

ЗАТВЕРДЖУЮ
Заступник генерального директора
з наукової роботи ДНУ НТК
«Інститут монокристалів» НАН України
(посада)
Беліков Костянтин Миколайович

ПІБ



(підпис)

М.П.

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу у 2021 році в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок
«ПОЛІФАРМАКОФОРНІ ОРГАНІЧНІ СПОЛУКИ НА ОСНОВІ
ПЕПТИДОМІМЕТИКІВ ТА АНЕЛЬОВАНИХ БЕНЗОДІАЗЕПІНІВ»
(назва Проєкту)

Назва конкурсу: Підтримка досліджень провідних та молодих учених
Реєстраційний номер Проєкту: 2020.02/0023

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.02/0023 «Поліфармакофорні органічні сполуки на основі пептидоміметиків та анельованих бензодіазепінів»

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу Підтримка досліджень провідних та молодих учених (назва конкурсу) протокол від 16-17 вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Загальна тривалість виконання проєкту 2020 рік – 2022 рік

Тривалість виконання Проєкту у 2021 році

Початок – 30.04.2021 р.

Закінчення – 15.12.2021 р

Загальна вартість Проєкту, грн. 11 736 900 грн

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 1 998 600 грн

2-й рік 4 744 700 грн

3-й рік 4 993 600 грн

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 8 виконавців, з них:

доктори наук 2;

кандидати наук 3;

інші працівники 3.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Державна наукова установа «Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» НАН України»

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків)

Розробка нових ефективних синтетичних підходів до фармакоперспективних структурно складних органічних сполук на основі тандемного комбінування багатокomпонентних і клік-реакцій.

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

На основі стратегії тандемного комбінування багатокomпонентних реакцій і методів клік-хімії розробити синтетичні підходи до 1,4-бензодіазепінів і протяжних пептидоміметиків.

In silico дослідити віртуальні бібліотеки сполук на спорідненість до певних мішеней.

Методом спінових зондів провести скринінг синтезованих сполук за мембранотропною дією та їх впливом на структуру і мікров'язкість мембран.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

Однією з задач медичної хімії є швидкий скринінг значної кількості органічних сполук з метою пошуку серед них нових активних фармацевтичних інгредієнтів. Для розв'язання даної проблеми широко використовують багатокomпонентні реакції, а також синтетичні стратегії на їх основі, серед яких високу ефективність показала стратегія тандемного комбінування органічних реакцій і методів клік-хімії.

- Новизна Проєкту (до 400 знаків)

Вперше: стратегія тандемного комбінування органічних реакцій і методів клік-хімії буде застосована для розробки підходів до принципово нових пептидоміметиків та 1,2,3-триазолобензодіазепінів; в даних сполуках будуть виявлені основні фармакофорні фрагменти; досліджена їх мембранотропна дія та вплив на біологічні мембрани.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

Розробка шляхів одержання гетероциклічних і протяжних пептидоміметиків тандемним комбінуванням двох або трьох багатокomпонентних реакцій. Комбінування реакції Угі з 1,3-диполярним циклоприєднанням. Використання методів Ligand-based Virtual Screening і Structure-based Virtual Screening. Застосування методу спінових зондів с спектроскопії ЕПР на модельних мембранах і біологічних об'єктах.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

1. Проведено аналіз літературних даних стосовно використання стратегії «елімінуємих» ізоціанідів в умовах реакції Угі. Проаналізована актуальність пошуку нових типів біологічно активних сполук по відношенню до рецепторів родини кіназ та канабіноїдних рецепторів. Зроблено стислий аналіз використання високоефективної рідинної хроматографії у медичній хімії і фармації. Наведені літературні дані стосовно впливу розчинності хімічних речовин на їх біологічну дію.

2. Досліджена реакція Угі на основі нових імідазо[1,2-а]-вмісних кислот, що одержані в реакції Грьобке на попередньому етапі, і показано, що на ефективність чотирикомпонентної

взаємодії суттєво впливає як розчинність гетероциклічних кислот, так і електронні ефекти гетарильного фрагменту. Найкращі результати з точки зору виходів і чистоти цільових пептидоміметиків отримані у випадку, коли карбокисльна група поєднана з гетероциклічним остовом через лінкерний кисневмісний фрагмент. Додатково розроблено однореакторну комбінацією реакції Угі та Грьобке. Синтезовано бібліотеку з 10 нових імідазо[1,2-а]-вмісних пептидоміметиків і проведено необхідний комплекс їх фізико-хімічних, хроматографічних і спектральних досліджень.

3. На основі модифікованих літературних методик синтезовані два «елімінуємих» ізоціаніди – о-нітробензилоціанід та 6-бромо-2-ізоціанопіридин – які надалі було введено у модельну реакцію Угі і проведено оптимізацію синтетичних методик взаємодій.

4. Розроблено синтетичний підхід до одержання пептидоміметиків через тандемну комбінацію багатокомпонентних реакцій за типом Дьобнера та Угі. Показано, що цільові сполуки, у більшості випадків, утворюються у вигляді сумішей діастереомерів, а у розчинах таких сполук спостерігається явище ротамерії. Синтезовано бібліотеку з 13 раніше не описаних продовжених пептидоміметиків і проведено необхідний комплекс їх фізико-хімічних, хроматографічних і спектральних досліджень.

5. Досліджено реакцію декарбоксилювання піролоно-вмісних карбонових кислот, які утворюються в реакції за типом Дьобнера, з утворенням 3-гідрокси-4-метил-1,5-дигідро-2Н-пірол-2-онів, що здатні брати участь в реакції Угі із залученням гідроксильної, а не карбоксильної групи.

6. На основі реакції внутрішньомолекулярного азид-алкінового циклоприєднання N-(1-(2-азидофенил)-2-(алкиламіно-2-оксоетил)-N-алкіл(арил, гетарил)пропіламідів розроблено ефективний мікрохвильовий метод синтезу перспективних з точки зору медичної і фармакологічної хімії похідних 4-оксо-5,6-дигідро-4Н-бензо[f][1,2,3]триазоло[1,5-a][1,4]діазепінів. Розроблено безкatalізний мікрохвильовий метод синтезу 1,2,3-тріазлобензодіазепінів з використанням нетермінальних алкінів, одержано бібліотеку з 9 цільових сполук і проведено необхідний комплекс їх фізико-хімічних, хроматографічних і спектральних досліджень.

7. Методом вискоефективної рідинної хроматографії проведені дослідження кінетики внутрішньомолекулярного азид-алкінового циклоприєднання в умовах термічного і мікрохвильового методу активації і показано, що головною перевагою неklasичної активації в даному випадку є більш швидкій розігрів реакційної суміші, що приводить до суттєвого прискорення реакції у перші 15 хвилин перебігу.

8. Побудовано фармакофорні моделі рецепторів протеїнкіназ та канабіноїдних рецепторів СВ1 і СВ2, які за результатами валідації продемонстрували свою високу прогностичну здатність розпізнавання активних та неактивних агоністів цих рецепторів.

9. З використанням стратегії багатоетапного віртуального скринінгу в поєднанні з молекулярним докінгом та наступним аналізом моделей зв'язування сполук-«хітів», розроблено чіткі рекомендації щодо раціонального дизайну бензо[f][1,2,3]триазоло[1,5-a][1,4]діазепінів, які є потенційними агоністами або антагоністами канабіноїдного рецептора СВ1.

10. За методологією ДФУ досліджено, оцінено та порівняно розчинність низки синтезованих речовин у 14 розчинниках.

11. Методами спінових зондів і лазерної дифракції встановлено, що відібрана гідрофобна речовина у водному середовищі дисперсії ліпосом кристалізується з утворенням частинок, що за розмірами суттєво перевищують розміри ліпосом, не взаємодіє з ліпосомами і не може бути об'єктом дослідження мембранотропної дії.

12. Досліджено взаємодію 4 спінових зондів, що мають аліфатичні ланцюги, та 1 спінового зонда на основі холестана з ліпосомами фосфатидилхоліну. Показана відсутність дифузії зонда на основі холестану в ліпідні шари ліпосом і його непридатність для дослідження їх структури. Натомість зонди з аліфатичними ланцюгами дифундують в шари ліпосом і виявляються придатними для подальших досліджень.

13. Проведено порівняльне дослідження структури нативних ліпосом та ліпосом в присутності відібраної речовини, аніон якої потенціально може взаємодіяти з позитивно зарядженим атомом азоту фосфатидилхоліну, а його гідрофобний фрагмент солубілізуватися в

ліпідних шарах ліпосом. За результатами досліджень для даної речовини трансцелюлярний шлях проникнення (крізь клітини і ліпідну матрицю) є мало вірогідним, а більш вірогідним є міжклітинний шлях проникнення.

14. Досліджено взаємодію 4 спінових зондів з аліфатичними ланцюгами та 1 спінового зонда на основі холестана з еритроцитами щурів. На основі аналізу ЕПР спектрів двох ліпофільних спінових зондів на основі амідів пальмітинової кислоти та холестану виявлено відсутність їх дифузії в ліпідні шари еритроцитів, що свідчить про непридатність цих зондів для дослідження структури ліпідних шарів еритроцитів. Більш гідрофільні спінові зонди швидко дифундують з поверхні еритроцитів до їх ліпідних шарів і виявляються придатними для дослідження їх структури. В порівнянні з ліпосомами в мембранах еритроцитів спостерігається більш висока щільність і впорядкованість упаковки ліпідів.

15. Методом спінових зондів з використанням 3 зондів, що несуть в молекулах аліфатичні ланцюги, проведено порівняльне дослідження структури нативних еритроцитів та еритроцитів в присутності обраної речовини. Наявність в суспензії еритроцитів даної речовини приводить до збільшення часів кореляції обертальної дифузії та зменшення параметра анізотропії спінового зонда, що свідчить про взаємодію аніону з мембранами еритроцитів. Можна припустити, що аніони сполуки взаємодіють з поверхнею еритроцитів з підвищенням щільності упаковки молекул в шарах ліпідів на межі еритроцитів з водним середовищем і не впливають на неполярну частину рідкокристалічних шарів.

16. За допомогою мас- та ^1H і ^{13}C ЯМР спектрів, рентгеноструктурного аналізу, ВЕРХ і інших методів дослідження одержана детальна інформація про чистоту, молекулярну будову і фізико-хімічні властивості сполук, що синтезовані.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

1. Проект ґрунтується на використанні новітніх хімічних стратегій.
2. Принципово нові синтетичні підходи або суттєво вдосконалені існуючі методи дозволять синтезувати неописані органічні сполуки, які відносяться до новітніх типів, що розташовані в незаповнених ділянках хімічного простору.
3. При створенні синтетичних препаративних методик будуть використані інноваційні методи сучасної хімії, такі як неklasичні методи активації (мікрохвильове та ультразвукове випромінення), а також проточна хімія.
4. Використання методів *in silico*, розроблені на їх основі рекомендації, а також одержані дані щодо мембранотропних властивостей створить підґрунтя для відбору потенційних сполук-«хітів» та для їх подальшого дослідження в рамках прикладного проекту.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проекту для економіки та суспільства (стосується проектів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

Не передбачено для проекту фундаментальних досліджень

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проекту в суспільній практиці.

Подальше використання результатів даного дослідження ґрунтується, перш за все, на тому факті, що сучасний процес пошуку і розробки лікарських засобів і їх компонентів висуває кілька жорстких вимог до органічного синтезу, серед яких: новизна і патентна чистота об'єктів, які розробляються; наявність у них певних фізико-хімічних властивостей (так званий «принцип подібності до ліків»), економічна обґрунтованість, екологічність і безпека способу одержання таких субстанцій та багато інших. Виконання даного проекту дозволить досягти одночасного виконання багатьох таких вимог, що дозволить використовувати одержані результати, якими є високоефективні та селективні методики синтезу певних класів органічних сполук, а також дані щодо їх спорідненості до біологічних мішеней та мембранотропні властивості, у медичній та фармацевтичній хімії, в експериментальній фармакології і фармацевтичній промисловості.

В НТК «Інститут монокристалів» НАН України при проведенні наукових досліджень зазвичай створюється ланцюг «спадкоємності» отриманих результатів – від фундаментальної

роботи, через прикладну розробку і інноваційні проекти до комерціалізації, що підтверджується багатьма прикладами. Тому дана робота або її частина має стати основою для подальшого прикладного проекту, зокрема, для дослідження одержаних сполук-хітів на наявність біологічної активності методами *in vitro* і *in vivo*, та їх подальшої структурної оптимізації. Така робота планується, у тому числі, в рамках майбутніх конкурсів Національного фонду досліджень України.

Результати роботи, як це робилось з результатами інших наукових досліджень авторів проекту, будуть впроваджені у навчальний процес як частини спеціальних курсів для студентів і аспірантів Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна і інших ЗВО, а також для аспірантів НТК «Інститут монокристалів» НАН України.

Соціальний ефект даного проекту полягає, зокрема, у залученні до його виконання молодих науковців та студентів, у підвищенні їх професійного рівня при плануванні і вирішенні актуальної і складної наукової задачі. Також варто відзначити створення наукового підґрунтя для подальшої розробки інноваційних вітчизняних лікарських засобів та їх компонентів.

Науковий керівник Проекту

Перший заступник генерального директора
з наукової роботи ДНУ НТК «Інститут
монокристалів» НАН України, провідний
науковий співробітник, д.х.н., проф. чл.-кор. НАНУ

Чебанов Валентин Анатолійович



(підпис)