

На правах рукописи



**КРАВЧЕНКО**  
**Дмитрий Владимирович**

**СИНТЕЗ, ПРЕВРАЩЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**  
**СУЛЬФОНИЛЗАМЕЩЕННЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ**  
**ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СИСТЕМ**

02.00.03 – Органическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора химических наук

Москва 2006

Работа выполнена в ООО "Исследовательский Институт Химического Разнообразия"

**Научный консультант:** доктор химических наук, профессор, лауреат Государственной премии СССР и премии Совета Министров СССР, заслуженный изобретатель России Иващенко Александр Васильевич

**Официальные оппоненты:**

доктор химических наук, профессор Граник Владимир Григорьевич

доктор химических наук, профессор Юровская Марина Абрамовна

доктор химических наук, профессор Смушкевич Юрий Исаевич

**Ведущая организация:** Институт органической химии РАН имени Н.Д. Зелинского

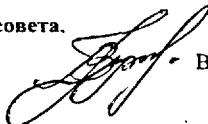
Защита состоится 12.09.2006г. в 15г. 30 мин на заседании диссертационного совета Д 212.203.11 в Российском университете дружбы народов по адресу: 117923, Москва, ул. Орджоникидзе. д.3, зал N 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая. д.6.

Автореферат разослан 05 июля 2006г.

**Ученый секретарь диссертационного совета.**

кандидат химических наук, доцент



В.В. Курилкин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Актуальной проблемой современной органической химии является разработка методов синтеза и функционализации оригинальных соединений, обладающих потенциальными практически значимыми биологическими свойствами и являющихся перспективными кандидатами для создания лекарственных препаратов. В частности, благодаря исключительно разнообразной физиологической активности, азотсодержащие гетероциклические системы занимают лидирующее положение среди лекарственных средств. В этом ряду соединений найдены многочисленные агонисты, антагонисты, модуляторы рецепторов, ингибиторы ферментов, онколитики, антибактериальные и противопаразитарные агенты и т.д. В настоящее время подавляющее большинство азотсодержащих гетероциклов относят к так называемым “привилегированным структурам” [Evans B. et. al. J. Med. Chem. 1988, 31, p. 2235-2246]. Устоявшийся за последние 15 лет в литературе термин “привилегированные структуры” означает неизменную структурную часть определенного семейства молекул, определяющую их активность к большому количеству разнообразных биомишеней. В последнее время широко используется более точный термин “привилегированные фрагменты” [Mason J. et. al. J. Med. Chem. 1999, 42, p. 3251-3264], к которым относят фрагменты молекул, способные, за счет трехмерных характеристик своей структуры, связываться с большим числом биомишеней, тогда как другие части данных молекул могут обеспечивать специфическое взаимодействие с определенной биомишенью [Horton D. et. al. Chem. Rev. 2003, 103, p. 893-930].

Следует отметить, что несмотря на огромное количество публикаций, посвященных синтезу, строению и свойствам различных замещенных азотсодержащих гетероциклических систем, многие сульфонилзамещенные производные не описаны. Вместе с тем, сульфонильный фрагмент также принято относить к “привилегированным фрагментам”. Введение данного фрагмента в органическую молекулу может приводить к возникновению новой или модификации существующей биологической активности. Очевидно, что новые разнообразные сульфонилзамещенные азотсодержащие гетероциклические системы могут найти применение в широком спектре фармакологических исследований. в частности,

связанных с поиском высокоэффективных ингибиторов каспазы-3 и созданием на их основе принципиально новых кардиопротекторов, нейропротекторов, гепатопротекторов для лечения и защиты от широкого круга заболеваний, ключевым звеном которых является повышенная активация апоптоза (апоптоз – программированная гибель клетки с характерными морфологическими и биохимическими признаками).

В связи с этим, данное исследование посвящено разработке путей синтеза широкого круга новых азотсодержащих гетероциклических систем с сульфонильными фрагментами и созданию на их основе новых высокоэффективных ингибиторов каспазы-3.

Работа является частью систематических научных исследований, проведенных в ООО “Предприятие Контакт Сервис” в период 1997-2003 гг и проводимых в ООО “Исследовательский Институт Химического Разнообразия” в период 2004-2006 гг в рамках программы «Биоскрининг активных веществ для создания готовых лекарственных средств и средств защиты растений на базе ООО “Исследовательский Институт Химического Разнообразия”», которая включена в Федеральные целевые программы Минпромнауки РФ “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники (2002-2006 годы)” и “Развитие медицинской промышленности в 1998-2000 гг и на период до 2005 года”.

**Цель работы.** Развитие научного направления, связанного с комплексным использованием широкого круга органических реакций для целенаправленного синтеза новых сульфонилзамещенных азотсодержащих гетероциклических систем, открывающего путь к поиску новых физиологически активных веществ и созданию новых лекарственных препаратов. Для достижения данной цели в работе решались следующие задачи:

- разработка стратегии синтеза и изучение возможностей конструирования и функционализации оригинальных азотсодержащих гетероциклических систем;
- разработка методов получения широкого набора структурных аналогов (комбинаторных библиотек) сульфамидных и сульфонилалкильных производных оригинальных азотсодержащих гетероциклических систем, пригодных для высокопроизводительного скрининга;

- доказательство структуры (идентификация) новых соединений;
- нахождение среди синтезированных соединений новых высокоэффективных ингибиторов капазы-3 непептидного типа и установление закономерностей влияния строения соединений на активность ингибирования капазы-3 *in vitro*.

#### Научная новизна.

Разработана общая методология повышения разнообразия (увеличения химического пространства) комбинаторных библиотек сульфонилзамещенных азотсодержащих гетероциклов, включающая трансформацию функциональных группировок исходных гетероциклических соединений, трансформацию "введенных" функциональных группировок и превращение исходных гетероциклических систем в другие гетероциклические системы.

Осуществлен синтез комбинаторных библиотек производных азотетарилсульфамидов, сульфоамилазотетарилкарбоксамидов, сульфоамиламиноалкилкарбоксамидов, сульфоамиталкилкарбоксамидов и других производных.

Разработан синтез новых гетероциклических систем - 9-бром-1,1,6-триоксоциклопента[3,4]пиридо[2,3-*e*][1,2,4]гиадиазина и пиридо[2,3-*f*][1,2,5]тиадиазепин-1,1,4(5*H*)-триона, на основе которых были синтезированы соответствующие комбинаторные библиотеки.

Показана возможность использования 5-сульфоамиллизатинов, изатин-5-сульфо кислоты и 3,3-дихлор-2-оксо-5-сульфоамил-2,3-дигидро-1*H*-индолов в качестве изатиновой компоненты в реакции Пфитцингера.

Осуществлен синтез неизвестных ранее замещенных 6-сульфоамилхинолин-4-карбоновых кислот, 6-сульфоамилхинолин-3,4-дикарбоновых кислот и 6-сульфоамилхинолин-2,3,4-трикарбоновых кислот, которые в условиях параллельного жидкофазного синтеза превращены в комбинаторные библиотеки неизвестных ранее замещенных 6-сульфоамилхинолин-4-карбоксамидов.

На основе 6-сульфо- и 6-сульфоамилхинолин-3,4-дикарбоновых кислот впервые получены 1,3-диоксо-8-сульфо- и 1,3-диоксо-8-сульфоамил-2,3-дигидрофуоро[3,4-*c*]хинолины, которые действием первичных аминов, превращены в

неизвестные ранее 1,3-диоксо-8-сульфо- и 1,3-диоксо-8-сульфамоил-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины.

На основе синтезированных соединений и с использованием методов компьютерного моделирования создана сфокусированная библиотека потенциальных ингибиторов цистеиновых протеаз. Биологические испытания соединений из данной библиотеки *in vitro* позволили выявить ряд неизвестных ранее высокоэффективных ингибиторов каспазы-3. На основании изучения закономерностей влияния природы заместителей в 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинах на их ингибирующую активность, предложен механизм обратимого взаимодействия меркаптогруппы каспазного фермента с электрофильными карбонильными группами ингибитора. Доказано, что 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины являются медленно диссоциирующими ( $\tau \approx 50$  мин) обратимыми и неконкурентными ингибиторами каспазы-3.

#### Практическая ценность.

Создан набор комбинаторных библиотек сульфонилзамещенных азотсодержащих гетероциклов, включающий пиррольные, индольные, изоксазолные, пиразольные, имидазолные, бензоксазолные, бензотиазолные, бензимидазолные, бензо[1,2,5]оксадиазольные, бензо[1,2,5]тиадиазольные, пиридиновые, хинолиновые, пиримидиновые, хиназолиновые, хиноксалиновые, бензо[1,4]оксазиновые, бензо[1,4]тиазиновые, бензо[*b*]азепиновые, бензо[*b*][1,4]оксазепиновые, бензо[*b*][1,4]тиазепиновые, 1*H*-бензо[*b*][1,4]дiazепиновые, бензо[*e*][1,4]дiazепиновые, тиено[2,3-*d*]пиримидиновые, тиазоло[3,2-*a*]пиримидиновые, [1,3,4]тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидиновые, [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидиновые, бензо[*c,d*]индольные, хромено[3,4-*d*]имидазолные и пирроло[3,4-*c*]хинолиновые фрагменты.

В ходе исследований синтезировано и идентифицировано (методами ЯМР и жидкостной хромато-масс-спектро-скопии) более 20000 соединений, ранее не описанных в литературе. Разработанные методы синтеза этих соединений характеризуются высокими выходами, селективностью и чистотой целевых продуктов. Синтезированные соединения удовлетворяют основным требованиям

современной медицинской органической химии и могут быть использованы для высокопроизводительного биологического скрининга, что открывает новые возможности для нахождения биологически активных соединений и создания новых лекарств.

На основании исследований методом высокопроизводительного скрининга биологической активности синтезированных соединений показана высокая эффективность в качестве непептидных ингибиторов каспазы-3 1,3-диоксопирроло[3,4-с]хинолинов, 2-оксо-1*H*-хиноксалин-2-онов, 2,4-диоксо-1*H*-бензо[*g*]птеридинов, их 2-тиоксо аналогов и 3-(3-оксо-2-тиоксотиазolidин-5-илден)-1,3-дигидроиндол-2-онов, что открывает возможности создания новых лекарств для лечения заболеваний, связанных с апоптозом. В результате оптимизации структуры 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолинов предложен набор высокоэффективных ( $IC_{50} < 10$  нМ) ингибиторов каспазы-3, представляющих собой замещенные 8-сульфамонил-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолины. Антиапоптотическая эффективность этих соединений была подтверждена как на примере нескольких клеточных линий, так и нервных клеток переднего мозга рыб (zebrafish).

**Апробация работы и публикации.** По теме диссертации опубликовано 24 статьи в отечественных и иностранных научных журналах, получено 10 патентов РФ и 1 международная заявка. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на 17-ом Международном симпозиуме по медицинской химии (Барселона, Испания, 2002), 20-ой Украинской конференции по органической химии, посвященной 75-летию со дня рождения академика А.В.Богатского (Одесса, Украина, 2004), 9-ой национальной конференции "Биологически активные гетероциклы и концепция открытия новых лекарств" (Раджкот, Индия, 2005), 229-ой национальной конференции отделения медицинской химии американского химического общества (Сан Диего, США, 2005), 20-ом международном конгрессе по гетероциклической химии (Палермо, Италия, 2005) и международной конференции по химии гетероциклических соединений, посвященной 90-летию со дня рождения профессора А.Н. Коста (Москва, Россия, 2005).

**Вклад автора.** Определение цели исследований, постановка задач и разработка методов их решения, непосредственное участие во всех этапах выполнения исследований. Описание и интерпретация результатов, формулировка основных выводов работы.

**Положения, выносимые на защиту.**

Методы высокопроизводительного синтеза комбинаторных библиотек и расширение химического пространства сульфонилзамещённых производных азотсодержащих гетероциклических систем.

Региоселективный синтез сульфохлоридов азотсодержащих гетероциклических систем.

Взаимосвязь структуры и биологической активности 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов.

1,3-Диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины - высокоэффективные ингибиторы капазы-3.

**Структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Работа изложена на 347 страницах, включает 26 таблиц, 45 рисунков и 204 схемы. Список литературы включает 358 источников.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Разработка методов синтеза комбинаторных библиотек сульфонилзамещённых азотсодержащих гетероциклических соединений.

#### 1.1 Синтез гетероциклических сульфохлоридов.

В настоящем исследовании была разработана и реализована идея создания широкого набора комбинаторных библиотек азотсодержащих гетероциклов, содержащих сульфамидные **2** и сульфонильные **3** заместители исходя из азогетероциклических сульфохлоридов **1**. Для реализации этой схемы было синтезировано 80 разнообразных азогетероциклических сульфохлоридов **1**, в том числе 20 новых.



где: W = замещённые и незамещённые пирролы, индолы, оксазолы, пиразолы, имидазол, бензазолы, азины, аннелированные азотсодержащие гетероциклы.



Основной подход к получению сульфохлоридов 1 состоял в синтезе гетероциклического субстрата и его последующем сульфировании или сульфохлорировании. Как правило, для введения сульфогруппы использовалась хлорсульфоновая кислота. Конверсия сульфокислоты в сульфохлорид в большинстве случаев протекала в более жестких условиях, чем сульфирование. В качестве дегидроксихлорирующих агентов использовались хлорсульфоновая кислота, пятихлористый фосфор и хлористый тионил.

Для определения наиболее вероятного направления реакции сульфирования азатетрациклических субстратов широко использовались квантово-химические расчеты, включающие расчет эффективных зарядов на атомах углерода, а также величин вкладов р-орбиталей атомов углерода в высшую занятую молекулярную орбиталь (ВЗМО) -  $S^2_p$ .

В связи с гидролитической нестабильностью сульфохлоридов положение сульфогруппы в гетероциклическом фрагменте устанавливалось по результатам исследования строения синтезированных на их основе сульфамидов (таблица 1) с применением современных ЯМР-спектральных методов.

Разнообразие сульфонилзамещенных комбинаторных библиотек мы обеспечили не только широким спектром исходных реагентов, но и трансформацией функциональных группировок исходных гетероциклических соединений, трансформацией "введенных" функциональных группировок, превращением исходных гетероциклов в другие гетероциклические системы.

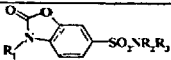
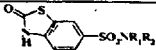
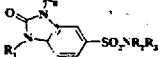
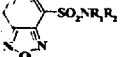
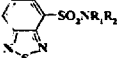
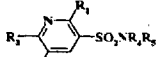
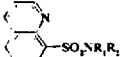
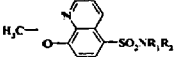
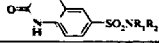
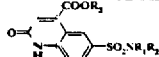
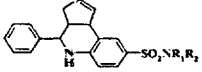
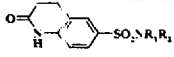
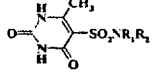
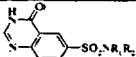
### 1.2. Синтез сульфамидов.

Для получения набора комбинаторных библиотек азотсодержащих гетероциклических сульфамидов была использована методика параллельного жидкофазного синтеза в органических растворителях, включающая взаимодействие сульфохлоридов 1 с первичными и вторичными аминами различного строения 4 (рис. 1) в присутствии акцептора хлористого водорода. В зависимости от строения аминов 4 в качестве акцептора хлористого водорода использовался либо избыток самого амина, либо карбонаты щелочных металлов, либо пиридин (схема 1). В случае необходимости конечные сульфамиды 2 подвергались очистке с помощью



Таблица 1. Синтезированные азагетероциклические сульфамиды 2

2(№)	Формула	R <sub>1</sub> ; R <sub>2</sub> ; R <sub>3</sub>	№ КБ	Кол. соед. в КБ
(1)		R <sub>1</sub> =Me; R <sub>2</sub> =H; R <sub>3</sub> =H; R <sub>4</sub> =CO <sub>2</sub> Et	CL4486	377
(2)		R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub> = Me, R <sub>4</sub> = CO <sub>2</sub> Et	CL6194	101
(3)		R <sub>1</sub> =Me, Et, cyclo-C <sub>3</sub> , cyclo-C <sub>4</sub> ; R <sub>2</sub> = H, Me	CL2566	1457
(4)		R <sub>1</sub> =H <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ; R <sub>2</sub> = H	CL2958	98
(5)		R <sub>1</sub> =H <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ; R <sub>2</sub> = H	CL2959	22
(6)		R <sub>1</sub> = Me, Et, cyclo-C <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> =H, Me	CL1063	675
(7)		R <sub>1</sub> =H; R <sub>2</sub> =H; R <sub>3</sub> =H	CL2964	78
(8)		R <sub>1</sub> =Me, R <sub>2</sub> =Me, R <sub>3</sub> =Me	CL4643	150
(9)		R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =iPr	CL5486	172
(10)			CL0662	30
(11)			CL4519	92
(12)			CL4945b	206
(13)			CL4945c	60
(14)			CL2509	745
(15)		R <sub>1</sub> =H	CL2506	698
(16)		R <sub>1</sub> =Me	CL2766	309
(17)			CL2811	459
(18)		R <sub>1</sub> =Me	CL2034	60

(19)		$R_1 = \text{Ph, Me}$	CL2033	265
(20)		$R_1 = \text{H}$	CL2968	846
(21)		$R_1 = \text{Alkyl}$	CL4854	697
(22)			CL2721	59
(23)			CL2892	143
(24)			CL0765	395
(25)			CL0766	231
(26)		$R_1, R_2, R_3 = \text{H}$	CL2092	246
(27)		$R_1, R_2 = \text{H}; R_3 = \text{NH}_2$	CL4946	10
(28)		$R_1 = \text{NH}_2; R_2 = \text{Br}; R_3 = \text{H}$	CL4356	303
(29)			CL2781	453
(30)			CL2625	133
(31)			CL4490	122
(32)		$R_3 = \text{H, Me, Et}$	CL9966	80
(33)			CL3145	57
(34)			CL2041	650
(35)			CL0963	205
(36)			CL4894	300

(37)		R <sub>1</sub> =Me, Et	CL2527	444
(38)		R <sub>1</sub> =H	CL2954	543
(39)		R <sub>1</sub> =Et	CL3292	98
(40)			CL6228	140
(41)		R <sub>1</sub> =H, Me, Et	CL4555	294
(42)		H	CL4561	112
(43)		Me	CL4552	119
(44)		R <sub>1</sub> =H, Me	CL5277	410
(45)			CL4497	39
(46)			CL6093	66
(47)		R <sub>1</sub> .R <sub>2</sub> =H, Me	CL4763	260
(48)			CL3293	288
(49)			CL3139	98
(50)		R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> =Me, Et	CL4837	286
(51)			CL4846	28
(52)			CL1360	34

(53)			CL1279	212
(54)			CL5451	90
(55)			CL2058	153
(56)			CL4892	67
(57)		$R_1 = \text{H, Me}$	CL0374	125
(58)			CI3509	223
(59)			CI2033	307
(60)		$R_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$	CI9030	20
(61)		$R_1 =$	CI9031	26

Строение синтезированных сульфамидов **2** подтверждено данными жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ЖХ МС), масс-спектрометрии высокого разрешения (МС ВР), спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ . В некоторых случаях дополнительно использовалась ИК спектроскопия и рентгеноструктурный анализ. По данным ЖХ МС синтезированные соединения **2** имели сигналы, соответствующие молекулярным ионам и чистоту более 95% (ELSD and UV<sub>254 nm</sub> детекторы).

### 1.3. Синтез сульфамидов трансформацией их функциональных групп.

Для повышения разнообразия функциональные группы азаетероциклических сульфамидов, приведенных в таблице 1, подвергались дальнейшим превращениям. Сульфамиды, содержащие сложноэфирные группы, гидролизом переводились в кислоты **6**, которые последовательным взаимодействием с карбонилдимидазолом (КДИ) в условиях жидкофазного синтеза (схема 2) превращались в имидазолиды **7**, а

затем с аминами 4 дали комбинаторные библиотеки азагетероциклических сульфамидкарбамидов 8.

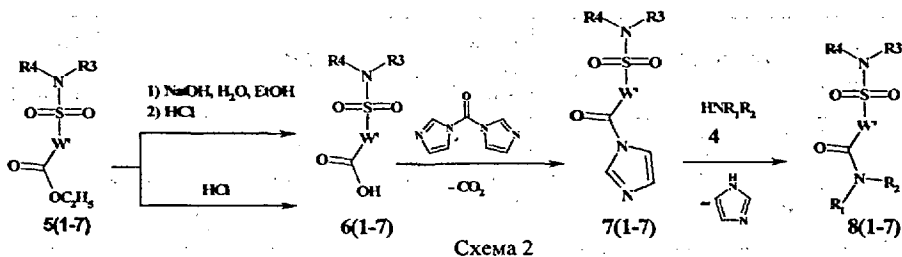


Схема 2

С использованием этой схемы были получены 7 разнообразных комбинаторных библиотек амидов 8(1-7), включающих 3923 новых соединений.

Для увеличения разнообразия азагетероциклических сульфамидов можно использовать трансформации групп NH в их молекулах путем введения к атому азота структурных фрагментов, содержащих карбоксильные или сложноэфирные группы, с последующим синтезом на их основе амидов описанным выше методом (схема 3). По этой схеме может осуществляться и дополнительная трансформация атома азота сульфамидной группировки.

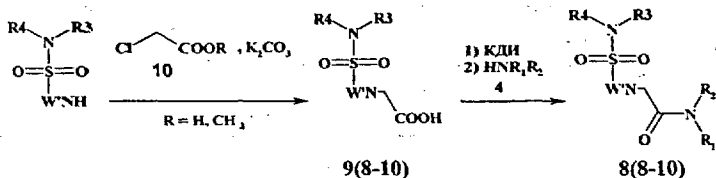


Схема 3

С использованием данной схемы были получены дополнительно 3 комбинаторные библиотеки, содержащие 1180 соединений. Общие структурные формулы для соединений 8(8-10) приведены в таблице 2.

Таблица 2. Синтезированные комбинаторные библиотеки азетероциклических сульфоамилкарбамидов 8

8 (№)	Структура	№ КБ	К-во соед. в КБ	8 (№)	Структура	№ КБ	К-во соед. в КБ
1		CL4487	619	6		CL2058	130
2		CL6157	300	7		CL2456	411
3		CL4503a	503	8		CL2278	639
4		CL2560	1890	9		CL3442	130
5		CL3289	70	10		CL1771	411

Другим примером расширения разнообразия комбинаторных библиотек азотсодержащих гетероциклических сульфамидов могут служить трансформации метильных групп замещенных 3,5-диметилизооксазол-4-сульфамидов **2(14)**, конденсацией с (2,2-диметоксиэтил)диметиламином **11** (схема 4), в результате чего были получены новые замещенные 3-метил-5-(2-винилвинил)изооксазол-4-сульфамиды **12**. Конденсация протекает региоспецифично только по группе 5-Ме с образованием 5-винильных производных **12**, причем при использовании в качестве



исходных соединений монозамещенных сульфамидов **2** ( $R_2=H$ ), указанная реакция сопровождается метилированием монозамещенной сульфамидной группы с образованием дизамещенных сульфамидов **14**. Переаминированием enamинного фрагмента 5-(2-диметиламинovinил)-3-метилизоксазол-4-сульфамидов **12** морфолином **4**(**64**) были получены (схема 4) морфолиновинилзамещенные изоксазол-4-сульфамиды **15**. Изоксазол-4-сульфонилпиперидинкарбоксамиды **18** и **19** были синтезированы (схема 5) на основе этиловых эфиров метилизоксазол-4-сульфонилпиперидинкарбоновых кислот **12**(**1,2**), которые предварительно переводили в свободные кислоты **16, 17** кислотным гидролизом.

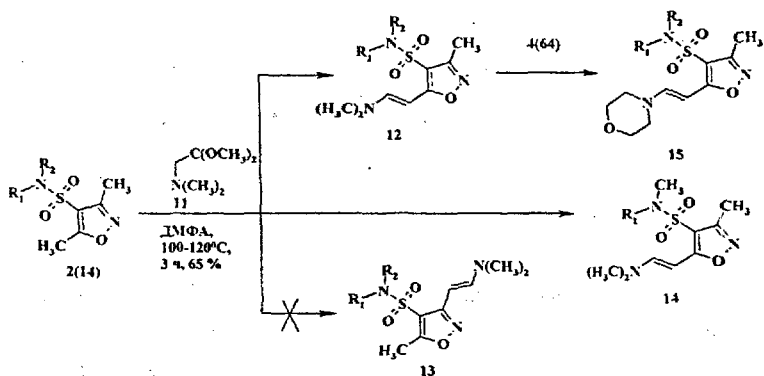


Схема 4

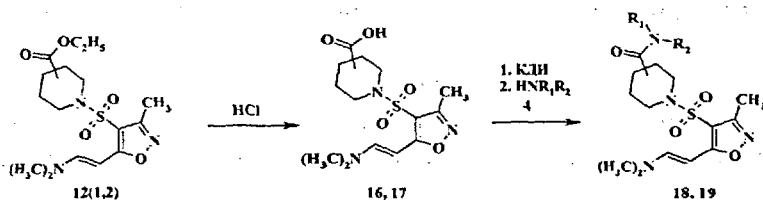
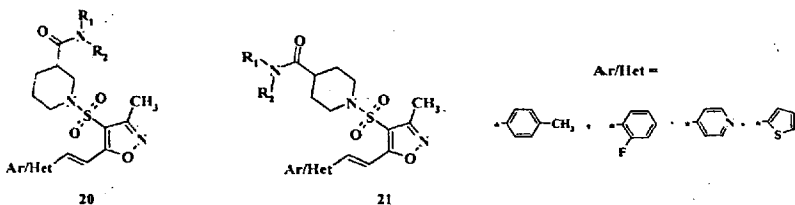


Схема 5

На основе диметиламиновинилзамещенных изоксазолосульфамидов **12(1,2)** были синтезированы комбинаторные библиотеки (3-метил-5-винилизооксазол-4-сульфонил)пиперидинкарбоксамидов **20** и **21**, включающих соответственно 34 и 297 соединений. Процесс включал дезаминирование винильной группы под действием ароматических и гетероциклических альдегидов в водном растворе щелочи, кислотный гидролиз сложноэфирной группы и трансформацию соответствующих кислот **22**, **23** методом *one pot* через стадию образования реакционноспособного имидазольного интермедиата в целевые карбамиды взаимодействием с аминами **4**.



Для увеличения разнообразия комбинаторных библиотек азотсодержащих гетероциклических сульфамидов широко использовалась изложенная выше методология – получение эфиров азагетарилсульфониламинокислот **24**, превращение их в соответствующие кислоты **25** и производство на их основе жидкофазным параллельным способом комбинаторных библиотек амидов **26** (схема 6). Для получения эфиров **24** использовались сульфохлориды **1**, а также эфиры аминокислот **27(1-2)**.

В случаях, когда свободные аминокислоты более доступны, чем их эфиры, азагетарилсульфониламинокислоты **25** получали в одну стадию взаимодействием сульфохлорида **1** со щелочным раствором соответствующей аминокислоты **27(3-15)** с последующим подкислением.

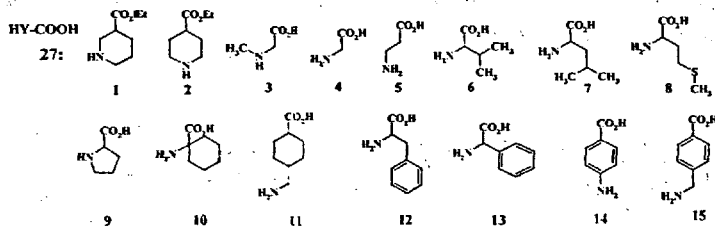
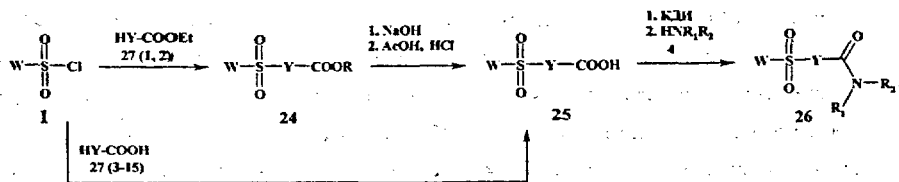


Схема 6

#### 1.4. Синтез сульфамидов трансформацией их гетероциклических систем.

Целый ряд комбинаторных библиотек сульфамидов азотсодержащих гетероциклов был синтезирован трансформацией изитинового цикла в различных 5-сульфамонлизитинах.

Коммерческий 3,3-дихлор-2-оксоиндол-5-сульфохлорид **1(10)** действием аминов **4** превращали в сульфамиды **2(10)**, гидролиз последних в кипящей смеси концентрированных соляной и уксусной кислот приводил к 5-изатинсульфамидам **2(63)** (схема 7). Синтезировать сульфамиды **2(63)** непосредственно на основе изитина не удастся, поскольку его сульфохлорирование или дегидроксихлорирование сульфокислоты приводит к образованию 3,3-дихлорпроизводных изитина.

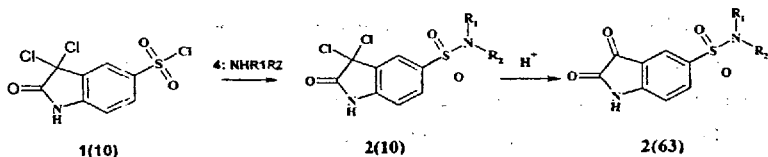


Схема 7

Синтезированные сульфамидные производные изатина 2(63) являются удобными объектами для структурной трансформации с образованием новых сульфамидов замещенных хинолиновых систем. Изатин-5-сульфамиды 2(63) по реакции Пфитцингера действием кетонов превращались в биоизостерно аналогичные сульфоамилкарбоновые кислоты 28а и 28б. Последние действием аминов 4 (через стадию получения промежуточных имидазолильных интермедиатов) превращались в соответствующие комбинаторные библиотеки сульфоамидов хинолинкарбоновых кислот 29а,б (схема 8).

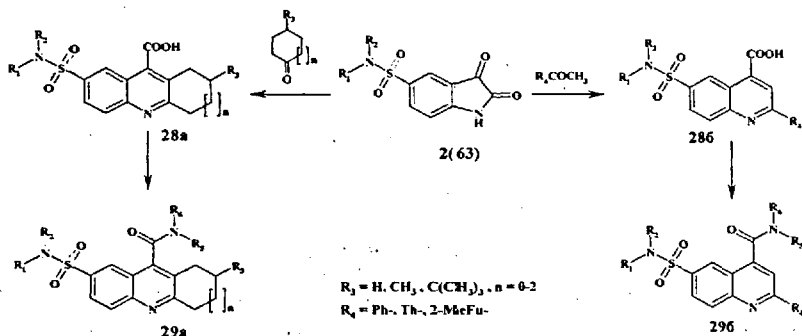


Схема 8

Попытка провести встречный синтез сульфамидов 2(32) (таблица 1), полученных на основе 6-хлорсульфонил-2-хинолон-4-карбоксилата путём трансформации изатинов 2(63) [NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>: N(Et)<sub>2</sub> или 4-метилпиперидинил] по реакции Пфитцингера с малоновым эфиром (схема 9) привела к неожиданному результату: продуктами реакции оказались 6-сульфоамилхинолин-4-карбоновые кислоты 30(1,2). Эти же кислоты образуются в качестве основного продукта реакции при нагревании изатинов 2(63) в водно-спиртовой щелочи и в отсутствие малонового эфира. Нами показано, что в обоих случаях (схема 9) в качестве метиленактивного соединения выступает ацетальдегид, образующийся за счет окисления этанола изатинами 2(63).

На основе кислот 30(1,2) были синтезированы комбинаторные библиотеки б-аминоссульфонилхинолин-4-карбоксамидов.

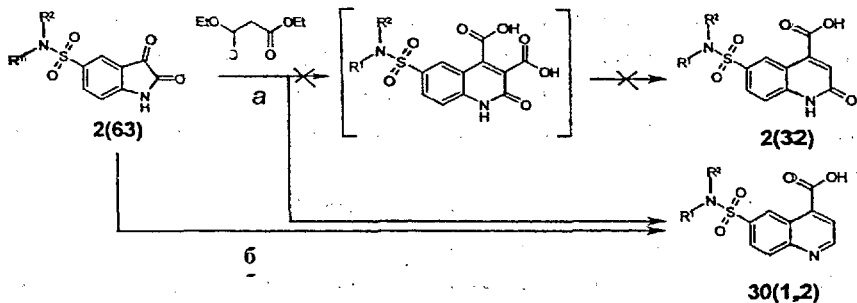


Схема 9

Для получения циклических сульфамидов нами широко использовались трансформации с участием 2-амино-5-бром-3-пиридинсульфамидов. Так сульфамид 2(28) в присутствии янтарного ангидрида в кипящем *o*-ксилоле образует не описанный ранее 9-бром-1,1,6-триоксоциклопента[3,4]пиридо[2,3-*e*][1,2,4]гиадиазин 31, который удалось выделить с выходом 59 % (схема 10). Взаимодействие гиадиазина 31 с карбонилдимидазолом (КДИ) в дioxане при 70 °C приводит к раскрытию лактамного цикла в соединении 31 с образованием промежуточного имидазольного производного, взаимодействием которого с аминами 4 была получена комбинаторная библиотека неизвестных ранее пропионамидов 32.

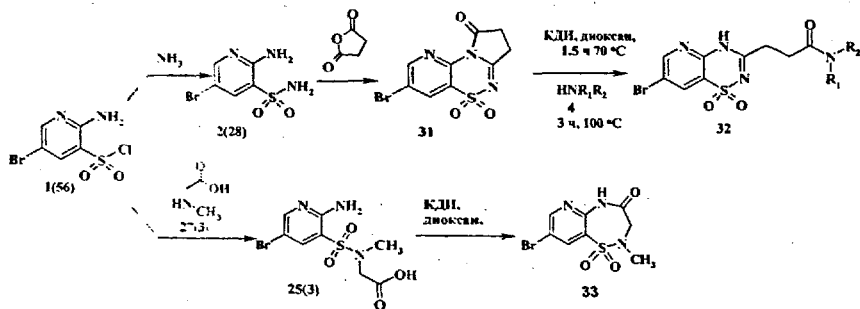


Схема 10

Другой неописанный гетероцикл - пиридо[2,3-*f*][1,2,5]гиадиазепин-1,1,4(5*H*)-трион 33 был получен внутримолекулярной циклизацией имидазолида [(2-амино-5-

бромпирдин-3-сульфонил)метиламино]уксусной кислоты 25(3). Интересно отметить, что взаимодействие имидазолида кислоты 25(3) с аминами 4 при 40 °С приводит к получению комбинаторной библиотеки ацетамидов 26(3), в то время как при нагревании до 100 °С образуется исключительно циклический продукт 33. (схема 10).

### 1.5. Разработка методов

#### синтеза замещенных азотсодержащих гетарилсульфонилпропионамидов.

В литературе описаны и достаточно хорошо изучены сульфонилалканоые кислоты и их разнообразные производные, обладающие высоким биологическим потенциалом. Однако, сведения об азогетарилзамещенных сульфонилалканоых кислотах и их производных в литературе до наших работ отсутствовали. В рамках данного исследования был разработан способ получения соединений указанного типа, основанный на последовательном проведении восстановления сульфохлоридов 1 действием сульфита натрия в щелочной среде при повышенной температуре, подкисления образующегося сульфината уксусной кислотой до соответствующих сульфиновок 34 и присоединения последних к акриловым кислотам или их эфирам 35 (схема 11). Таким образом, были получены 38 неизвестных ранее кислот 36. Взаимодействием кислот 36 с аминами 4 было синтезировано 27 новых комбинаторных библиотек азогетарилсульфонилалканоых производных, включающих 2395 соединений.

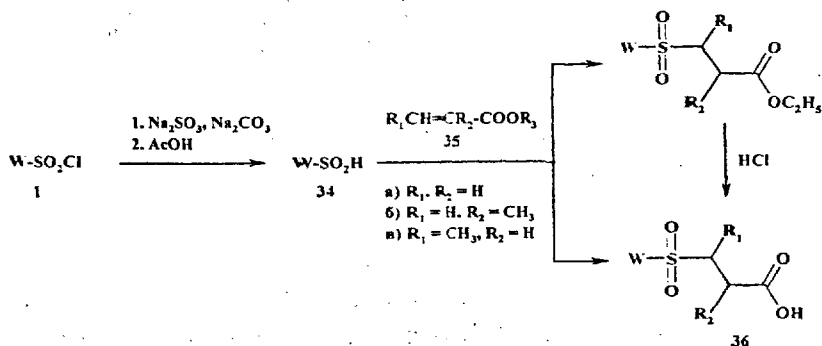


Схема 11

## 2. Новые непетидные ингибиторы каспазы-3.

### 2.1. Формирование сфокусированных библиотек методами компьютерного моделирования.

Синтезированные выше комбинаторные библиотеки азотсодержащих гетероциклических соединений, содержащие сульфамидные, сульфамидные и амидные, сульфамидные и имидные, сульфониламиноалкиламидные и сульфонилпропионамидные группировки были испытаны *in silico* с целью формирования сфокусированных библиотек, пригодных к биологическим испытаниям. Методология, при помощи которой отбирались соединения для сфокусированных библиотек и, соответственно, для начального этапа биологических испытаний, основана на построении классификационных моделей КССА (Количественная Связь Структуры и Активности) органических соединений при помощи алгоритма самоорганизующихся карт Кохонена [J. В. Kruskal. *Psychometrika*, 1964, 29, p. 115–129]. В качестве обучающей выборки была использована база данных, состоящая из 18703 соединений с экспериментально показанной активностью. Каждое соединение отнесено к одной из пяти групп по типу мишень-специфичного действия на следующие фармакологически значимые биомишени: 1) рецепторы, связанные с G-белками; 2) тирозиновые киназы; 3) ион-канальные рецепторы; 4) протеазные ферменты; 5) фосфодиэстеразы. Все структуры были взяты из коммерчески доступной базы данных Prous Ensemble. Для каждого исследуемого соединения были рассчитаны пять молекулярных дескрипторов: MW (молекулярная масса), logP (логарифм коэффициента распределения вещества в системе 1-октанол/вода), HBD и HBA (число доноров и акцепторов водородной связи), Rot\_B (число вращающихся связей), которые в дальнейшем использовались для моделирования.

После построения общей карты (модели) поочередно выявлялись области локализации на ней каждой из пяти исследуемых мишень-специфичных групп. Найденные закономерности размещения мишень-специфичных групп использовались для выявления их активности по отношению к той или иной биомишени и для определения степени приоритетности каждого из синтезированных соединений для проведения его биологических испытаний. Методология профилирования состояла из

расчета для каждого из синтезированных соединений пяти дескрипторов, аналогичных использованным для построения модели, и последующего определения положения каждого соединения на карте Кохонена в режиме тестирования модели. На рис. 2 показан пример распределения производных хинолина **8(7)** (зона I), **29** (зона II) и **2(60-61)** (зона III) на фоне области, характерной для ингибиторов протеаз. Так, например, очевидно, что соединения **2(60-61)**, отвечающие эссе III, практически полностью попадают в область, типичную для ингибиторов протеаз.

На основании проведенных компьютерных вычислений для биологических испытаний была собрана сфокусированная библиотека, для которой с большой долей уверенности можно прогнозировать именно протеазную активность.

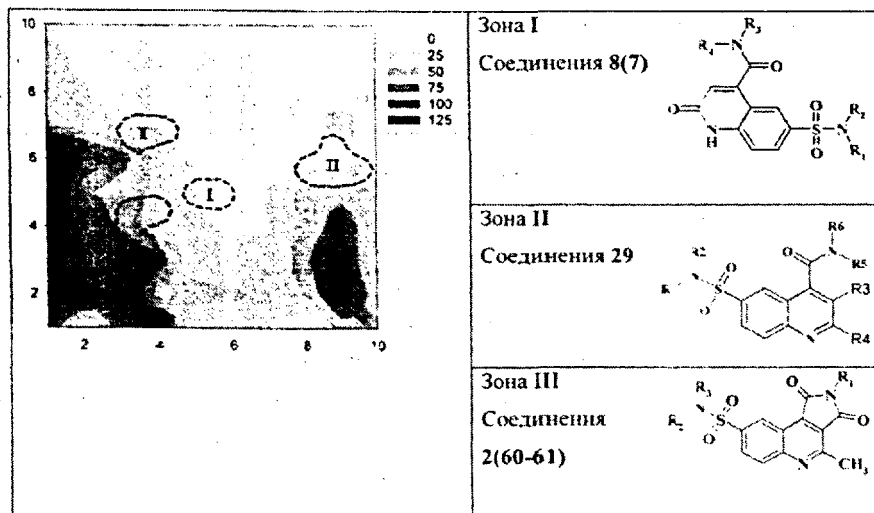


Рис. 2. Положение зон распределения соединений **8(7)** (зона I), **29** (зона II) и **2(60-61)** (зона III) на фоне области, характерной для ингибиторов протеаз.

## 2.2. Получение нового хемотипа ингибиторов каспазы-3.

Отобранные в результате *in silico* скрининга комбинаторные библиотеки азотсодержащих гетероциклических соединений, были испытаны *in vitro* на

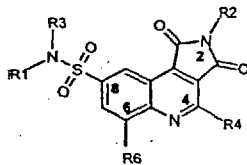


активность по отношению к цистеиновым протеазам в составе сфокусированной библиотеки, включавшей 15338 гетероциклических соединений. Испытания проводились при помощи автоматизированного комплекса *Beckman-Coulter Biomek FX Automated Assay Workstation* биологической лаборатории ООО "Исследовательский Институт Химического Разнообразия".

Испытание *in vitro* проводили с использованием субстрата каспазы-3, модифицированного флуоресцентной меткой – 7-амино-4-метилкумарином (АМК). Сравнительный анализ активности проводился в присутствии потенциального ингибитора (тестируемое соединение) и без него в соответствии с экспериментальной методикой, описанной в работе [F. Durieu, et al., *Exp. Cell Res.*, 1998, 240, p. 165–175].

В результате первичного высокопроизводительного скрининга сфокусированной библиотеки в концентрации 10 мкМ обнаружено 299 соединений, которые ингибировали каспазу-3 более чем на 50 %. Таким образом, данная сфокусированная библиотека обладала 1.9 % хитрейтом (относительный показатель активных соединений к общему числу испытанных соединений), что в 100 раз лучше, чем средний хитрейт для разнообразных библиотек. Этот факт неопровержимо доказывает правильность примененного нами алгоритма создания сфокусированных библиотек. Среди хитов оказалось 4 неизвестных ранее непептидных хемотипа ингибиторов каспазы-3.

Руководствуясь теоретическими представлениями современной медицинской химии, соображениями оригинальности, патентной чистотой и производственной перспективой, для дальнейшей разработки высокоэффективных каспазных ингибиторов нами был выбран хемотип общей формулы 37 - пирроло[3,4-с]хинолин-1,3-дион. С целью изучения взаимосвязи структура – свойства синтезированных соединений указанного типа и для выявления среди них наиболее активных ингибиторов каспазы-3, был осуществлен синтез нескольких комбинаторных библиотек соединений, отвечающих этой общей формуле. Структурной модификации последовательно подвергались заместители в положениях 2, 4, 6 и 8 (сульфамоильный фрагмент) хемотипа 37.



37

Для изучения влияния заместителя в положении 2 в соединениях общей формулы 37 было получено 63 неизвестных ранее 4-метил-8-(морфолино-4-сульфонил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов 38(1-63). Фиксация морфолиносulфонильного радикала в положении 8 объясняется известной фармакофорностью морфолина и простотой получения полупродуктов. Синтез 38(1-63) осуществлен исходя из 6-(морфолино-4-сульфонил)-3,4-дикарбоновой кислоты 39 или 8-(морфолино-4-сульфонил)фуро[3,4-*c*]хинолин-1,3-диона 40 и 63 первичных аминов в *N*-метилпирролидоне в присутствии КДИ (схема 12). Дикарбоновая кислота 39 получена по реакции Пфитцингера из соединения 2(63) и ацетоуксусного эфира.

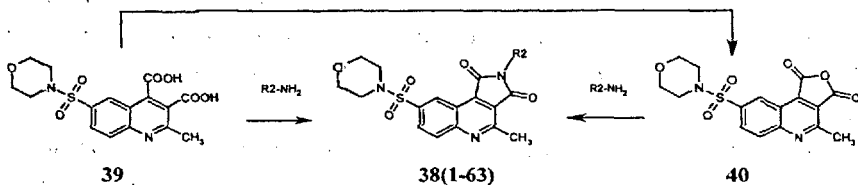
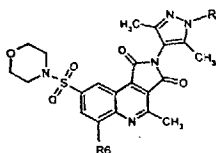


Схема 12

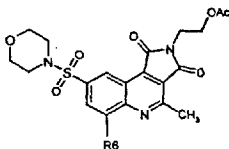
Синтезированные соединения 38(1-63) показали достаточно высокую *in vitro* ингибирующую каспазу-3 активность. Установлено, что эта активность сильно зависит от природы заместителей в положении 2 имидного фрагмента. Так, активность 2-алкилзамещенных соединений 38 изменяется более чем на три порядка. Наиболее активным является 2-(2-оксоимидазолидин-1-ил)этильное производное с  $IC_{50} = 20$  нМ, а наименее активным – 2-диметиламиноэтильное с  $IC_{50} = 5500$  нМ. Соединения, имеющие в положении 2 объемные адамантильные заместители имеют более низкую активность ( $IC_{50}$  в пределах 152...196 нМ), чем большинство пространственно менее затрудненных аналогов. Наблюдаемая разница в активности,

вероятно, свидетельствует, что эти заместители располагаются в стерически затрудненной активной зоне каспазы-3. Установлено, что хиральность заместителей в положении 2 соединений **38** не оказывает заметного влияния на их активность. Установлено также, что соединения **38** с различными замещенными фенильными радикалами в положении 2 являются эффективными ингибиторами каспазы-3. Для данных соединений  $IC_{50}$  изменяется в пределах 9...24 нМ. Ещё более активными ингибиторами в ряду соединений **38** являются 2-гетарил-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины ( $IC_{50} = 3...18$  нМ). Среди 2-гетарилпроизводных наиболее активными являются соединения, содержащие в положении 2 пиразол-4-ильные заместители ( $IC_{50} = 3...4$  нМ), 1-фенилпиразол-5-ильные заместители ( $IC_{50} = 5$  нМ) или 4-пиридильный радикал ( $IC_{50} = 3$  нМ). Полярные функциональные группы, присутствующие в гетероциклических заместителях, могут предоставлять дополнительный нековалентно связывающий участок и позитивно влиять на взаимодействие с активной частью энзима.

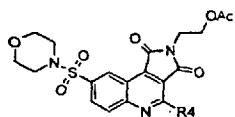
Влияние природы заместителей в положении 6 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов было изучено на примере 2-(2-ацетоксизтил)-4-метил-8-(4-морфолиносульфонил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов **41** и 2-пиразол-4-ил-производных **42**. Соединения **41** и **42** получены нами по аналогии с соединениями **38** исходя из соответствующих 7-замещенных 3,3-дихлорзатинсульфохлоридов.



**42**



**41**



**43**

Было установлено, что введение в положение 6 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов атомов хлора, брома или трифторметильной группы, как правило, приводит к некоторому незначительному снижению активности базовой молекулы.

В качестве объектов исследования влияния природы заместителей в положении 4 для соединений общей формулы 37 были выбраны 4-замещенные 2-(2-ацетоксиэтил)-1,3-диоксо-8-(морфолино-4-сульфонил)-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолины 43. Синтез 4-метил- и 4-изопропил-производных 43(18), 43(1) был осуществлен, как описано выше, на основе 5-морфолиносурьфонилизатина 2(63). 4-Фенил- 43(2) и 4-(2-фурил)- 43(3) производные были получены из натриевой соли 5-изатинсульфокислоты 44. На первой стадии вместо ацетоуксусного эфира был использован, соответственно, бензил- и 2-фурилукусный эфир (схема 13).

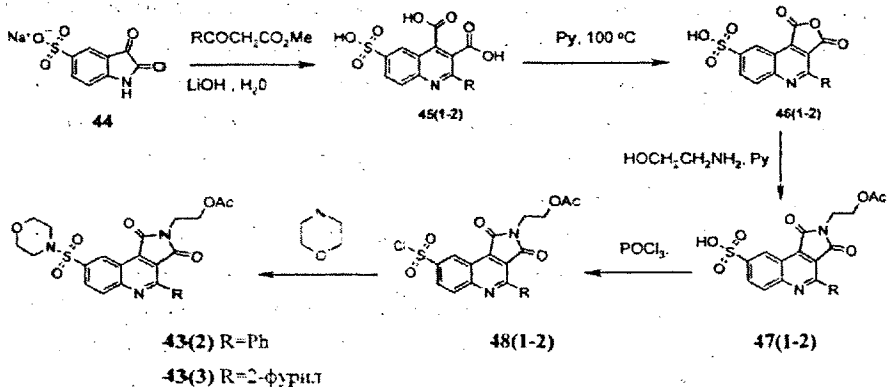


Схема 13

4-[2-(4-Трифторметилфенил)винил]-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло [3,4-с]хинолин 43(4) был синтезирован конденсацией соответствующего 4-метил производного 41 с 4-трифторметилбенальдегидом в присутствии  $ZnCl_2$  (схема 14).

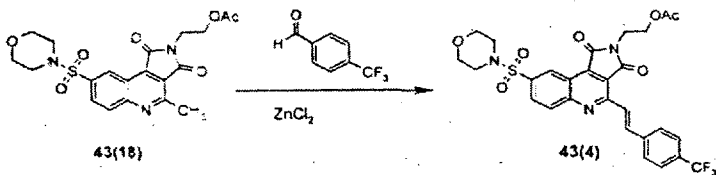


Схема 14

4-Хлор-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолин **43(6)** был синтезирован исходя из изатина **2(63)** по схеме 15 и в дальнейшем был использован для получения серии 4*S*- 4*N*- и 4*C*-замещенных 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов. Дитианпроизводное **49** получено конденсацией изатина с малондинитрилом. Трансформация соединения **49** в дикислоту **50** была осуществлена кипячением в смеси концентрированных соляной и уксусной кислот. Последующая циклизация дикислоты **50** приводила к получению фурандинона **51**, который, взаимодействуя с этаноламином, давал соответствующий имид **43(5)**. Последней стадией схемы 15 являлось взаимодействие **43(5)** с хлорокисью фосфора, приводящее к целевому продукту - 4-хлор-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолину **43(6)**.

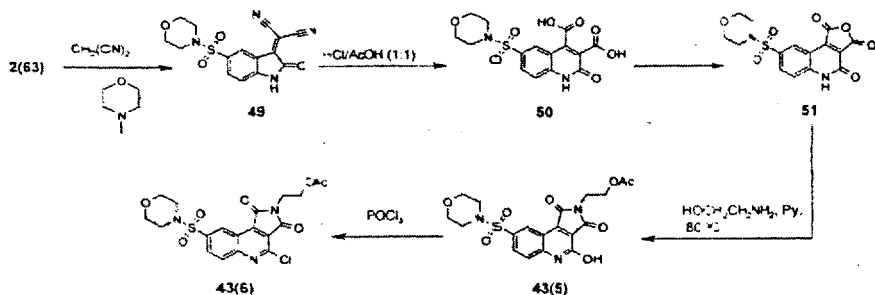


Схема 15

Взаимодействием хлорида **43(6)** с нуклеофильными реагентами, такими как тиомочевина, метилмеркапсатетат, морфолин, диэтил 2*R*-2-амино-2-метилсукцинат и 3-хлор-4-фторанилин, были синтезированы соответствующие 4*S*- **43(7,8)** и 4*N*-замещенные 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины **43(9-11)** (схема 16). Окислением сульфида **43(8)** *m*-хлорпербензойной кислотой при 0 °С был получен сульфинат **43(12)**, а при 20-30 °С – сульфонат **43(13)**. И, наконец, по реакции Сузуки [Suzuki, A. *Acc. Chem. Res.* 1982, 15, p. 178-184] из 4-хлор-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолина **43(6)** и 3-хлор-4-фторфенил-, 4-(*N,N*-диметиламинокарбонил)фенил- или 3-пиридилборных кислот в присутствии

$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$  был осуществлен синтез соответствующих 4-арил- и 4-(3-пиридил)- 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов 43(14-16).

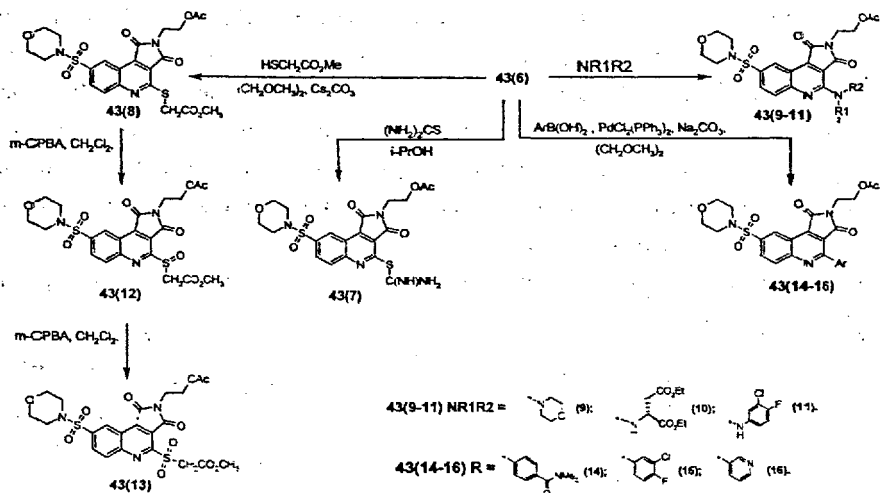
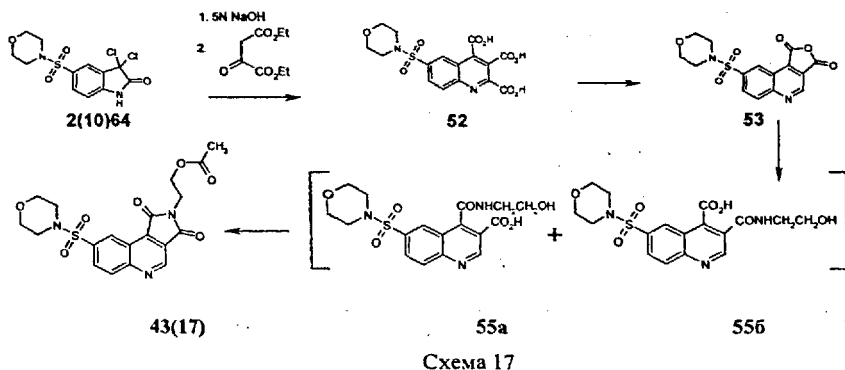


Схема 16

Для относительной оценки влияния природы заместителей на их активность был осуществлен синтез незамещенного в положении 4 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолина 43(17). Исходным реагентом служил 3,3-дихлор-5-(морфолино-4-сульфонил)-2-оксо-2,3-дигидро-1*H*-индол 2(10), из которого в условиях реакции Питтцингера с диэтиловым эфиром 2-оксоянтарной кислоты была получена 6-(морфолино-4-сульфонил)хинолин-2,3,4-трикарбоновая кислота 52. Трикарбоновая кислота 52 при нагревании превращалась в 8-(морфолино-4-сульфонил)фуро[3,4-*c*]хинолин-1,3-дион 53 (схема 17). Спектр этого соединения, зарегистрированный в присутствии  $\text{D}_2\text{O}$ , соответствовал спектру соответствующей 8-(морфолиносульфонил)хинолин-3,4-дикарбоновой кислоты 54. В условиях DEPT-эксперимента показано, что атомы углерода, резонирующие при 153.27, 131.72, 129.31 и 126.83 м.д., связаны с одним атомом водорода, причем сигнал самого слабopольного (153.27) из них отнесен к C-2. Эти данные, наряду с наблюдаемыми изменениями в спектральной картине продукта гидролиза ангидрида 53

(существенный сдвиг в слабые поля сигналов двух ароматических протонов при C-2 и C-5), свидетельствуют о том, что при нагревании трикислоты **52** происходит декарбоксилирование именно 2-, а не 4-карбоксильной группы, как можно было бы предположить в качестве альтернативного направления реакции.





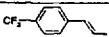
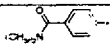





При взаимодействии фуро[3,4-с]хинолин-1,3-диона **53** с аминоэтанолом в пиридине при комнатной температуре по данным хроматомасс-спектроскопии наблюдалось образование смеси альтернативных моноамидов **55a**, **556** (схема 17) в приблизительном соотношении 1:1, нагревание которой приводило к целевому продукту **43(17)**.

Синтезированные 4-замещенные 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолины **43(1-18)** показали высокую *in vitro* ингибирующую каспазу-3 активность (таблица 3), которая сильно зависит от природы заместителей в положении 4. Наиболее активными соединениями являются производные, содержащие в положении 4 водород **43(17)**, алкильный **43(1,4, 18)**, арильный **43(2,14,15)** и гетарильный **43(3,16)** радикалы, ингибирующая активность которых составляет  $IC_{50} = 20...58$  нМ. 4-Хлор-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолин **43(6)**, 4-сульфанил производные **43(7,8)** и их окисленные аналоги **43(12,13)** являются менее активными ингибиторами с  $IC_{50}$  в интервале 250...1300 нМ. Наименее активными в этом ряду соединений являются 4-гидроксисоединения **43(5)**, 4-алкиламино- **43(9,10)** и 4-ариламино- **43(11)** производные с  $IC_{50}$  в интервале 5...28 мкМ.

**Таблица 3. Структура и *in vitro* ингибирующая каспазу-3 активность синтезированных 4-замещенных**

**1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолинов 43.**

43(N <sub>2</sub> )	R4	IC <sub>50</sub> , нМ	43(N <sub>2</sub> )	R4	IC <sub>50</sub> , нМ
1	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH	40	10		5190
2		27	11		27900
3		36	12	S(O)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	352
4		33	13	SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	362
5	OH	10900	14		58
6	Cl	294	15		33
7	SC(NH)NH <sub>2</sub>	255	16		33
8	SCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1290	17	H	27
9		15300	18	CH <sub>3</sub>	23

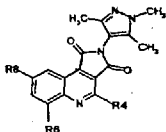
**2.3. 2-(1,3,5-Триметилпиразол-4-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолины и их биологическая активность.**

Проведенное исследование влияния природы заместителей позволило установить, что в ряду 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолинов общей формулы 37 наиболее перспективными каспазными ингибиторами являются соединения, содержащие в положении 2 арильные или гетарильные заместители. Многие из соединений этого типа имеют IC<sub>50</sub> < 10 нМ. В связи с этим, нами осуществлен синтез комбинаторной библиотеки 2-(1,3,5-триметилпиразол-4-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолинов 56(1-13), содержащих более


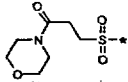


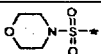


широкий набор заместителей в 4, 6 и 8 положениях (таблица 4). Как видно из таблицы 4, наиболее перспективными (с точки зрения увеличения каспазной активности) заместителями в положениях 6 и 8 соединений общей формулы 56 являются: сульфогруппа, сульфоамильная группа, алкилсульфонильная группа, нитрильная и карбоксильная группы.

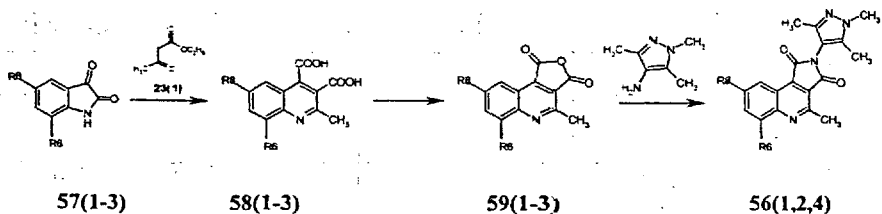
Таблица 4. Строение и *in vitro* ингибирующая каспазу-3 активность 2-(1,3,5-триметилпиразол-4-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,4-с]хинолинов 56(1-13).



№	R6	R4	R8	IC <sub>50</sub> , нМ
56(1)	CF <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	1400
56(2)		CH <sub>3</sub>	H	14
56(3)		CH <sub>3</sub>	H	500
56(4)	H	CH <sub>3</sub>	Br-	359
56(5)	H	CH <sub>3</sub>	N≡-	16
56(6)	H	CH <sub>3</sub>		137
56(7)	H	CH <sub>3</sub>		100
56(8)	Cl	CH <sub>3</sub>		33
56(9)	H			65

56(10)	H			5
56(11)	H	CH <sub>3</sub>		90
56(12)	Cl	CH <sub>3</sub>		5
56(13)	Cl	CH <sub>3</sub>		7

Соединения 56(1,2,4) были получены исходя из соответствующих изатинов 57(1-3) в описанных выше для аналогичных синтезов условиях по схеме 18:



56-59: R<sub>6</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>8</sub>=H(1); R<sub>6</sub>=COOH, R<sub>8</sub>=H(2); 56: R<sub>6</sub>=H, R<sub>8</sub>=Br(4); 57, 58: R<sub>6</sub>=H, R<sub>8</sub>=Br(3).

Схема 18

Метилловый эфир 56(3) был синтезирован исходя из соответствующей кислоты 56(2) с использованием КДИ для получения промежуточного активного имидазолильного производного. 8-Карбонитрил 56(5) был получен путём замещения брома в бромпроизводном 56(4) действием щелочи в ацетонциангидрине в присутствии каталитических количеств одновалентной меди (микроволновое облучение в течение 40 мин при 190 °С). 8-Сульфонат натрия 56(6) получен высаливанием насыщенным раствором NaCl сульфокислоты 56(11), которая, в свою очередь, была синтезирована из сульфоната пиридиния 56(7) (схема 19).

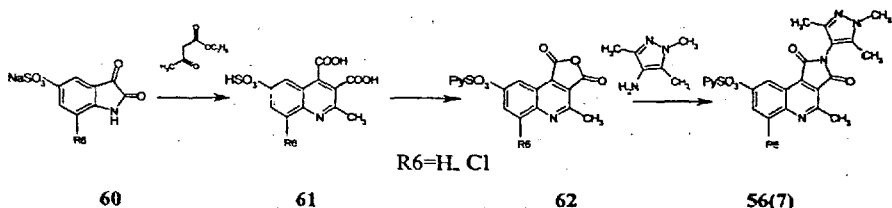


Схема 19

Производные 3-сульфонилпропионой кислоты **56(9,10)** были синтезированы из 3-[1,3-диоксо-4-фенил-2-(1,3,5-триметил-1*H*-пиразол-4-ил)-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолин-8-сульфоната пиридиния **63** по схеме 20, представленной ниже.

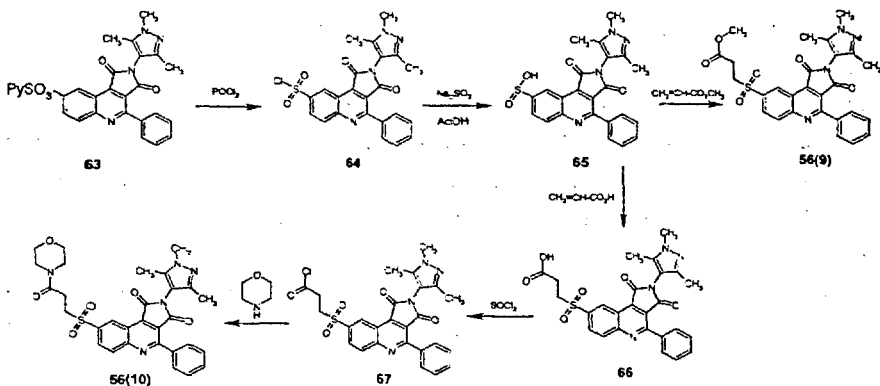


Схема 20

Сульфохлорид **64** был получен действием хлорокси фосфора на пиридиновую соль **63**. Далее восстановлением сульфитом натрия и гидролизом соответствующей соли действием уксусной кислоты в воде была синтезирована сульфоновая кислота **65**, которая при взаимодействии с метилакрилатом дала метиловый эфир 8-сульфонилпропионой кислоты **56(9)**. Попытка гидролизовать этот эфир в мягких условиях до кислоты **66** не удалась. При действии LiOH в водном тетрагидрофуране при комнатной температуре одновременно с гидролизом сложноэфирной группы

происходил гидролиз имидной группы. Поэтому 8-сульфонилпропионовая кислота **66** была получена взаимодействием сульфоновой кислоты **65** с акриловой кислотой в воде при комнатной температуре. Действием хлористого тионила она была превращена в хлорангидрид **67**, который стандартным образом взаимодействует с различными аминами, например с морфолином.

Соединения **56(8)** и **56(13)** были получены по схеме аналогичной схеме 12.

#### 2.4. Связь между биологической активностью

##### 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов и электронным эффектом заместителей, находящихся в положении 8 хинолинового кольца.

Установлено, что существует прямая зависимость между электронным эффектом заместителя находящегося в 8 положении хинолинового кольца 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов и изучаемой биологической активностью данного типа соединений. Очевидно, что активность строго зависит от электронодонорной способности заместителя в положении 8. Так, например, в ряду 2-незамещенных 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов **68(1-3)** и **38(1)** соединение **68(1)** с  $R_8=H$  имеет  $IC_{50} > 100$  мкМ; соединения **68(2)** с  $R_8=F$  и **68(3)** с  $R_8=Br$  имеют  $IC_{50} = 62.8$  мкМ и  $IC_{50} = 37.1$  мкМ соответственно. 8-(Морфолино-4-сульфонил) **38(1)** имеет  $IC_{50} = 0.075$  мкМ. В приведённом ряду соединений активность меняется более чем на три порядка в зависимости от природы заместителя  $R_8$ . Аналогичные зависимости активности наблюдаются и для других серий 8-замещенных 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов, как представлено на рис. 3.

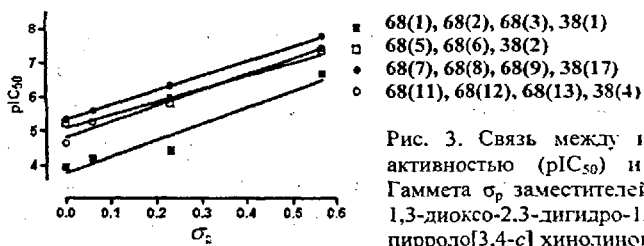


Рис. 3. Связь между ингибирующей активностью ( $pIC_{50}$ ) и константами Гаммета  $\sigma_p$  заместителей  $R_8$  в сериях 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов

Полученные данные свидетельствуют о сильном влиянии электрофильности имидных карбонилв 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолинов на их активность. На основании этого можно предположить, что механизм ингибирования каспазы-3 включает присоединение цистеинового остатка фермента к одному из двух карбонилв (схема 21).

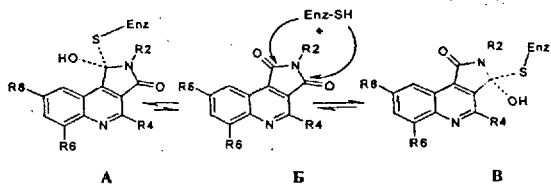


Схема 21

Ингибирование каспазы-3 представителями 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-с]хинолинов происходит обратимо. Это установлено на примере соединения 69 в экспериментах с разведениями. Из данных, представленных на рис. 4, видно, что если активность каспазы-3 в присутствии контрольной концентрации ингибитора не изменялась со временем (прямая горизонтальная линия), то после разбавления от 10-кратной до контрольной концентрации ингибиторная активность снижалась со временем до уровня контроля. Время полудиссоциации соединения 69, вычисленное в соответствии с приближениями, описывающими кинетику диссоциации первого порядка, составляет примерно 50 мин.

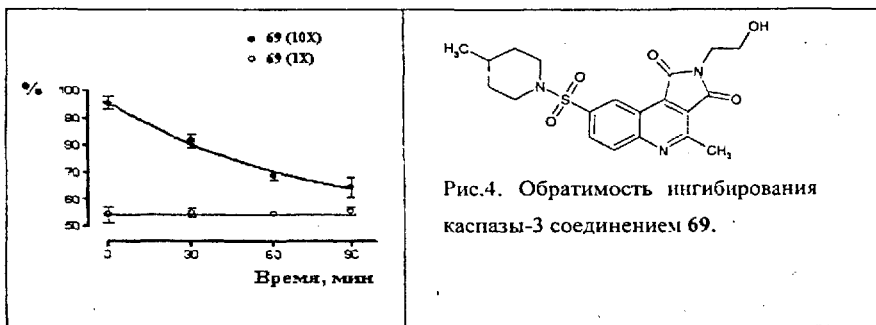


Рис.4. Обратимость ингибирования каспазы-3 соединением 69.

Исследования ингибирования соединением 69, проведённые при различных концентрациях субстрата (рис. 5), не выявили различий в концентрационных кривых ингибирования, что характерно для неконкурентного типа ингибирования. Из рисунка 5 видно, что для соединения 69  $IC_{50}$  составляет  $23 \pm 6$  нМ и практически не зависит от концентрации каспазного субстрата. Данное предположение подтверждается неизменным значением константы Михаэлиса ( $K_m = 6 \pm 2$  мкМ) при различных концентрациях ингибитора (соединение 69), в то время как  $V_{max}$  (максимальная скорость ферментативной реакции, ОФП/мин, ОФП – относительный флуоресцентный показатель) уменьшалась с увеличением концентрации ингибитора (рис.6), что также характерно для неконкурентного ингибирования.

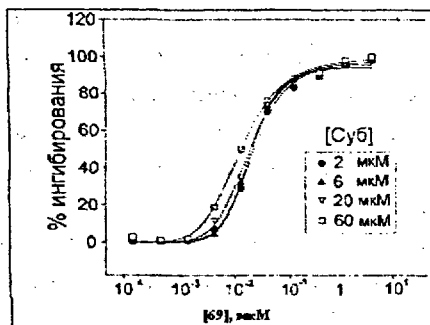


Рис. 5. Концентрационные кривые ингибирования каспазы-3, полученные в присутствии разных концентраций субстрата.

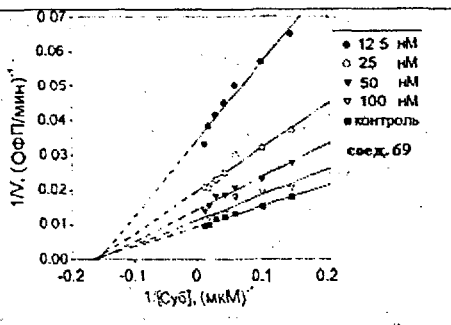


Рис. 6. Прямые Лайнуивера-Бэрка

Таким образом, наши эксперименты показали, что 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,4-c]хинолины являются медленно диссоциирующими ( $\tau \approx 50$  мин) обратимыми, неконкурентными, высокоэффективными ингибиторами каспазы-3.

Антиапоптотическая активность соединения 69 была определена на нескольких клеточных линиях и на рыбах *zebrafish*. Апоптоз индуцировался стауроспорином в клеточных линиях или ретиноевой кислотой в рыбах. Соединение 69 эффективно

предотвращало индуцированные стауроспорином изменения клеточной морфологии, а также индуцированную стауроспорином гибель клеток в нескольких клеточных линиях. Вещество также эффективно блокировало индуцированный ретиновой кислотой апоптоз нервных клеток рыб, который проявлялся в виде черных точек в переднем мозге.

В клеточных тест-системах и тест-системах на рыбах, в отличие от тест-систем с использованием чистых белков, ингибитор начинал действовать в большей концентрации. Подобная разница может быть обусловлена множеством факторов: недостаточной проницаемостью клеточной мембраны, внутриклеточным метаболизмом, взаимодействием с другими белками и т.д.

В заключение следует отметить, что в процессе исследования связи структура – каспазная активность 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов нами было получено около 500 соединений и найдена серия высокоэффективных каспазных ингибиторов, имеющих IC<sub>50</sub> менее 10 нМ.

#### Основные результаты работы и выводы.

1. Разработаны методы мультистадийного синтеза новых азаетарилсульфохлоридов, включающих пиррольные, индольные, изооксазольные, пиразольные, имидазольные, бензоксазольные, бензотиазольные, бензимидазольные, бензо[1,2,5]оксадиазольные, бензо[1,2,5]тиадиазольные, пиридиновые, хинолиновые, пиримидиновые, хиназолиновые, хиноксалиновые, бензо[1,4]оксазиновые, бензо[1,4]тиазиновые, бензо[*b*]азепиновые, бензо[*b*][1,4]оксазепиновые, бензо[*b*][1,4]тиазепиновые, 1*H*-бензо[*b*][1,4]диазепиновые, бензо[*e*][1,4] диазепиновые, тиено[2,3-*d*]пиримидиновые, тиазоло[3,2-*a*]пиримидиновые, [1,3,4]тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидиновые, [1,2,4]триазоло[1,5-*a*] пиримидиновые, бензо[*c,d*]индольные, хромено[3,4-*d*]имидазольные и пирроло[3,4-*c*]хинолинные фрагменты.

2. Взаимодействием полученных азаетарилсульфохлоридов с различными первичными и вторичными аминами циклического и ациклического строения в условиях жидкофазного высокопроизводительного параллельного синтеза получена 61 новая комбинаторная библиотека неизвестных ранее сульфамонильных производных.

3. Показано, что азаетарилсульфохлориды, содержащие алкоксикарбонильные группировки, могут рассматриваться как соединения с двумя потенциальными центрами структурного разнообразия. Превращением данных сульфохлоридов в соответствующие сульфамиды с последующим гидролизом алкоксикарбонильной группировки и проведением N-ацилирования в условиях жидкофазного комбинаторного синтеза получено 7 библиотек неизвестных ранее замещенных сульфамоидазаетарилкарбоксамидов.

4. Разработан метод синтеза комбинаторных библиотек неизвестных ранее замещенных 5-винил-4-сульфамойл-3-метилизооксазолов основанный на взаимодействии 4-сульфамойл-3,5-диметилизооксазола с ароматическими и гетероароматическими альдегидами и с (2,3-диметоксиэтил)диметиламином.

5. При взаимодействии N-монозамещенных 4-сульфамойл-3,5-диметилизооксазолов с (2,3-диметоксиэтил)диметиламином реакция сопровождается метилированием 4-сульфамойльной группы. Показана возможность переминирования диметиламинovinильного фрагмента в 5-(2-диметиламинovinил) замещенных изооксазолах.

6. Разработан подход к синтезу ранее неизвестных азаетарилсульфониламиноалкилкарбоксамидов основанный на превращении азаетарилсульфохлоридов в соответствующие сульфониламиноалкилкарбоновые кислоты и аминировании последних аминами в условиях жидкофазного параллельного синтеза. Таким образом было получено 76 комбинаторных библиотек замещенных азаетарилсульфониламиноалкилкарбоксамидов.

7. Осуществлен синтез новой гетероциклической системы 1,1,6-триоксоциклопента[3,4]пиридо[2,3-е][1,2,4]гиадиазина, на основе которой синтезирована комбинаторная библиотека неизвестных ранее 3-(7-бром-1,1-диоксо-1,4-дигидропиридо[2,3-е][1,2,4]гиадиазин-3-ил)пропиоамидов.

8. Разработан метод синтеза неизвестных ранее азаетарилсульфонилпропионовых кислот из азаетарилсульфиновых и акриловых кислот или их эфиров. На основе азаетарилсульфонилпропионовых кислот в условиях параллельного жидкофазного синтеза получено 27 новых комбинаторных библиотек соответствующих сульфонипропионамидов.



9. Показано, что температура является фактором, определяющим реакционную способность имидазолида [(2-амино-5-бромпиридин-3-сульфонил)метиламино]уксусной кислоты при взаимодействии данного соединения с различными аминами: в зависимости от температуры реакции протекает либо образование не описанных ранее структурных аналогов – ацетамидов, либо циклизация имидазолида в неизвестный ранее пиридо[2,3-*f*][1,2,5]тиадиазепин-1,1,4(5*H*)-трион.

10. Осуществлен синтез неизвестных ранее замещенных 6-сульфамойлхинолин-4-карбоновых кислот, 6-сульфамойлхинолин-3,4-дикарбоновых кислот и 6-сульфамойлхинолин-2,3,4-трикарбоновых кислот из 5-сульфамойлизатинов и метиленактивных карбонильных соединений по реакции Пфитцингера. Хинолинкарбоновые кислоты в условиях параллельного жидкофазного синтеза превращены в комбинаторные библиотеки неизвестных ранее замещенных 6-сульфамойлхинолин-4-карбоксамидов.

11. На основе 6-сульфо- и 6-сульфамойлхинолин-3,4-дикарбоновых кислот впервые получены 1,3-диоксо-8-сульфо- и 1,3-диоксо-8-сульфамойл-2,3-дигидрофуро[3,4-*c*]хинолины, которые действием первичных аминов превращены в неописанные ранее 1,3-диоксо-8-сульфо- и 1,3-диоксо-8-сульфамойл-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины.

12. Разработаны методы синтеза и получены комбинаторные библиотеки неизвестных ранее замещенных в положениях 2, 4, 6 и 8 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов, в том числе, содержащие в положении 2 водород, алкил, замещенный алкил, арил, гетарил, остаток аминокислоты и др., в положении 4 водород, алкил, замещенные алкил, винил, арил, гетарил, гидроксил, хлор, замещенную аминоксуппу, остаток аминоксупп, замещенные сульфанильную, сульфинильную и сульфонильную группы, в положении 6 водород, F, Br, CF<sub>3</sub> и в положении 8 водород, F, Br, CN, SO<sub>2</sub>H, замещенные сульфамойльные и сульфанильные группировки.

13. Методом высокопроизводительного биологического скрининга синтезированных соединений 1,3-диоксопирроло[3,4-*c*]хинолинового ряда показана их высокая эффективность в качестве ингибиторов каспазы-3. В результате

оптимизации структуры 8-сульфамойл-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинов предложен ряд высокоэффективных ( $IC_{50} < 10$  нМ) ингибиторов каспазы-3.

14. Установлены закономерности влияния природы заместителей в 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолинах на их ингибирующую активность. На основании этих данных предложен механизм обратимого взаимодействия меркаптогруппы каспазного энзима с электрофильными карбонилатами ингибитора. Также доказано, что 1,3-диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины являются медленно диссоциирующими ( $\tau \approx 50$  мин) обратимыми и неконкурентными ингибиторами каспазы-3.

#### Список публикаций по теме диссертации.

1. Патент РФ 2229475. Заявлено 03.06.2003 (номер заявки 2003 106 182/04). Опубликовано 27.05.2004. / Иващенко А.В., Кобак В.В., Кравченко Д.В. и др. // 6-Сульфамойлхинолин-4-карбоновые кислоты, их производные и комбинаторная библиотека.
2. Патент РФ 2260002. Заявлено 08.08.2003 (номер заявки 2003 124 470/04). Опубликовано 10.09.2005. / Иващенко А.В., Кобак В.В., Кравченко Д.В. и др. // Замещенные-6-сульфо-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-карбоновые кислоты и их производные (варианты) и фокусированная библиотека.
3. Патент РФ 2259999. Заявлено 26.08.2003 (номер заявки 2003 125938/04). Опубликовано 10.09.2005. / Иващенко А.В., Хват А.В., Кравченко Д.В. и др. // 1-Сульфонил-1,3-дигидрондол-2-оны, фармацевтические композиции (варианты), способы их получения и применения.
4. Патент РФ 2003125936. Заявлено 26.08.2003 (номер заявки 2003 125936/04). Опубликовано 20.03.2005. / Иващенко А.В., Кравченко Д.В., Ткаченко С.Е. и др. // Фармацевтические композиции, способ их получения и применения.
5. Патент РФ 2257385. Заявлено 26.08.2003 (номер заявки 2003 125937/04). Опубликовано 27.07.2005. / Иващенко А.В., Кобак В.В., Кравченко Д.В. и др. // 1,3-Диоксо-2,3-дигидро-1*H*-пирроло[3,4-*c*]хинолины (варианты), фармацевтические композиции (варианты), способы их получения (варианты) и способы лечения (варианты).

6. Патент РФ 2251546. Заявлено 29.08.2003 (номер заявки 2003 126299/04). Опубликовано 10.05.2005. / Иващенко А.В., Кобак В.В., Кравченко Д.В. и др. // Замещенные 3-оксо-1,2,3,4-тетрагидрохиноксалины. фармацевтические композиции (варианты), способы их получения и применения.

7. Патент РФ 2263667. Заявлено 27.05.2004 (номер заявки 2004 115855/04). Опубликовано 10.11.2005. / Дорогов М.В., Соловьёв М.Ю., Кравченко Д.В. и др. // Гетероциклические соединения, включающие 2-аминопиридин-3-сульфоновый фрагмент, способы их получения (варианты), фокусированная библиотека и фармацевтическая композиция.

8. Патент РФ 2261246. Заявлено 15.04.2004 (номер заявки 2004 111522/04). Опубликовано 27.09.2005. / Дорогов М.В., Филимонов С.И., Кравченко Д.В. и др. // 7-Сульфонилбензо[В][1,4]дiazепины (варианты), способы их получения (варианты), фокусированная библиотека и фармацевтическая композиция.

9. Патент РФ 2263666. Заявлено 08.04.2004 (номер заявки 2004 110614/04). Опубликовано 10.11.2005. / Дорогов М.В., Филимонов С.И., Кравченко Д.В. и др. // Гетероциклические сульфоновые кислоты и их производные. фокусированная библиотека и фармацевтическая композиция.

10. Патент РФ 2259364. Заявлено 01.04.2004 (номер заявки 2004 109819/04). Опубликовано 27.08.2005. / Иващенко А.В., Ткаченко С.Е., Кравченко Д.В. и др. // Азагетероциклы, включающие фрагмент пиперидин-2-ила, фокусированные библиотеки и фармацевтические композиции.

11. Международная заявка WO2004078731 A1-2004-09-16. / Ivachtchenko A.V., Kobak V.V., Kravchenko D.V. et al. // Quinoline-carboxylic acids and the derivatives thereof, a focused library.

12. Kravchenko D.V., Kysil V.V., Ilyin A.P. et al. 1,3-Dioxo-4-methyl-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinolines as potent caspase-3 inhibitors // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. – 2005. – V.15, № 7. – P.1841-1845.

13. Kravchenko D.V., Kysil V.V., Tkachenko S.E. et al. Synthesis and caspase-3 inhibitory activity of 8-sulfonyl-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinolines // Farmaco.-2005.-V.60. № 10. -P.804-809.

14. Kravchenko D.V., Kuzovkova Y.A., Kysil V.V. et al. Pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as potent caspase-3 inhibitors: synthesis and SAR of 8-sulfamoyl-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c] quinolines // *Lett. Drug Des. Disc.*-2006.-V.3, № 1. -P.61-70.
15. Kravchenko D.V., Kysil V.V., Tkachenko S.E. et al. Pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as potent caspase-3 inhibitors. Synthesis and SAR of 2-substituted 4-methyl-8-(morpholine-4-sulfonyl)-pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones // *E. J. Med. Chem.* – 2005. - V.40, № 12. – P. 1377-1383.
16. Kravchenko D.V., Kuzovkova Y.A., Kysil V.M. et al. Synthesis and structure-activity relationship of 4-substituted 2-(2-acetyloxyethyl)-8-(morpholine-4-sulfonyl)-pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as potent caspase-3 inhibitors // *J. Med. Chem.* – 2005. – V.48, № 11. – P.3680-3683.
17. Kravchenko D.V., Kysil V.V., Ilyin A.P. et al. Synthesis and chemical transformations of 6-(morpholine-4-sulfonyl)-quinoline-2,3,4-tricarboxylic acid // *Synthetic Comm.* – 2006. - V.36, № 7. – P. 911-917.
18. Kravchenko D.V., Kysil V.V., Tkachenko S.E. et al. New variant of the Pfitzinger reaction. Synthesis and chemical transformations of substituted 2-aminomethylquinoline-3,4-dicarboxylic acids // *Heterocyclic Commun.* – 2006. -V.12, № 1. – P. 15-19.
19. Ivachtchenko A.V., Kobak V.V., Kravchenko D.V. et al. Parallel liquid-phase synthesis of N-substituted 6-aminosulfonyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-4-carboxamide and 6-aminosulfonylquinoline-4-carboxamide derivatives // *J.Comb.Chem.* – 2005.- V.7, № 2. – P. 227-235.
20. Хахина М.Ю., Корсаков М.К., Кравченко Д.В. и др. Синтез и свойства оригинальных сульфамидов, содержащих фрагмент 1,3-диметил-1H-хиназолин-2,4-диона. // *Изв. Вузов. Химия и хим. технология.* - 2003. - Т.46, № 8. - С. 12-18.
21. Тюнева И.В., Филмонов С.И., Кравченко Д.В. и др. Синтез, строение и свойства ряда тиофенсодержащих сульфамидокислот // *Известия вузов. Химия и химическая технология.* - 2004.- Т. 47, № 1. - С. 141-145.
22. Shkavrov S.V., Popov S.I., Kravchenko D.V. et al. A convenient synthesis of 1-amino-7-(piperidin-4-yl)isoquinoline // *Synthetic Comm.* – 2005.-V.35, № 5. – P. 725-730.

23. Тюнева И.В., Филимонов С.И., Кравченко Д.В. и др. Синтез и свойства амидов 2-[4-метил-(2-тенилсульфонил)амино]уксусной кислоты // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2004. - Т. 47, № 2. - С. 119-122.
24. Filimonov S.I., Korsakov M.K., Kravchenko D.V. et al. Convenient synthesis of novel 5-substituted 3-methylisoxazole-4-sulfonamides // J. Heterocycl. Chem.- 2006.- V.43, № 3. - P. 663-671.
25. Скоренко А.В., Дорогов М.В., Кравченко Д.В. и др. Синтез производных 1-метил-1Н-пиррола, содержащих карбонильный и сульфамидный фрагменты. // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2004. - Т. 47, № 8. - С. 96-100.
26. Kravchenko D.V., Dorogov M.V., Ivachtchenko A.V. et al. A convenient synthesis of novel 3-(heterocyclylsulfonyl)propanoic acids and their amide derivatives // Synthesis. - 2004. - № 18. - P. 2999-3004.
27. Скоренко А.В., Кобылинский Д.Б., Кравченко Д.В. и др. Синтез и свойства 4-сульфамидных производных этилового эфира 2,5-диметил-1Н-пиррол-3-карбоновой кислоты // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2005. - Т. 48, № 6. - С. 93-96.
28. Филимонов С.И., Кравченко Д.В., Хахина М.Ю. и др. Синтез замещенных 2,4-диоксо-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-бензо[*b*]дiazепин-7-сульфамидов // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2005. - Т. 48, № 4. - С. 142-147.
29. Ivachtchenko A.V., Kravchenko D.V., Zheludeva V.I. et al. Synthesis of pinacol esters of 1-alkyl-1Н-pyrazol-5-yl- and 1-alkyl-1Н-pyrazol-4-yl boronic acids // J. Heterocycl. Chem.- 2004.- V.41, №6. - p. 931-939.
30. Дорогов М.В., Соловьев М.Ю., Кравченко Д.В. и др. Получение новых конденсированных гетероциклов и комбинаторных библиотек на основе 2-амино-5-бромпиридин-3-сульфохлорида // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2005. - Т. 48, № 4. - С. 112-118.
31. Parchinsky V.Z., Koleda V.V., Kravchenko D.V. et al. Practical outcome of azaphthalimide reduction with Zn/AcOH at various temperatures // Lett. Org. Chem. - 2006.- № 3.- P. 379-383.

32. Филимонов С.И., Корсаков М.К., Кравченко Д.В. и др. Синтез замещенных 4-сульфонилзоксазолов // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2005. - Т. 48. № 5. - С. 131-137.
33. Кравченко Д.В., Балакин К.В., Иваненков Я.А. и др. Дизайн и синтез новых высокоэффективных непептидных ингибиторов каспазы-3 // Химико-фармацевтический журнал. - 2006. - Т. 40, № 3. - С. 36-38.
34. Okun I.M., Maliarchouk S., Kravchenko D.V. et al. Screening for caspase-3 inhibitors: 1. New class of potent small molecule inhibitors of caspase-3. // J. Biomol. Screen.-2006. - V. 11, № 3. - P. 277-285.
35. Кравченко Д.В., Ивановский С.А., Корсаков М.К. и др. Синтез замещенных 4-оксо-7-сульфамойл-2,3,4,5-тетрагидробензо[6][1,4]гиазепинов // Известия вузов. Химия и химическая технология. - 2005. - Т. 48. № 5. - С. 123-131.
36. Ivachtchenko A.V., Savchuk N.P., Kravchenko D.V. et. al. 3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinoline-8-sulfonyl)-propionic acids and their derivatives // 9-th National Conference on "Bioactive Heterocycles and Drug Discovery Paradigm" - Rajkot. Gujarat (India). - 2005. Abstracts of Scientific Papers. - P. 106.
37. Ivachtchenko A.V., Savchuk N.P., Kravchenko D.V. et. al. Synthesis of 8-sulfamoyl-4-chloro-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones and their derivatives // 9-th National Conference on "Bioactive Heterocycles and Drug Discovery Paradigm" - Rajkot. Gujarat (India). - 2005. Abstracts of Scientific Papers. - P. 161.
38. Ivachtchenko A.V., Kysil V.M., Kravchenko D.V. et. al. 1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinoline combinatorial libraries // 9-th National Conference on "Bioactive Heterocycles and Drug Discovery Paradigm" - Rajkot. Gujarat (India). - 2005. Abstracts of Scientific Papers. - P. 184.
39. Balakin K.V., Dorogov M.V., Kravchenko D.V. et. al. Design of lead-like library of potential GPCR-ligands // Drugs Fut.-2002.27 (Suppl. A): 17-th Int. Symp. on Medicinal Chem. - Barselona (Spain). - Sept. 1-5, 2002., V.27. № 555 - P. 526.
40. Ivachtchenko A.V., Ilyin A.V., Kravchenko D.V. et. al. A new insight into the Pfiztinger reaction. A facile synthesis of 6-sulfamoylquinoline-4-carboxylic Acids : Tez.

докл. XX Украинская конференция по органической химии, посвященная 75-летию со дня рождения академика А.В.Богатского - Одесса, 2004. - Ч. 1. С. 175.

41. Ivachtchenko A.V., Kysil V.M., Kravchenko D.V. et. al. Combinatorial libraries of substituted 1,3-dioxo-1,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinoline-8-sulfonic acid and their amides : Тез. докл. XX Украинская конференция по органической химии, посвященная 75-летию со дня рождения академика А.В.Богатского -Одесса, 2004. - Ч.1, С. 176.

42. Ivachtchenko A.V., Kysil V.M., Kravchenko D.V. et. al. Parallel liquid-phase synthesis of N-substituted 6-aminosulfonyl-2-охо-1,2-dihydroquinoline-4-carboxamides: Тез. докл. XX Украинская конференция по органической химии, посвященная 75-летию со дня рождения академика А.В.Богатского - Одесса, 2004. - Ч.1. С - 179.

43. Ivachtchenko A.V., Kysil V.M., Kravchenko D.V. et. al. Synthesis of heterocycles with 2-aminomethylquinoline moiety: Тез. докл. XX Украинская конференция по органической химии, посвященная 75-летию со дня рождения академика А.В.Богатского- Одесса, 2004. - Ч.1, С.- 183.

44. Kravchenko D.V., Kuzovkova Y.A., Kyzil V.V. et. al. Synthesis and selective decarboxylation of 6-(morpholine-4-sulfonyl)-quinoline-2,3,4-tricarboxylic acid // 20-th International Congress of Heterocyclic Chemistry – Palermo (Italy). – 2005. Book of abstracts. – P. 316.

45. Kravchenko D.V., Kuzovkova Y.A., Kyzil V.V. et. al. Derivatives of 2-(2-acetyloxyethyl)-4-mercapto-8-(morpholine-4-sulfonyl)-pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as potent caspase-3 inhibitors // 20-th International Congress of Heterocyclic Chemistry – Palermo (Italy). – 2005. Book of abstracts. – P. 323.

46. Kravchenko D.V., Kyzil V.V., Tkachenko S.E. et. al. Synthesis and SAR of 2-substituted 4-methyl-8-(morpholine-4-sulfonyl)-pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as potent caspase-3 inhibitors // 20-th International Congress of Heterocyclic Chemistry – Palermo (Italy). – 2005. Book of abstracts. – P. 325.

47. Kravchenko D.V., Kuzovkova Y.A., Kyzil V.V. et. al. Synthesis of substituted 2-(2-hydroxyethyl)-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinoline-8-sulfonic acid amides as potent caspase-3 inhibitors // 20-th International Congress of Heterocyclic Chemistry – Palermo (Italy). – 2005. Book of abstracts. – P. 327.

48. Кравченко Д.В. Новые ингибиторы каспазы-3. Тез. докл. Международная конференция по химии гетероциклических соединений, посвященная 90-летию со дня рождения профессора А.Н. Коста.- Москва, 2005. - С.53.

49. Kravchenko D.V., Kysil V.V., Ilyin A.P. et. al. Pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as a novel chemotype of potent nonpeptide caspase-3 inhibitors. // 229<sup>th</sup> ACS National Meeting, Division of Medicinal Chemistry, San Diego, CA, march 13-17, 2005, abstract № 288.

50. Kravchenko D.V., Kuzovkova Y.A., Kysil V.V. et. al. 4-Substituted 2-[2-acethyloxyethyl]-8-[morpholine-4-sulfonyl]-pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,3-diones as potent caspase-3 inhibitors. // 229<sup>th</sup> ACS National Meeting, Division of Medicinal Chemistry, San Diego, CA, march 13-17, 2005, abstract № 404.

51. Kravchenko D.V., Kuzovkova Y.A., Kysil V.V. et. al. Facile synthesis of 2-substituted 4-[morpholin-4-ium-4-methyl]-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinolin-8-sulfonates as potent caspase-3 inhibitors. // 229<sup>th</sup> ACS National Meeting, Division of Medicinal Chemistry, San Diego, CA, march 13-17, 2005, abstract № 405.



**Кравченко Дмитрий Владимирович (Россия)**

**Синтез, превращения и биологическая активность сульфонилазамещенных азотсодержащих гетероциклических систем.**

Разработаны методы получения широкого набора структурных аналогов (комбинаторных библиотек) сульфамидных и сульфалкановых производных оригинальных азотсодержащих гетероциклических систем. Осуществлен синтез таких библиотек в жидкой фазе, общим числом более 20000 соединений, перспективных для поиска новых разнообразных биологически активных веществ. На основании исследований методом высокопроизводительного скрининга биологической активности синтезированных соединений показана высокая эффективность в качестве ингибиторов каспазы-3, отвечающей за апоптоз, 8-аминосульфоил-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,4-с]хинолинов. Показано, что они являются новыми высокоэффективными ( $IC_{50} < 10$  нМ), медленно диссоциирующими, обратимыми, неконкурентными ингибиторами.

**Dmitry V. Kravchenko (Russia)**

**Synthesis, chemical transformations, and biological activity of various sulfonylated nitrogen heterocycles.**

For a number of structurally novel N-heterocyclic sulfone and sulfamide scaffolds, synthetic methodologies have been developed to enable production of combinatorial compound libraries. Such libraries (totaling over 20,000 compounds) have been produced using liquid-phase techniques to provide candidates for identification of biologically active entities. High-throughput screening of the compounds produced and subsequent kinetic studies allowed to identify 8-aminosulfonyl-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-c]quinolines as potent ( $IC_{50} < 10$  nM), slow-dissociating, reversible, and non-competitive inhibitors of caspase-3 – an enzyme responsible for apoptosis.

Подписано в печать 28.04.06 Формат 60x84/16.  
Тираж 150 экз. Усл. печ. л. 3 . Заказ 413

---

Типография Издательства РУДН  
117923, ГСП-1, г. Москва, ул. Орджоникидзе, д. 3



