

В И С Н О В О К

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Велігіної Євгенії Сергійвни на тему: «Синтез та властивості нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів», поданої на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 10 «Природничі науки» за спеціальністю 102 Хімія

Актуальність теми. Азотовмісні гетероциклічні основи, такі як оксазоло[4,5-*d*]піримідини та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазини, характеризуються унікальними фізико-хімічними властивостями та є перспективними у створенні лікарських засобів. Тема дослідження актуальна з огляду на значний протираковий потенціал подібних сполук з біоізостерним щодо пурину скаfoldом. Їх структурна різноманітність може забезпечувати всебічний вплив на функціонування терапевтично важливих білкових молекул шляхом введення різних замісників, критичних для біоактивності і селективності дії. Проблема спрямованої функціоналізації та оптимізації будови гетероциклів, необхідних для очікуваного біологічного ефекту, може бути вирішена шляхом використання ациклічних поліфункціональних реагентів, зокрема 2-ацикламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів.

На сьогодні відомо багато синтетичних шляхів одержання різноманітних похідних оксазоло[5,4-*d*]піримідину та опубліковано значний обсяг результатів їх біологічних досліджень. Проте недостатньо вивченим класом сполук виявились їх ізомери – оксазоло[4,5-*d*]піримідини. Тому загалом сучасний стан цих досліджень можна охарактеризувати як такий, що тільки розвивається. Не менш важливим є вивчення нових похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, адже на їх основі вже створено низку ефективних інгібіторів різних кіназ, PDE, CDK2, ХО та ТР, антагоністів аденоzinу, СВ і CRF receptorів, противірусних та противірухлиних засобів.

Підсумовуючи, можна зазначити наступне: а) літературні дані про синтез та властивості оксазоло[4,5-*d*]піримідинів і піразоло[1,5-*a*][1,3,5]-триазинів вказують на актуальність вивчення нових біоактивних азоловазинів як потенційних лікарських засобів; б) опубліковані результати біологічних досліджень оксазоло[4,5-*d*]піримідинів і піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів свідчать про перспективність обраного напряму.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконувалась в рамках бюджетних тем відділу хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України «Синтез нових біоактивних похідних азагетероциклів та дослідження їх властивостей» (тема 2.1.10.11-15, № держреєстрації 0115U002587) і «Синтези азотистих гетероциклів і фосфороорганічних сполук та дослідження їх біологічної активності» (тема: ЦПФД 1-17, № держреєстрації 0117U000096), а також частково за рахунок грантової підтримки Європейського співробітництва в галузі науки і технологій на здійснення короткострокових наукових місій «Кatalітична

функціоналізація 2- та 5-(4-хлорофеніл)заміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів» (ECOST-STSM-CA15106-150220), програми Dora Plus (2014-2020.4.01.16-0025, діяльність 2.1 та 2.2), що фінансиється Європейським фондом регіонального розвитку, та гранту Національного фонду досліджень України «Розробка та синтез нових електроннодефіцитних азолів, активних проти вірусів, що викликають опортуністичні інфекції» (№ 2020.01/0075).

Мета і завдання дослідження. Основна мета роботи полягала у синтезі нових біологічно активних похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину та піразоло-[1,5-*a*][1,3,5]триазину із різноманітними донорними та акцепторними замісниками, дослідження їх електронних, хімічних і біологічних властивостей та вивчення взаємозв'язку «структурно-активність».

Для досягнення цієї мети необхідно було розв'язати наступні завдання:

1. здійснити синтез нових 2-арилзаміщених оксазоло[4,5-*d*]піримідинів з різноманітними донорними та акцепторними замісниками в положеннях 5 і 7 гетероциклічної системи, а також ряд невідомих раніше оксазоло[5,4-*d*]піримідинів, функціонально ідентичних їхнім ізомерним похідним;

2. розробити зручний метод синтезу нових похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину, 4,7-функціоналізованих алкільними або арильними замісниками та дослідити їх структуру;

3. вивчити протиракову та антивірусну дії синтезованих сполук, встановити залежність активності від структури (ізомерії, впливу природи аліфатичних, (гетеро)арomaticних замісників) та дослідити можливий механізм дії біоактивних похідних оксазолопіримідину;

4. дослідити судинорозширюючі властивості похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину.

Об'єктом дослідження є нові оксазоло[4,5-*d*]піримідини та піразоло-[1,5-*a*][1,3,5]триазини.

Предметом дослідження є синтетичні підходи та властивості оксазоло-[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів.

Методи дослідження: органічний синтез, ІЧ- та ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, рентгеноструктурний аналіз, молекулярний докінг, COMPARE аналіз, неемпіричний метод квантово-хімічних розрахунків, методи біологічного скринінгу.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає у створенні нових біологічно активних сполук з біоізостерним щодо пурину скаfoldом.

Використання реакції Судзукі-Міяура дало можливість отримати ряд нових 5-біарил- та 7-арилзаміщених похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину. Проведено дослідження протиракової активності синтезованих похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину, знайдено новий селективний інгібітор довгої ізоформи аденоzinкінази та вперше встановлено можливий механізм протиракової дії похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину. Знайдено перший і поки що єдиний перспективний противірусний агент проти ВК-вірусу серед оксазоло[4,5-*d*]піримідинів – *N*-(2-морфоліно-2-(тіофен-2-іл)етил)-5-(4-метоксифенетил)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-амін зі значеннями EC₅₀ = 0,22 мкМ та SI₅₀ = 85 мкМ.

Вперше досліджена взаємодія 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами та синтезовано раніше невідомі похідні 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину. Вивчено їх протиракова, антивірусна та вазодилататорна активність; знайдено закономірності «структурно-активність» й отримано «сполуки-лідери» серед 2-дихлорометилпіразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів з протипухлинним потенціалом.

При *in silico* дослідженнях вперше використано пофрагментний підхід, який на основі неемпіричних квантово-хімічних розрахунків дозволяє кількісно оцінювати вплив зміни хімічної будови фармакофора на стабільність комплексу фармакофора з біологічно активним центром.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів полягає в розробці препаративних методів синтезу нових похідних оксазоло[4,5-*d*]піримідину з арильними та різноманітними амінними фрагментами в положенні 7 і (бі)арильними замісниками в положеннях 2 та 5 гетероциклічної системи, що важливо для встановлення зв'язків між структурою та протипухлинною активністю. Серед них знайдено низку протиракових агентів та речовину з противірусним ефектом щодо ВК-вірусу – *N*-(2-морфоліно-2-(тіофен-2-іл)-етил)-5-(4-метоксифенетил)-2-фенілоксазоло[4,5-*d*]піримідин-7-амін. Також на основі 2,5-дифеніл-7-піперазин-1-ілоксазоло[4,5-*d*]піримідину створено новий селективний інгібітор довгої ізоформи аденоzinкінази, яка є перспективною мішенню при лікуванні таких патологічних станів як травми головного мозку, епілепсії, судинних захворювань, раку та діабету.

Розроблено новий препаративний метод синтезу раніше невідомих 2-дихлорометилзаміщених похідних піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазину з алкільними або (гет)арильними замісниками в положенні 4 та 7 гетероциклічної системи, серед яких знайдено сполуки з протираковим та судинорозширюючим ефектом.

Апробація матеріалів дисертації. Результати досліджень представлено на науково-практичних конференціях, зокрема:

1. I Міжнародна (XI Українська) наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення» (Вінниця, 2018);
2. V та VII Міжнародні заочні науково-практичні конференції молодих вчених (Ніжин, 2018 та 2020);
3. 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov (Kharkiv, 2018);
4. III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (Житомир, 2019);
5. 10th International Conference Kiev-Toulouse (Toulouse, France 2019);
6. Ювілейна XXV Українська конференція з органічної та біоорганічної хімії, присвячена 80-річчю ІОХ НАН України та 30-річчю ІБОНХ ім. В.П. Кухаря НАН України (Луцьк, 2019);
7. 12th International Conference «Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials» (Kamianets-Podilskyi, 2020);

8. XXXV Наукова конференція з біоорганічної хімії та нафтохімії (Київ, 2021);
9. XVIII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021» присвячена 360-річчю Львівського Університету (Львів, 2021).

Особистий внесок здобувача. Літературний пошук за темою дисертації, основний обсяг експериментальної частини роботи, аналіз спектральних досліджень та встановлення будови більшості синтезованих сполук зроблено безпосередньо дисертантом. Постановку завдань, обговорення, інтерпретація та узагальнення результатів роботи проведено разом з науковим керівником, д.х.н., с.н.с. Качковським О.Д., д.х.н., проф. Броварцем В.С. і к.х.н., с.н.с. Пільо С.Г., на окремих етапах роботи – з д.б.н. Жирновим В.В., д.х.н., проф. Ноланом С.П. (Гентський університет, м. Гент, Бельгія), к.х.н. Карпічевим Є.А. (Таллінський технологічний університет, м. Таллінн, Естонія) та к.х.н. Зябрєвим В.С. Дослідження протипухлиної активності здійснено спільно з Національним інститутом раку США (National Cancer Institute of Heals, USA) в рамках Development Therapeutic Program. Вивчення аденоцинкіназної активності проводилось в дослідницькому інституті *Legacy Research Institute* в Портленді, штат Орегон, США. Антивірусна активність досліджувалася в Університеті Алабами в Бірмінгемі та Інституті противірусних досліджень Університету штату Юта. Дослідження вазодилататорної активності виконано к.б.н. Івановою І.В. в Інституті фармакології та токсикології НАМН України, молекулярний докінг – к.б.н. І. В. Семенютою та к.х.н. Кобзарем О.Л., рентгеноструктурні дослідження – к.х.н. Е. Б. Русановим, а квантовохімічні розрахунки виконано разом з д.х.н. О. Д. Качковським.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 221 сторінці машинописного тексту і складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 1 додатку. Обсяг основного тексту дисертації складає 188 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 19 таблицями, 28 рисунками та 71 схемою. Список використаних джерел містить 240 найменувань.

Публікації за темою дисертації. За матеріалами роботи опубліковано 24 праць, з них 10 статей у провідних фахових журналах, 1 патент на винахід та 13 тез наукових доповідей.

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про
апробації матеріалів дисертації:

1. Ye.S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pilyo, O.P. Mitiukhin, V.V. Zhirnov, V.S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and In Vitro Anticancer Evaluation of 7-(1,4-Diazepan)substituted [1,3]oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. *Chemistry Research Journal* **2018**, 3(5), 81-93.
2. Ye.S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pilyo, V.V. Zhirnov, V.S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and In Vitro Anticancer Evaluation of 7-Piperazine-Substituted [1,3]Oxazolo[4,5-*D*]Pyrimidines. *Der Pharma Chemica* **2018**, 10(9), 1-10.

3. M.V. Kachaeva, N.V. Obernikhina, E.S. Veligina, M.Yu. Zhuravlova, Ya. O. Prostota, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. Estimation of Biological Affinity of Nitrogen-Containing Conjugated Heterocyclic Pharmacophores. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2019**, 55(4/5), 448–454.
4. Ye.S. Velihina, S.G. Pil'o, V.S. Zyabrev, V.S. Brovarets. Synthesis and Evaluation of the Antiviral Activity of 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, **2019**, 7, 75-80.
5. Ye. S. Velihina, S. G. Pil'o, V. S. Zyabrev, V. S. Moskvina, O. V. Shablykina, V. S. Brovarets. 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines: synthesis and anticancer activity. *Biopolymers and Cell* **2020**, 36(1), 61–74.
6. Ye. S. Velihina, M.V. Kachaeva, S.G. Pil'o, V.S. Moskvina, O.V. Shablykina, V.S. Brovarets. Synthesis of 4-Hetaryl-2-(dichloromethyl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. *Ukrainian Chemistry Journal* **2020**, 86(5), 53-62.
7. Ye. Velihina, T. Scattolin, D. Bondar, S. Pil'o, N. Obernikhina, O. Kachkovskyi, I. Semenyuta, I. Caligiuri, F. Rizzolio, V. Brovarets, Y. Karpichev, S. P. Nolan. Synthesis, *In silico* and *In vitro* Evaluation of Novel Oxazolopyrimidines as Promising Anticancer Agents. *Helvetica Chimica Acta* **2020**, 103(12), e2000169.
8. Ye.S. Velihina, N.V. Obernikhina, S.G. Pilyo, M.V. Kachaeva, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. *In silico* study of binding affinity of nitrogenous bicyclic heterocycles: fragment-to-fragment approach. *Ukrainica Bioorganica Acta* **2020**, 15(2), 49-59.
9. V. V. Zhirnov, Ye. S. Velihina, O. P. Mitiukhin, V. S. Brovarets. Intrinsic drug potential of oxazolo[5,4-d]pyrimidines and oxazolo[4,5-d]pyrimidines. *Chemical Biology & Drug Design* **2021**, 98, 561– 581.
10. E. S. Velihina, N. V. Obernikhina, S. G. Pilyo, O. D. Kachkovsky, V. S. Brovarets. Synthesis, Electronic Structure and Anti-Cancer Activity of the Phenyl Substituted Pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. *Current Organic Chemistry* **2021**, 25(12), 1441-1454, DOI: 10.2174/1385272825666210607004536.
11. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В.М. Прокопенко, О.П. Мітюхін, В.С. Броварець. Застосування 7-піперазин-1-іл[1,3]оксазоло[4,5-d]піримідинів як антиракових препаратів., **2021**, пат. на винахід № 122925 Україна.
12. Є. С. Велігіна, Е. Р. Абдурахманова, М. В. Качаєва, С. Г. Пільо. Взаємодія 2-ациламіно-3,3-дихлороакрилонітрилів з 5-амінопіразолами. I Міжнародна (XI Українська) наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення», 27-29 березня 2018 року, Вінниця, 2018. С. 135.
13. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, Н.В. Оберніхіна, С.Г. Пільо, В.М. О.Д. Качковський, В.С. Броварець. Квантово-хімічна оцінка донорно-акцепторних властивостей азотовмісних спряжених гетероциклів. V Міжнародна заочна науково-практична конференція молодих вчених, 12 квітня 2018 року, Ніжин, 2018. С. 35-38.

14. N. Obernikhina, M. Kachaeva, E. Veligina, O. Kachkovsky, V. Brovarets. π -Electron Affinity of Nitrogenous Conjugated Heterocycles. 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov, November 12-16, Kharkiv, 2018. P. 117.
15. Ye. S. Velihina, M. V. Kachaeva, S. G. Pilyo, O. D. Kachkovsky, V. S. Brovarets. Synthesis, Characterization, and *in vitro* Anticancer Evaluation of 7-Piperazin-Substituted Oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in Memoriam of Prof. Valeriy Orlov, November 12-16, Kharkiv, 2018. P. 149.
16. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, О.П. Мітюхін, А.О. Гуренко, В.С. Броварець. 7-(1,4-Діазепан)-заміщені [1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідини: синтез та *in vitro* скринінг протиракової активності. III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи», 17 квітня 2019 року, Житомир, 2019. С. 257-259.
17. Е.Р. Абдурахманова, Є.С. Велігіна, С.Г. Пільо, В.С. Броварець. 7-Піперазин-1-іл[1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідини як нові антиракові агенти. III Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи», 17 квітня 2019 року, Житомир, 2019. С. 316-318.
18. Ye. Velihina, D. Bondar, M. Kachaeva, S. Pil'o, Y. Karpichev, V. Brovarets. Scaffold Hopping Approach for Designing New 7-Piperazin and 7-(1,4-Diazepan)-substituted [1,3]Oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines as Prospective Anticancer Agents. 10th International Conference Kiev-Toulouse, June 3-5, Toulouse, France 2019. P. 27.
19. Ye. Velihina, M. Kachaeva, S. Pil'o, V. Zyabrev, Ye. Karpichev, V. Brovarets. Synthesis, Characterization, and *In vitro* Antiviral and Anticancer Evaluation of a Series of New 2-(Dichloromethyl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines. 10th International Conference Kiev-Toulouse, June 3-5, Toulouse, France, 2019. P. 25.
20. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В.С. Броварець. Синтез нових 7-заміщених [1,3]оксазоло[4,5-*d*]піримідинів, які містять фрагменти природнього походження». Ювілейна XXV Українська конференція з органічної та біоорганічної хімії, присвячена 80-річчю ІОХ НАН України та 30-річчю ІБОНХ ім. В.П. Кухаря НАН України, 16-20 вересня 2019 року, Луцьк, 2019. С. 113.
21. E.S. Veligina, N.V. Obernikhina, O.D. Kachkovsky, V.S. Brovarets. Energy of the Rotation Barriers Phenyl Substituents in Pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazines as a Factor the Stabilization of [Pharmacofore-Biomolecule] Complex. 12th International Conference «Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials», June 1-5, Kamianets-Podilskyi, 2020. С. 26.
22. Є.С. Велігіна, М.В. Качаєва, С.Г. Пільо, В. В. Жирнов, В.С. Броварець. Розробка, синтез та *in vitro* противірусний скринінг похідних оксазоло-[4,5-*d*]піримідину. XXXV Наукова конференція з біоорганічної хімії та нафтохімії, 17-18 червня 2021 року, Київ, 2021.
23. Ye. Velihina, M. Kachaeva, S. Pilyo, V. Brovarets. Synthesis and anticancer activity of new 4-(2-(dichloromethyl)-pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-yl)-*N*-

alkylbenzenesulfonamide. XVIII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021» присвячена 360-річчю Львівського Університету, 31 травня – 2 червня 2021 року, Львів, 2021. С. 368.

24. Є. Велігіна, В. Жирнов, В. Зябрєв, В. Броварець. Синтез та властивості нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів. Всеукраїнська конференція наукових дослідників, 19 – 25 вересня 2021 року, Львів, 2021. С. 31.

Рецензенти рекомендують: Прийняти дисертацію Велігіної Є.С. на тему: «Синтез та властивості нових оксазоло[4,5-*d*]піримідинів та піразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинів» до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 10 «Природничі науки» за спеціальністю 102 Хімія.

Рецензенти:

Доктор хімічних наук,
старший науковий співробітник,
завідувач відділу хімії природних сполук
Інституту біоорганічної хімії та
нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України

Олег СМОЛІЙ

Кандидат хімічних наук,
старший науковий співробітник
відділу хімії біоактивних азотовмісних
гетероцикліческих основ
Інституту біоорганічної хімії та
нафтохімії ім. В.П. Кухаря
НАН України

Олександр ГОЛОВЧЕНКО

