить жорстких умов циклізації, які передбачають використання надлишку комплексу Вільсмайера в оксихлориді фосфору.

Синтез похідних хінолін-2-он-3-ілоцтових кислот (блдінг-блоків класу BB1).

Синтез проводили з використанням стандартних умов методу Отто Меша-Кона для одержання похідних 2-хлорохіноліну. Одержаний амід **1.3** циклізували у відповідний 2-хлорохінолін надлишком комплексу Вільсмайера (схема 1), продукти реакції **1.4a-b** виділяли хроматографією на силікагелі з виходом 12-20 %. Гідроліз атома Хлору в 2-му положенні проводили в одну стадію (one-pot) з одночасним гідролізом естерної групи при нагріванні в оцтовій кислоті з додаванням води впродовж 100 годин.

Сумарний вихід хінолін-2-он-3-ілоцтових кислот **1.5a,b** цим методом, навіть при наявності сильних донорів в аніліновому залишку, виявився менше 5 %, що демонструє безперспективність його використання для одержання хінолін-2-он-3-ілоцтових кислот з іншими замісниками R.

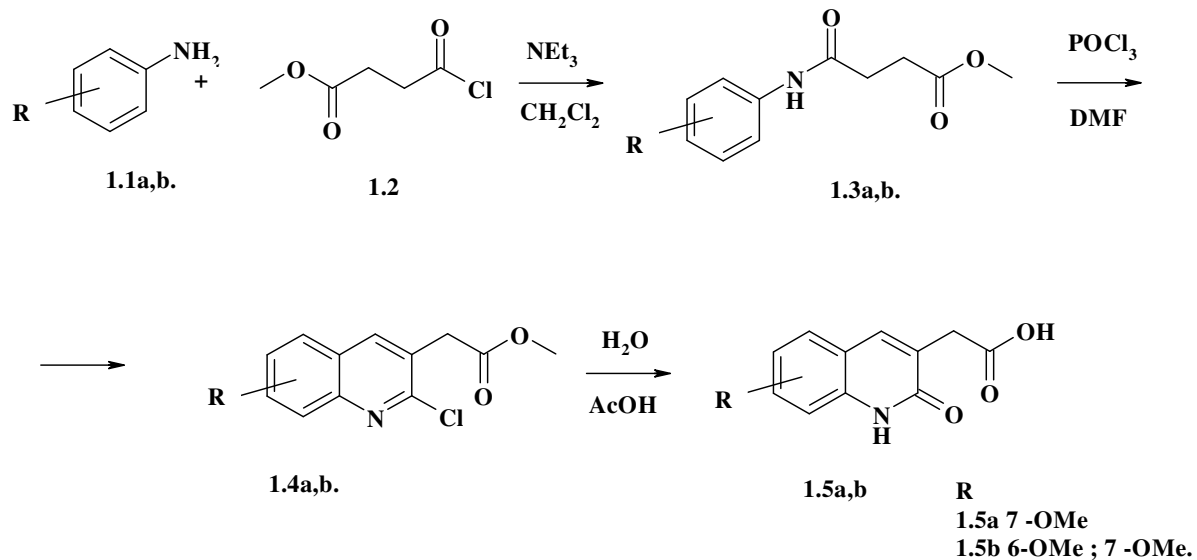


Схема 1. Синтез похідних хінолін-2-он-3-ілоцтових кислот

Синтез похідних 3-(хінолін-2-он-3-іл)пропіонових кислот (білдінг-блоків класу ВВ2).

У літературі описано синтез 3-(хінолін-2-он-3-іл)пропіонових кислот на основі важкодоступних орто-амінобензальдегідів. Нами розроблено два альтернативних методи їх синтезу, виходячи з анілінів. Так, при циклізації анілідів карбоксиметилбутанової кислоти **2.3a,b** під дією реагенту Вільсмайера в оксихлориді фосфору (схема 2) ми одержали метил 3-(2-хлорохінолін-3-іл)-пропіонати **2.4a,b** з виходами 40-50 %. Надалі обробка їх водною оцтовою кислотою веде до заміщення атома Хлору в положенні 2 на атом Оксигену з утворенням метилових естерів 3-(хінолін-2-он-3-іл)пропіонових кислот **2.5a,b**. Після лужного гідролізу останніх були виділені бажані кислоти **2.5a,b**. Сумарний вихід пропіонових кислот не перевищував 10 %, тому ми розробили альтернативний шлях синтезу цих похідних.

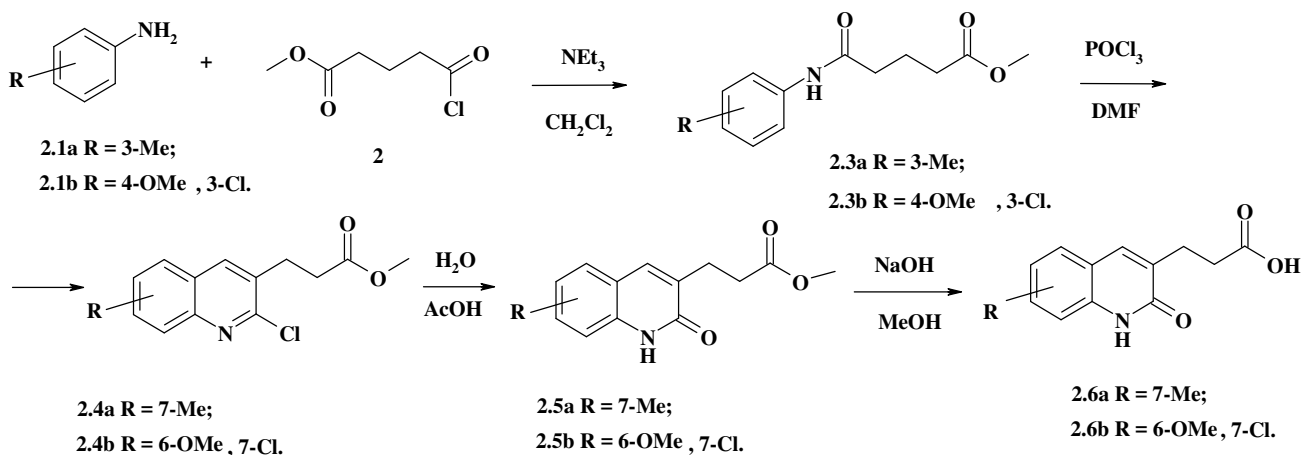


Схема 2. Синтез 3-(хінолін-2-он-3-іл)пропіонових кислот

При обробці ацетанлідів **2.7a-g** (схема 3) надлишком реагенту Вільсмайера в оксихлориді фосфору одержано ряд 2-хлорохінолін-3-карбоксамальдегідів **2.8a-g** з

виходами 70-90 %, в яких дією водної оцтової кислоти атом Хлору був замінений на атом Оксигену, що привело до утворення хінолін-2-он-3-ілкарбоксальдегідів **2.9a-g**. При взаємодії сполук **2.9a-g** з маленовою кислотою в піридині з каталітичною кількістю піролідину синтезовано 3-(хінолін-2-он-3-іл)акрилові кислоти **2.10a-g** з виходами 80-90 %.

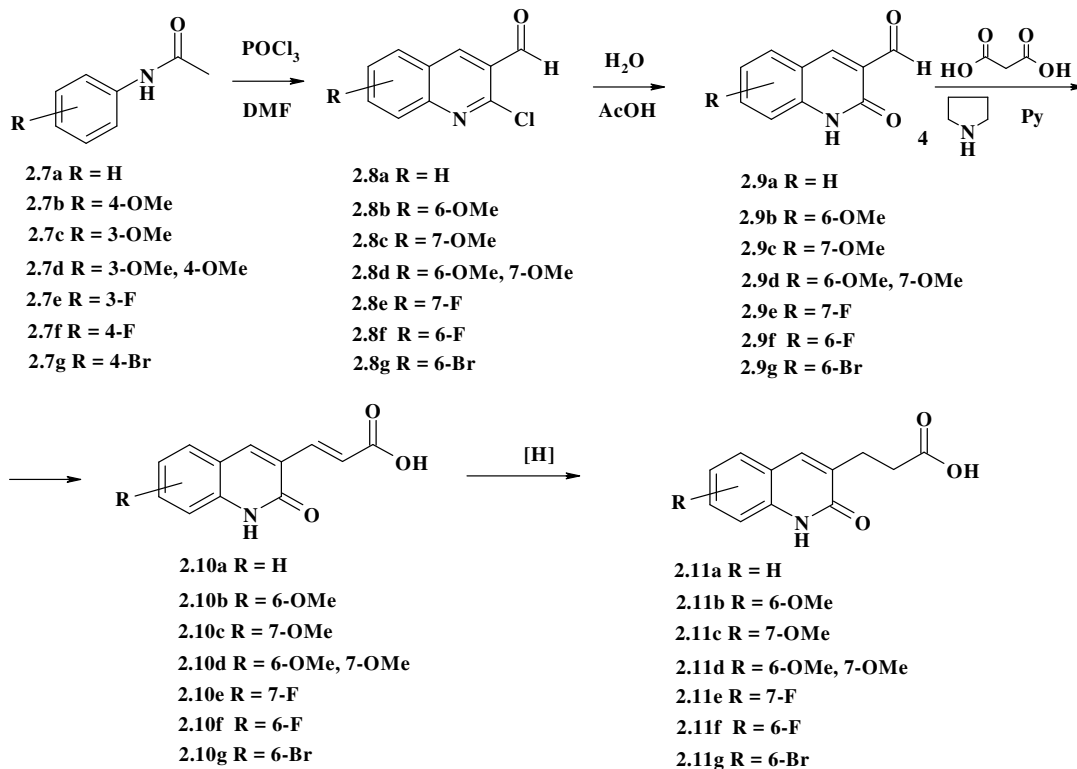


Схема 3. Синтез 3-(хінолін-2-он-3-іл)пропіонових кислот

Відновлення віцинального подвійного зв'язку акрилових кислот **2.10a-d** проводили гідразингідратом на нікелі Ренея з утворенням бажаних 3-(хінолін-2-он-3-іл)пропіонових кислот **2.11a-d**. Було виявлено, що в цих умовах відбувається відновлення атомів галогену в хінолін-2-оновому циклі, тому у випадку 3-(7-флуорохінолін-2-он-3-іл)- і 3-(7-флуорохінолін-2-он-3-іл)акрилової кислоти (**2.10e,f**) ми відновили подвійний зв'язок воднем у присутності 5% паладію на вугіллі.

У випадку 3-(6-бромохінолін-2-он-3-іл)акрилової кислоти **2.10g** нам не вдалося відновити віцинальний подвійний зв'язок жодним із застосованих методів та одержати бажану пропіонову кислоту **2.11g**.

Синтез 3-(амінометил)- і 3-(2-аміноетил)хінолін-2-онів (білдинг-блоки класів BB3, BB4).

Нами розроблено метод синтезу нових 3-(амінометил)- та 3-(2-аміноетил)-хінолін-2-онів на основі анілідів **4.4** і **4.5** (схема 4). Цей підхід дає змогу широко варіювати замісники у фенольному залишку 2-хінолону.

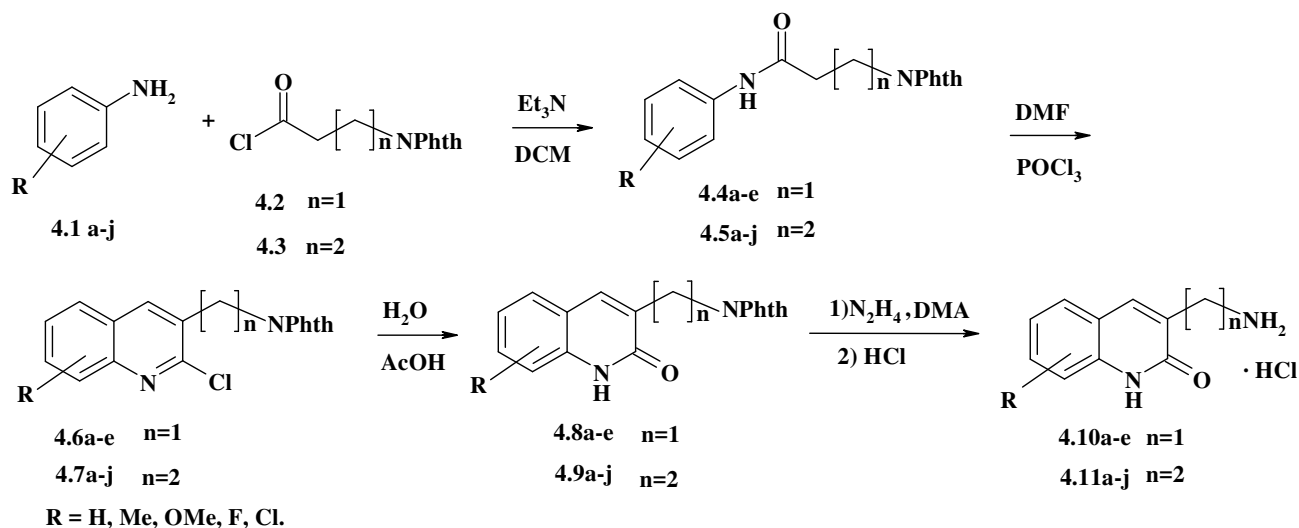


Схема 4. Синтез похідних 2-хінолон-3-ілметиламіну та 2-хінолон-3-ілетиламіну

Вихідними сполуками для синтезу 3-(амінометил)- і 3-(2-аміноетил)-хінолін-2-онів слугували аніліни **4.1a-j**, які при взаємодії з хлорангідридами N-фталойлзахищених амінокислот **4.2** та **4.3** дають аніліди **4.4a-e** і **4.5a-j**. Дією на останні реагенту Вільсмайера синтезовано ряд 2-хлоро-3-алкіл заміщених хінолінів **4.6a-e** та **4.7a-j** з високими виходами (70-90 %). З заміщених хінолінів **4.6a-e** і **4.7a-j** були гідролізовані до відповідних 3-алкілзаміщених похідних хінолін-2-онів **4.8a-e** та **4.9a-j** в оцтовій кислоті при нагріванні зі збереженням фталойльної захисної групи. Зняття фталойльного захисту шляхом гідразинолізу в диметилацетаміді й подальша обробка соляною кислотою дає можливість отримати 3-(амінометил)- і (2-аміноетил)хінолін-2-они **4.10a-e** та **4.11a-j** у формі солянокислих солей.

У результаті було синтезовано 13 нових похідних 3-(амінометил)- і 3-(2-аміноетил)хінолін-2-онів як вихідних реагентів для подальшого комбінаторного синтезу.

Синтез похідних піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну (білдінг-блоків класу BB5).

Нами розроблено новий, препаративно зручний метод синтезу похідних піроло[2,3-*b*]-дигідрохіноліну на основі раніше синтезованих N-фталойлзахищених[2-(2-хлорохінолін-3-іл)етил]амінів **4.6a-i** (схема 5).

Одночасне (one-pot) зняття фталойльного захисту і внутрішньомолекулярну циклізацію проводили в адаптованих умовах – обробкою суспензії вихідного хлорохіноліну **4.6a-i** в *n*-бутанолі при 100 °C 1,2 еквівалентами гідразингідрату впродовж 12-24 годин. Після видалення розчинника й обробки залишка водним розчином гідроксиду натрію було одержано піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліни **5.4a-i**. Знайдений нами препаративно зручний, тристадійний метод синтезу піроло[2,3-*b*]-дигідрохінолінів характеризується високими виходами (82-97 %) і дає змогу широко варіювати замісники в бензеновому кільці цього гетероциклу.

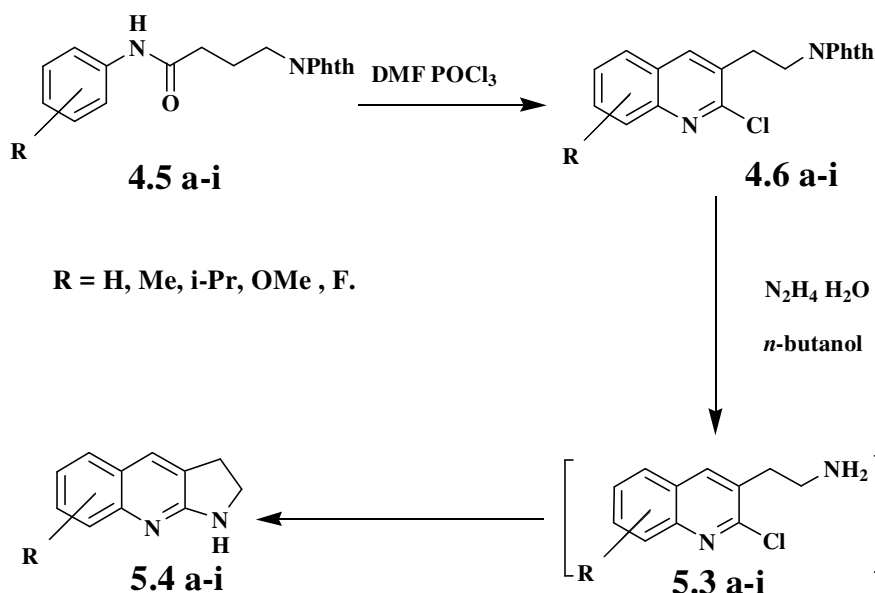


Схема 5. Синтез піроло[2,3-*b*]дигідрохінолінів

Синтез комбінаторних бібліотек 3-заміщених похідних хіноліну на основі білдинг-блоків BB1-BB5.

Синтез комбінаторних серій амідів і сульфамідів похідних 3-заміщених похідних 2-хінолону BB1-BB4 та похідних піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну BB5 проводили за адаптованими нами методиками паралельного синтезу (схема 6), які наведені в матеріалах дисертації.

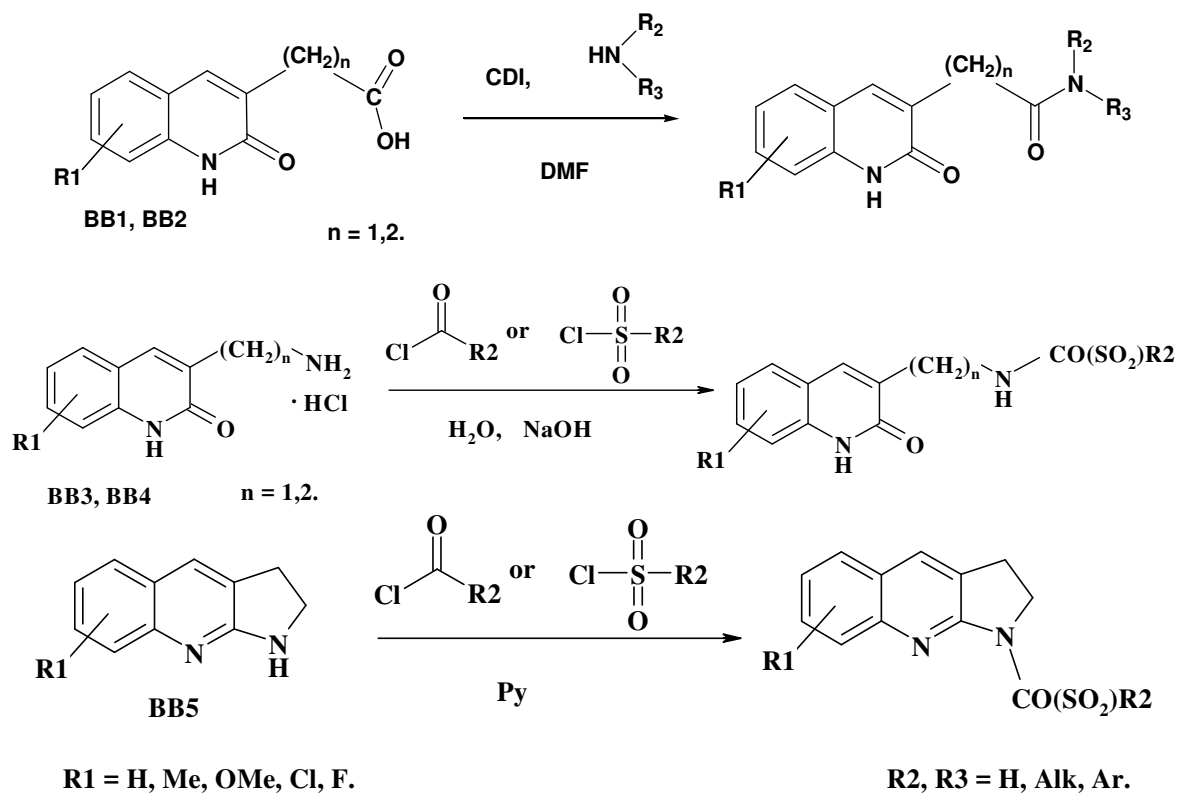


Схема 6. Комбінаторний синтез похідних хінолін-2-ону та піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну

У результаті синтезовано більше 100 нових 3-заміщених похідних хіноліну, які було протестовано *in vitro*.

Синтез 3-алкілзаміщених похідних хінолін-2-он-6-оцтової кислоти (клас А1).

Циклізацію анілідів метилових естерів *n*-амінооцтової кислоти **3.3** (схема 7) проводили з виходами 85-92 % у стандартних умовах синтезу метил 3-(2-хлорохінолін-3-іл)пропіонатів **2.4a-b**, описаних вище. Подвійний гідроліз проводили при тривалому кип'ятінні впродовж 100 годин в оцтовій кислоті з каталітичною кількістю соляної кислоти, 2-хінолон-6-оцтові кислоти **3.5a-c** одержали майже з кількісними виходами.

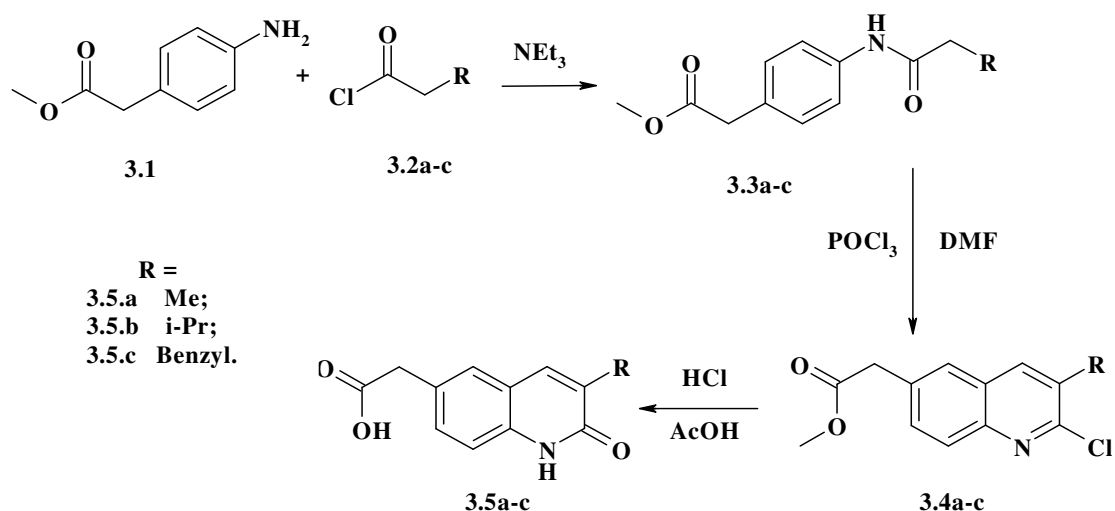


Схема 7. Синтез 3-алкілзаміщених похідних хінолін-2-он-6-оцтової кислоти

Оцінка інгібувальної активності синтезованих похідних стосовно СК2 кінази.

За даними первинного біохімічного тестування, жодна із протестованих сполук не пригнічувала активності СК2 менше ніж на 40 %. Остаточна активність ензиму при концентрації інгібітора 33 μM для найактивніших сполук **1.1** та **1.2** (табл. 2) становила 48,65 % (при 15 – 40,7 %) та 54,99 % (при 15 – 79,87 %) відповідно. Також встановлено значення IC_{50} для цих сполук, що знаходиться в межах 12-16 μM .

Таблиця 2

Хімічні структури та інгібувальна активність амідів
3-заміщених похідних хінолін-2-ону

№	Структура	IC_{50} , μM	№	Структура	IC_{50} , μM
1.1		12	2.1		4,1
1.2		16	2.2		2,4

Розділ 4. Хімічна оптимізація амідів 3-заміщених похідних хінолін-2-ону.

Грунтуючись на ключових взаємодіях між досліджуваними лігандами й амінокислотними залишками активного сайту протеїнкінази, нами було запропоновано синтезувати похідні хіноліну, які в положенні 3 хінолінового гетероциклу містять замісник $-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}$ замість $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}$, з метою зменшення довжини ліганду. В результаті проведеної оптимізації запропоновано структури 15 амідів 3-карбоксихіноліну, які було синтезовано з відповідних кислот (див. нижче) та протестовано *in vitro*. У результаті 12 із 15 одержаних похідних хіноліну пригнічують активність протеїнкінази СК2 з IC_{50} у діапазоні 2,3-33 μM . Нами доведено, що інгібувальна активність амідів 3-заміщених похідних хінолін-2-ону зростає із зближенням амідної СО-групи лінкера з хінолін-2-оновим гетероциклом і зменшенням довжини ліганду. Так, сполука **2.1** (табл. 2) у 3 рази активніша за амід **1.1**. Найактивнішою сполукою визначено амід **2.2**, який інгібував СК2 із значенням IC_{50} 2,4 μM .

Розділ 5. Хімічна оптимізація похідних 3-карбоксихінолін-2-ону (клас А2).

Серед протестованих похідних хінолін-2-ону, заміщених по положенню 3, ми звернули увагу на 7-бромо-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонову кислоту (рис. 1), найактивнішу сполуку з класів А1 та А2 (табл. 1), яка інгібувала СК2 із залишковою активністю $\text{RA}=78\%$ за концентрації 33 μM . Ураховуючи схожість хімічної структури цього класу із відомими інгібіторами СК2 – похідними 4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти [Golub A.G. et all // J. Med. Chem. 2006 49(22): 6443-50], нами був проведений додатковий віртуальний скринінг і пошук нових інгібіторів СК2 серед похідних 3-карбоксихіноліну.

У ході візуальної інспекції комплексу, одержаного методом молекулярного докінгу (Dock 4.0), було оцінено вплив замісників у складі ліганду на активність інгібіторів.

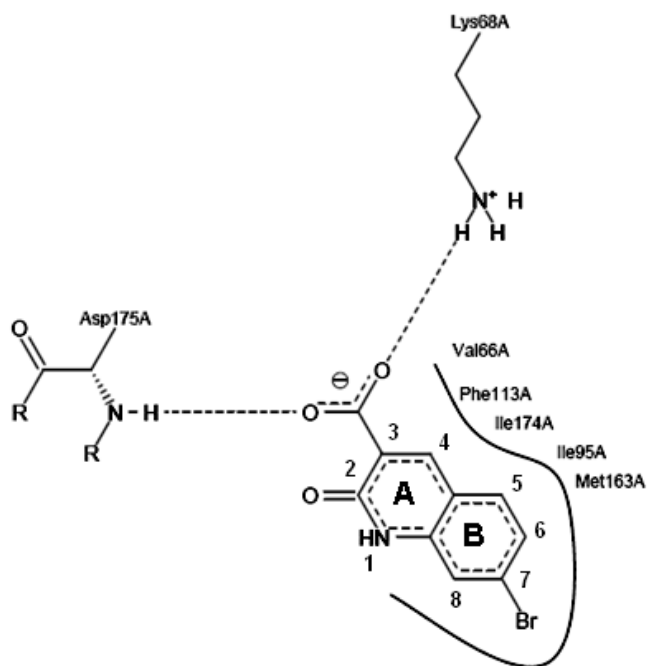


Рис. 1. Хімічна структура і схематичне зображення способу зв'язування 7-бромо-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти з активним сайтом протеїнкінази СК2 (пунктирною лінією позначено водневі зв'язки)

Встановлено, що взаємодія сполуки з АТФ-зв'язувальною кишеною СК2 відбувається за рахунок гідрофобних контактів із п'ятьма амінокислотними залишками кінази та двох водневих зв'язків. Водневі зв'язки утворюється між карбоксильною групою сполуки й амінокислотними залишками Lys68 та Asp175. Додаткова стабілізація комплексу з АТФ-акцепторним сайтом СК2 відбувається за рахунок гідрофобних контактів ліганду з амінокислотними залишками Ile95, Phe113, Ile174, Val66 і Met163 протеїнкінази.

Ураховуючи ключові взаємодії 7-бромо-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти із поверхнею АТФ-зв'язувального сайту СК2, нами було обрано декілька шляхів структурної оптимізації похідних хінолін 3-карбонових кислот:

1) синтезувати похідні, які містять метоксигрупу і гідрофобні замісники різного розміру в положеннях 5, 6, 7 та 8 хінолін-2(1*H*)-онового циклу, з метою дослідження впливу замісників у бензеновому кільці В (рис. 1) на утворення водневих зав'язків і гідрофобних взаємодій з АТФ-зв'язувальним сайтом СК2;

2) синтезувати похідні, які в положенні 2 хінолінового циклу А містять атом Хлору або аміногрупу, з метою дослідження впливу цих груп на утворення водневих зв'язків з АТФ-акцепторною кишеною СК2;

3) синтезувати похідні з додатковим гідрофобним конденсованим циклом у положеннях 5-6 та 7-8 циклу В й аліфатичним циклом у положенні 1-8 з фіксованим амідним зв'язком у циклі А, щоб з'ясувати вплив циклічних систем на активність речовин через підвищення гідрофобного ефекту;

4) синтезувати похідні, що містять конденсований тетразольний цикл у положенні 1-2 хінолінового циклу А, з метою вивчення впливу цього гетероциклу на фіксацію комплексу «інгібітор – СК2» шляхом утворення π - π -стекинг-взаємодії з Phe113.

Синтез похідних 3-карбоксихіноліну.

Вихідні 2-хлорохінолін-3-карбоксальдегіди **4.2** було синтезовано з використанням методу Отто Меша-Кона з ацетанілідів **4.1** (схема 8) при дії надлишку комплексу Вільсмайера. Після окиснення альдегідної групи до карбоксильної нітратом срібла отримали ключові інтермедіати 2-хлорохінолін-3-карбонові кислоти **4.3** з виходами в межах 60-90 %. Серію хінолін-2-он-3-карбонових кислот **4.4** було отримано після гідролізу Хлору в положенні 2 обробкою киплячою оцтовою кислотою з додаванням води. Заміну атома Хлору на аміногрупу проводили у водному розчині аміаку при 150 °С, 2-амінохінолін-3-карбонові кислоти **4.5** виділяли з невисокими виходами (30-50 %) після дробної кристалізації. Взаємодією інтермедіатів **4.3** з азидом натрію в диметилформаміді при 100 °С з високими виходами (75-90 %) було синтезовано серію тетраоло[1,5-*a*]хінолін-4-карбонових кислот **4.6**.

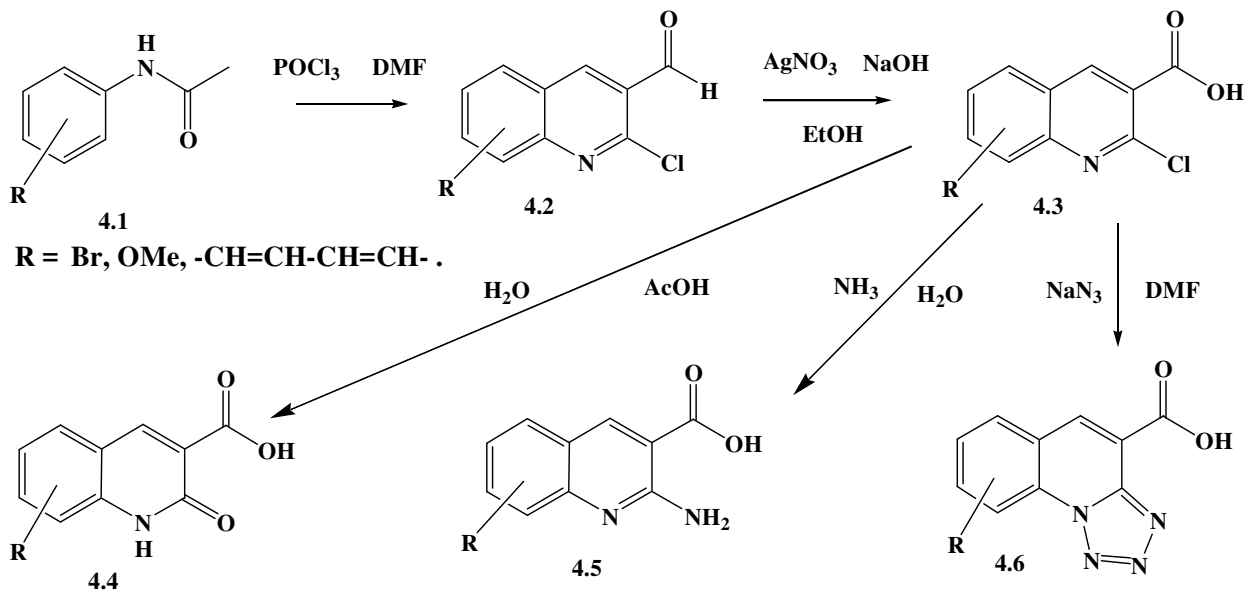


Схема 8. Синтез похідних 3-карбоксихіноліну

Використовуючи модифікацію реакції Сузукі, уперше для бромопохідних хінолін-2-он-3-карбонових кислот і тетразоло[1,5-*a*]хінолін-4-карбонових кислот **4.5** нами було проведено заміну атома Брому в бензольному ядрі хіноліну на залишки фенілборонових кислот (схема 9). У розроблених умовах реакції атом Брому в положенні 6 хінолін-2-он-3-карбонових кислот **4.4** та в положенні 7 тетразоло[1,5-*a*]хінолін-4-карбонових кислот **4.5** виявився більш рухливим, ніж у положенні 7 та 8 відповідно, а 8-арилтетразоло[1,5-*a*]хінолін-4-карбонові кислоти не утворювалися.

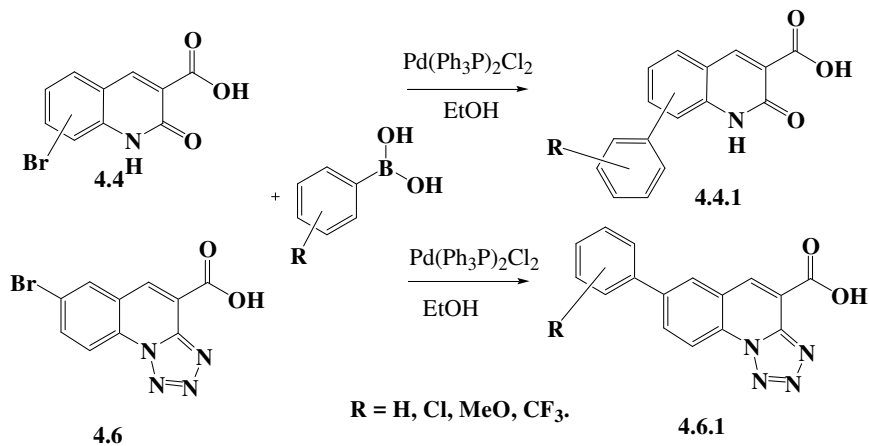


Схема 9. Синтез арилзаміщених похідних хінолін-3-карбонової кислоти

Нові похідні 5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піридо[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти **4.11**, **4.13**, **4.14** було отримано з 1-ацетил-1,2,3,4-тетрагідрохіноліну **4.8** за схемою 10.

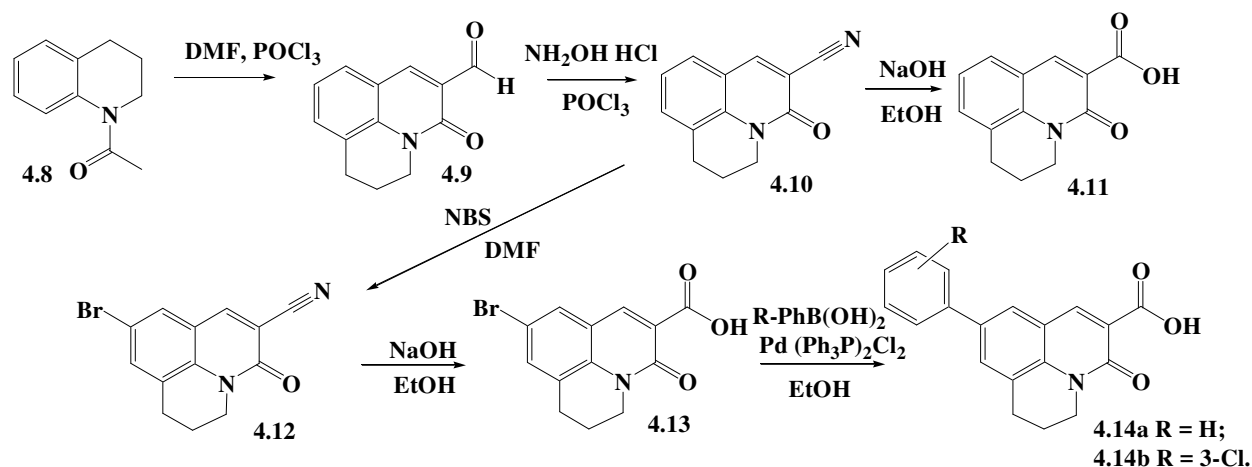


Схема 10. Синтез похідних 5-оксо-2,3-дигідро-1*H*,5*H*-піrido[3,2,1-*ij*]хінолін-6-карбонової кислоти

У результаті проведеної структурної модифікації було синтезовано 43 нових похідних 3-карбоксихіноліну, які були досліджені в біохімічних тестах *in vitro*.

Дослідження залежності «хімічна структура – інгібіторна активність» похідних 3-карбоксихіноліну.

За результатами біологічного скринінгу виявлено 22 речовини, що пригнічували активність кінази СК2 з IC_{50} у межах 0,6-18,2 μM . Аналізуючи залежність інгібувальної активності похідних 3-карбоксихіноліну від хімічної структури, можна сформулювати низку закономірностей.

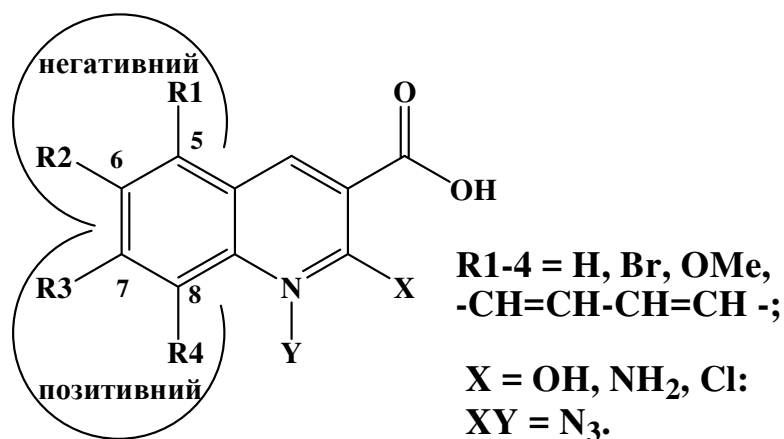


Рис. 2. Вплив замісників у бензеновому кільці хіноліну на інгібувальну активність похідних 3-карбоксихіноліну

Ключовий водневий зв'язок з АТФ-зв'язувальною кишенею ензиму реалізується тільки з метокси- і Бром замісниками в положенні хіноліну, а всі похідні з невеликими замісниками в положенні 6 (6-метокси-, 6-бromo-, 6,7-диметокси- та 6-метокси-7-бромозаміщенням) виявилися неактивними. Така ж залежність спостерігається і для похідних бензо[*h*]хінолінкарбонових кислот, які виявилися значно активніші, ніж бензо[*f*]хінолінкарбонові кислоти (рис. 2).

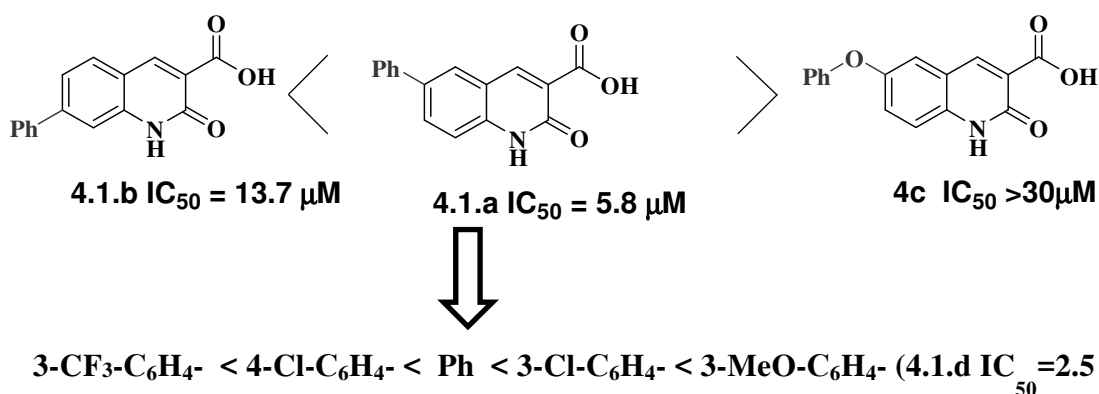


Рис. 3. Порівняння інгібувальної активності похідних 3-карбоксихіноліну

Уведення об'ємного фенільного замісника в положення 6 хінолін-2-ону збільшує активність сполук порівняно із 7-фенілзаміщеними (сполуки **4.1.a**, **4.1.b**, рис. 3), а найбільш активним виявилось 3-МеО-заміщення у 6-фенільному залишку хінолін-2-ону (сполука **4.1.d**). Для похідних із 6-феноксизаміщенням інгібувальна активність зникає (сполука **4c**).

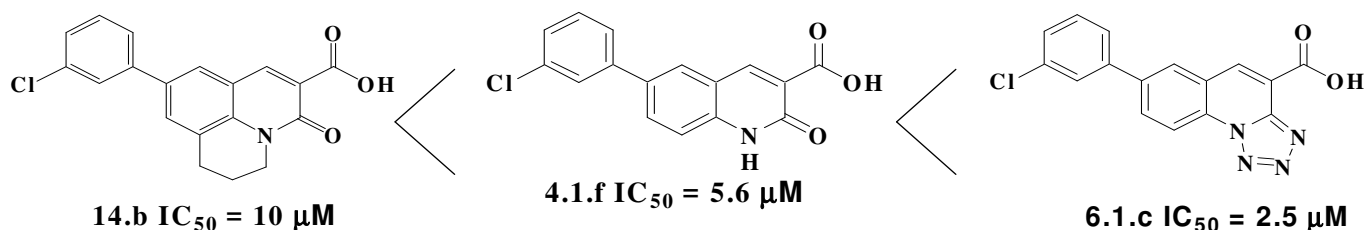


Рис. 4. Порівняння інгібувальної активності похідних 3-карбоксихіноліну

Уведення аліфатичного гідрофобного циклу (сполука **14b**, рис. 4) не веде до збільшення активності, а наявність тетразольного циклу (сполуки **6.1c**, **6j**, **6b**, рис. 4, 5) збільшує активність похідних, імовірно, за рахунок утворення додаткових π - π -взаємодій із Phe113.

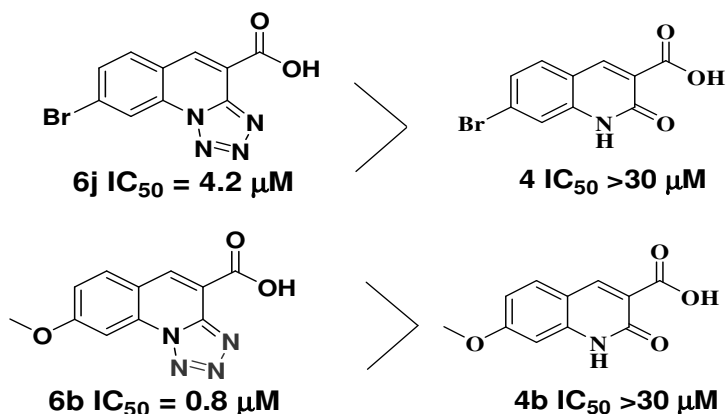


Рис. 5. Порівняння інгібувальної активності похідних 3-карбоксихіноліну

Також нами знайдено, що заміна СО-групи в положенні 2 хіноліну на аміногрупу значно підвищує інгібувальну властивість 3-карбоксихінолінів. Найбільшу активність проявили 2-амінобензо[*h*]хінолін-3-карбонова кислота **5k** (рис. 6) і 2-аміно-7-бромо-6-метоксихінолін-3-карбонова кислота **5c** із значенням IC_{50} 0,65 та 0,7 відповідно.

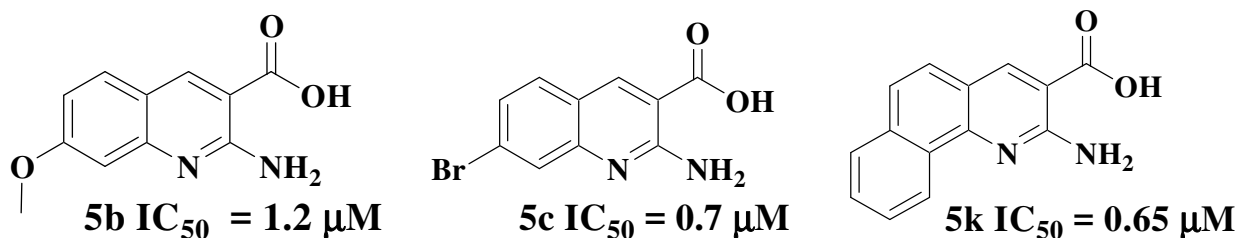


Рис. 6. Хімічні структури й інгібувальна активність похідних 2-аміно-3-карбоксихіноліну

У результаті проведеної хімічної оптимізації нам вдалося на 2 порядки підвищити інгібувальну активність похідних 3-карбоксихіноліну. Знайдені інгібітори можна використовувати в біологічних дослідженнях та розглядати як перспективні «сполуки-хіти» для подальшої хімічної оптимізації.

ВИСНОВКИ

Розроблено нові методи синтезу 3-заміщених похідних хінолін-2-ону та синтезовано на їх основі комбінаторні бібліотеки. Знайдено нові інгібітори протеїнкінази СК2 і вивчено залежність інгібувальної активності від їх хімічної структури.

1. Розроблено нові методи синтезу білдинг-блоків для комбінаторного синтезу похідних: 2-хінолінон-3-ілпропінових кислот, 2,3-дигідро-1*H*-піроло[2,3-*b*]хіноліну, 3-(амінометил)- та 3-(аміноетил)хінолін-2-онів з відповідних анілідів за допомогою модифікованого методу Отто Меша-Кона. Опрацьовані методики характеризуються високими виходами і дають змогу широко варіювати замісники в бензеновому кільці хіноліну.

2. Для пошуку інгібіторів СК2 синтезовано 6 комбінаторних серій амідів і сульфамідів 3-заміщених похідних 2-хінолінону та похідних піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну, які загалом налічували 130 нових сполук.

3. Знайдено нові інгібітори СК2 серед амідів 7-метоксихінолін-2-он-3-іл-оцтової кислоти із значенням IC_{50} у межах 12-16 μM . Після хімічної оптимізації розроблено інгібітор із значенням IC_{50} 2,4 μM . З'ясовано, що інгібувальна активність протестованих сполук зростає із «зближенням» амідної С=О-групи лінкера з хінолін-2-оновим гетероциклом.

4. Досліджено інгібувальну активність 3-карбоксихінолін-2-онів та запропоновано напрями хімічної оптимізації 3-карбоксихінолінів, синтезовано 42 нові сполуки, серед яких знайдено 30 нових інгібіторів СК2 із значенням IC_{50} у межах 0,65-20 μM .

5. Встановлено залежності СК2 інгібувальної активності похідних 3-карбоксихінолінів від їх хімічної структури й показано вирішальну роль наявності метоксигрупи чи атома Брому в положенні 7 хінолінового та в положенні 8 тетразоло[1,5-*a*]хінолінового циклу на інгібувальну активність речовин.

6. Знайдено новий клас інгібіторів СК2 серед похідних 2-аміно-3-карбоксихіноліну. Серед них найбільш активними є 2 сполуки – 2-аміно-7-бромохінолін-3-карбонова кислота і 2-амінобензо[*h*]хінолін-3-карбонова кислота, які інгібують протеїнкіназу СК2 з IC_{50} 0,7 та 0,65 μ M відповідно.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Чеканов М. О. Синтез 3-(амінометил)- і 3-(2-аміноетил)хінолін-2-онів / М. О. Чеканов, А. Р. Синюгін, С. С. Лукашов, С. М. Ярмолук // *Ukrainica Bioorganica Acta*. – 2009. – № 2. – Р. 59–63. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних*)

2. Синюгін А. Р. Синтез 3-(хінолін-2-он-3-іл) пропіонових кислот / А. Р. Синюгін, М. О. Чеканов, С. С. Лукашов, С. М. Ярмолук // *Ukrainica Bioorganica Acta*. – 2010. – № 2. – Р. 58–62. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних, написання основної частини статті*)

3. Volynets G. P. Identification of 3H-naphtho[1,2,3-de]quinoline-2,7-diones as inhibitors of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) / G. P. Volynets, M. O. Chekanov, A. R. Synyugin, A. G. Golub, O. P. Kukhareno, V. G. Bdzhola, S. M. Yarmoluk // *J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 54, № 8. – Р. 2680–2686. (*Особистий внесок здобувача: аналіз і систематизація спектральних даних, написання частини статті*)

4. Синюгін А. Р. Нові похідні 2-хінолінону: синтез і СК2 інгібіторна активність / А. Р. Синюгін, М. О. Чеканов, О. Ю. Нипорко, О. В. Остринська, С. М. Ярмолук // *Ukrainica Bioorganica Acta*. – 2012. – № 1. – Р. 51–60. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних, написання розділу статті*)

5. Syniugin A. R. New method for the synthesis of pyrrolo[2,3-*b*]dihydroquinolines / A. R. Syniugin, M. O. Chekanov, P. V. Savitskiy, A. E. Pashenko, T. S. Zhuk, S. M. Yarmoluk, A. A. Fokin // *Tetrahedron Lett.* – 2016. – Vol. 57. – Р. 213–215. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних, написання основного розділу статті*)

6. Syniugin A. R. Design, synthesis and evaluation of 3-quinoline carboxylic acids as new inhibitors of protein kinase CK2 / A. R. Syniugin, O. V. Ostrynska, M. O. Chekanov, G. P. Volynets, S. A. Starosyla, V. G. Bdzhola, S. M. Yarmoluk // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2016. – № 31 (S4). – Р. 160–169. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних, написання основного розділу статті*)

7. Остринська О. В. Хімічна оптимізація амідів 3-карбоксихіноліну як інгібіторів протеїнкінази СК2 / О. В. Остринська, А. Р. Синюгін, М. О. Чеканов, М. В. Протопопов, О. П. Кухаренко, С. М. Ярмолук // *Ukrainica Bioorganica Acta*. – 2016. – № 1. – Р. 38–45. (*Особистий внесок здобувача: хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних, написання розділу статті*)

8. Синюгін А. Р. Нові 3-заміщені похідні 2-хінолінону / А. Р. Синюгін, М. О. Чеканов, С. С. Лукашов, С. М. Ярмолук // *International Symposium. Advanced Science in Organic Chemistry*. – Miskhor, Crimea. – June 21 – June 25, 2010. – Р. 188. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних*)

9. Синюгін А.Р. Дизайн інгібіторів протеїнкінази СК2 на основі похідних 2-окси-1,2-дигідрохінолін-3-іл ацетамідів / А. Р. Синюгін, М. О. Чеканов, С. С. Лукашов, С. М. Ярмолук // VII Міжнародна науково-технічна конференція «Актуальні питання біологічної фізики та хімії БФФХ-2011», Севастополь, Крим, Україна, 2011. – Р. 306. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних*)

10. Syntyugin A. R. Design of protein kinase CK2 inhibitors based on the 3-alkyl substituted 2-quinolone scaffold / A. R. Syntyugin, М. О. Chekanov, О. Р. Kukharenko, V. G. Bdzhola, S. M. Yarmoluk // *Abstract of VII Annual Conference of Young Scientist of the Institute of Molecular biology and Genetics NAS of Ukraine dedicated to the 175 anniversary of O. Ya. Danylevsky* // *Biopolymers and Cell*. – 2013. – Vol. 29. Special Issue. – Р. 24. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних*)

11. Синюгін А. Р. Направлений синтез інгібіторів протеїнкінази СК2 на основі похідних 2-хінолінону / А. Р. Синюгін, М. О. Чеканов, С. М. Ярмолук // XIII Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії, Дніпропетровськ, 19-21 травня 2015. – Р. 132. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних*)

12. Синюгін А. Р. Ідентифікація тетразоло[1,5-а]хінолін-4-карбонових кислот як нового класу інгібіторів протеїнкінази СК2 / А. Р. Синюгін, М. О. Чеканов, С. М. Ярмолук // XIV Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії, Дніпропетровськ, 24-26 травня 2016 р. – Р. 52. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літератури, хімічний синтез, аналіз та систематизація спектральних даних*)

АНОТАЦІЯ

Синюгін А. Р. Синтез нових інгібіторів протеїнкінази СК2 на основі 3-заміщених похідних хіноліну. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія. – Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ, 2017.

Дисертаційна робота присвячена розробці методів синтезу нових похідних 4*H*-хінолін-2-ону, заміщених по положенню 3, і пошуку серед них інгібіторів протеїнкінази СК2.

Для пошуку нових інгібіторів протеїнкінази СК2 було проведено рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг бібліотеки не описаних раніше в літературі 3-заміщених похідних 2-хінолінону. В результаті було відібрано 4 основні класи амідів і сульфамідів 3-заміщених похідних хінолін-2-ону, ряд похідних піроло[2,3-*b*]дигідрохіноліну та 3-заміщених похідних хінолін-2-ону з вільною карбоксильною групою.

Для одержання комбінаторних бібліотек було розроблено нові підходи до синтезу білдінг-блоків – похідних 2-хінолінон-3-ілпропіонових кислот, похідних 2,3-дигідро-1*H*-піроло[2,3-*b*]хіноліну і вперше синтезовано похідні 3-(амінометил)- та 3-(аміноетил)хінолін-2-онів на основі відповідних анілідів з використанням методу Отто Меша-Кона. Синтезовано 5 комбінаторних серій, які було досліджено в біохімічних тестах *in vitro*.

Знайдено 2 сполуки – аміді 7-метоксихінолін-2-он-3-ілоцтових кислот, які інгібують протеїнкіназу СК2 із значенням IC_{50} у межах 12-16 μM . При подальшій оптимізації з'ясовано, що інгібувальна активність сполук зростає із «зближенням» амідної С=О-групи лінкера з хінолін-2-оновим гетероциклом на прикладі амиду 3-карбоксихінолін-2-ону. Найактивнішою сполукою виявився амід **2.2**, який інгібує СК2 із значенням IC_{50} 2,4 μM .

Запропоновано напрями хімічної оптимізації похідних 3-карбоксихіноліну і синтезовано 42 оптимізовані сполуки, серед яких знайдено 22 нових інгібітори СК2 із значенням IC_{50} у межах 0,65-18,5 μM .

Знайдено новий клас інгібіторів СК2 на основі похідних 2-аміно-3-карбоксихіноліну. Серед них найбільш активними виявилися 2 сполуки – 2-аміно-7-бромохінолін-3-карбонова кислота **5c** та 2-амінобензо[*h*]хінолін-3-карбонова кислота **5k**, які інгібують протеїнкіназу СК2 з IC_{50} у межах 0,65-0,7 μM . Знайдені інгібітори можна використовувати в біологічних дослідженнях і розглядати як перспективні «сполуки-хіти» для подальшої хімічної оптимізації.

Ключові слова: інгібітори протеїнкінази СК2, хінолін-2-он-3-карбонова кислота, 2,3-дигідро-1*H*-піроло[2,3-*b*]хінолін, 2-амінохінолін-3-карбонові кислоти, тетразоло[1,5-*a*]хінолін-4-карбонова кислота, комбінаторний синтез.

АННОТАЦИЯ

Синюгин А. Р. Синтез новых ингибиторов протеинкиназы СК2 на основе 3-замещенных производных хинолина. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия. – Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, Киев, 2017.

Диссертационная работа посвящена разработке методов синтеза новых классов производных 4*H*-хинолин-2-она, замещенных по 3-му положению, и поиску среди них ингибиторов протеинкиназы СК2.

Для поиска новых ингибиторов протеинкиназы СК2 был проведен рецепторно-ориентированный виртуальный скрининг библиотеки не описанных ранее в литературе 3-замещенных производных 1*H*-хинолин-2-она.

Для получения комбинаторных библиотек были разработаны новые подходы к синтезу билдинг-блоков – производных 2-хинолинон-3-илпропионовых кислот, производных 2,3-дигидро-1*H*-пирроло[2,3-*b*]хинолина и впервые синтезированы производные 3-(аминометил)- и 3-(аминоэтил)хинолин-2-онов из соответствующих анилидов с использованием метода Отто Меша-Кона. Синтезированы 5 комбинаторных серий соединений, которые были исследованы в биохимических тестах *in vitro*.

Предложены направления химической оптимизации класса 3-карбоксихинолина и синтезированы 42 структурно оптимизированных соединения, среди которых найдены 22 новых ингибитора СК2 со значением IC₅₀ в пределах 0,65-18,5 мМ.

Найдены наиболее активные 2 соединения – 2-амино-7-бромхинолин-3-карбоновая кислота **5c** и 2-аминобензо[*h*]хинолин-3-карбоновая кислота **5k**, которые ингибируют протеинкиназу СК2 с IC₅₀ в пределах 0,65-0,7 мМ. Найденные ингибиторы могут быть использованы в биологических исследованиях.

Ключевые слова: ингибиторы протеинкиназы СК2, 2,3-дигидро-1*H*-пирроло[2,3-*b*]хинолин, хинолин-2-он-3-карбоновая кислота, хинолин-2-он-3-карбоновая кислота, 2-аминохинолин-3-карбоновая кислота, тетраоло[1,5-*a*]хинолин-4-карбоновая кислота, комбинаторный синтез.

SUMMARY

Syniugin A. R. Synthesis of the novel protein kinase CK2 inhibitors, based on 3-substituted quinoline derivatives scaffold. – Manuscript.

Thesis for Philosophy Doctor (PhD) degree in Chemistry, specialty 02.00.10 – bioorganic chemistry. – Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2017.

Protein kinase CK2 (Casein Kinase 2) – is the validated molecular target for developing new anticancer and antiviral drugs using rational drug design approach. The novel small molecular CK2 inhibitors are necessary also to study of this protein kinase role in biochemical pathways in the cell.

In the first step of the search for new protein kinase CK2 inhibitors the receptor-oriented virtual screening of 3-substituted quinoline derivatives library was performed. Molecular docking was carried out into ATP-acceptor site of human protein kinase CK2 using Dock 4.0 software. As a result, we have selected 4 major classes of amides and sulfonamides of 3-substituted derivatives of quinoline-2-one, a number of derivatives of pyrrolo[2,3-*b*]dihydroquinoline and some derivatives of quinoline-2-one with a free carboxyl group.

For combinatorial libraries obtaining we have developed new approaches for the synthesis of building blocks – 2-quinolinone-3-yl propionic acid derivatives, 2,3-dihydro-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]quinoline derivatives and the first synthesized 3-(aminomethyl) – and 3-(aminoethyl)quinoline-2-ones from appropriate anilides, using modification of the O. Meth-Cohn method. We have synthesized 5 combinatorial series including 110 compounds, which have been investigated in biochemical tests *in vitro*, using radioactively labeled ³²P-ATP.

As a result, we have identified 2 compounds – 7-methoxyquinolin-2-one-3-acetic acid amides (compound **1.1** and **1.2**), which inhibit protein kinase CK2 with IC₅₀ values in the range of 12-16 μM. Further optimization allowed us to find, that the inhibitory activity of compounds increases with «convergence» amide C=O group of the linker to quinoline-2-one heterocycle, for example amide 3-carboxyquinolin-2-one **2.1** in 3 times more active than **1.1**. The most active compound is amide **2.2** inhibits CK2 with IC₅₀ value of 2.4 μM.

Based on the calculated model of binding mode for compound **93** with ATP-acceptor site of CK2 the several ways for structural optimization of quinoline-3-carboxylic acid scaffold were proposed. We have synthesized 42 compounds, among them we have identified 22 new CK2 inhibitors with IC₅₀ values in range of 0.65-18.5 μM. We have studied the dependence of the CK2 inhibitory activity of synthesized compounds in terms of their chemical structure and showed the crucial role -Br or methoxy substituents in the 7th position of quinoline and 8th position of tetrazol [1,5-*a*] quinoline cycles on compounds inhibitory activity.

Therefore, we found a novel class of CK2 inhibitors based on 2-amino-3-carboxyquinoline scaffold. Two the most active compounds, 2-amino-7-bromquinoline-3-carboxylic acid **5c** and 2-aminobenzo[*h*]quinoline-3-carboxylic acid **5k** inhibit protein kinase CK2 with IC₅₀ value in the range 0.65-0.7 μM.

Thus, the most active compounds with IC₅₀ in submicromolar range were found among the tetrazoloquinoline-4-carboxylic acid and 2-amino-quinoline-3-carboxylic acid derivatives. We suppose that the last ones are the most perspective for further chemical optimization and biological investigations.

Keywords: protein kinase CK2 inhibitor, 2,3-dihydro-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]quinoline, quinoline-2-one-3-carboxylic acid, 2-aminoquinoline-3-carboxylic acid, tetrazolo[1,5-*a*]quinoline-4-carboxylic acid.