

## АНОТАЦІЯ

*Михальченко Є. К.* Синтези, властивості та перетворення 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 «Охорона здоров'я»). - Запорізький державний медичний університет МОЗ України.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Дисертаційна робота відноситься до актуальних та важливих проблемсучасної фармації. Робота присвячена пошуку нових біологічно активних речовин серед 7-заміщених похідних 3-бензил-8-пропілксантину, розробці препаративних методик їх синтезу, вивченню фізико-хімічних властивостей новосинтезованих сполук, проведенню первинного фармакологічного скринінгу з метою визначення сполук з низькою токсичністю та високими показниками біологічної активності. При цьому для подальшого поглибленого фармакологічного дослідження запропоновано L-аргініна 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетат, який виявляє виражену актопротективну дію та відноситься до практично нетоксичних речовин. Для даної сполуки розроблено проект «Методів контролю якості» на порошок (субстанцію) для виробництва стерильних лікарських засобів.

Проведено узагальнення та критичний огляд літературних джерел щодо методів синтезу, хімічних перетворень біологічно активних похідних R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>-заміщених похідних ксантину, який показав перспективність пошуку біологічно активних сполук у цьому напрямку.

Ретельний аналіз літератури свідчить про широкий спектр біологічної дії ксантинів, а також про наявний арсенал синтетичних методів їх одержання, а також показав ряд питань, що потребують вирішення, серед яких поєднання ксантинового «скафолду» із різноманітними

гетероциклічними фармакофорами (системи піразолу, триазолу, оксадіазолу, тіазолу тощо), як одностадійним введенням замісника, так і поступовою побудовою гетероциклу в бічному ланцюзі, що може привести до одержання сполук, які матимуть широкий спектр біологічної дії.

В ході виконання наукового дослідження визначено перспективність синтезу та проведення досліджень серед невідомих похідних 3-бензил-8-пропілксантину, відбір базових молекул для їх подальшої функціоналізації.

На підставі квантово-хімічних розрахунків термодинамічних параметрів процесів, методом теорії функціоналу густини, запропоновано ймовірні механізми перебігу хімічних реакцій – замикання імідазольного циклу при побудові вихідного 3-бензил-8-пропілксантину; гетероциклізації гідрозиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти з анілюванням піразольного циклу у заміснику положення 7; побудови оксадіазольного циклу у бічному ланцюзі шляхом гетероциклізації іліденгідрозидів 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти.

Тонка хімічна будова вихідного 3-бензил-8-пропілксантину була проаналізована за допомогою експериментів ядерного магнітного резонансу, як на ядрах протонів, так і на ядрах ізотопу Карбону-13, а симуляція двумірного  $^1\text{H}$   $^{13}\text{C}$  кореляційного (HSQC) спектру підтвердила вірність встановлених відношень хімічних зсувів атомів, що стало підґрунтям для наступних спектральних досліджень в ряду 7-заміщених похідних 3-бензил-8-пропілксантину.

З метою регуляції параметру ліпофільності речовин а також розширення арсеналу біологічно-активних сполук, похідних 3-бензил-8-пропілксантину, синтезовано ряд неописаних в літературі водорозчинних солей 3-бензил-8-пропілксантину – зручних об'єктів для фармакологічних досліджень, а взаємодією вихідної сполуки з галогенопохідними алканів, алкенів, арил(гетерил)алканів та ароматичних кетонів отримані більш полярні 7-заміщені похідні 3-бензил-8-пропілксантину. Аналіз хімічних зсувів та констант спінової взаємодії різного порядку у  $^1\text{H}$  ЯМР спектрі

7-алліл-3-бензил-8-пропілксантину показав, що замісник у положенні 7 утворює спінову  $A_2MRX$  систему, яка проявляється унікальним набором розщеплених сигналів, через те, що термінальні вінільні протони не є хімічно еквівалентними внаслідок перешкодженого обертання навколо подвійного зв'язку: один з них має *cis*-конфігурацію до залишку досліджуваної молекули, а інший має *cis*-розташування до третього вінільного протону замісника.

Запропоновано три методи синтезу 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти – прямою взаємодією з хлорацетатною кислотою або хлорацетамідом чи естерами хлорацетатної кислоти. Показано, що найбільш препаративною методикою, яка дозволяє отримати максимальні виходи кінцевих продуктів, є взаємодія 3-бензил-8-пропілксантину з естерами хлорацетатної кислоти, з подальшим гідролізом.

Досліджено три методики синтезу неописаних в літературі естерів 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти і виявлено, що синтез бутилового, гексилового, гептилового, октилового, нонилового, децилового, алілового та бензилового естерів 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти слід проводити алкілюванням вихідної кислоти відповідними галогенопохідними.

Для подальшого розширення ареналу перспективних біологічно активних сполук був отриманий гідразид 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти, який було запропоновано в якості базової структури, що дозволила отримати похідні ксантину, які містять гетероциклічні замісники у бічному карбоновому ланцюзі: 3-бензил-8-пропіл-7-[2'-оксо-2'-(3'',5''-диметилпіразол-1''-іл)етил]ксантини, 3-бензил-7-(4'-R-5'-меркапто-1',2',4'-тріазоліл-3')-8-пропілксантини, 2-(3-бензил-8-пропілксантин-7-іл)-N'-(4-фенілтіазол-2-іл)ацетогідразид, (2''-[2'-(3-бензил-8-пропілксантин-7-іл)]-3''-R-4-оксотіазолідин-5''-іл)ацетогідразиди.

Так, для одержання неописаного в літературі 3-бензил-8-пропіл-7-[2'-оксо-2'-(3'',5''-диметилпіразол-1''-іл)етил]ксантину було розроблено дві

прості у виконанні методики синтезу взаємодією гідразиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти з ацетилацетоном, а на підставі квантово-хімічних розрахунків за методом DFT запропонований ймовірний механізм перебігу реакцій.

При одержанні потенційних біологічно-активних сполук з низькими показниками токсичності були адаптовані препаративні методики синтезу іліденопохідних гідразиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти.

Показана можливість використання цих іліденогідразидів в реакціях гетероциклізації для отримання неописаних раніше 7-([4'-ацетил-5'-R-4', 5'-дигідро-1',3',4'-оксадіазол-2'-іл]метил)-3-бензил-8-пропілксантинів, які в своїй структурі поєднують два фармакологічно перспективних гетероцикли.

Вперше були одержані 3-бензил-7-[(4'-R-5'-меркапто-1',2',4'-тріазол-3'-іл)метил]-8-пропілксантини. Наявність меркаптогрупи у тріазольному кільці надала можливість розширити комбінаторні бібліотеки похідних ксантину і тріазолу за рахунок здійснених реакцій алкілування.

На основі отриманих N-алкіл(феніл)гідразинокарботіоамідів 3-бензил-8-пропілксантину вперше синтезовані сполуки, які поєднують в одній молекулі ксантиновий та тіазольний або тіазолідиновий цикли.

Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ-,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії. Методами 1D- ( $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  АРТ) та 2D- ( $^{15}\text{N}$  та  $^1\text{H}$  НМВС) підтверджена тонка хімічна структура (2''-{[2'-(3-бензил-8-пропілксантин-7-іл)-ацетил]-гідразино}-3''-етил-4-оксотіазолідин-5''-іл)-ацетатної кислоти, а також двумірний гетероядерний ЯМР-експеримент дозволив внести корекцію по віднесенню сигналів  $^{15}\text{N}$  до положень атомів Нітрогену в ксантиновому біциклі.

В ході виконання дисертаційної роботи було синтезовано 111 нових сполук для яких проведено дослідження різних видів біологічної активності, що дало змогу виявити найактивніші структури та встановити закономірності «будова-дія».

Дослідження біологічної активності синтезованих сполук було проведено на базі Запорізького державного медичного університету, в атестованих та сертифікованих МОЗ України лабораторіях Навчального медико-лабораторного центру (завідувач – професор, доктор медичних наук А. В. Абрамов), а саме в лабораторії кафедри мікробіології і вірусології Запорізького державного медичного університету (професор, доктор медичних наук О. М. Камишний) та лабораторії кафедри клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО Запорізького державного медичного університету (завідувач кафедри професор, доктор медичних наук Білай І. М., в дослідженнях приймав участь доктор фармацевтичних наук Пругло Є. С.).

Здійснено фармакологічний скринінг синтезованих сполук на антиоксидантну (63), діуретичну (24), протимікробну (20), протигрибкову (20), та гіпоглікемічну дії (7) внаслідок чого встановлено, що 3-бензил-8-пропілксантин, його ксантиніди, 7-алкіл(аралкіл)заміщені, 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатна кислота та її похідні, а також 7-заміщені 3-бензил-8-пропілксантини, що містили у бічному ланцюзі гетероциклічні замісники виявляють досліджувані активності і в ряді випадків перевищують еталони порівняння.

Вивчення біологічної дії проводилось методами *in vitro* (визначення антибактеріальної, фунгіцидної, антиоксидантної дій) та *in vivo* (діуретична, гіпоглікемічна, актопротекторна та кардіопротекторна). За результатами вивчення гострої токсичності встановлено, що всі досліджені 7-заміщені похідні 3-бензил-8-пропілксантину відносяться до IV або V класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова. Для «сполук-хітів», що виявляють високі показники гіпоглікемічної та діуретичної активності, які можуть впливати на патології метаболічного синдрому, за допомогою методу молекулярного докінгу були визначені ймовірні молекулярні мішені біологічної дії, а саме дипептидилпептидаза 4 типу, 11 $\beta$ -гідроксистероїддегідрогеназа типу 1, пероксисомний активуючий проліферацію рецептор типу гамма та аденозиновий A<sub>1</sub>-рецептор.

Проведено аналіз залежності біологічної дії синтезованих сполук від їх будови, в результаті чого встановлено:

– модифікацією гідразиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти було отримано ряд іліденохідних, які показали помірний або високий рівень фунгіцидної активності. Встановлено, що одночасна наявність в ароматичному заміснику атомів Флюору та Хлору значно підвищувало фунгіцидну дію в порівнянні з вихідним 3-бензил-8-пропілксантином. Також, до значного підвищення фунгіцидної активності привела комбінація 3-бензил-8-пропілксантину з 5-тіо-4-феніл-1,2,4-тріазолом;

– до підвищення показників антиоксидантної активності та зниження гострої токсичності приводить наявність у 7 положенні 3-бензил-8-пропілксантину залишку ацетатної кислоти, а також його модифікації за рахунок реакції гідразінолізу.

– модифікація карбоксильної групи за рахунок реакцій етерифікації дон-пропокси групи призводить до збільшення діуретичної активності, а відповідний аліловий естер 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти проявив не лише високу, але й пролонговану діуретичну дію;

– заміщення гідроксилу карбоксильної групи на амідну або N-фенілгідразінокарботіамідну групу підвищує показники гіпоглікемічної активності та знижує показники гострої токсичності.

Знайдені закономірності дозволили виявити ряд перспективних напрямків для подальшого пошуку нових біологічно активних сполук.

За результатами *in vitro*-дослідження АОА відібрана найбільш активна сполука, актопротективні та кардіопротективні властивості якої було вивчено на модельній патології.

Для подальшого поглибленого фармакологічного дослідження запропоновано L-аргініна 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетат, який виявляє виражену актопротективну дію та відноситься до практично нетоксичних речовин. Для стандартизації субстанції «сполуки-лідера»

розроблено проект «Методики контролю якості» на порошок (субстанцію) для виробництва стерильних лікарських засобів.

Результати дослідження біологічної дії, а також встановлені закономірності залежності «будова-дія», можуть бути застосовані для цілеспрямованого пошуку біологічно активних сполук серед 7-заміщених похідних 3-R-8-R'ксантинів.

Результати дисертаційної роботи, впроваджено в навчальний та науково-дослідний процес вищих навчальних закладів України.

*Ключові слова:* 3-бензил-8-пропілксантин, органічний синтез, фізико-хімічні, біологічні властивості, молекулярний докінг.

### Список публікацій здобувача

1. Михальченко Є. К., Александрова К. В., Левіч С. В. Синтез і фізико-хімічні властивості 3-бензил-8-пропілксантину та його водорозчинних солей. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2016. № 1 (20). С. 26–30. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).
2. Synthesis and physical-chemical properties of 3-benzyl-8-propylxanthinyl-7-acetic acid and its derivatives / E. K. Mikhalchenko, K. V. Aleksandrova, S. V. Levich, D. M. Sinchenko. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2017. № 1 (23). С. 14–19. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).
3. Синтез і фізико-хімічні властивості функціональних похідних 3-бензил-8-пропілксантиніл-7-ацетатної кислоти / Є. К. Михальченко, К. В. Александрова, С. В. Левіч, А. С. Коржова. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2017. Т. 10, № 2 (24). С. 141–146. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).
4. Prospective biological active compounds among 7-substituted of 3-benzyl-8-propylxanthines for treatment of metabolic syndrome pathologies / Ye. Mykhalchenko, K. Aleksandrova, O. Shkoda, Ye. Pruglo. *EUREKA: Health Sciences*. 2019. N 5 (23). P. 52–58. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).



5. Александрова К. В., Михальченко Є. К., Левіч С. В. Вивчення протимікробних та протигрибкових властивостей 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів. *Медичний форум*. 2017. № 10 (10). С. 9–12. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті)*.
6. 2-(3-Бензил-8-пропілксантин-7-іл)-N'-[(1E,2E)-2-хлор-5-фторобензиліден]-ацетогідразид, який виявляє протигрибкову дію: пат. 111652 Україна: МПК C07D 473/00. Александрова К. В., Михальченко Є.К., Левіч С. В., Камишний О.М., Поліщук Н. М. ; заявник та патентовласник автори та Запорізький держ. мед. ун-т. № u201602568; заявл. 16.03.16; опубл. 25.11.16, Бюл. № 22. *(Особистий внесок здобувача: проведення літературного аналізу і патентного пошуку за обраною темою, виконання експериментальної частини, підготовка заявки до подачі в Укрпатент)*.
7. 3-бензил- 7-[(4- феніл-5- меркапто-1,2,4- триазол-3- іл)метил]-8-пропілксантин, який виявляє протигрибкову дію: пат. 117190 Україна: МПК C07D 473/00. Александрова К. В., Михальченко Є. К., Левіч С. В., Камишний О. М., Поліщук Н. М.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т та автори. № u201602568; заявл. 31.10.16; опубл. 26.06.17, Бюл. № 12. *(Особистий внесок здобувача: проведення літературного аналізу і патентного пошуку за обраною темою, виконання експериментальної частини, підготовка заявки до подачі в Укрпатент)*.
8. Гідразид 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти, який виявляє діуретичну дію: пат. 128510 Україна: МПК C07D 473/00. Александрова К. В., Михальченко Є. К., Пругло Є. С., Сінченко Д. М.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т та автори. № u201802221; заявл. 05.03.18; опубл. 25.09.18, Бюл. № 18. *(Особистий внесок здобувача: проведення літературного аналізу і патентного пошуку за обраною темою, виконання експериментальної частини, підготовка заявки до подачі в Укрпатент)*.

9. L-аргінінова сіль 3-бензил-8-пропілксантиніл-7 ацетатної кислоти, що проявляє актопротекторну та кардіопротекторну активності: заявка на патент України на винахід: МПК6: C07D 249/00, A61K 31/41. Александрова К. В., Михальченко Є. К., Беленічев І. Ф., Бухтіярова Н. В. ; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т та автори. № а201901891; заявл. 25.02.19. *(Особистий внесок здобувача: проведення літературного аналізу і патентного пошуку за обраною темою, виконання експериментальної частини, підготовка заявки до подачі в Укрпатент).*
10. Aleksandrova K. V., Mikhal`chenko E. K., Vasylyev D. A. Synthesis and physicochemical propertis of hydrazides of 3,8-disubstituted xanthinyl-7-acetic acids and their derivatives. *Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики.* Львів, 2015. С. 124. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).*
11. Synthesis and physicochemical properties of triazole and thiazole containing xathine derivatives / K. V. Aleksandrova, S. V. Levich, E. K. Mikhalchenko, D. M. Sinchenko. *XXIV Укр. конф.я з органічної хімії*, 19-23 вер. Полтава, 2016. С. 109. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).*
12. Synthesis and physicochemical properties of pyrazole containing xathine derivatives / K. V. Aleksandrova, S. V. Levich, E. K. Mikhalchenko, M. O. Bilyaev. *Актуальні проблеми хімії та хімічної технології* : матеріали II всеукр. наук.-практ. конф., 21-23 листоп. 2016 р. Київ, 2016. С. 75. *(Особистий внесок здобувача)*
13. Михальченко Є. К., Левіч С. В., Біляєв М. О. Мікробіологічні властивості похідних 3-аралкіл-8-алкілксатинів. *Хист.* Чернівці. 2016. Вип. 18. С. 586. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовка тез до друку).*
14. Search of potential low toxic antibacterial drugsamongnovel alkyl 3-benzyl-8-propylxanthinyl-7-acetates / K. V. Aleksandrova, E. K. Mykhal`chenko, S. V.

Levich et al. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф., 30-31 бер. 2017 р. Харків, 2017. Т. 2. С. 3. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовка тез до друку*).

15. Безштанько А. В., Михальченко Є. К., Левіч С. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 3-аралкіл-8-пропілксантиніл-7-ацетамідів. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2017* : зб. тез доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 11-12 трав. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 140. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовка тез до друку*).

16. Mykhalchenko Ye. K. Research of antioxidant properties of ylidenhydrazides of 3-benzyl-8-propylxanthinyl-7-acetic acid. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine* : Int. res. and practice conf., 20-21 October, 2017. Lublin, 2017. P. 135.

17. Александрова К. В., Михальченко Є. К., Сінченко Д. М. Пошук біологічно активних сполук серед гідразиду та іліденгідразинових похідних 3-бензил-8-пропілксантиніл-7-ацетатної кислоти. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* (до 50-річчя заснування ЗДМУ) : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. 18-25 квіт. 2018 р., 30 трав. 2018 р. Запоріжжя, 2018. С. 140. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовка тез до друку*).

18. Targeted screening for antioxidant efficiency of 3-benzylxanthine derivatives / K. V. Aleksandrova, E. K. Mykhal'chenko, A. S. Shkoda et al. *Медицина в сучасних умовах інтеграційного розвитку країн Європи* : міжнар. наук.-практ. конф. м. Люблін, Республіка Польща. 10-11 трав. 2019 р. Люблін, 2019. С. 258–259. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень, підготовка тез до друку*).