

Міністерство освіти і науки України
Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя
Навчально-науковий інститут природничо-математичних,
медико-біологічних наук та інформаційних технологій
Кафедра хімії та фармації

Кваліфікаційна робота
на здобуття освітнього ступеня магістр
"Пошук потенційних протигрибкових засобів серед похідних
8-гідроксихіноліну"

Студентки 4 курсу

Галузь знань: 22 Охорона здоров'я

Спеціальність: 226 Фармація,
промислова фармація

Стрельнікова Леся Валеріївна

Керівник: канд. хім. наук, доцент

Циганков Сергій Андрійович

Підпис наукового керівника:

Національна шкала _____

Кількість балів: _____

Оцінка: ECTS _____

Голова комісії _____

Члени комісії

Зміст

Вступ.....	3
РОЗДІЛ 1. БУДОВА ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ 8-ГІДРОКСИХІНОЛІНУ	
1.1 Загальна характеристика 8-гідроксихіноліну	6
1.2. Фармакологічна активність похідних 8-гідроксихіноліну	10
1.2.1 Протівірусна активність	11
1.2.2. Антибактеріальна активність.....	12
1.2.3. Протигрибкова активність	17
1.3 Заключення. Постановка задачі.....	20
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	
2.1. Матеріали.....	22
2.2. Хімічний аналіз	22
2.3. Характеристика об'єкту дослідження	23
2.4. Комп'ютерне моделювання біологічної активності.....	24
2.5. Дослідження антибактеріальної активності	25
2.6. Дослідження протигрибкової активності	25
РОЗДІЛ III. СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 8-ГІДРОКСИХІНОЛІНУ	
3.1. Синтез похідних 8-гідроксихіноліну.....	26
3.2. Дослідження протівірусної активності похідних 8-гідроксихіноліну.....	31
3.3. Дослідження антимікробної активності похідних 8-гідроксихіноліну	32
3.4. Дослідження протигрибкової активності похідних 8-гідроксихіноліну ..	33
ВИСНОВКИ.....	35
ПЕРЕЛІК ІНФОРМАЦІЙНИХ ДЖЕРЕЛ	36

Вступ

Актуальність теми. 8-Гідроксихінолін привернув увагу науковців завдяки своїм унікальним фізичним і хімічним властивостям. Інтерес до цієї сполуки та її похідних значно зріс за останні три десятиліття [1]. 8-Гідроксихінолін та багато його похідних мають широкий спектр біологічних активностей, наприклад, хелати феруму відомі як нейропротектори, протипухлинні агенти, інгібітори 2OG-залежних ферментів, хелати металопротеїнів, агенти щодо ВІЛ, протигрибкові засоби, антилейшманіозні, антишистосомні агенти, інгібітори мікобактерій туберкульозу, інгібітори ботулінічного нейротоксину тощо [2–12]. Крім того, ці сполуки використовують як носії електронів в органічних світлодіодах (OLED) і як флуоресцентні хемосенсиори для іонів металів [13, 14]. Похідні 8-гідроксихіноліну, наприклад, 8-гідрокси-5-хінолінсульфонова кислота, показала високу протигрибкову активність. Стійкість грибків до протигрибкових препаратів є проблемою останніх років і має серйозні наслідки для охорони здоров'я в усьому світі. Тому, розробка нових препаратів, методів лікування та стратегій боротьби з інфекціями, спричиненими резистентними організмами є актуальною проблемою сьогодення.

З наведеного вище стає очевидним, що пошук нових ефективних сполук, що виявляють біологічну активність (протибактеріальну, протівірусну, протигрибкову тощо) серед похідних 8-гідроксихіноліну, набув великого значення [15].

Мета роботи: синтез та дослідження протигрибкової активності похідних 8-гідроксихіноліну.

Завдання дослідження:

- провести аналіз наукової літератури стосовно синтезу та протигрибкової активності похідних 8-гідроксихіноліну;
- провести синтез та дослідження протигрибкової ефективності синтезованих сполук;

- проаналізувати одержані результати щодо протигрибкової ефективності синтезованих сполук;
- запропонувати підходи оптимізації знайденої структури-лідера для поліпшення протигрибкової активності.

Об’єкт дослідження: похідні 8-гідроксихіноліну.

Предмет дослідження: синтез та протигрибкова активність похідних 8-гідроксихіноліну.

Наукова новизна одержаних результатів. Синтезовано нові похідні 8-гідроксихіноліну. Підтверджено їх будову за допомогою ПМР-спектроскопії та елементним аналізом. Первинну оцінку противірусної та протигрибкової активності нових похідних 8-гідроксихіноліну змодельовано *in silico*.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані результати підтверджують протигрибкову активність нових похідних 8-гідроксихіноліну та свідчать про доцільність подальших досліджень у цьому напрямку з метою пошуку нових протигрибкових лікарських засобів.

Особистий внесок дослідника. Здобувачкою проведено огляд наукової літератури, виконано експериментальну частину роботи на базі відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» та на кафедрі хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя. Молекулярній докінг проведено Dr. Candida Manelfi (Computational Chemist – R&D Platforms & Services). Ідея розробки належить науковому керівнику. Обговорення результатів дослідження, формування структури роботи, формулювання висновків проводились сумісно з керівником.

Апробація результатів досліджень. Результати досліджень апробовано на IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (19 травня 2022 р., Харків) та II Міжнародній науково-практичній конференції «Фундаментальні та прикладні

дослідження у галузі фармацевтичної технології» (13 жовтня 2022 р., Харків) [16, 17].

Публікації. За матеріалами магістерського дослідження опубліковано 2 тез доповідей.

Структура і обсяг роботи. Кваліфікаційна робота складається із вступу, огляду літературних джерел, матеріалів і методів досліджень, експериментальної частин, що включає виклад отриманих результатів та їх обговорення, висновків і списку використаних джерел, до складу якого входить 71 найменувань.

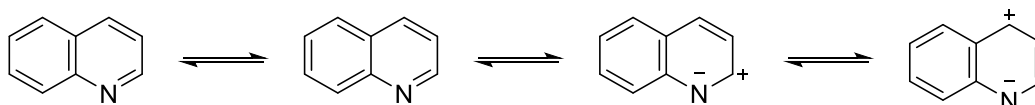
Кваліфікаційна робота налічує 43 сторінок друкованого тексту, проілюстрована 5 таблицями.

РОЗДІЛ 1. БУДОВА ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ 8-ГІДРОКСИХІНОЛІНУ

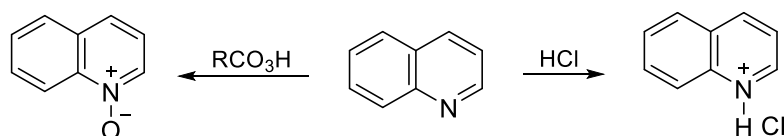
1.1 Загальна характеристика 8-гідроксихіноліну

8-Гідроксихінолін (8-HQ або 8HQ) - сполука, що належить до класу хінолінів [18], має ароматичну структуру та містить біля С-8 хінолінового ядра ОН-групу [19]. Хінолін – 1-азанафталін – є предметом досліджень з моменту його відкриття в кам'яновугільній смолі. Пізніше їх гетероциклічні системи виявлено в багатьох природних продуктах – продукт піролітичної деградації алкалоїду цинхонаміну. На сьогодні хіноліни є сполуками-лідерами у багатьох фармацевтичних препаратах, відомих під назвою «хінолони» [20].

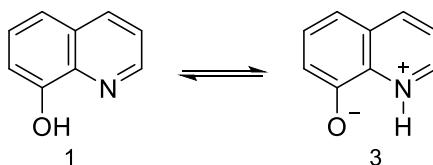
Хінолін зв'язаний з піридином подібно системі нафталін-бенезен, тобто вони являють собою 10-електронні ароматичні системи. На відміну від системи нафталін-бенезен, гетероциклічне кільце сильно поляризоване [21].



Кожне з бензольних кілець і піридинових кілець хіноліну демонструє реакційну здатність, типову для цих моноциклічних систем, але в деяких випадках модифіковану наявністю іншого кільця. Таким чином, у процесах, подібних до піридинових, електрофіли приєднуються до гетероциклічного азоту – реакція з кислотами або електрофільними галогенідами дає хінолінієві та ізохінолінієві солі, або з надкислотами N-оксиди.



Хінолін використовується як проміжний продукт у виробництві 8-гідроксихіноліну. Похідні 8-гідроксихіноліну є важливою групою сполук з багатою та різноманітною біологічною активністю [22]. Як і інші гідроксихіноліни, 8-HQ утворює рівноважну суміш гідроксильної форми 1 і N-протонованої цвіттерійної форми 2, як показано на [23].



У цьому відношенні піридинове кільце зберігає властивості електронно-дефіцитної структури з основним атомом Нітрогену. Крім того, присутність фенольної ОН-групи обумовлює типові фенольні властивості 8-гідроксихіноліну – фіолетове забарвлення з FeCl_3 , кон'югація із катіонами діазонію, реакція Реймера-Тімана і Бюхерера, перегрупування Фріса ацетатного естеру алюміній(III) хлоридом з утворенням ацетилового похідного тощо [24]. Усе перелічене свідчить про здатність 8-НҚ вступати у численні хімічні реакції і утворювати різні структурні модифікації, а саме: електрофільне заміщення у ароматичному ядрі, зв'язування діазонію, молекулярні перегрупування тощо [25].

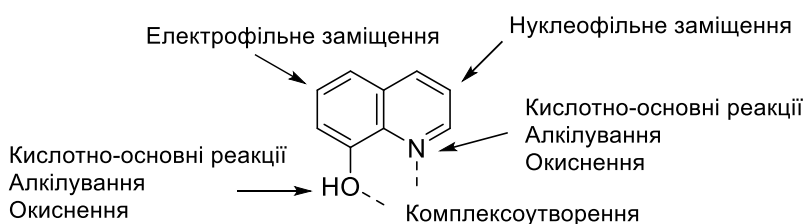
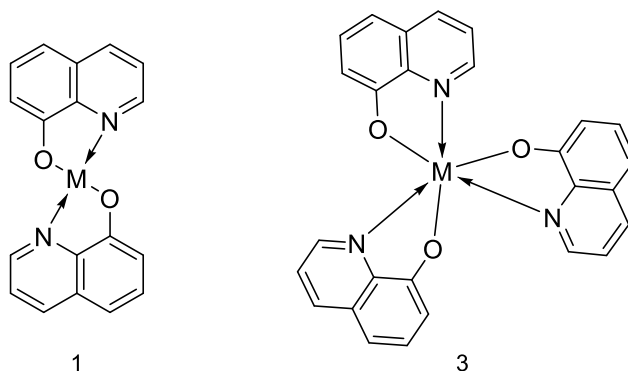


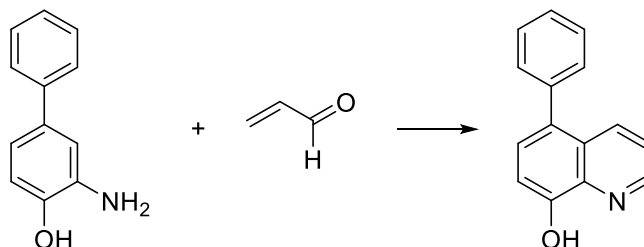
Рис.1.1. Місця реакції 8-гідроксихіноліну 1

Близьке розташування ОН- групи до гетероциклічного атому Нітрогену дозволяє 8-гідроксихінолінам вступати у реакцію комплексоутворення, тобто виступати у ролі бідентатних хелатуючих агентів, з утворенням чотири- та шестиковалентних комплексів з наступними катіонами металів Mg^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Bi^{3+} , Fe^{3+} тощо [26].

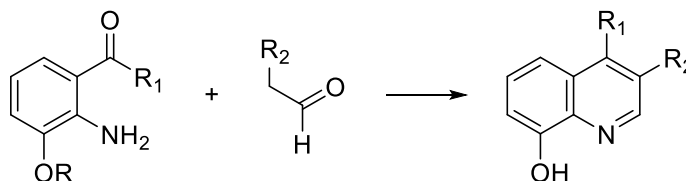


8-Гідроксихінолін та його похідні синтезують за наступними основними методами:

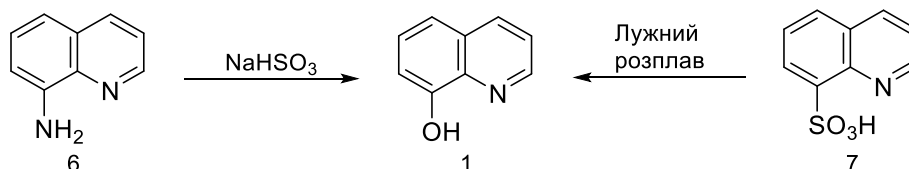
- згідно методів Скраупор-Фрідлендера [27] – легкодоступні заміщені ароматичні аміни реагують з α,β -ненасиченим альдегідом:



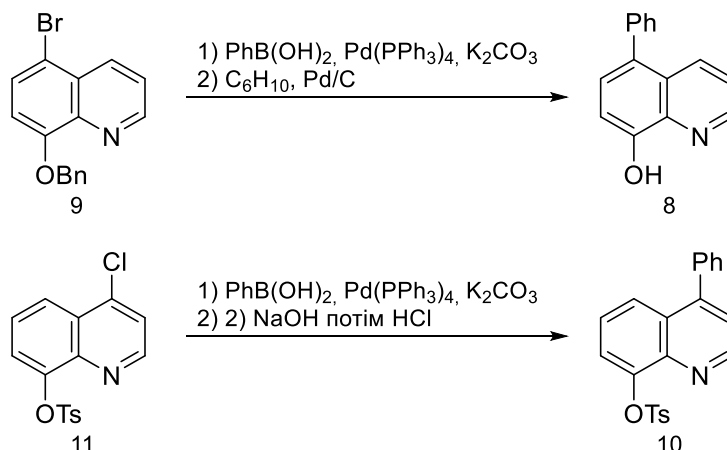
у другому способі похідні 8-HQ одержують шляхом конденсації заміщеного *o*-амінобензальдегіду або *o*-аміноацетофенону з відповідним альдегідом або кетоном:



- 8-HQ і похідні можуть бути синтезовані діазотуванням 8-амінохіноліну **6** або з 8-сульфо кислоти **7** лужним синтезом [28].



- Найбільш застосовний метод – реакція перехресного сполучення Сузукі, у якій новий замісник вводиться в положення 5 або в положеннях 5 і 7 фрагмента 8-HQ.



Вихідною сполукою при синтезі 5-арил-8-гідроксихіноліну **8** є 5-бром-8-НҚ **9**, який вимагає захисту групи 8-ОН перед реакцією Сузукі. Зазвичай, як захисну групу, використовують є бензильну групу, яку, згодом, легко видалити каталітичним переносом водню з циклогекса-1,4-дієну [29]. З іншого боку, синтез 5,7-дизаміщеного 8-НҚ починають з 5,7-дибром-8-НҚ [30]. Крім того, 4-арил-8-НҚ **10** можна одержати із 4-хлор-8-тозиліоксихіноліну **11** згідно вище описаного методу з іншим способом зняття захисту [31].

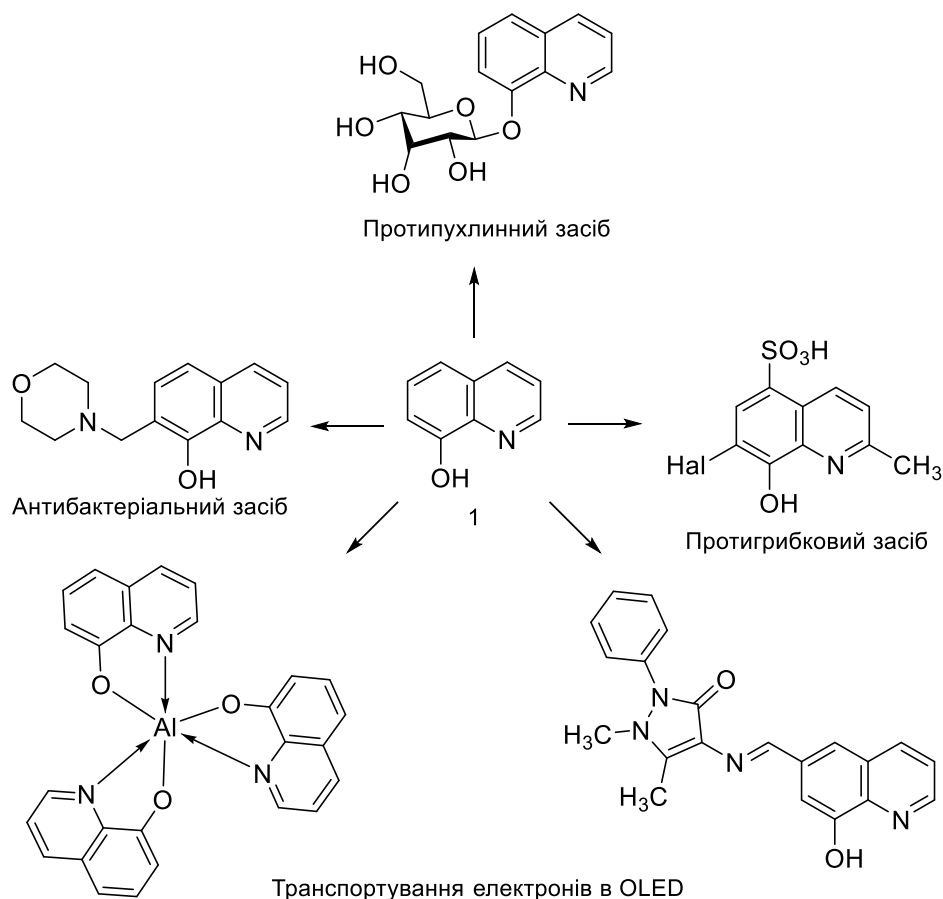
Крім перерахованих методів, існують і інші способи одержання 8-гідроксихінолінів:

- 1) реакція галогеніду ацилу (наприклад, хлориду ацилу) з хіноліном у присутності лужного каталізатора. Ця реакція призводить до заміщення ацильної групи (C=O) на молекулі хіноліну гідроксильною групою (ОН), утворюючи 8-гідроксихінолін.
- 2) каталітичне окиснення хіноліну різними окисниками, наприклад H_2O_2 або NH_4ClO_4 , за участю каталізатору.
- 3) антрахінон, який є ароматичним кетоном, піддається реакції з гідроксиламіном у присутності каталізатора, такого як сірчана кислота або кислота Перрінова. Ця реакція призводить до заміщення кетонної групи в молекулі антрахінону гідроксильною групою, формуючи 8-гідроксихінолін.
- 4) метод включає реакцію 2-метилхіноліну з хлоридом формілу (метаналь) у присутності основи, такої як піридин або триетиламін. Результатом цієї реакції є заміщення метилової групи на молекулі 2-метилхіноліну гідроксильною групою, утворюючи 8-гідроксихінолін.

Ці методи використовуються в хімічних синтезах для одержання 8-гідроксихіноліну. Вибір конкретного методу може залежати від наявності вихідних матеріалів, доступності каталізаторів та інших умов синтезу.

1.2. Фармакологічна активність похідних 8-гідроксихіноліну

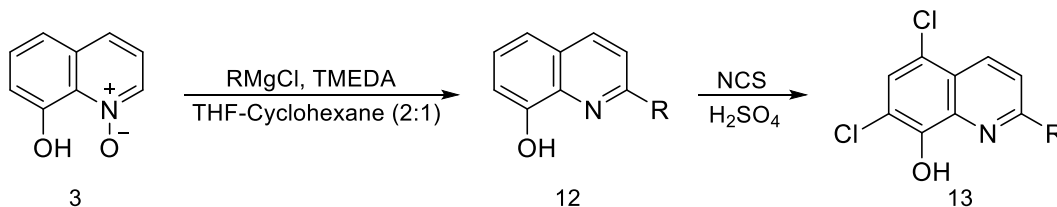
Враховуючи будову та хімічні властивості 8-HQ та його похідних дозволяє 8-гідроксихіноліну виявляти широкий спектр активностей та властивостей. 8-Гідроксихінолін та його похідні знаходять застосування в медицині, при виробництві OLED, сільському господарстві, у хемосенсорах, при добуванні металів тощо [32].



Відмітимо, що похідні 8-гідроксихіноліну мають широкий спектр біологічної активності щодо мікроорганізмів, грибів, паразитів тощо. Він знайшов застосування як активний інгредієнт у антисептичних засобах для зовнішнього застосування, таких як креми, мазі та розчини для лікування різних шкірних інфекцій; як компонент при виготовленні антигрибкових та протизапальних засобів [33].

1.2.1 Протівірусна активність

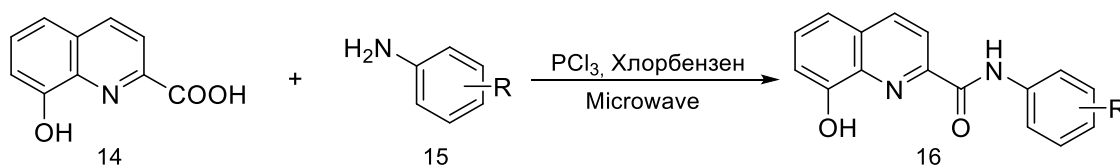
Авторами [34] показано протівірусну активність нових похідних 2-алкіл-8-гідроксихіноліну **12** (R = *i*-Pr та *i*-Bu). Подальше хлорування **12** одержано N-хлорсукцинімід (NCS) у кислому середовищі дає відповідний 2-алкіл-5,7-дихлор-8-гідроксихінолін **13**.



R = *iso*-Pr (**13a**); R = *iso*-Bu (**13b**)

Протівірусну активність нових похідних 8-гідроксихіноліну **13** оцінено *in vitro* щодо вірусу DENV2. Обидва виявили значну інгібіторну дію проти вірусу: **13a** показала IC₅₀ = 3,03 мкМ, CC₅₀ = 16,06 мкМ та SI = 5,30; **13b** показала IC₅₀ = 0,49 мкМ, CC₅₀ = 19,39 мкМ та SI = 39,5. Досліджено [34] механізм дії і встановлено, що **13a,b** діють на ранній стадії життєвого циклу вірусу, зменшуючи внутрішньоклітинне продукування глікопротеїну оболонки.

У роботі [35] описано синтез моно-, ди- та тризаміщених 8-гідроксихінолін-2-карбоксамідів **16** конденсацією 8-гідроксихінолін-2-карбоної кислоти **14** із заміщеним аніліном **15** у присутності PCl₃ з виходом 61–79%.



Моно-, ди- та трипохідні, де R = H, CH₃, OCH₃, F, Cl, Br, CF₃ і NO₂.

Сполуки **16** піддали скринінгу біологічної активності щодо вірусів пташиного грипу H5N1 та спрогнозовано їх ліпофільність log k методом RP-HPLC. Аналіз результатів свідчить, що більшість монозаміщених похідних не виявляли протівірусної дії, а ди- та тризаміщені похідні **16** (R = 3,4-Cl, 3,4,5-Cl, 3-Cl-2-F і 2,4-NO₂) показали краще пригнічення росту H5N1 і одночасно низьку цитотоксичність. Наприклад, 3-Cl-2-F і 3,4,5-Cl мають значення

пригнічення росту вірусу 91,2 і 9,7% і цитотоксичність 79,3 і 2,4% відповідно; значення $\log k$ для них становили 1,44 і 1,26 відповідно [35].

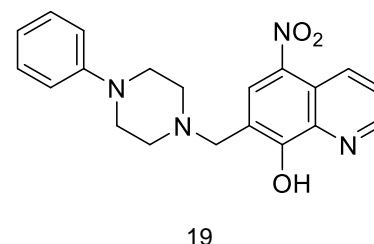
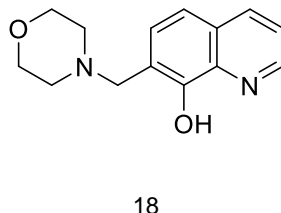
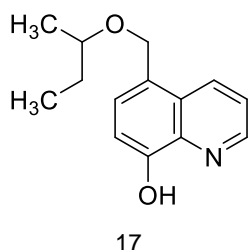
1.2.2. Антибактеріальна активність

Антибактеріальна активність 8-гідроксихіноліну та його похідних відома давно. Препарати цієї групи використовуються як хіміопрепарати в медицині більше 120 років. Насьогодні ідентифіковано більше 200 похідних 8HQ, які виявляють інгібуючий щодо туберкульозу [36]. Результати досліджень показали, що сам 8-HQ виявляв найпотужнішу активність щодо туберкульозу серед інших сполук у своєму класі [37]. 8-Гідроксихінолін може знищувати як реплікаційний, так і нереплікуючий туберкульоз *in vitro*. Нереплікуючий *M. tuberculosis* толерантний до більшості протитуберкульозних препаратів, ніж реплікуючий тип, і потребує більш тривалого лікування [38]. Механізм дії 8HQ повністю не з'ясований, але його бідентатна хелатна властивість, ймовірно, не є основним механізмом. Це підтверджено значенням мінімальної інгібуючої концентрації (МІС), яка не змінювалося додаванням катіонів Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} або Ni^{2+} . Таким чином, можливо 8-гідроксихінолін взаємодіє із кількома мішенями, щоб уникнути резистентності щодо туберкульозу [38].

Авторами [37] синтезовано серію змішаних лігандних комплексів металів з використанням CQ і 1,10-фенантроліну як лігандів для координації з йонами перехідних металів, які були перевірені на протитуберкульозну та протигрибкову активність. Виявлено, що комплекс Mn(II) є більш активним щодо туберкульозу (MTCC200) ніж рифампіцин зі значеннями МІС 45 мкг/мл та 40 мкг/мл відповідно, тоді як комплекс Co(II) показав більшу активність з МІС, що у 6,4 рази менша за рифампіцин.

Було показано, що деякі похідні 8-HQ виявляють вищу біологічну активність, ніж сам 8-гідроксихінолін. У цьому відношенні 8-гідроксихінолін **1** виявляє бактерицидну активність щодо нерозмножуваних і розмножуваних *M. tuberculosis* і *S. aureus* [39, 40]. Крім того, 5-алкоксиметил-8-хінолінол **17**, виявляє більшу активність щодо штамів бактерій і грибків, ніж **1**, але меншу

ніж стандартні препарати [41]. Заміщення фенільних кілець не має суттєвого впливу на фунгіцидну активність. Іншим похідним **1**, яке виявляє антимікробну активність, є 7-морфолінометил-8-гідроксихінолін **18**.



Так, у дослідженні [42] встановлено, що **18** є більш активною щодо грампозитивних, ніж грамнегативних бактерій, і її активність корелює з хелатами феруму. З цієї причини комплекс **18** з Fe^{3+} , у співвідношенні 2:1, виявив більшу активність щодо *M. flavus* (MIC 3,9 мкг/мл), ніж вільний **18**. Сполука **19** виявляє активність щодо *Y. pseudo tuberculosis* та *C. trachomatis* у моделях клітинної інфекції [43].

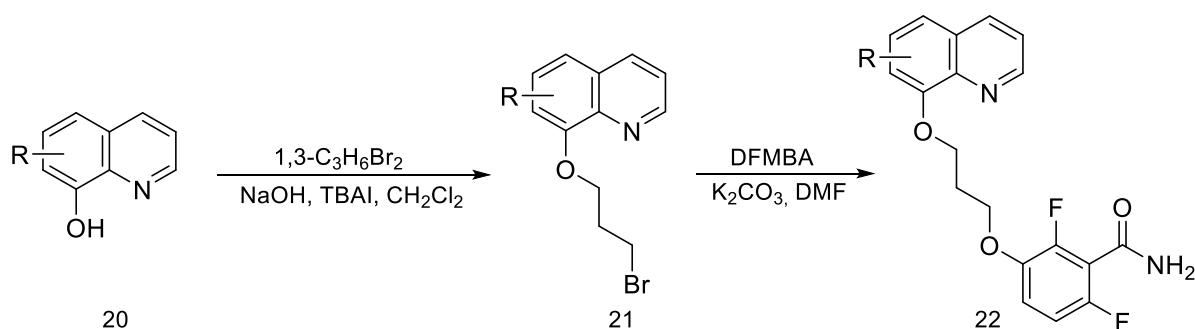
Авторами [44] досліджено антимікробну дію хіноліну та його похідних (2-гідроксихінолін, 4-гідроксихінолін і 6-гідроксихінолін, а також 2-метил-8-гідроксихінолін) щодо *B. longum*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *E. coli*, *L. acidophilus* і *L. casei*. Результати методу дифузії на паперовому диску в агарі показали, що сполуки з ОН-групою в положенні С-8 показали краще інгібування *E. coli*, *C. difficile* і *C. perfringens*. Результати SAR показали, що різні положення ОН-групи, але не CH_3 -групи в хіноліновому кільці, виявляють інгібуючу активність щодо бактерій. З іншого боку, 2-HQ, 4-HQ і 6-HQ не виявили інгібуючої дії щодо досліджених бактерій [44].

У роботі [45] досліджено пригнічення росту *S. aureus*, включаючи метицилінрезистентний *S. aureus* (MRSA), чутливий до метициліну *S. aureus* і ванкоміцин-проміжний *S. aureus*, 0,5%- розчином 8-гідроксихіноліну (MIC 0,25%), що становить 12,5 мкг/мл концентрації активного інгредієнта при рН 9,2. Зниження рН спричинило зниження його ефективності: при рН = 7,5 дає 4-кратне зниження, при рН = 5,5 – 8-кратне [45., 46].

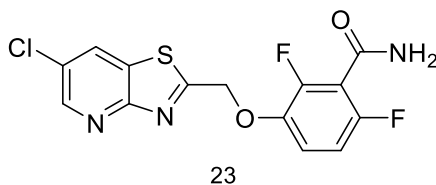
Ефективність 8-гідроксихіноліну щодо інгібування *S. aureus* залежить від його хелатної здатності та посилюється в присутності катіонів Cu^{2+} .

Дослідження QSAR, проведене на заміщених похідних 8-гідроксихіноліну, дозволило розрахувати тривимірні дескриптори, а саме: молекулярна рефракція (MR), коефіцієнт розподілу (logP), повна енергія (E), стандартна вільна енергія Гіббса (G), LUMO, HOMO, повна молекулярна енергія, індекс Віна (WInd), індекс Балабана (BInd) і ClogP, які дозволили розробити моделі з високим ступенем прогнозування [3].

Авторами [47] одержано нові похідні 2,6-дифтор-3-гідроксибензаміду (DFMBA). Алкілуванням **20** 1,3-дибромпропаном у присутності водного розчину NaOH та TBAI у дихлорметані одержано проміжний продукт **21**. Цільовий продукт **22** синтезовано алкілуванням **21** DFMBA.



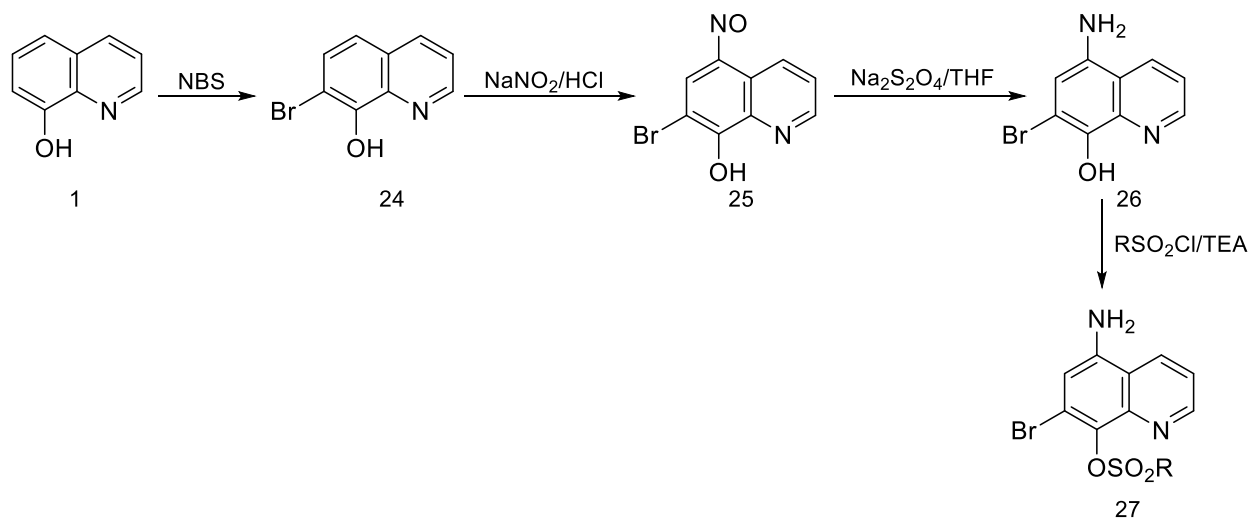
де, R = H (**22a**); R = 2-CH₃ (**22b**); R = 5-Cl (**22c**); R = 5,7-Cl (**22d**).



Антибактеріальну активність **22a-d** оцінено проти грамположитивних і грамнегативних бактерій тестом зони інгібування. Як контроль використано стандартний антибіотик PC190723 **23**, що інгібує поділ клітин та діє на білок поділу клітин (FtsZ) у грамположитивних бактерій. Аналіз результатів показав нижчу бактеріальну активність сполук **22a-d**, ніж у **23**. Найвищі результати співвідношення зон інгібування досліджуванa сполука/контроль щодо *S. aureus* становив 0,25 і 0,18 для **22c** і **22d** відповідно [47].

Авторами [48] багатоступінчастим синтезом одержано ряд нових похідних 5-аміно-7-бромхінолін-8-ісульфонатів **27a-c** з гарним виходом. Бромуюванням **1** N-бромсукцинімідом (NBS) у хлороформі одержано 7-бромхінолін-8-ол **24**, який

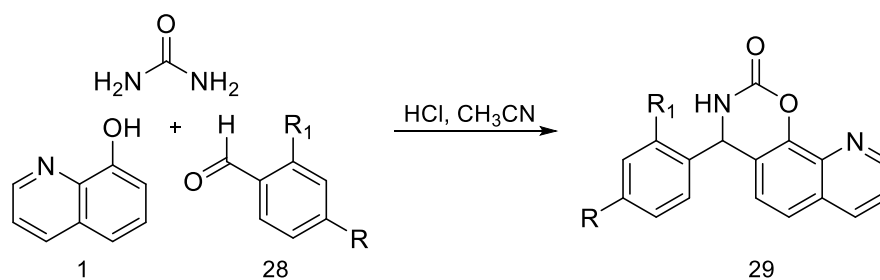
обробкою NaNO_2/HCl з наступним відновленням **25** $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ у THF і воді дає 5-аміно-7-бромхінолін-8-ол **26**. Цільові похідні **27a-c** отримано з **26** реакцією з сульфонілхлоридами у сухому ТГФ у присутності ТЕА.



R: CF_3 (**27a**); біфеніл (**27b**); 4-FPh (**27c**); 2-ОН-5- NO_2 Ph (**27d**); 4- CH_3 Ph (**27e**).

Похідні **27a-c** протестовані щодо грампозитивних *S. aureus* і *B. megaterium*, грамнегативних *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa*, а також проти грамнегативних, стійких штамів до антибіотиків, *E. coli* (стійкий щодо стрептоміцину) та *E. coli* (стійкий щодо рифампіну). Як контроль використано амоксиклав (Ac). Встановлено, що серед синтезованих сполук високу активність виявили похідні, що містять арильну групу. Наприклад, **27b** виявила активність щодо *S. aureus* із зоною інгібування 22 мм порівняно з амоксиклавом – 24 мм. Похідні **27c** і **27d** виявляли потужну активність щодо *P. aeruginosa* із зонами інгібування 22 мм і 23 мм відповідно, порівняно із контролем – 24 мм, тоді як **27e** – активний щодо *K. pneumoniae* із зоною інгібування 25 мм порівняно із контролем – 27 мм [48].

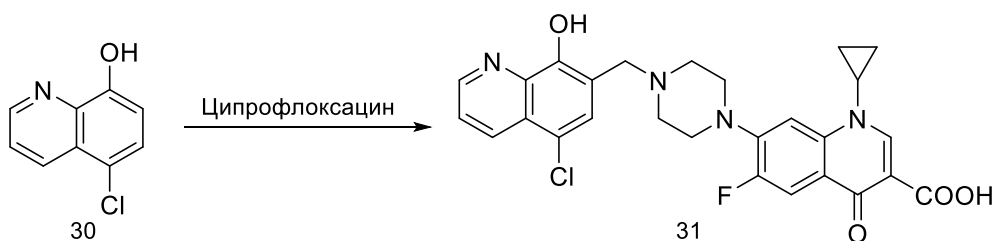
У дослідженні [49] описано синтез нових похідних 4-арил-3,4-дигідро-2H-[1,3]оксазино[5,6-h]хінолін-2-он **29** з виходом 65–90%. Кип'ятіння із зворотним холодильником суміші стехіометричних кількостей **1**, пара-алкілбензальдегіду **28** і сечовини в кислих умовах (37% HCl) дає **29**.



R = NO₂, R' = H (**29a**); R = R' = H (**29b**); R = H, R' = Cl (**29c**).

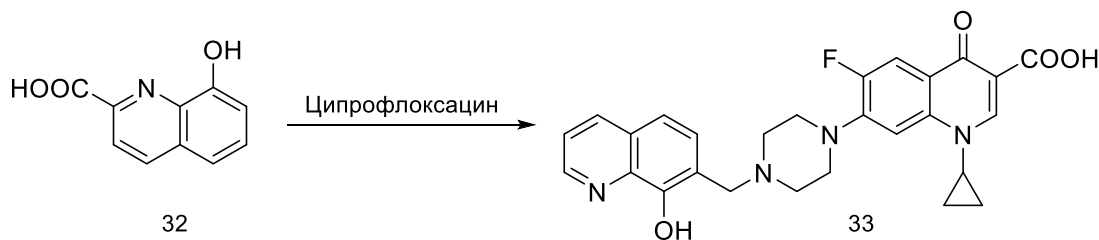
Ці сполуки протестовано як антибактеріальні засоби щодо штамів *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* і *A. baumannii*. Як контроль використано стандартні антибіотики – пеніцилін G, норфлоксацин та еритроміцин. Сполука **29a** показала вищу активність, ніж стандартні препарати, щодо *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *E. coli*, *E. cloacae* зі значеннями мінімальної інгібуючої концентрації (MIC) 1×10^{-6} , 1×10^{-5} , 1×10^{-5} , 1×10^{-4} і 1×10^{-4} мг/мл відповідно, тоді як MIC для контролю становила 1×10^{-4} . Похідні з **29b** і **29c** показали подібну активність щодо *S. aureus*, зі значеннями MIC 1×10^{-4} [49].

Авторами [50] досліджено взаємодію 5-хлор-8-гідроксихіноліну **30** з ципрофлоксацином за реакцією Манніха у присутності параформальдегіду в етанолі та оцінено антибактеріальну активність одержаного продукту **31**.



Сполуку **31** досліджено на активність щодо грампозитивних та грамнегативних штамів *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis* і *E. faecium*. Як контроль використано ципрофлоксацин. Результати показали, що **31** є перспективним щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій (MIC 4–16 мкг/мл), але вони нижчі ніж у контролю (0,125–0,5 мкг/мл). Але, згідно припущення авторів [50], введення хінолонового скелета є перспективним способом модифікації цих сполук для отримання нових антибактеріальних агентів широкого спектру.

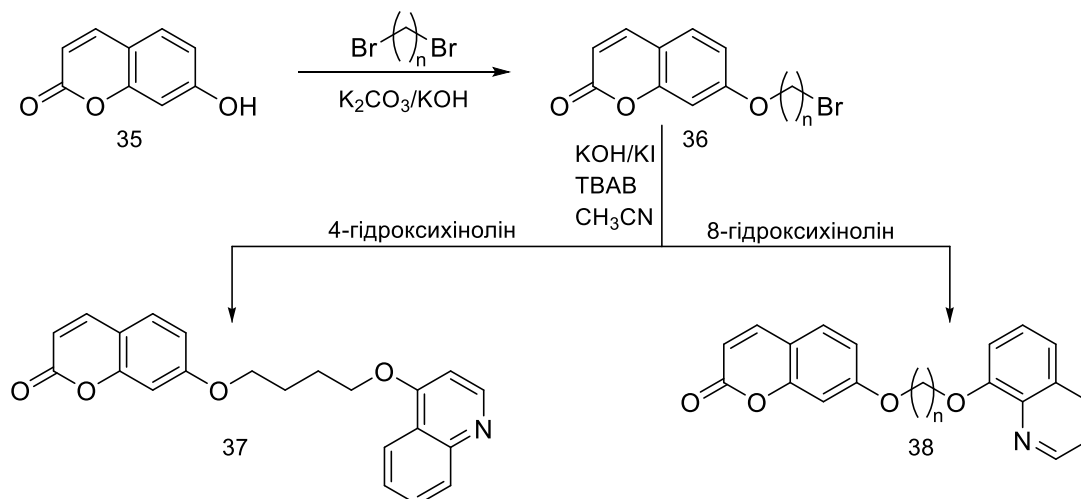
Шляхом сполучення **32** з ципрофлоксацином за допомогою ТВТУ і ДІЕА отримано **33** з виходом 96% [51].



Сполуку **33** перевірено антибактеріальну активність щодо грамнегативних і грампозитивних бактерій *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* та види *Enterobacter*. Результати показали, що **33** виявляє високу активність (МІС) щодо *S. aureus* ніж контроль (ципрофлоксацин) – 0,0625 та 0,125 мг/мл відповідно. Проте **33** є менш активним щодо решти патогенів порівняно із контролем [51].

1.2.3. Протигрибкова активність

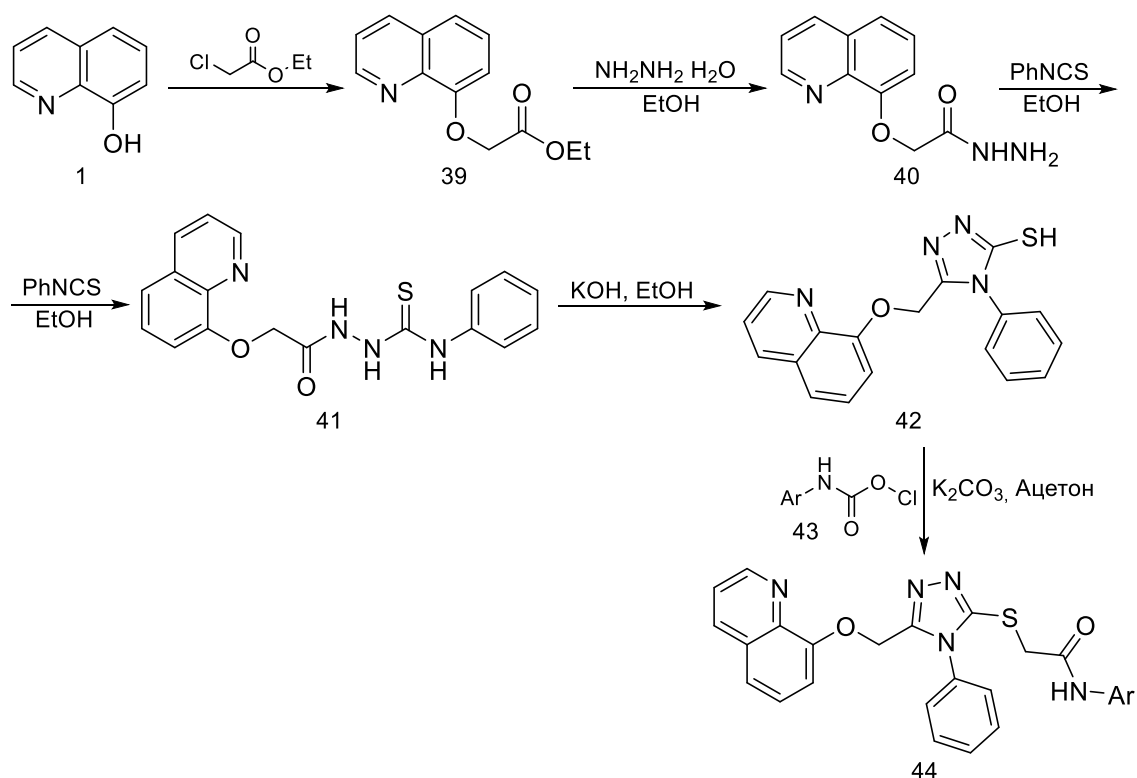
Для дослідження антифунгальної активності, авторами [52] синтезовано кон'югати **36** 7-гідроксикумарину **35** з 4- та 8-гідроксихінолінами **37** та **38** відповідно. 7-Гідроксикумарин **35**, кип'ятінням в ацетоні у присутності K_2CO_3 – $NaOH$ (2:1), алкілували надлишком $Br-(CH_2)_n-Br$ ($n = 2,4$). Бромалкільовані кумарини **36**, кип'ятінням у середовищі ацетонітрилу, реагують з 4- і 8-гідроксихіноліном, у присутності 1 еквівалента KOH і каталітичних кількостей KI і ТВАВ, як катализатору міжфазного перенесення, дають **37** та **38** з виходом 80%.



$n = 2$ (**37a**); $n = 4$ (**37b**); $n = 2$ (**38a**); $n = 4$ (**38b**).

Противгрибкову активність **37** та **38** досліджено щодо *A. alternate*, *A. solani*, *B. cinerea* та *F. oxysporum*. Оцінювання проведено шляхом вимірювання інгібування міцелієм радіального росту на середовищі PDA у порівнянні з комерційний фунгіцидом карбендазімом. Відсоток інгібування радіального росту щодо всіх грибів для **38a**, **38b** і **37b** становив 49–63, 57–90 і 18–41% відповідно порівняно з карбендазімом (95–99%) при концентрації 200 мкг/мл. При тестуванні цих похідних у серії нижчих концентрацій для вимірювання напівмаксимальної ефективної концентрації (мкг/мл), **38b** показав найвищу активність відносно препарату порівняння при 10,6 і 2,3 відповідно. Аналіз одержаних результатів свідчив, що похідні **38** виявляють кращу противгрибкову активність ніж **37**, оскільки довжина ланцюга сприяє активності, впливаючи на гнучкість молекул. Крім того, на активність впливає і положення ОН-групи: похідні з ОН у положенні 8 є більш активні, ніж похідні з ОН у положенні 4 [52].

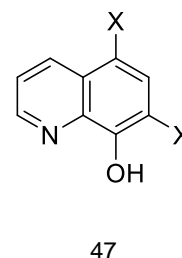
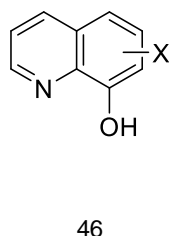
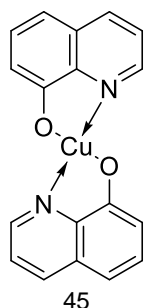
Авторами [53] синтезовано нові 3,4,5-тризаміщених похідних триазолу, що містять 8-гідроксихінолін **1**. Синтез здійснено взаємодією **1** з етил-2-хлорацетатом кип'ятінням в ацетоні у присутності основи. Обробкою естеру **39** гідразингідратом в етанолі одержано **40**, який взаємодіє із фенілізоціанатом і дає тіосечовину **41**. Кип'ятінням в етанолі, з додаванням КОН, призводить до замикання циклу з утворенням 3-меркапто-1,2,4-тріазолу **42**. Реакція останнього з 2-хлор-N-(заміщеним(бензо)/тіазол)ацетамідом **43** дає **44**.



де, Ar – тiazол, бензtiazол.

Сполуки **44** протестовано щодо *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* і *C. krusei*. Як контроль використано флуконазол. Результати показали, що **44** показали низьку активність щодо грибів (величини MIC = 31,25–1000 мг/мл), тоді як контроль мав значення MIC = 1,95–62,5 мг/мл проти усіх досліджених видів *Candida* [53].

Металохелат купруму **45**, який широко використовують як фунгіцид у багатьох країнах для боротьби з хворобами парші та чорної плямистості огірка, винограду, воскових яблук, груш, і citrusові [54].

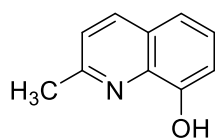


де, X = Cl або Br

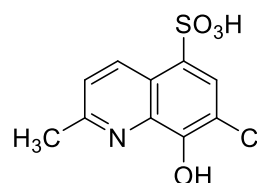
Моно-хлор- та моно-бром-заміщені 8-НҚ у положеннях 2-, 3-, 4-, 5-, 6- та 7 **46** показав протигрибкову активність щодо *A. niger*, *A. oryzae*, *M. verrucaria*, *T.*

viride та *T. mentagrophytes* [55]. 5,7-дихлор- та 5,7-дибромпохідні **47** були найбільш фунгітоксичними з досліджуваних сполук.

Високі інсектицидні ефекти були виявлені для 8-гідрокси-2-метилхіноліну **48** проти *L. striatellus*, *N. talugens* і *S. furcifera*, що свідчить про те, що ці сполуки можуть бути корисними як нові засоби профілактики шкоди, спричиненої широким спектром шкідників у районах вирощування рису [56]. 7-хлор і 7-бром-5-сульфокислоти **49** і 5-хлор- і 5-бром-7-сульфокислоти показали інгібування грибків у межах одного порядку величини, ніж 8-хінолінол. Припускають, що нехелатний механізм частково відповідає за токсичність цих грибів [10].



48



49

де, X = Cl або Br

Механізм дії похідних 8-гідроксихіноліну на клітини грибів недостатньо вивчений. Відомо, що група похідних 8-гідроксихіноліну пригнічує певні ферменти, пов'язані з реплікацією ДНК у вірусів, а 8-гідроксихінолін пригнічує синтез РНК у дріжджів [57–59].

1.3 Заключення. Постановка задачі

Аналіз інформаційних джерел свідчить, що 8-гідроксихінолін виявляє широкий спектр фармакологічної активності, а саме противірусні, протимікробні, антибактеріальні, протигрибкові тощо. Тому розробка нових сучасних лікарських засобів, що містять в якості сполуки-лідера ядро 8-гідроксихіноліну є актуальною проблемою сьогодення. У цьому відношенні ці синтези супроводжуються біологічними дослідженнями, включаючи *in vivo*.

Для досягнення мети кваліфікаційної роботи необхідно вирішити ряд задач, а саме:

- провести синтез та дослідження протигрибкової ефективності синтезованих сполук;

- проаналізувати одержані результати щодо протигрибкової ефективності синтезованих сполук;
- запропонувати підходи оптимізації знайденої структури-лідера для поліпшення протигрибкової активності.

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Матеріали

Досліджувані сполуки, які є похідними 8-гідроксихіноліну, синтезовано у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» під керівництвом д.фарм.н., професора Демченка А.М., а також на кафедрі хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя. Молекулярний докінг (MD) проведено у межах міжнародної співпраці E4C (Exscalate 4CoV) між Інститутом фармакології та токсикології НАМН України та Європейським науковим консорціумом.

Для синтезу нових похідних 8-гідроксихіноліну та дослідження їх властивостей нами використано наступні реактиви:

1. 8-гідроксихінолін;
2. Ацетонітрил;
3. Калій карбонат – ГОСТ10690-73;
4. Ізопропанол – ХЧ;
5. Вода дистильована (H₂O) – за ГОСТ 6709-72;
6. Пропанол – ХЧ;
7. Етанол;
8. Хлорацетамід;
9. N-(4-етилфеніл)-хлорацетамід;
10. N-(3,4-диметоксіфеніл)-хлорацетамід;
11. N,N-дифеніл-хлорацетамід;
12. N-(4-метилбензил)-хлорацетамід;
13. N-(3,4-метилendioксіфеніл)-хлорацетамід;

2.2. Хімічний аналіз

Спектри ПМР одержано на Varian Gemini 300 MHz (Germany) у ДМСO-*d*₆. Як стандарт використано тетраметилсилан (TMS). Хімічні зсуви реєстрували в одиницях на мільйон згідно шкали δ. Для графічної обробки спектрів використано програму – ADVASP analyzer.

Температури плавлення нових похідних 8-гідроксихіноліну визначено на Electrothermal IA 9200.

Структури, назви сполук, теоретичний розрахунок елементного аналізу нових похідних 8-гідроксихіноліну розраховано ChemAxon Marvin Sketch [60].

2.3. Характеристика об'єкту дослідження

Коронавірус важкого гострого респіраторного синдрому 2, SARS-CoV-2 – збудник пневмонії (Coronavirus disease 2019, COVID-19) [61], являє собою одноланцюговий РНК-вірус із родини бета-коронавірусів. Геном вірусу містить декілька рамок зчитування (ORFs), які здатні транслювати поліпротеїни pp1a і pp1ab, що каталізуються 3CLpro (хімотрипсиноподібною протеазою) або Mpro (основною протеазою) і PLpro (папаїноподібною протеазою). Оскільки гомолог 3CLpro для людини відсутній, то враховуючи головну роль 3CLpro у розмноженні вірусу [62], він є провідною мішенню для пошуку противірусних засобів щодо SARS-CoV-2 [63, 64].

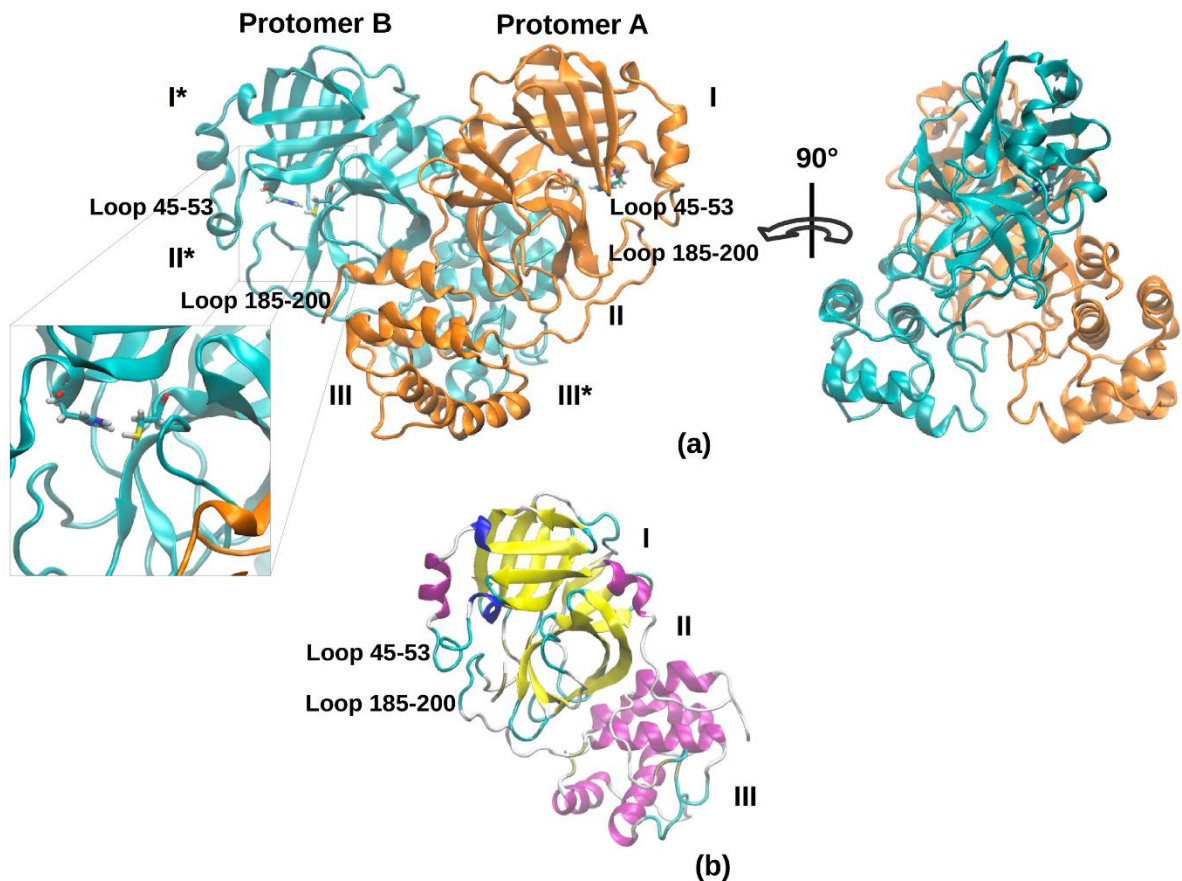


Рис. 2.4. 3D модель структури 3CLpro.

NSP13 – неструктурний білок, геліказа, здатна розкручувати РНК і ДНК, гідролізує всі дезоксирибонуклеотиди та рибонуклеотидитрифосфати тощо.

NSP12 – репліказний поліпротеїн – білок, що виявляє активність щодо транскрипції негативно-ланцюгової РНК, лідерної РНК, субгеномних мРНК та дочірних віріон-РНК;

PLPro — це протеаза, розташована в неструктурному білку 3 (NS3) вірусного поліпептиду. Має функцію видалення убіквітину та ISG15 з білків клітин-господарів, щоб уникнути вроджених імунних реакцій клітини-хазяїна. PLpro порушує сигнальні шляхи INF beta та NF-каппа B. Таргетування противірусних препаратів на PLPro може мати перевагу не лише пригніченням реплікації вірусу, але і пригніченням порушення сигналів в інфікованих клітинах, що може призвести до гибелі неінфікованих клітин [65].

Активний 3CLpro – гомодимером, що складається з двох протомер. Кожна з яких утворена трьома доменами: шість антипаралельних β -бочок утворюють домени I і II і містять сайт зв'язування субстрату, домен III – глобулярний кластер з п'яти спіралей, що регулює димеризацію білку. 3CLpro містить діаду Cys-His, яка розміщена в щілині між доменами I і II [66]. Структура має високий ступінь подібності (96%) із структурою SARS-CoV 3CLpro.

2.4. Комп'ютерне моделювання біологічної активності

Початкова структура мономерного 3CLpro та його димерної форми була взята з PDB (PDB ID: 6LU7). Обидві протеази були змодельовані в апо-формі і ковалентно зв'язаний ліганд у вихідній структурі PDB видаляли, а залишок цистеїну переводили у відновлений стан. Таутомерний та протонований стани для всіх залишків були встановлені у стан за замовчуванням при pH = 7.

Моделювання проведено GROMACS із силовим полем AMBER99 [67–69]. Усі змодельовані структури центрувалися в триклінічному або додекаедровому боксі з мінімальною відстанню 1,0 нм між кожним атомом білка та коробкою для відновлення, а водну модель TIP3P використано для сольватування системи [70]. Для димерного 3CLpro виконано три незалежних моделювання із різними

початковими швидкостями.

Відстань між двома залишками в каталітичній діаді та між двома залишками в двох петлях, розраховано як мінімальна відстань між двома вибраними залишками за допомогою інструмента `gmx mindist` в GROMACS.

Виявлення та еволюція активного об'єму кишені під час молекулярно-динамічного моделювання здійснювалися за допомогою ПЗ MDpocket [71].

2.5. Дослідження антибактеріальної активності

Інгібування росту всіх бактерій визначали шляхом вимірювання поглинання при 600 нм (OD_{600}) за допомогою монохроматора Tecan M1000 Pro. Відсоток пригнічення росту розраховували для кожної лунки, використовуючи негативний контроль (тільки середовище) і позитивний контроль (бактерії без інгібіторів) на тому самому планшеті як еталонні.

2.6. Дослідження протигрибкової активності

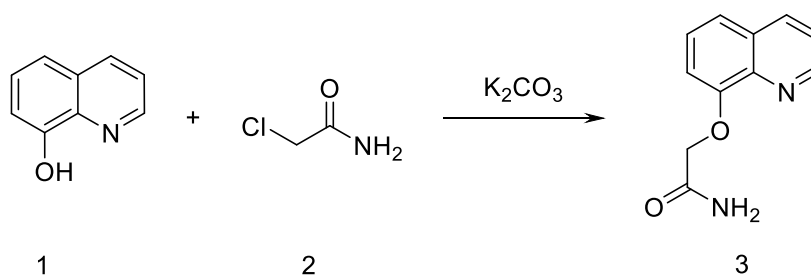
Інгібування росту *C. albicans* визначали шляхом вимірювання поглинання при 530 нм (OD_{530}), тоді як пригнічення росту *C. neoformans* визначали шляхом вимірювання різниці в поглинанні між 600 і 570 нм ($OD_{600-570}$) після додавання резазурину (0,001. % кінцевої концентрації) та інкубації при 35 °C протягом 2 годин. Абсорбцію вимірювали за допомогою пристрою для зчитування пластин Biotek Synergy HTX. Відсоток пригнічення росту розраховували для кожної лунки, використовуючи негативний контроль (тільки середовище) і позитивний контроль (гриби без інгібіторів) на тому самому планшеті як еталонні.

РОЗДІЛ III. СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 8-ГІДРОКСИХІНОЛІНУ

3.1. Синтез похідних 8-гідроксихіноліну

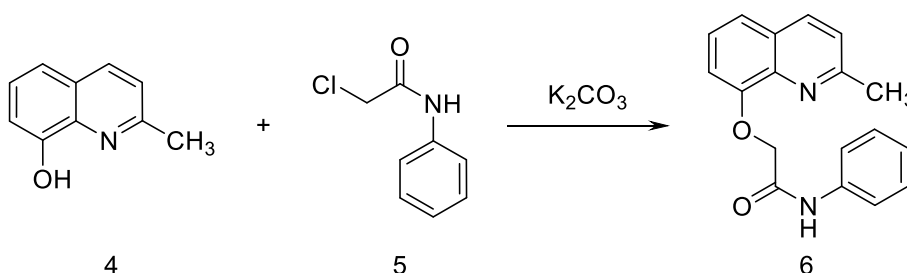
Аналіз літературних джерел свідчить про різноманітну фармакологічну активність похідних 8-гідроксихіноліну. Тому з метою пошуку потенційних біологічно активних речовин нами синтезовано похідні 8-гідроксихіноліну.

Синтез 2-(хінолін-8-ілокси)ацетаміду **3**



До розчину 1.45 г (0.01 моля) 8-гідроксихіноліну **1** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 0.94 г (0.01 моля) хлорацетаміду **2**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з пропанолу-2. Вихід 1.47 г (73%). Знайдено: N=13.9% C₁₁H₁₀N₂O₂. Вираховано N=13.7%

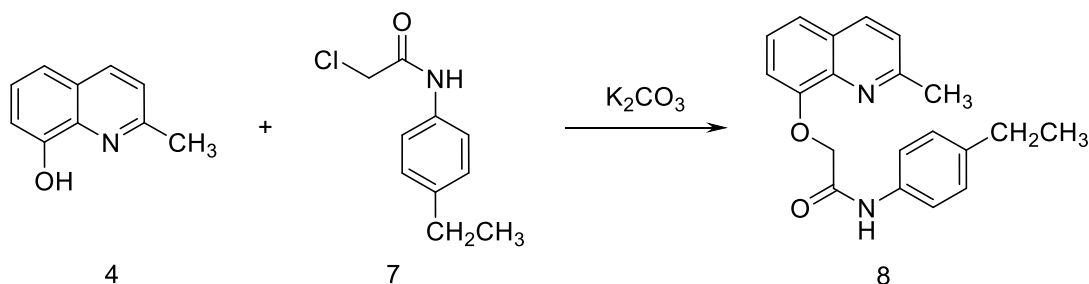
Синтез 2-[(2-метилхінолін-8-іл)окси]-N-фенілацетаміду **6**.



До розчину 1.59 г (0.01 моля) 2-метил-8-гідроксихіноліну **4** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 1.70 г (0.01 моля) N-феніл-α-хлорацетаміду **5**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували,

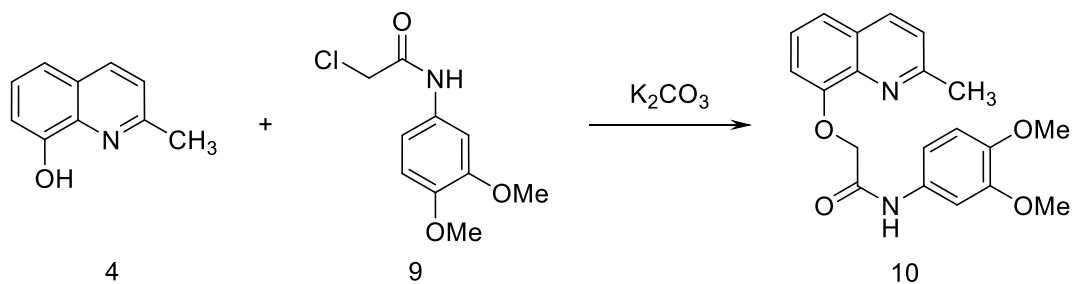
промивали водою, сушили. Кристалізували з пропанолу-2. Вихід 1.90 г (65%).
Знайдено: N=9.47% C₁₈H₁₆N₂O₂. Вирахувано N=9.58%.

Синтез N-(4-етилфеніл)-2-[(2-метилхінолін-8-іл)окси]ацетаміду 8



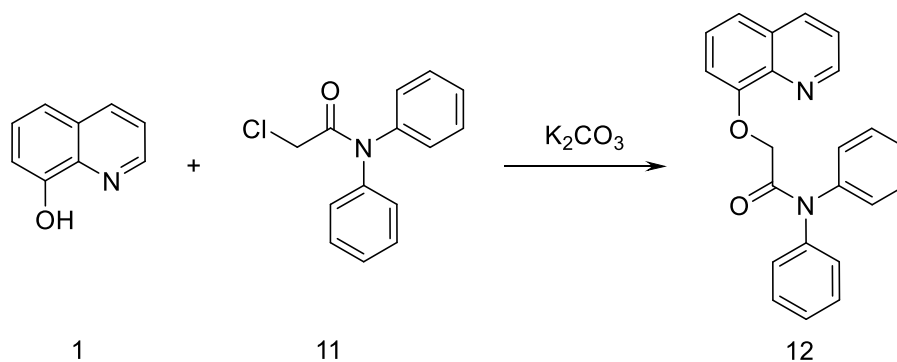
До розчину 1.59 г (0.01 моля) 2-метил-8-гідроксихіноліну **4** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 1.98 г (0.01 моля) N-(4-етилфеніл)-хлорацетаміду **7**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з пропанолу-2. Вихід 2.21 г (69%). Знайдено: N=8.89% C₂₀H₂₀N₂O₂. Вирахувано N=8.75%

Синтез N-(3,4-диметоксифеніл)-2-[(2-метилхінолін-8-іл)окси]ацетаміду 10



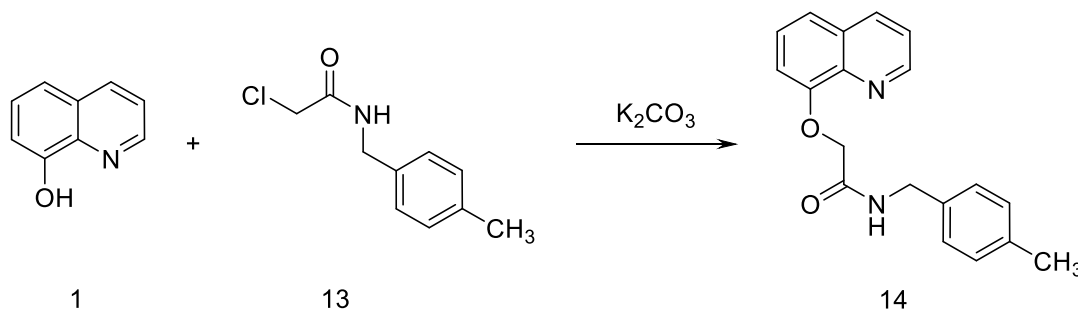
До розчину 1.59 г (0.01 моля) 2-метил-8-гідроксихіноліну **4** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 2.30 г (0.01 моля) N-(3,4-диметоксифеніл)-хлорацетаміду **9**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з пропанолу-2. Вихід 2.29 г (65%). Знайдено: N=8.08% C₂₀H₂₀N₂O₄. Вирахувано N=7.95%

Синтез N,N-дифеніл-2-(хінолін-8-ілокси)ацетаміду 12



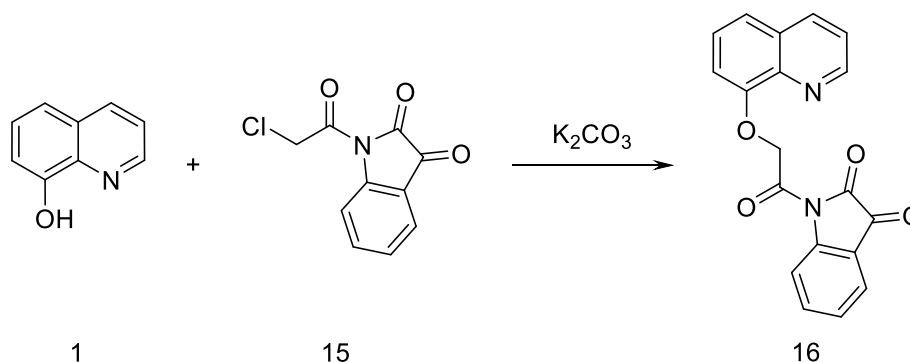
До розчину 1.45 г (0.01 моля) 8-гідроксихіноліну **1** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 2.46 г (0.01 моля) N,N-дифеніл-хлорацетаміду **9**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з етанолу. Вихід 2.83 г (80%). Знайдено: N=7.78% C₂₃H₁₈N₂O₂. Вирахувано N=7.90%

Синтез N-[(4-метилфеніл)метил]-2-(хінолін-8-ілокси)ацетаміду **14**



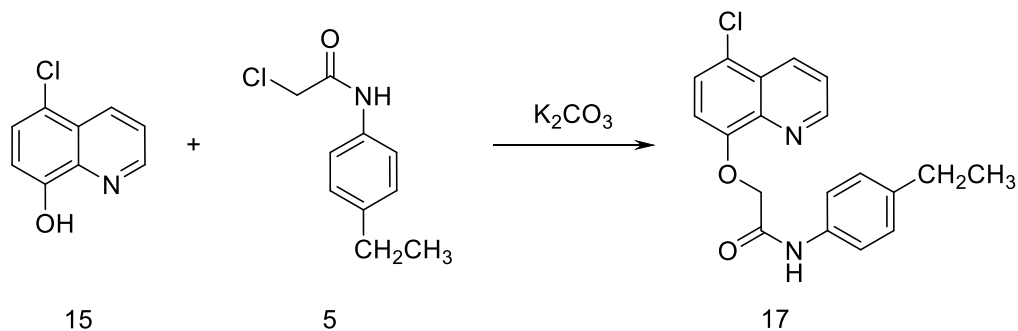
До розчину 1.45 г (0.01 моля) 8-гідроксихіноліну **1** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 1.98 г (0.01 моля) N-(4-метилбензил)-хлорацетаміду **13**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з етанолу. Вихід 1.87 г (61%). Знайдено: N=9.23% C₁₉H₁₈N₂O₂. Вирахувано N=9.15%

Синтез 1-[2-(хінолін-8-ілокси)ацетил]-2,3-дигідро-1H-індол-2,3-діон **16**



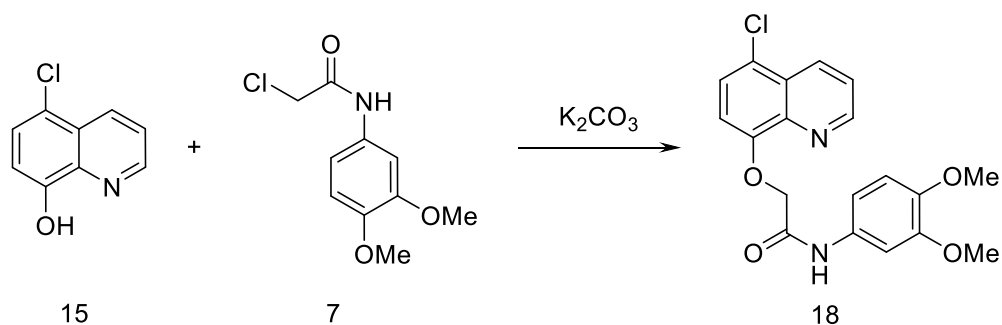
До розчину 1.45 г (0.01 моля) 8-гідроксихіноліну **1** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 2.24 г (0.01 моля) хлорацетаміду **13**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з етанолу. Вихід 2.34 г (69%). Знайдено: N=8.39% C₁₉H₁₂N₂O₄. Вирахувано N=8.43%

Синтез 2-[(5-хлорхінолін-8-іл)окси]-N-(4-етилфеніл)ацетаміду **17**



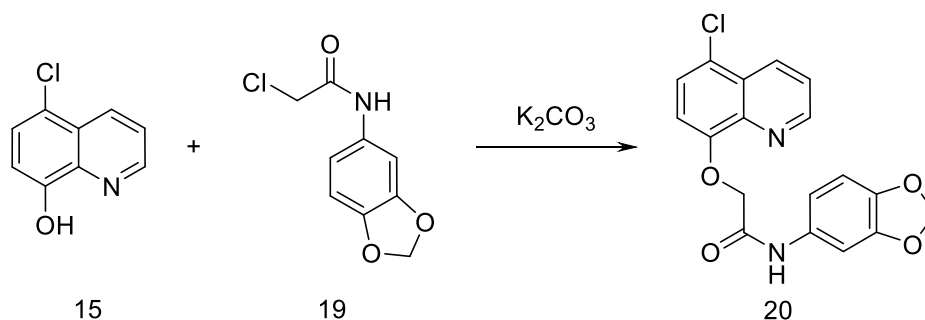
До розчину 1.80 г (0.01 моля) 5-хлоро-8-гідроксихіноліну **15** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 1.98 г (0.01 моля) N-(4-етилфеніл)-хлорацетаміду **5**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з пропанолу-2. Вихід 2.04 г (60%). Знайдено: N=8.16% C₁₉H₁₇ClN₂O₂. Вирахувано N=8.22%

Синтез 2-[(5-хлорхінолін-8-іл)окси]-N-(3,4-диметоксифеніл)ацетаміду **18**

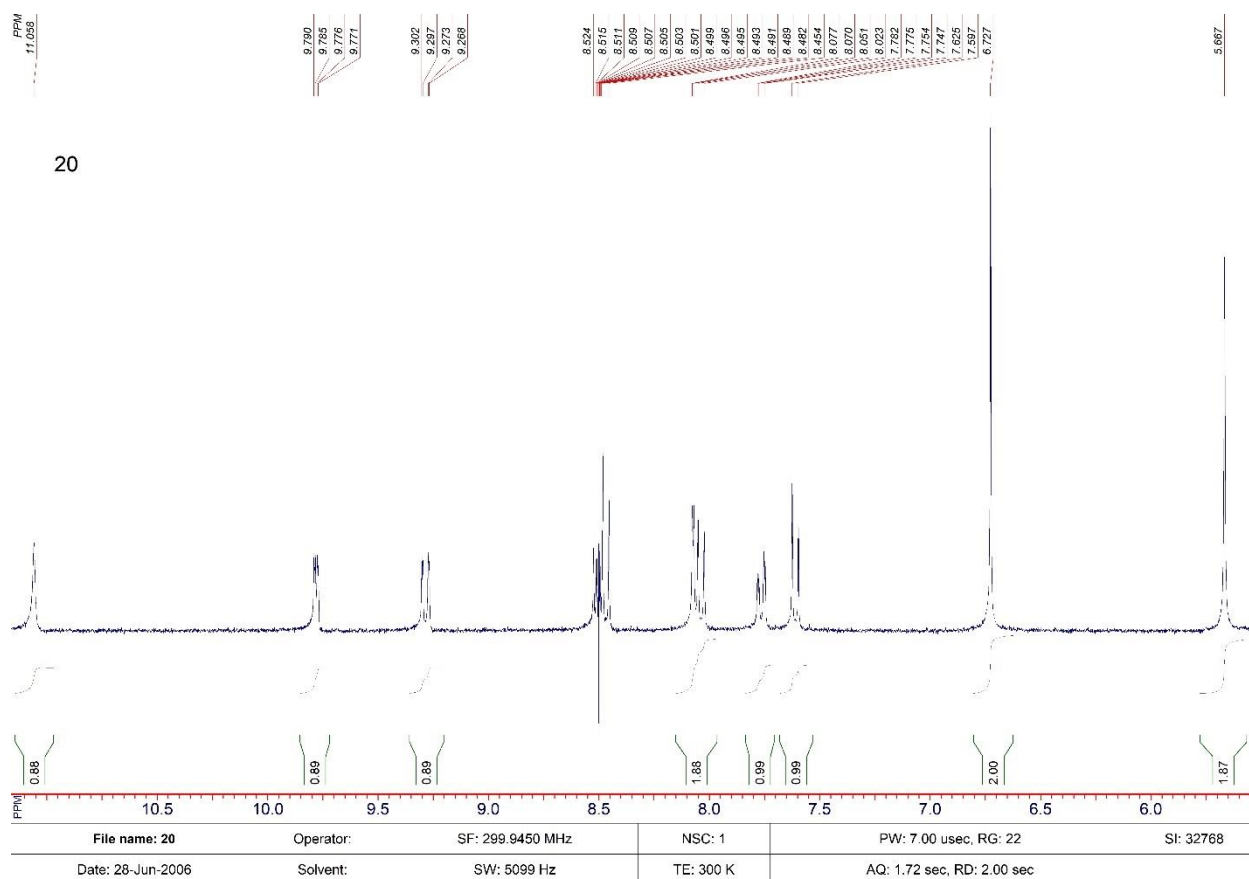


До розчину 1.80 г (0.01 моля) 5-хлоро-8-гідроксихіноліну **15** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 2.30 г (0.01 моля) N-(3,4-диметоксіфеніл)-хлорацетаміду **7**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з пропанолу-2. Вихід 2.68 г (72%). Знайдено: N=7.60% C₁₉H₁₇ClN₂O₄. Вирахувано N=7.51%

Синтез N-(2Н-1,3-бензодіоксол-5-іл)-2-[(5-хлорхінолін-8-іл)окси]ацетаміду **20**



До розчину 1.80 г (0.01 моля) 5-хлоро-8-гідроксихіноліну **15** в 50 мл ацетонітрилу при перемішуванні додавали 2.76 г (0.02 моля) прожареного поташу та 2.14 г (0.01 моля) N-(3,4-метилендіоксіфеніл)-хлорацетаміду **19**. Реакційну суміш кип'ятили при перемішуванні 3 години. Після охолодження реакційну суміш виливали в 250 мл води зі льодом. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою, сушили. Кристалізували з пропанолу-2. Вихід 2.75 г (77%). Знайдено: N=7.79% C₁₈H₁₃ClN₂O₄. Вирахувано N=7.85%. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС): 5.67 (с, 2H, CH₂), 7.60 - 9.79 (м, 8H, ароматичні протони), 11.1 (с, 1H, NH) (рис. 3.1).

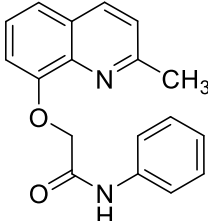
Рис. 3.1. Спектр ПМР сполуки **20**

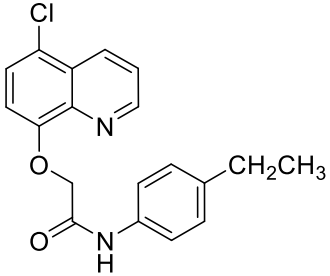
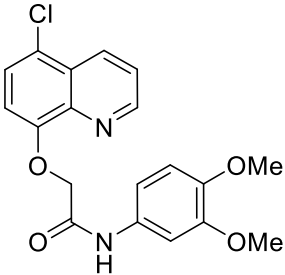
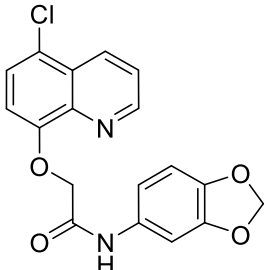
3.2. Дослідження протівірусної активності похідних 8-гідроксихіноліну

Молекулярний докінг сполук **6**, **17**, **18**, **20** проведено на мішенях 3CLpro вірусу SARS-CoV-2 у рамках міжнародної програми E4C (Exscalate4CoV, dr. Candida Manelfi, Computational Chemist - R&D Platforms & Services). Згідно результатів молекулярного докінгу, найбільшу активність щодо вірусу SARS-CoV-2 виявляють сполуки **3** та **4**.

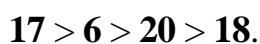
Таблиця 3.1.

Енергії зв'язування субстрат–ліганд

	Σ	NSP12	PLpro	3CLpro	NSP13
6 	21,05	4,87	5,3	5,89	4,98

17		21,17	4,88	5,38	5,79	5,11
18		19,73	4,56	4,98	5,39	4,8
20		21,03	4,98	5,22	5,7	5,13

Аналіз отриманих даних свідчить, що найбільш активною сполукою щодо SARS-CoV-2 є **17**. Її активність, у порівнянні із сполуками **6**, **18** і **20**, пояснюється наявністю алкільного замісника у фенільному кільці у *para*-положенні. Найменш активною сполукою є **18**. Активність досліджених сполук можна відобразити у ряді:



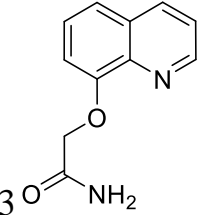
Отже, нами показано, що сполуки **6**, **17**, **20** суттєво впливають на петворення поліпротеїнів, що транскрибуються вірусною РНК, реалізуючи вплив порушенням нормального функціонування 3CLpro та є перспективними сполуками-лідерами для створення ефективних противірусних засобів.

3.3. Дослідження антимікробної активності похідних 8-гідроксихіноліну

Скринінг антимікробної та токсичної дії проведено CO-ADD (The Community for Antimicrobial Drug Discovery), що фінансується Wellcome Trust (Великобританія) та The University of Queensland (Австралія).

Таблиця 3.2.

Антимікробна активність похідних 8-гідроксихіноліну

CompoundName	Sa	Ec	Kp	Pa	Ab	Conc
 3	86,69	-0,64	11,08	13,54	7,84	32 ug/mL

Таблиця 3.3.

Пояснення до таблиці 3.2.

	Код	Бактерія	Культура	Тип	Media	PlateType
Sa	GP_020	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	G+ve	CAMHB	NBS
Ec	GN_001	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	G-ve	CAMHB	NBS
Kp	GN_003	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	G-ve	CAMHB	NBS
Ab	GN_034	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606	G-ve	CAMHB	NBS
Pa	GN_042	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	G-ve	CAMHB	NBS

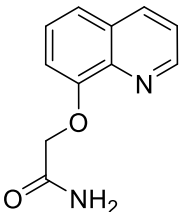
Отже, як свідчить отримані результати, синтезовані нами нові похідні 8-гідроксихіноліну виявляють високі антибактерицидні властивості сполуки **3** щодо грам-позитивних та грам-негативних штамів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та є перспективною сполукою для пошуку сучасних антимікробних перпаратів.

3.4. Дослідження протигрибкової активності похідних 8-гідроксихіноліну

Скринінг антимікробної та токсичної дії проведено CO-ADD (The Community for Antimicrobial Drug Discovery), що фінансується Wellcome Trust (Великобританія) та The University of Queensland (Австралія).

Таблиця 3.4.

Протигрибкова активність похідних 8-гідроксихіноліну

Сполука	<i>Candida albicans</i>	<i>Cryptococcus neoformans var. grubii</i>	Конс
<p>3</p> 	9,52	-51,66	32 ug/mL

Таблиця 3.5.

Пояснення до таблиці 3.4.

Ca	FG_001	<i>Candida albicans</i>	CLSI reference	ATCC 90028	YNB	NBS
Cn	FG_002	<i>Cryptococcus neoformans var. grubii</i>	Type strain	H99; ATCC 208821	YNB	NBS

Отже, нами досліджено антифунгальну активність сполуки **3** щодо *C. albicans* *C. neoformans var. grubii* та є перспективною сполукою для пошуку сучасних антифунгальних препаратів.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз інформаційних джерел щодо біологічної активності похідних 8-гідроксихіноліну свідчить, що вони виявляють широкий спектр фармакологічної активності, а саме противірусні, протимікробні, антибактеріальні, протигрибкові тощо.
2. Синтезовано та змодельовано противірусні властивості одержаних сполук щодо SARS-CoV-2. Встановлено, що сполука **17**, яка містить у параположенні алкільний радіукал. Наявність метоксі-груп призводить до зменшення противірусної активності. Активність досліджених сполук можна відобразити у ряді:

$$17 > 6 > 20 > 18.$$

- Встановлено, що перспективними сполуками для подальшого дослідження є **6, 17, 20** та створення на їх основі ефективних противірусних засобів, які впливають на функціонування вірусної РНК.
3. Встановлено, що сполука **3** виявляє високі антибактерицидні властивості щодо грам-позитивних та грам-негативних штамів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та є перспективною сполукою для пошуку сучасних антимікробних перпаратів.
 4. Досліджено антифунгальну активність сполуки **3** щодо *C. albicans* і *C. neoformans var. grubii*. Встановлено, що одержані похідні 8-гідроксихіноліни виявляють високу антифунгальну активність та є перспективною сполукою для подальшого пошуку протигрибкових засобів.
 5. Встановлено, що високу біологічну активність проявляють сполуки, що містять алкільний замісник у *para*-положенні фенільного кільця.

ПЕРЕЛІК ІНФОРМАЦІЙНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Pfaller M. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am J Med.*, 2012; 125: S3–S13.
2. Tobudic S, Kratzer C, Presterl E. Azole-resistant *Candida* spp.—emerging pathogens? *Mycoses.*, 2012; 5: 24–32.
3. Pavlov A, Takuchev N, Georgieva N. Drug design by regression analyses of newly synthesized derivatives of 8-quinolinol. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 2011. 26(1):164–169.
4. Jeon J.H., Lee C.H., Lee H.S. Antimicrobial activities of 2-methyl-8-hydroxyquinoline and its derivatives against human intestinal bacteria. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2009; 52(2):202–205.
5. Ahmed S.M., Ismail D.A. Synthesis and biological activity of 8-hydroxyquinoline and 2-hydroxypyridine quaternary ammonium salts. *J Surfact Deterg.* 2008;11(3):231–235.
6. Strobl J.S., Seibert C.W., Li Y., et al. Inhibition of *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum* infections in vitro by NSC3852, a redox active antiproliferative and tumor cell differentiation agent. *J Parasitol.* 2009;95(1):215–223.
7. Scheibel L.W., Adler A. Antimalarial activity of selected aromatic chelators. III. 8-Hydroxyquinolines (oxines) substituted in positions 5 and 7, and oxines annelated in position 5,6 by an aromatic ring. *Mol Pharmacol.* 1982;22(1):140–144.
8. Madrid P.B., Sherrill J., Liou A.P., Weisman J.L., Derisi J.L., Guy R.K. Synthesis of ring-substituted 4-aminoquinolines and evaluation of their antimalarial activities. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005;15(4): 1015–1018.
9. Moret V., Dereudre-Bosquet N., Clayette P. et al. Synthesis and anti-HIV properties of new hydroxyquinoline-polyamine conjugates on cells infected by HIV-1 LAV and HIV-1 BaL viral strains. *Bioorg Med Chem Lett.* 2006;16(23):5988–5992.

10. Darby CM, Nathan CF. Killing of non-replicating *Mycobacterium tuberculosis* by 8-hydroxyquinoline. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(7):1424–1427.
11. Warner VD, Musto JD, Sane JN, Kim KH, Grunewald GL. Quantitative structure-activity relationships for 5-substituted 8-hydroxyquinolines as inhibitors of dental plaque. *J Med Chem.* 1977;20(1):92–96.
12. Tanzer JM, Slee AM, Kamay B, Scheer E. Activity of three 8-hydroxyquinoline derivatives against in vitro dental plaque. *Antimicrob Agents Chemother.* 1978;13(6):1044–1045.
13. Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Ezkurra PA et al. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. *Rev Esp Quimioter.,* 2006; 19: 130–139.
14. Mao X., Schimmer A.D. The toxicology of Clioquinol. *Toxicol Lett.* 2008. 182: 1–6.
15. Veda Prachayasittikul, Supaluk Prachayasittikul, Somsak Ruchirawat. Virapong Prachayasittikul. 8-Hydroxyquinolines: a review of their metal chelating properties and medicinal applications *Drug Design, Development and Therapy* 2013;7 1157–1178
16. Циганков С.А., Стрельнікова Л.В., Москаленко О.В., Демченко Н.Р. Пошук ефективних протигрибкових сполук за допомогою молекулярного докінгу / Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації : тези доповідей IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (19 травня 2022 р.). – Х. : Вид-во НФаУ, 2022. С.342–343.
17. Циганков С.А., Стрельнікова Л.В., Москаленко О.В., Демченко А.М. Синтез, будова та прогнозована протівірусна активність похідних 5-хлор-8-гідрокси-хіноліну / Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (м. Харків, 13 жовтня 2022 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 206–207. <http://surl.li/ecome>

18. Quinoline <https://en.wikipedia.org/wiki/Quinoline>
19. 8-Hydroxyquinoline. <https://en.wikipedia.org/wiki/8-Hydroxyquinoline>
20. Adriole, V. T. Ed., *The Quinolones*, Academic Press: Waltham, MA, 2nd ed., 1998.
21. JOHN A. JOULE *Heterocyclic Chemistry at a Glance* The School of Chemistry, The University of Manchester, UK
22. Straten MRV, Hossain MA, Ghannoum MA. Cutaneous infectious dermatophytosis, onychomycosis, and tinea versicolor. *Infect Dis Clin North Am.*, 2003; 17: 87–112.
23. Katritzky AR, Lagowski JM. Prototropic tautomerism of heteroaromatic compounds. IV. Five-membered rings with two or more hetero atoms. *Adv Heterocyclic Chem.* 1963;2:27.
24. Godard A, Robin Y, Queguiner G. Etude de la métallation des carbamates d'hydroxy-5, -6, -7 et -8 quinoéine. *J Organometallic Chem.* 1987;336(1-2):1.
25. Pyridines and their Benzo Derivatives: Reactivity of Substituents. Volume 7. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV*. Elsevier, 2022. DOI:10.1016/B978-0-12-818655-8.09960-1.
26. Vandeputte P, Ferrari S, Coste AT. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. *Int J Microbiol.*, 2012; 2012: 1–26.
27. Manske RHF, Fulka M. The Skraup Synthesis of Quinolines. *Organic Reactions*, New York. 1953;7:59-98.
28. Nakano Y, Imai D. Synthesis of 5-substituted quinolin-8-ols. *Synthesis.* 1997;12:1425.
29. Suliman FO, Al-Busafi SN, Al-Risi M, Al-Badi K. Synthesis, characterization and DFT investigation of aluminum complexes of aryl-substituted-8-hydroxyquinoline. *Dyes and Pigments.* 2012;92(3):1153-1159.
30. Heiskanen JP, Hormi OEO. 4-Aryl-8-hydroxyquinolines from 4-chloro-8-tosyloxyquinoline using a Suzuki–Miyaura cross-coupling approach. *Tetrahedron.* 2009;65(2):518-524.

31. Tomlin CDS. The Pesticide Manual, 11th Ed. British Crop Protection Council, UK. 1997:1606.
32. 8-Hydroxyquinoline and its Derivatives: Synthesis and Applications
<https://www.rroij.com/open-access/8hydroxyquinoline-and-its-derivatives-synthesis-and-applications-.php?aid=33914>
33. Prachayasittikul V., Prachayasittikul V., Prachayasittikul S. et al. 8-Hydroxyquinolines: a review of their metal chelating properties and medicinal applications. *Drug Design, Development and Therapy*. 10.2013. P. 1157. DOI:10.2147/DDDT.S49763.
34. Nakae K, Yamamoto S, Shigematsu I, Kono R. Relation between subacute myelo-optic neuropathy (S.M.O.N.) and clioquinol: nationwide survey. *Lancet.*, 1973; 1:171–173.
35. Selby G. Subacute myelo-optic neuropathy in Australia. *Lancet*, 1972; 1:123–125.
36. Ananthan S, Faaleolea ER, Goldman RC, et al. High-throughput screening for inhibitors of Mycobacterium tuberculosis H37Rv. *Tuberculosis (Edinb)*. 2009; 89(5): 334–353.
37. Kharadi GJ, Patel JR, Dholakiya BZ. Antituberculosis, antifungal and thermal activity of mixed ligand transition metal complexes. *Appl Organomet Chem*. 2010; 24(11): 821–827.
38. Darby CM, Nathan CF. Killing of non-replicating Mycobacterium tuberculosis by 8-hydroxyquinoline. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(7):1424–1427.
39. Benjamin RD, Short MA, Vargas JC, Thomas SO, Mark CE. In vitro activity of a novel compound, the metal ion chelating agent AQ+, against clinical isolates of Staphylococcus aureus. *J. Antimicrob Chemother*. 2006; 57(1):104-109.
40. Patel KB, Nimavat KS. Synthesis, characterization and comparative microbial screening of some 5-alkoxymethyl-8-quinolinol. *Res J Pharm Biol Chem Sci*. 2012. 3(3). 838-844.

41. Shen AY, Chenb CP, Raffler SA. Chelating agent possessing cytotoxicity and antimicrobial activity: 7-morpholinomethyl-8-hydroxyquinoline. *Life Sci.* 1999; 64(9): 813-825.
42. Enquist P-A, et al. Derivatives of 8-hydroxyquinoline - antibacterial agents that target intra- and extracellular Gram-negative pathogens. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012;22:3550-3553.
43. Collery P, et al. Inhibitory effects of gallium chloride and tris(8-quinolinolato)gallium(III) on A549 human malignant cell line. *Anticancer Res.* 2000; 20(2A): 955-958.
44. Jeon J.H., Lee C.H., Lee H.S. Antimicrobial activities of 2-methyl-8-hydroxyquinoline and its derivatives against human intestinal bacteria. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2009;52(2):202–205.
45. Short B.R., Vargas M.A., Thomas J.C., O’Hanlon S., Enright M.C. In vitro activity of a novel compound, the metal ion chelating agent AQ+, against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(1):104–109.
46. Kharadi G.J., Patel J.R., Dholakiya B.Z. Antituberculosis, antifungal and thermal activity of mixed ligand transition metal complexes. *Appl Organomet Chem.* 2010;24(11):821–827.
47. Gehrig K.A, Warshaw E.M. Allergic contact dermatitis to topical antibiotics: epidemiology, responsible allergens, and management. *J Am Acad Dermatol.*, 2008; 58: 1–21.
48. Alsterholm M., Karami N., Faergemann J. Antimicrobial activity of topical skin pharmaceuticals—an *in vitro* study. *Acta Derm Venereol.*, 2010; 90:239–245.
49. Franklin RB, Zou J, Zheng Y et al. Zinc ionophore (clioquinol) inhibition of human ZIP1-deficient prostate tumor growth in the mouse ectopic xenograft model: a zinc approach for the efficacious treatment of prostate cancer. *Int J Cancer Clin Res.*, 2016; 3:037.

50. Zhang YH, Raymick J, Sarkar S et al. Efficacy and toxicity of clioquinol treatment and A-beta₄₂ inoculation in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.*, 2013; 10:494–506.
51. Finkelstein DI, Hare DJ, Billings JL et al. Clioquinol improves cognitive, motor function, and microanatomy of the alpha-synuclein hA53T transgenic mice. *ACS Chem Neurosci.* 2016; 7:119–129.
52. Huntington Study Group Reach2HD Investigators. Safety, tolerability, and efficacy of PBT2 in Huntington's disease: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.*, 2015; 14:39–47.
53. Gershon H, McNeil MW, Parmegiani R et al. Antifungal activity of 7- and 5,7-substituted 8-quinolinol. *J Med Chem.*, 1972; 15:987–989.
54. Gershon H, Clarke DD, Gershon M, Evidence of steric factors in the fungitoxic mechanisms of 8-quinolinol and its 2-,3-,4-,5-, 6- and 7-chloro and bromo analogs. *Monatsh Chem.* 1994; 125(1):51-59.
55. Lee C.H., Jeon J.H., Lee S.G., Lee H.S. Insecticidal properties of Euphorbiaceae: *Sebastiania corniculata*-derived 8-hydroxyquinoline and its derivatives against three planthopper species (Hemiptera: Delphacidae). *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2010; 53(4):464-469.
56. Gershon H., Gershon M., Clarke D.D. Antifungal activity of substituted 8-quinolinol-5- and 7-sulfonic acids: a mechanism of action is suggested based on intramolecular synergism. *Mycopathologia.* 2002;155(4):213- 217.
57. Saleh N Al-Busafi, Fakhr Eldin O Suliman, and Zaid R Al-Alawi 8-Hydroxyquinoline and its Derivatives: Synthesis and Applications RRJC. Vol. 3. Is. 1. 2014
58. Pippi B., Joaquim A. R., Merkel S. et al. Antifungal activity and toxicological parameters of 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamides using alternative animal models. *Journal of Applied Microbiology.* Vol. 130, Issue 6. P. 1925–1934. DOI:10.1111/jam.14915.

59. Pippi B., Lopes W., Reginatto P. et al. New insights into the mechanism of antifungal action of 8-hydroxyquinolines. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Vol. 27, Issue 1. P. 41–48. DOI:10.1016/j.jsps.2018.07.017.
60. MarvinSketch. *ChemAxon* : веб-сайт, URL : <http://www.chemaxon.com> (дата звернення: 14.11.2021).
61. Tang, B., Bragazzi, N. L., Li, Q., et al. An updated estimation of the risk of transmission of the novel coronavirus (2019-nCoV). *Infectious Disease Modelling*. 2020. Vol. 5. P. 248–255.
62. Wit, E. de, Doremalen, N. van, Falzarano, D., et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*. 2016. Vol. 14, № 8. P. 523–534.
63. Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V., et al. An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome–Coronavirus (SARS-CoV) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 59, № 14. P. 6595–6628.
64. Kumar, V., Tan, K.-P., Wang, Y.-M., et al. Identification, synthesis and evaluation of SARS-CoV and MERS-CoV 3C-like protease inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 24, № 13. P. 3035–3042.
65. SARS-CoV-2 - Papain-Like Protease (PLPro) - Antigens (proteins and peptides) <https://www.clinisciences.com/es/comprar/cat-sars-cov-2-papain-like-protease-5137.html>
66. Grottesi, A., Bešker, N., Emerson, A., et al. Computational Studies of SARS-CoV-2 3CLpro: Insights from MD Simulations. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, № 15. P. 5346.
67. Hornak, V., Abel, R., Okur, A., et al. Comparison of multiple Amber force fields and development of improved protein backbone parameters. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2006. Vol. 65, № 3. P. 712–725.
68. Ponder, J.W., Case, D.A. Force fields for protein simulations. In *Advances in Protein Chemistry*. 2003. Vol. 66, p. 27–85.

69. Wang, J., Cieplak, P., Kollman, P. A. How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *Journal of Computational Chemistry*. 2000. Vol. 21, № 12. P. 1049–1074.
70. Mark, P., Nilsson, L. Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2001. Vol. 105, № 43. P. 9954–9960.
71. Schmidtke, P., Bidon-Chanal, A., Luque, F. J., et al. MDpocket: open-source cavity detection and characterization on molecular dynamics trajectories. *Bioinformatics*. 2011. Vol. 27, № 23. P. 3276–3285.