

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE
Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte
Ķīmijas katedra

RIGA TECHNICAL UNIVERSITY
Faculty of Material Science and Applied Chemistry

Olga HABAROVA
Organiskās ķīmijas doktora programmas doktorante

**HETEROAROMĀTISKU CIKLU SATUROŠU HISTONU DEACETILĀZES INHIBITORU
SINTĒZE UN TO STRUKTŪRAS – AKTIVITĀTES LIKUMSAKARĪBAS**

Promocijas darba kopsavilkums

**SYNTHESIS OF HETEROAROMATIC CYCLE CONTAINING HISTONE
DEACETYLASE INHIBITORS AND THEIR STRUCTURE – ACTIVITY
RELATIONSHIPS**

Summary of doctoral theses

Zinātniskais vadītājs (Supervisor)
Dr. chem., vad. pētnieks (Principal scientist)
E. LOŽA

Rīga 2010

Habarova O. Heteroaromātisku ciklu saturošu histonu deacetilāzes inhibitoru sintēze un to struktūras – aktivitātes likumsakarības. Promocijas darba kopsavilkums.-R.: RTU, 2010. – 49 lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU MLĶF 2010. gada 10. jūnija lēmumu, protokols Nr.

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu Nacionālās programmas „Atbalsts doktorantūras pētījumiem” projekta „Atbalsts RTU doktorantūras attīstībai” ietvaros.

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda (Nr. 2009/0203/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/023) atbalstu

ISBN

PROMOCIJAS DARBS

IZVIRZĪTS RĪGAS TEHNISKĀS UNIVERSITĀTES ĶĪMIJAS DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI

Promocijas darbs ķīmijas doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts
2010. g. 16. septembrī plkst. 15:00

Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē,
Āzenes ielā 14/24, 271. auditorijā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Profesors, *Dr. habil. chem.* Andris Strakovs
Rīgas Tehniskā universitāte

Vad. pētnieks, *Dr. chem.* Pēteris Trapencieris
Latvijas Organiskās Sintēzes institūts

Vad. pētnieks, *Dr. chem.* Arkadijs Soboļevs
Latvijas Organiskās Sintēzes institūts

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi doto promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē ķīmijas doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs nav iesniegts nevienā citā universitātē zinātniskā grāda iegūšanai.

Olga Habarova _____(Paraksts)

Datums: 2008. gada 14. jūnijs

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, satur ievadu, literatūras apskatu, rezultātu izvērtējuma daļu, eksperimentālo daļu, secinājumus un izmantotās literatūras sarakstu. Saturs izklāstīts uz 157 lapaspusēm. Darbs satur 19 attēlus, 24 tabulas, 2 pielikumus. Literatūras sarakstā ir 162 nosaukumi.

Problēmas būtība un aktualitāte

Latvijā no 1990. gada onkoloģisko slimnieku skaits ir pieaudzis gandrīz divas reizes un to kopējais skaits 2008. gadā sasniedza 60797 cilvēkus. Cīņa ar onkoloģiskām slimībām ir viens no aktuālākajiem uzdevumiem mediķiem, farmakologiem un ķīmiķiem visā pasaulē. Daudzos zinātniski-pētnieciskajos centros zinātnieki cenšas izstrādāt jaunus bioloģiski aktīvus savienojumus, kuri ļautu efektīvi cīnīties ar šo slimību.

Cilvēka organisms sastāv no $\sim 10^{13}$ šūnu, un katrai no tām ir savas funkcijas organismā. Atsevišķos gadījumos šūnas struktūra dažādu faktoru ietekmes rezultātā mainās, un tās var sākt nekontrolējami vairoties, zaudēt spēju atpazīt un atkārtot „savas šūnas” struktūru un pārvēršas par vēža šūnām. Tās veido audzēju, kurš iespiežas citos orgānos un audos, un traucē veselo šūnu darbību. Mūsu darbs balstās uz bioloģiskiem pētījumiem, kuri parāda, ka, ietekmējot vēža šūnas DNS darbību, var apturēt vai pārtraukt „nepareizas” informācijas nodošanu citām šūnām, izsaukt onkoloģiskās šūnas diferenciaciju, šūnas dzīves cikla pārtraukšanu (apoptozi) vai pat pārvērst tās atpakaļ par veselām. Histona deacetilāzes (HDAC) ir Zn^{2+} jonu saturošie enzīmi, kuri kopā ar histona acetiltransferāzēm (HAT) regulē histonu acetilēšanas-deacetilēšanas procesu šūnā. Šo procesu nepareiza regulēšana noved pie neatbilstošas gēnu ekspresijas, un tas ir viens no galvenajiem onkoloģisko šūnu rašanās un augšanas cēloņiem. Parādīts, ka onkoproteīni izmanto nedabīgu HDAC izraisītu transkripcijas represiju, kuras rezultātā izmainās hromatīna struktūra un tiek bloķēta normāla šūnas funkcionēšana. Pēdējos gados veiktie pētījumi rāda, ka HDAC inhibitori tieši ietekmē DNS transkripciju šūnā, kurā notiek onkoloģiskas izmaiņas. Tie var reaktivēt gēnu ekspresiju, izsaukt onkoloģiskas šūnas diferenciaciju, šūnas cikla arestu un apoptozi. Balstoties uz literatūras datiem un iepriekšējo pieredzi, kā mērķi saviem pētījumiem mēs izvēlējamies sintezēt tādas jaunas hinolīna ciklu saturošas vielas, kuras varētu uzrādīt pretvēža aktivitāti, darbojoties kā HDAC inhibitori. Izstrādātais promocijas darbs ir veltīts heteroaromātisku ciklu saturošu histonu deacetilāzes inhibitoru sintēzei un to struktūras – aktivitātes likumsakarības pētījumiem.

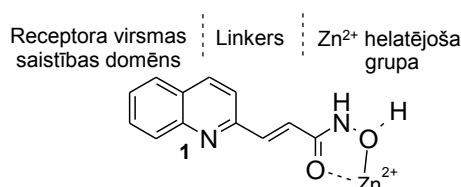
Darba mērķi

Promocijas darba galvenais uzdevums ir jaunu heteroaromātisku ciklu saturošu histonu deacetilāzes inhibitoru sintēze un to struktūras – aktivitātes likumsakarības pētījumi. Šī mērķa sasniegšanai tika nosprausti sekojoši uzdevumi:

- 1) analizēt un klasificēt literatūras datus par histonu deacetilāzes inhibitoriem, to darbības mehānismiem un sintēzes metodēm,
- 2) izstrādāt metodoloģiju dažādi aizvietotu (*E*)-*N*-hidroksi-3-hinolīn-2-il-akrilamīdu sintēzei,
- 3) veikt hinolīnsaturošo hidroksāmskābju linkeru modifikācijas,
- 4) identificēt perspektīvas grupas, kuras varētu kalpot kā hidroksāmskābei alternatīvi Zn^{2+} jonu saistības domēni (bioizostēri), un izstrādāt metodes šādu grupu ievadīšanai molekulā.

Darba rezultāti

Latvijas Organiskās sintēzes institūtā (LOSI) jau ilgāku laiku tiek veikti pētījumi, kas saistīti ar HDAC inhibitoru sintēzi. Viena no aktīvākajām OSI iegūtajām vielām ir hinolīn akrilhidroksāmskābe **1** (1. att.), kura HDAC enzīmu maisījuma inhibīcijas testos uzrādīja vērtību $IC_{50} = 35$ nM (HeLa). Balstoties uz literatūras datiem, kā arī uz OSI agrāk veikto pētījumu rezultātiem, mēs par sava darba mērķi izvēlējāmies tādu jaunu hidroksāmskābju sintēzi, kuru molekulās būtu iekļauts hinolīna fragments kā savienojumā **1** (1. att. ir parādīta vielas **1** helāta ar Zn^{2+} jonu struktūra).



1. att. Darba gaitā sintezēto savienojumu postulētie farmakoforie domēni uz savienojuma **1** piemēra

Savienojuma **1** modifikācijas tika veiktas ar mērķi uzlabot tā aktivitāti un iegūt priekšstatu par HDAC katalītisko rajonu. Mainot aizvietotāju lielumu, raksturu un piesaistīšanas vietu pie hinolīna, mēs varētu ne tikai atrast aktīvus analogus, bet arī izpētīt potenciāla inhibitora iespējas saistīties ar HDAC katalītisko rajonu.

Linkera modifikācijas dod iespēju novērtēt katalītiskās kabatas parametrus. Robeža starp linkeru un receptora virsmas saistības domēnu nav stingri definēta, tā ir atkarīga no molekulu struktūras un no tā izkārtojuma katalītiskajā rajonā. Runājot par molekulu **1**, visticamāk hinolīna cikla piridīna daļa arī pilda linkera funkcijas un izkārtojas katalītiskās kabatas augšējā daļā. Lai iegūtu priekšstatu par katalītiskās kabatas iekšstelpu, kā arī sintezētu aktīvus vielas **1** analogus, mēs veicām gan linkera struktūras, gan tā piesaistīšanas vietas pie hinolīna izmaiņas.

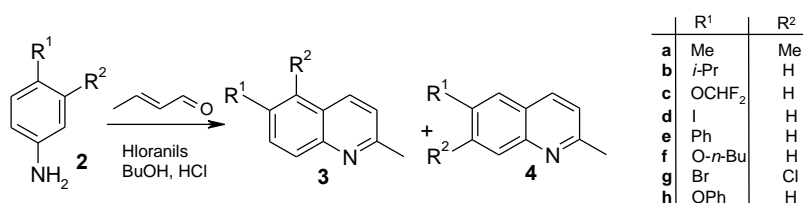
Cinka jonu helatējošā grupa iespaido savienojuma aktivitāti un selektivitāti starp dažādām HDAC izoformām. Šī darba ietvaros mēs veicām ne tikai hidroksāmskābes grupu saturošo savienojumu sintēzi, bet arī hidroksāmskābes bioizostēru meklējumus starp dažādu savienojumu klasēm, mēģinot atrast grupas, kas spētu saistīties gan ar Zn^{2+} jonu, gan ar aktīvajā centrā esošo aminoskābju atlikumiem.

(*E*)-*N*-Hidroksi-3-hinolinilakrilamīdu sintēze

(*E*)-*N*-Hidroksi-3-hinolīn-2-il-akrilamīds (**1**) tika izvēlēts kā lidersavienojums tālākai modifikācijai. Lai noskaidrotu aizvietotāju pie hinolīna gredzena ietekmi uz savienojumu inhibitoro aktivitāti, kā pirmo izvēlējāmies modificēt molekulas hinolīna daļu, ievēdot tajā aizvietotājus, bet saglabājot neskartu linkera divkārtšo saiti un Zn^{2+} helatējošo hidroksāmskābes grupu.

2-Metilhinolīnu sintēze ar Skraupa reakcijas palīdzību

Lielu daļu darbā nepieciešamo 2-metilhinolīna atvasinājumu ieguvām ar Skraupa reakcijas modifikācijas (2. att.) palīdzību, kuras pamatā ir anilīnu apstrāde ar nepiesātinātiem aldehīdiem oksidētāja hloranila klātienē. Ja kā nepiesātināto aldehīdu izmanto krotonaldehīdu, reakcijas rezultātā iegūst 2-metilhinolīnus. Izmantojot *para*- un *meta*- aizvietotus anilīnus **2a-h**, tika iegūti astoņi hinolīni **3a-h** un **4a-h**. *p*-Aizvietoto anilīnu **2b-f, h** gadījumā reakcijā veidojas viens produkts **4b-f, h**, bet, ja aizvietotājs atrodas *meta*-stāvoklī, iespējama divu dažādu aizvietotu hinolīnu **3a, g** un **4a, g** veidošanās.



2. att. Skraupa reakcijas vispārīgā shēma

OSI iepriekš sintezēto līdzīgu hinolīnu inhibitorās aktivitātes liecināja, ka lielāko aktivitātes pieaugumu varētu sagaidīt vielas **1** 6-mono- un 6,7-diaizvietotiem analogiem. Literatūras dati liecina, ka, veicot reakciju tās klasiskajā veidā, t.i., minerālskābes klātbūtnē, no *p*- un *m*-dihalogēnaizvietotiem anilīniem var iegūt 5,6-dihalogēnaizvietota un 6,7-dihalogēnaizvietota hinaldīna maisījumu attiecībā ~ 1:1. Tā kā galvenais mērķis bija iegūt 6,7-diaizvietotus hinaldīnus, izmantojām Skraupa reakcijas modifikāciju, kura pārsvarā dod 6,7-aizvietotus produktus (1. tab.), un reakcijas produktus izdalījām cinka hlorīda kompleksu veidā.

1. tabula

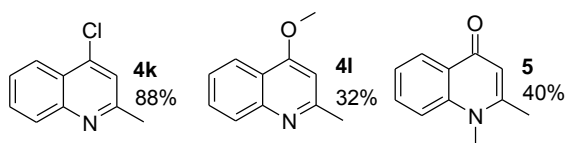
Skraupa reakcijas apstākļi un iznākumi

Amīns 2	R ¹	R ²	Krotonaldehīda piev. laiks (min.)	Iegūtais hinaldīns	
				Nr.	Iznākums (%)
a	Me	Me	60	3a	4
a	Me	Me	60	4a	43
b	<i>i</i> -Pr	H	40	4b	88
c	OCHF ₂	H	40	4c	53
d	I	H	15	4d	41
e	Ph	H	35	4e	77
f	<i>O-n</i> -Bu	H	45	4f	31
g	Br	Cl	60	4g	32
g	Br	Cl	60	3g	7-21
h	OPh	H	90	4h	47

Izmantojot šo pieeju, mums izdevās panākt, ka vajadzīgās vielas **4a** un hinaldīna **3a** attiecība sasniedza 10:1, bet vielu **4g** un **3g** gadījumā - 5:1. Jodanilīna **2d** reakcijā ar krotonaldehīdu radās 6-jodhinaldīna **4d** un dejodēta hinaldīna maisījums (3:2). Saīsinot reakcijas laiku, mums izdevās palielināt vajadzīgā produkta **4d** attiecību pret minēto dejodēto formu līdz 6:1.

2-Metilhinolīnu sintēze, modificējot pie hinolīna gredzena esošos aizvietotājus

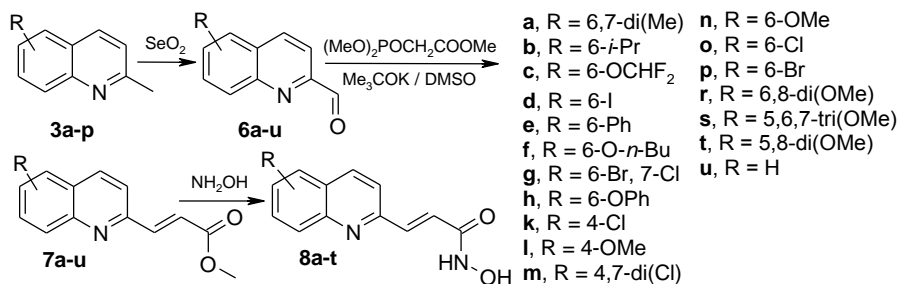
Lai paplašinātu iegūto hinolīnsaturējo hidroksāmskābju klāstu, tika veiktas arī aizvietotāju modifikācijas hinaldīnos. Tā, apstrādājot 4-hidroksihinaldīnu ar fosfora oksihlorīdu, sintezējām 4-hlorhinaldīnu (**4k**).



Savukārt, alkilējot 4-hidroksihinaldīnu ar MeI K₂CO₃ klātienē, ieguvām gan vajadzīgo *O*-alkilēšanās produktu **4l**, gan arī tā *N*-metilregioizomēru **5** (attiecībā 3:4).

Hinolīnīl akrilamīdu sintēze caur attiecīgiem akrilskābes metilesteriem

Lai no aizvietotiem 2-metilhinolīniem **4a-p** iegūtu akrilamīdus **8a-t**, izmantojām trīs stadiju sintēzi. Darbā lietotie hinaldīni **4m-p** ir komerciāli produkti.



Vispirms ar SeO₂ oksidējām hinolīna atvasinājumu **4a-p** sānu virknes metilgrupu līdz aldehīdgrupai **6a-p** (2. tab.). Darbā lietotie hinolīnaldehīdi **6r-u** ir komerciāli produkti. Akrilskābes linkera izveidošanai tika izmantotas divas sintēzes metodes.

Linkera izveidošana ar Hornera-Vadsvorta-Emonsa reakcijas palīdzību. Apstrādājot hinolīnaldehīdus **6a-u** ar metil-2-(dimetoksifosforil)acetātu Me₃COK klātbūtnē DMSO, ieguvām aizvietotus akrilskābes metilesterus **7a-u** (2. tab.) ar iznākumiem no 16 līdz 89 %. Tāda izkliede ir atkarīga ne tikai no Hornera-Vadsvorta-Emonsa reakcijas norises, bet arī no iepriekšējās reakcijas rezultātiem un no selēna piemaisījumu daudzuma, kas paliek maisījumā ar aldehīdiem. Aprakstītajai reakcijai tika veikti pētījumi par bāzes un šķīdinātāja ietekmi uz produkta iznākumiem. Pētījumi tika veikti estera **7u** gadījumā, par izejvielu izmantojot neaizvietoto hinolīnaldehīdu **6u** (visaugstākie produkta **7u** iznākumi (74%) bija tad, ja kā bāzi izmanto Me₃COK, bet šķīdinātāju DMSO.).

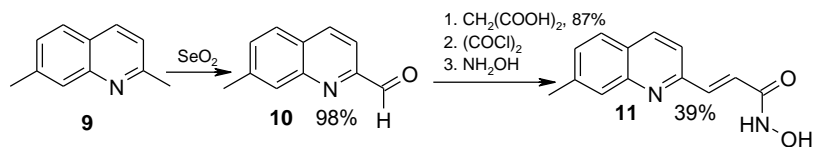
Savienojumu **6a-p**, **7a-u** un **8a-t** sintēzes iznākumi

	R	6 izn. (%)	7 izn. (%)	8 izn. (%)
a	6,7-di(Me)	50	41	88
b	6- <i>i</i> -Pr	36	79	83
c	6-OCHF ₂	85	45	70
d	I	70	80	54:46**
e	6-Ph	70	51	45
f	6-OBu	87	89	94
g	6-Br, 7-Cl	89	16	74
h	6-OPh	77	70	60
k	4-Cl	66	31	40
l	4-OMe	72	56	40
m	4,7-di(Cl)	86	81	49
n	6-OMe	68	72	23
o	6-Cl	70	54	57
p	6-Br	97	59	57
r	6,8-di(OMe)	-	87	36
s	5,6,7-tri(OMe)	-	81	70
t	5,8-di(OMe)	-	83	77
u	H	-	74	-

** Iegūts (*E*)-*N*-hidroksi-3-(6-jodhinolīn-2-il)akrilamīda un (*E*)-3-(6-jodhinolīn-2-il)akrilskābes maisījums.

*** Inhibitorā aktivitāte, ja substrāta koncentrācija ir 100 nM.

Linkera izveidošana ar Knēvenāgela kondensācijas palīdzību. Savienojuma **11** sintēzei izmantojām metodi, kura balstās uz Knēvenāgela kondensāciju.



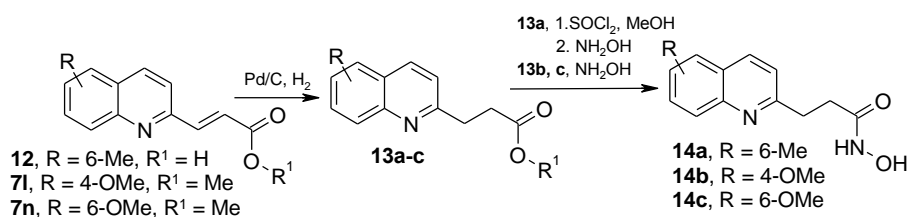
Pēc aldehīda **10** iegūšanas tā sānu ķēdes pagarināšanu veicām ar malonskābi, kā katalizatoru lietojot piperidīnu. Reakcijā vispirms rodas 2-[(7-metilhinolīn-2-il)metilēn]malonskābe, kuru dekarboksilējot iegūst (*E*)-3-(7-metilhinolīn-2-il)akrilskābi. Apstrādājot to ar oksalilhlorīdu, veidojas hloranhidrīds, kurš reakcijā ar NH₂OH veido hidroksāmskābi **11**. Šo metodi akrilskābes fragmentu saturošā linkera izveidošanai var izmantot kā alternatīvu Hornera-Vadsvorta-Emonsa reakcijai.

Iegūto esteri **7a-t** reakciju ar hidroksilamīnu veicām pēc literatūrā aprakstītas metodes. Veicot esteri **7a-t** reakciju ar hidroksilamīnu, novērojām, ka visos gadījumos paralēli hidroksāmskābes **8a-t** veidošanai notiek arī esteri hidrolīze, kā blakusproduktu veidojot attiecīgo akrilskābi, kas ievērojami samazina reakcijas iznākumu.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

N-Hidroksi-3-(hinolīn-2-il)propānamīdu sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums

Viens no darba uzdevumiem hinolīnsaturošo hidroksāmskābju sintēzē bija izveidot tāds savienojumus, kuri saturētu dažādas modifikācijas linkera domēna daļā. Kā modeļvielas tālākai linkera daļas modifikācijai izvēlējamies iepriekšējā nodaļā aprakstītos (*E*)-*N*-hidroksi-3-hinolinilakrilamīdus (**8l** un **8n**), kas radīja interesi gan no aktivitātes, gan aizvietotāju atrašanās vietas pie hinolīna gredzena viedokļa, un mēģinājām pagatavot to linkera daļā piesātinātos analogus. Piesātinātais linkers ļautu molekulai brīvāk izvietoties HDAC katalītiskajā kabatā un piekļūšana Zn²⁺ jonam varētu būt atvieglināta, atšķirībā no nepiesātinātā linkera, kurš stabilizē molekulas ģeometrisko formu, padarot to par gandrīz „plakanu”.



3-Propānskābes fragmentu saturošās hidroksāmskābes **14a-c** sintezējām no attiecīgās akrilskābes **12** vai akrilskābes esteriem **7l** un **7n**, katalītiski hidroģenējot šo savienojumu divkārsās saites (3. tab.). Nākošajā stadijā iegūtos propānskābes metilesterus **13a-c** apstrādājām ar NH₂OH, iegūstot savienojumus **14a-c**.

3. tabula

Metilesteru **13a-c** un propionamīdu **14a-c** sintēzes iznākumi

	1. stadijas iznākums (%) (Pd/C, H ₂)	2. stadijas iznākums (%) (NH ₂ OH)
a	65*	43
b	94	96
c	81	48

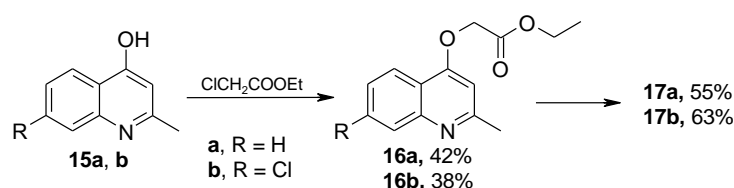
*Dots summārais iznākums pēc reducēšanas un esterificēšanas reakcijas

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

(*E*)-*N*-Hidroksi-2-[(hinolīn-4-il)oksi]acetamīdu sintēze un inhibitorās aktivitātes

raksturojums

Savienojumos **17a, b** linkerī ir ievietots skābeklis un ir izmainīta tā piesaistīšanas vieta no 2-hinolīnīl- uz 4-hinolīnīl-, salīdzinot ar līdersavienojumu. Šīs izmaiņas tika veiktas ar mērķi atrast alternatīvas linkera piesaistīšanas vietas, kā arī pārbaudīt, kā skābekļa atoma ievadīšana linkerī iespaido savienojuma aktivitāti.



Savienojumu **17a, b** sintēzes shēma ietver hinaldīnu **15a, b** *O*-aliekšanu ar hloretilskābes etilesteri un iegūto esteru **16a, b** reakciju ar NH_2OH .

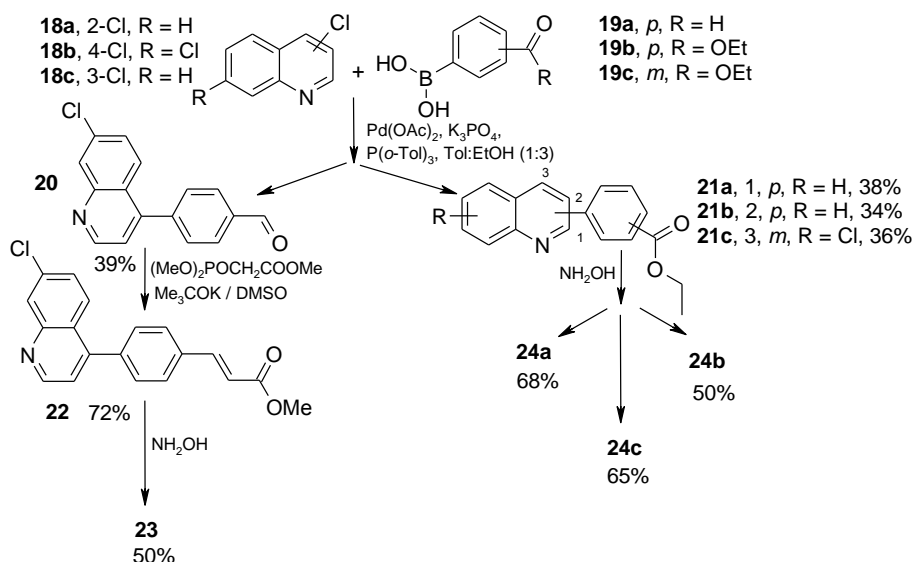
Ar ^1H KMR spektru palīdzību noskaidrojām, ka savienojums **17a** eksistē 2 tautomēro formu - hidroksāmskābes un hidroksīmskābes dinamiska līdzsvara maisījuma (7 : 1) veidā. Arī pārējo darbā sintezēto hidroksāmskābju spektros novērojām līdzīgu signālu dubultošanos, tomēr šajos savienojumos hidroksīmskābes formas klātbūtne bija daudz neizteiktāka.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

N-Hidroksihinolīnīlbenzamīdu un (*E*)-*N*-hidroksi-3-[4-(7-hlorhinolīn-4-il)fenil]akrilamīda

sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums

Turpinot linkera modificēšanas iespēju pētījumus, nākamais mērķis bija iekļaut linkera daļā aromātisku fragmentu. Savienojumu **23** un **24a-c** struktūru izveidošanai mēs izmantojām Suzuki reakciju. No hlorhinolīniem **18a-c** un fenilborskābēm **19b-c** ar šīs reakcijas palīdzību ieguvām etilbenzoātus **21a-c**. Mūsu gadījumā Suzuki reakcijas iznākumi bija < 40%. Mēģinājumi pagarināt reakcijas laiku vai izmainīt reaģentu attiecības neiespaidoja reakcijas gaitu un iznākumus. Iespējams, zemā hinolīnu reaģētspēja ir saistīta ar to, ka brom aizvietoto analogu vietā mēs izmantojām hlor aizvietotus hinolīnus, kas atbilst literatūras datiem par Suzuki reakcijas norisi (reaģētspēja pieaug rindā $\text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$).



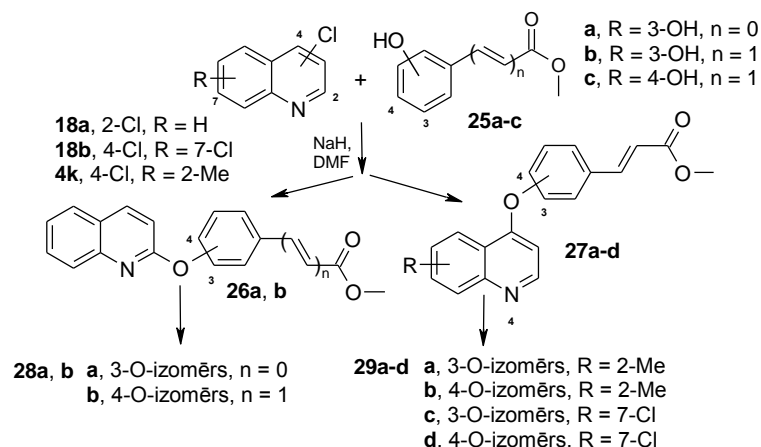
No *p*-formilfenilborskābes **19a** ieguvām biarilaldehīdu **20**, kurš tālākā reakcijā ar fosfora reaģentu deva esteri **22**. Sintezētos esterus **21a-c** un **22** reakcijā ar NH₂OH pārvērtām par hidroksāmskābēm **23** un **24a-c**.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

Hinolīniloksifenilhidroksāmskābju sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums

Turpinot potenciālo HDAC inhibitoru linkera struktūrizmaiņu pētījumus, nolēmām sintetēt hinolīna atvasinājumus, kuru linkers saturētu aromātisku fragmentu un heteroatomu.

Oksifeniltiltiņu saturošu hidroksāmskābju **28a, b** un **29a-d** iegūšanai izmantojām divstadiju procesu, kurš sastāv no esteri **25a-c** arilēšanas reakcijas un sekojošas iegūto esteri **26a, b** un **27a-d** kondensācijas ar NH₂OH (4. tab.).



Alkilētos produktus **26a, b** un **27a-d** pārvērtām par hidroksāmskābēm **28a, b** un **29a-d** (4. tab.).

4. tabula

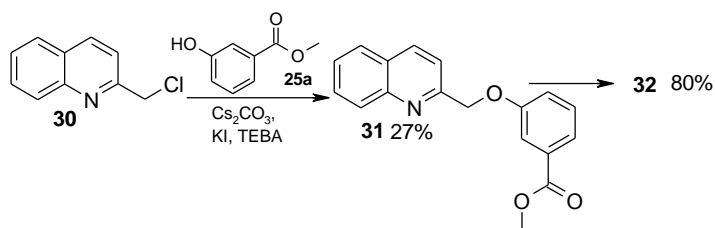
Hidroksāmskābju **28a, b**, **29a-d** un to izejvielu **26a, b**, **27a-d** sintēzes iznākumi

Nr.	Iznākumi (%)	Nr.	Iznākumi (%)
26a	20	28a	80
26b	33	28b	48
27a	24	29a	91
27b	95	29b	55
27c	67	29c	80
27d	91	29d	90

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

***N*-Hidroksi-3-(hinolīn-2-ilmetoksi)benzamīda sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums**

Lai pagarinātu oksifenilgrupu saturošo linkeru, tika sintezēts savienojums **32**. Tā iegūšanai izmantojām divstadiju procesu, kur, pirmkārt, veicām 3-hidroksibenzoskābes metilestera **25a** alkilēšanas reakciju un tad estera **31** kondensāciju ar NH₂OH.

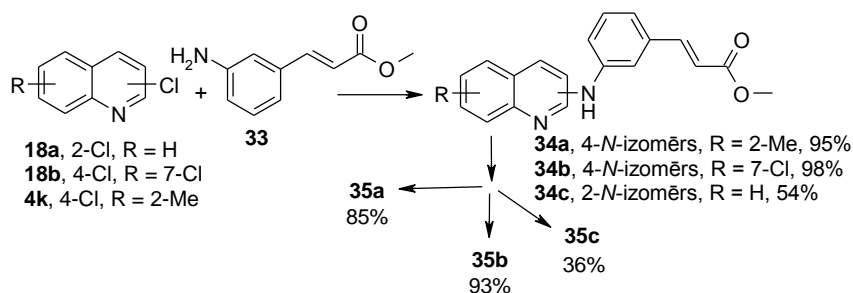


Esteri **25a** alkilējām ar hloratvasinājumu **30** Cs₂CO₃ un KI klātbūtnē. Lai palielinātu fenola **25a** anjona šķīdību, reakcijai pievienojām fāzu pārnese katalizatoru TEBA. Iegūto alkilēto produktu **31** apstrādājot ar NH₂OH bāzes klātienē, pārvērtām par hidroksamskābi **32**.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

***N*-Hidroksi-3-(hinolīnilaminofenil)akrilamīdu sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums**

Turpinot pētījumus linkera modificēšanā, mūsu nākošais darba mērķis bija sintezēt un pārbaudīt inhibitoro efektivitāti aminofenillinkeru saturošu savienojumu rindā.



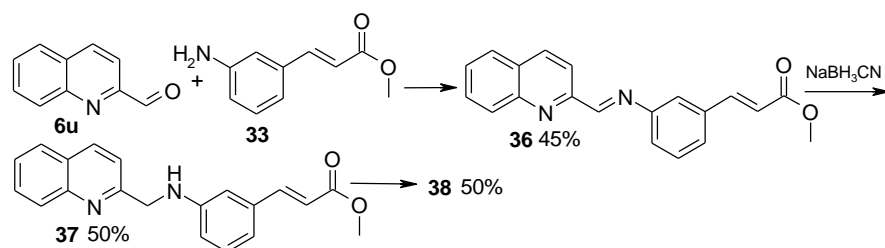
Aminotilpiņu saturošas hidroksāmskābes ar **35a-c** tiek iegūtas divās stadijās – pirmkārt, veicot 2- vai 4-hlorhinolīnu **3k**, **18a**, **b** aminoarilēšanas reakcijas un, otrkārt, iegūto esteru **34a-c** kondensācijas ar NH₂OH. Hlorhinolīnu **3k**, **18a**, **b** reakcijā ar esteru **33** ieguvām literatūrā neaprašītus akrilskābes atvasinājumus **34a-c**. Apstrādājot esterus **34a-c** ar NH₂OH, ieguvām hidroksāmskābes **35a-c**.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

(E)-N-Hidroksi-3-{3-[(hinolīn-2-ilmetil)amino]fenil}akrilamīda sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums

Lai izpētītu aminofenilgrupu saturošā linkera garuma ietekmi uz aktivitāti, tika nolemts sintezēt savienojuma **35c** analogu **38**, kura linkera daļa ir pagarināta par vienu metilēngrupu.

Savienojuma **38** sintēzē izmantojām hinolīn-2-aldehīda **6u** reduktīvās aminēšanas reakciju ar anilīna atvasinājumu **33**, kuras rezultātā ieguvām esteru **36**.



Imīna atvasinājuma **36** izveidošanu veicām MeOH, tālāk imīnosaiti reducējām ar NaBH₃CN un ieguvām vajadzīgo vielu **37**. Pēdējā stadijā savienojumu **37**, apstrādājot ar NH₂OH, pārvērtām par attiecīgo hidroksāmskābi **38**.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

Hidroksāmskābes fragmentu nesaturošo potenciālo HDAC inhibitoru sintēze

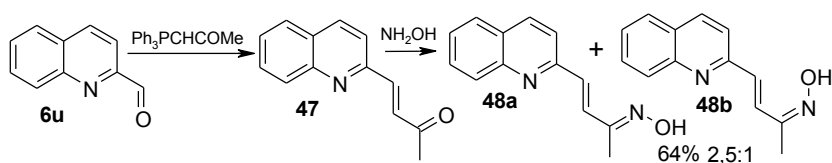
Lai gan hidroksāmskābes darbojas kā efektīvi HDAC inhibitori, to izmantošanu medicīnā ierobežo bioloģiskās darbības profils organismā. Tāpēc hidroksāmskābju bioizostēru meklējumiem HDAC inhibitoru pētījumos pašlaik pasaulē ir pievērsta liela uzmanība. Ideāla hidroksāmskābes bioizostērā grupa būtu tāda, kas efektīvi saistītos ar katalītisko centru, nevis tikai ar Zn²⁺ jonu, un tādejādi neiedarbotos uz citiem metālproteīniem.

Nākošais mūsu darba mērķis bija tādu savienojuma **1** analogu sintēze, kuri hidroksāmskābes funkcionālās grupas vietā saturētu potenciālu tās bioizostēru grupu.

(E)-3-[2-(Hinolīn-2-il)vinil]-5-(trifluorometil)-4,5-dihidroizoksazol-5-ola sintēze

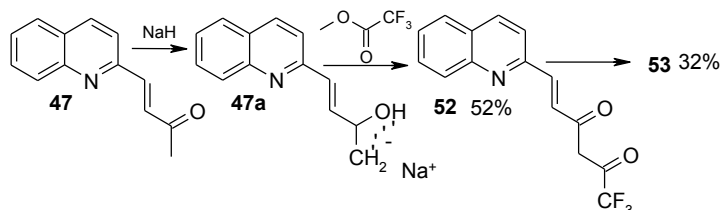
Elektrofilo trifluormetilketona grupu saturoši savienojumi ir pazīstami kā HDAC inhibitori, tāpēc nolēmām sintezēt vielu **53**, kura kā potenciālu hidroksāmskābes bioizostēru saturētu trifluormetilizoksazola grupējumu. Šim nolūkam tika izmēģinātas vairākas metodes.

1. Metode. No aldehīda **6u** ar Vitiga reakcijas palīdzību ieguvām ketonu **47**. Reakciju veicām dažādos šķīdinātajos (labākais - DMSO – 95%). Tālākais sintēzes plāns bija no ketona **47** iegūt oksīmus **48a, b**, tad ar BuLi deprotonēt oksīma hidroksilgrupu un metilgrupu, un, apstrādājot iegūto dianjonu ar metiltrifluoracetātu, iegūt galaproduktu **53**.



Akrilketons **47** reakcijā ar NH_2OH veidoja *cis*- un *trans*- oksīmu **48a, b** maisījumu (1:2,5). Diemžēl, nākošajā reakcijā ar *n*-BuLi un sekojošu apstrādi ar metiltrifluoracetātu mums neizdevās iegūt gaidāmo produktu **53**.

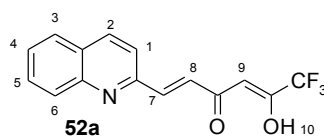
2. Metode. Pirmā ielānotās reakciju sērijas stadija bija anjona **47a** izveidošana. Protona atraušanai no ketona **47** metilgrupas kā bāzes tika izmēģināti litija diizopropilamīds (LDA) un NaH.



Reakcija ar LDA bija neveiksmīga, jo novērojām tikai izejvielas **47** sadalīšanos. Ar NaH veiksmīgi izdevās deprotonēt savienojumu un iegūtā enolāta **47a** tālākā reakcijā ar trifluormetilacetātu izveidojās diketons **52**. Iegūtais diketons eksistē divu enolformu līdzsvara veidā. Veicot šī savienojuma struktūrpētījumus ar ^1H KMR palīdzību, novērojām, ka tā spektri DMSO- d_6 , CDCl_3 un THF- d_8 ievērojami atšķiras (7. tab.).

7. tabula

Enola **52a** ^1H KMR (DMSO- d_6 , CDCl_3 un THF- d_8) spektru dati



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DMSO- d_6	7.85 8.6 (pl.d)	8.35 8.5 (d)	7.95 8.0 (d)	7.58 8.0 7.0	7.75 8.5 7.0	7.99 8.5 (d)	7.42 15.9 (d)	n.n.	5.29 (pl.s)	n.n.

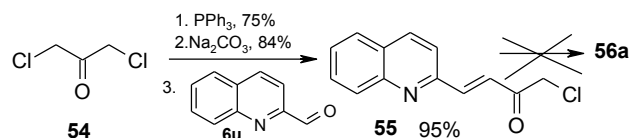
				1.1 (ddd)	1.5 (ddd)					
CDCl ₃	7.49 8.6 (d)	7.93 8.6 (d)	7.95 8.1 (d)	7.39 8.1 7.0 1.1 (ddd)	7.57 8.4 7.0 1.6 (ddd)	7.64 8.4 1.1 (dd)	7.51 15.9 (d)	7.07 15.9 (d)	5.70 (s)	n.n.
THF-d ₈	7.74 8.5 (d)	8.00 8.5 (d)	7.81 8.0 (d)	7.48 8.0 7.0 1.0 (ddd)	7.66 8.4 7.0 1.4 (ddd)	8.18 8.4 (d)	7.59 15.8 (d)	7.22 15.8 (d)	5.62 (s)	4.81 (pl.s)

Tā OH (10) protons netika novērots DMSO-d₆ un CDCl₃ spektros, to izdevās ieraudzīt tikai THF-d₈ spektrā. Viens no dubultsaites protoniem (8) arī netika novērots DMSO-d₆ spektrā, bet viens no hinolīna protoniem (1) deva platu dubletu. Tādu signālu izkliedi izskaidrojam ar diketona **52** enol-formu līdzsvaru. Apstrādājot iegūto diketonu **52** ar NH₂OH, mums izdevās iegūt produktu **53**. Veicot reakcijas apstākļu izpēti tika konstatēts, ka piemērotākie šķīdinātāji šīs reakcijas veikšanai ir benzols un THF.

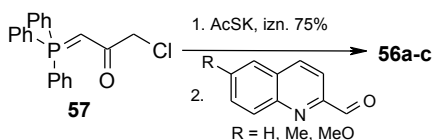
No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

Tioetiķskābes-S-[(E)-4-(6-aizvietotu-hinolīn-2-il)-2-okso-but-3-enil]esteru sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums

S-2-Oksoetiltioacetāta grupa kā potenciāli interesants Zn²⁺ jonu helatējošais grupējums ir aprakstīta vairākos darbos. Tioetiķskābes esteru **56a-c** sintēzei izmēģinājām divus ceļus.



Saskaņā ar pirmo, trifenilfosfīna reakcijā ar 1,3-dihloracetonu (**54**) ieguvām 1-hlor-3-(trifenilfosforanilidēn)acetonu, kuru tālākā reakcijā ar Na₂CO₃ pārveidojām par 1-hlor-3-(trifenil-λ⁵-fosfanilidēn)propan-2-onu, kas reakcijā ar aldehīdu **6u** deva gaidāmo vielu **55**. Reakciju ar 1-hlor-3-(trifenil-λ⁵-fosfanilidēn)propan-2-onu veicām variējot šķīdinātājus, lai iegūtu optimālu iznākumu (labākais DMSO – 95%). Diemžēl, iegūtā starpprodukta **55** tālāka reakcija ar kālija tioacetātu bija neveiksmīga.

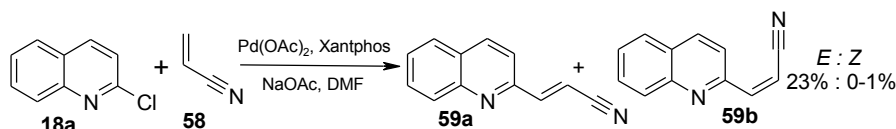


Mainot reakciju norises kārtību kā parādīts shēmā, izdevās iegūt mērķproduktus **56a-c**.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

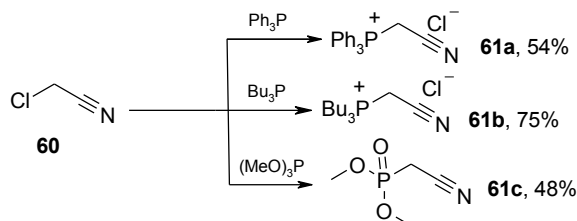
(*E*)-*N'*-Hidroksi-3-(hinolīn-2-il)akrilimīdamīda un *N'*-hidroksi-3-(hidroksiamino)-3-(hinolīn-2-il)propānimīdamīda sintēze un inhibitorās aktivitātes raksturojums

N'-Hidroksiimīdamīda funkcionālo grupu saturošu līdersavienojuma **1** analogu **62** un **63** sintēzei izmantojām divus ceļus. Vispirms 2-hlorhinolīns **18a** tika apstrādāts ar akrilonitrilu **58** Pd-katalizatora klātbūtnē.



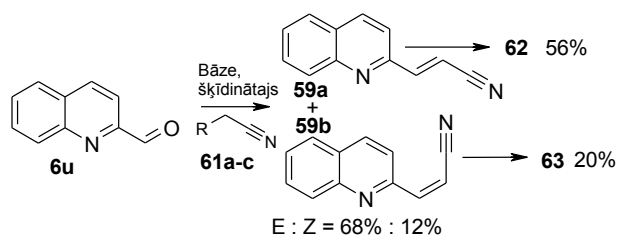
Reakcijas rezultātā veidojās *trans*-izomērs **59a**, bet attiecīgais *cis*-izomērs **59b** radās nenozīmīgā daudzumā. Neskatoties uz to, ka reakcija bija veiksmīga *cis-trans* izomēru attiecībā, tās iznākumi bija zemi. Reakcija nenotika līdz galam un nozīmīgs izejvielas daudzums tika izdalīts atpakaļ. Savukārt neracionālu Pd katalizatora un liganda daudzumu palielināšanu ierobežoja to augstā cena, tādēļ nolēmām meklēt citu metodi vielas **59a** iegūšanai.

Kā otru metodi izvēljamies hinolīnaldehīda **6u** reakciju ar fosfororganiskajiem reaģentiem **61a-c** bāzes klātienē, kas arī ļautu iegūt *trans*- un *cis*- izomēru **59a** un **b** maisījumu. Darbā mēs izmantojām trīs dažādus fosfororganiskos reaģentus **61a-c**, kurus sintezējām paši. Darba gaitā tika veikta metodes optimizācija, kurā kā mainīgie faktori tika izraudzīti fosfora reaģenti, bāze un šķīdinātājs.



Šajā procesā tika izmantoti fosfora reaģenti **61a-c**, kā bāzes izmēģinājām EtONa, Me₃COK, *n*-BuLi un NaH, reakcijas tika veiktas dažādos šķīdinātājos: DMSO, THF un THF:benzols (0,2:1) maisījumā. Tika atrasts, ka gan vislabāko *trans* : *cis* attiecību gan arī iznākumu dod **61a** deprotonēšana ar *n*-BuLi DMSO un sekojoša iegūtā ilīda reakcija ar

hinolīnaldehīdu **6u**. Šajos apstākļos kopējais produktu **59a, b** iznākums sastādīja 80%, bet *trans*-izomēra **59a** iznākums – 68%.

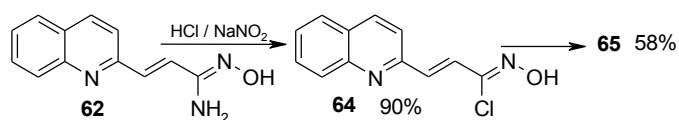


Sintēzes pēdējā stadijā tika veikta iegūto hinolīn akrilnitrilu **59a, b** reakcija ar NH_2OH . *trans*-Izomēra **59a** gadījumā reakcija ar NH_2OH deva gaidīto *N'*-hidroksiimīdamīda atvasinājumu **62**. *cis*-Izomērs **59b** izrādījās daudz mazāk aktīvs, un līdzīgos reakcijas apstākļos kā *trans*-izomērs **59a** vispār nereaģēja, bet, dubultojot NH_2OH daudzumu un palielinot reakcijas laiku, radās cits produkts **63** kā divu NH_2OH molekulu pievienošanas rezultāts. No šiem rezultātiem var secināt, ka *cis*-izomērā **59b** nitrilgrupa ir neaktīva un tikai tad, kad ir notikusi NH_2OH pievienošanās pie divkārsnās saites, nitrilgrupa sāk reaģēt ar NH_2OH . Pēdējā reakcija, acīmredzot, notiek ļoti ātri, jo eksperimenta laikā mums neizdevās konstatēt starpprodukta klātbūtni reakcijas maisījumā. Sintezētie savienojumi izrādījās neaktīvi kā HDAC inhibitori.

(*E*)-1-Aziridīn-1-il-3-hinolīn-2-il-propenonoksīma sintēze

Aziridīna ciklu saturošiem savienojumiem piemīt pretvēža aktivitāte. Šī darbā ietvaros mēs nolēmām sintezēt aziridīna ciklu saturošu savienojumu **65**.

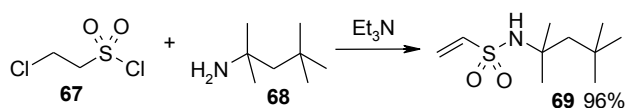
Savienojuma **65** iegūšanai izmantojām divstadiju procesu, kurš sastāvēja no akrilimīdamīda **62** transformācijas par hlorīdu **64** un tā sekojošas reakcijas ar aziridīnu.



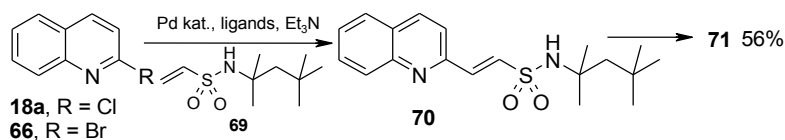
Iegūtā hloratvasinājuma **64** reakciju ar aziridīnu bija jāveic ļoti uzmanīgi vairāku iemeslu dēļ. Pirmkārt, aziridīna cikls ir nestabils un viegli var atvērties, tāpēc reakcija un produktu apstrāde jāveic bez sildīšanas. Otrkārt, aziridīns ir indīgs savienojums ar zemu kušanas temperatūru un, pirms pievienot to reakcijas maisījumam, tas ir rūpīgi jāatdzesē. Nestabilitātes dēļ arī produktu **65** nevar attīrīt hromatogrāfējot to uz silikagēla.

(*E*)-2-Hinolīn-2-il-etēnsulfonskābes amīda sintēze

Sulfonamīdi ir pazīstami kā pretvēža aģenti. Lai pārbaudītu, vai sulfonamīda funkcionālā grupa nevarētu darboties kā hidroksāmskābes **1** bioizostērs, tika nolemts sintezēt sulfonamīdu **71**.



Izvēloties par izejvielu sulfohlorīdu **67**, tā reakcijā ar amīnu **68** ieguvām attiecīgo amīdu **69** ar gandrīz kvantitatīvu iznākumu.



Iegūto vinilsulfonamīdu **69** sametinājām ar hlorhinolīnu **18a** Heka reakcijas apstākļos, taču kopumā šī transformācija gāja ar zemiem iznākumiem un, atkarībā no izmantotā katalizatora un liganda, kā piemaisījums dažādos daudzumos veidojās *homo*-sametināšanas produkts bis-hinolīns (q-q), kā arī pāri palika daudz neizreaģējušas izejvielas (8. tab.). Labākos rezultātus ieguvām ar $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, tris-*o*-tolilfosfīna un Et_3N kombināciju, kā izejvielu izmantojot 2-bromhinolīnu (**66**).

8. tabula

Amīda **70** iegūšanas apstākļi, iznākumi un konstatētie piemaisījumi

Eksper. Nr.	Izejviela	Pd kat.	Ligands	Bāze	Piedevas	70 (%)	Piemaisījumi
1	18a	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	PPh_3	Et_3N	-	pēdas	18a , q-q
2	18a	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	JohnPhos	K_3PO_4	-	16	18a , q-q
3	18a	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	JohnPhos	K_3PO_4	-	pēdas	18a
4	18a	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	<i>o</i> - ToI_3P	NaOAc	-	-	18a
5	18a	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	<i>o</i> - ToI_3P	K_3PO_4	$\text{Et}_3\text{BnN}^+\text{Cl}^-$	20	18a , q-q
6	66	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	<i>o</i> - ToI_3P	Et_3N	-	35	66 , q-q
7	66	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	<i>o</i> - ToI_3P	K_3PO_4	$\text{Et}_3\text{BnN}^+\text{Cl}^-$	18	66 , q-q
8	66	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	<i>o</i> - ToI_3P	DBU	-	pēdas	2-OH-hinolīns

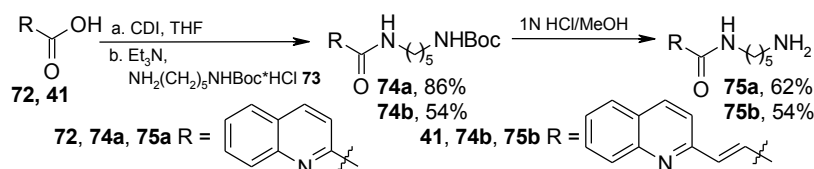
No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

1,5-Diaminopentāna linkeru saturošu savienojumu sintēze

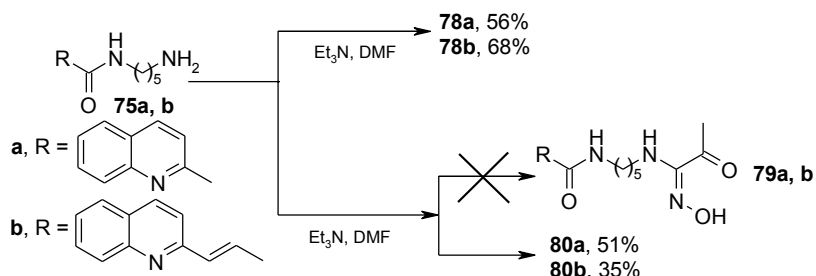
Analizējot informāciju par HDAC inhibitoru struktūras-aktivitātes likumsakarībām, secinājām, ka daudzas aktīvas struktūras satur garus alifātiskus linkerus (5-6 metilēngrupas). Balstoties uz šiem datiem, nolēmām sintezēt virkni jaunu savienojumu, kuru struktūrās būtu iekļauts šāda garuma linkers, vienlaicīgi pētot jaunu ar Zn^{2+} jonu saistīties spējīgu grupu izveidošanas iespējas.

Amīdoksīmu **78a, b** iegūšana no hinolīn-2-karbonskābes (5-aminopentil)amīda (**75a**) un (*E*)-*N*-(5-aminopentil)-3-hinolīn-2-il-akrilamīda (**75b**)

Turpinot pētījumus *N*-hidroksiimīdamīda grupu saturošu savienojumu kā potenciālu hidroksāmskābes bioizostēru izveidē, nolēmām sintezēt savienojumus **78a, b**, kuri hidroksāmskābes grupas vietā kā fragmentu, kurš varētu helatēties ar cinka jonu, saturētu metilaminoglioksīma grupējumu. Savienojumu **75a, b** sintēzē kā izejvielas izmantojām mono-Boc-aizsargāto 1,5-diaminopentānu **73**, un skābes **72** un **41**.



Amīnu **73** acilējām ar skābēm **72** un **41** CDI klātbūtnē, iegūstot amīdus **74a, b**.

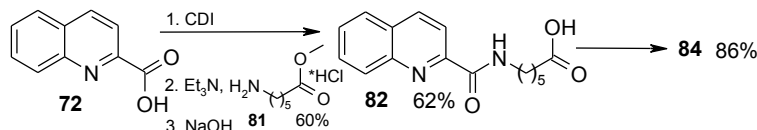


Boc-aizsarggrupas noņemšanai izmantojām 1N HCl šķīdumu MeOH, iegūstot amīnus **75a, b**. Lai iegūtu produktus **78a, b**, izmantojām amīnu **75a, b** reakciju ar hlorīdu **76**. Savā darbā bijām ieplānojuši sintezēt arī iegūtajiem savienojumiem **78a, b** līdzīgas struktūras **79a, b**, kuras vienas oksīma grupas vietā saturētu oksogrupu. Bet amīnu **75a, b** reakcijās ar hlorīdu **77** gaidīto propānimīdamīdu **79a, b** vietā radās acetilamīdi **80a, b**.

No promocijas darba ir izņemtas sadaļas, kurām varētu būt komerciāla nozīme.

Hinolīn-2-karbonskābes-(6-metānsulfonilamino-6-okso-heksil)amīda sintēze

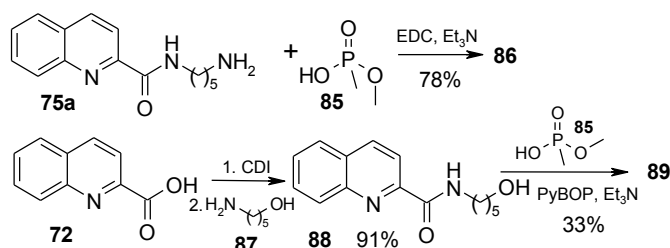
Turpinot pētījumus sulfonamīdu rindā, nolēmām sintezēt metilsulfonamīda atvasinājumu **84**, kurā sulfonamīda grupējums ar noteikta garuma linkeru būtu savienots ar karbonilgrupu. Kā izejvielu izmantojām skābi **72**, kura reakcijā ar CDI un amīnu **81** Et₃N klātbūtnē veidoja amidoesteri ar 60% iznākumu, kuru, savukārt, hidrolizējām par skābi **82**.



Sintēzes pēdējā stadijā karbonskābi **82** apstrādājām ar sulfonamīdu **83** CDI un DBU klātienē un ieguvām acilsulfonamīdu **84** ar 86% iznākumu.

Metilfosfonskābes metilestera atvasinājumu sintēze

Par potenciāli labu Zn⁺² saistības domēnu var kalpot metilfosfonskābes metilestera funkcionālā grupa. Balstoties uz literatūras datiem, mēs nolēmām sintezēt savienojumus **86** un **89**, kuros hidroksāmskābes grupa būtu nomainīta ar *O*- un *N*-tiltiņu palīdzību piesaistītu metilfosfonskābes metilestera fragmentu. Metilfosfonskābes metilesteri **85** ieguvām no metilfosfonskābes dimetilestera, hidrolizējot to ar NaOH šķīdumu ar 84% iznākumu. Lai sintezētu savienojumu **86**, kurā fosforu saturošais fragments būtu pievienots pie pamatstruktūras ar *N* tiltiņu, izmantojam amīnu **75a**, kuru apstrādājām ar metilfosfonskābes metilesteri **85** EDC klātienē.



Savienojumu **89**, kurā fosforu saturošais fragments ir pievienots pie pamatstruktūras ar *O*-tiltiņa palīdzību, sintezējām no skābes **72**, kondensējot to ar aminopentanolu **87** EDC klātienē. Tālākā hidroksisavienojuma **88** reakcija ar metilfosfonskābes metilesteri **85** deva gaidīto produktu **89**.

Secinājumi

1. Izstrādāta metodoloģija (*E*)-*N*-hidroksi-3-(aizvietotu-hinolīn-2-il)-2-propēnamīdu sintēzei no attiecīgiem karbonskābju esteriem, apstrādājot tos ar hidroksilamīnu nātrija etilāta klātbūtnē. Ar šo metodi var sekmīgi iegūt hidroksāmskābes no savienojumiem, kuri satur aktīvas divkārsās saites.
2. Noskaidrots, ka sintezētais *N*-hidroksi-2-[(2-metilhinolīn-4-il)oksi]acetamīds DMSO šķīdumā eksistē 2 tautomēro formu – hidroksāmskābes un hidroksīmskābes – dinamiska līdzsvara veidā attiecībā 7 : 1. Arī pārējām sintezētajām hidroksāmskābēm konstatēta hidroksīmformas klātbūtne DMSO šķīdumā, taču tās daudzums ir niecīgs.
3. Izstrādāta metodoloģija (*E*)-*N*-(aizvietotu)-3-(hinolīn-2-il)-2-propēnamīdu sintēzei no (*E*)-3-(hinolīn-2-il)akrilskābes un attiecīgiem aromātiskiem amīniem.
4. Ir parādīts, ka (*E*)-3-(hinolīn-2-il)akrilskābes hloranhidrīda reakcijā ar oksazola metālorganisko kompleksu var iegūt (*E*)-1-(1,3-oksazol-2-il)-3-(hinolīn-2-il)-2-propēn-1-onu, neskatoties uz to, ka izejvielas struktūra satur aktīvu divkārsšo saiti.
5. No (*E*)-4-hinolīn-2-il-but-3-en-2-ona sintezēts 1,1,1-trifluoro-6-hinolīn-2-il-heks-5-ēn-2,4-dions un noskaidrots, ka tas eksistē pārsvarā (1*E*,4*Z*)-6,6,6-trifluoro-5-hidroksi-1-hinolīn-2-ilheksa-1,4-diēn-3-ona formā, kas nodrošina (*E*)-3-(2-(hinolīn-2-il)vīnīl)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidroizoksazol-5-ola veidošanu tālākā reakcijā ar hidroksilamīnu.
6. Izstrādāta metodoloģija tioetiķskābes-*S*-[(*E*)-4-(6-aizvietotu-hinolīn-2-il)-2-okso-but-3-enil]esteru sintēzei no attiecīgajiem hinolīnaldehīdiem un tioetiķskābes-*S*-[2-okso-3-(trifenil-λ-5-fosfaniliden)propil]estera.
7. Variējot šķīdinātājus, bāzes un fosforsaturošos reaģentus, ir izstrādāta un optimizēta metode (*E*)-3-hinolīn-2-il-akrīlnitrila iegūšanai no hinolīnaldehīda.
8. Ir izstrādātas metodoloģijas hinolīnsaturošu hidroksāmskābes potenciālu bioizostēru sintēzei. Kopumā darba gaitā ir sintezēti 27 potenciāli hidroksāmskābes bioizostēri. Darba gaitā ir iegūti savienojumi ar sekojošiem Zn²⁺ jona saistības domēniem: *orto*-fenilēndiamīna atvasinājumi, heterocikliskie amīdi, acil-2-oksazols, *S*-2-oksoetiltioacetātgrupa, *N*'-hidroksiimīdamīdi, aziridīnoksīms, trifluorometilaizvietots dihidroizoksazols, amīdoksīmi, *N*-aizvietotie tiohidroksilamīdi, aizvietotie sulfonamīdi vai metilfosfonskābes.

Introduction

Since 1990, the number of oncological disease cases in Latvia has increased almost two-fold and the total number of patients in 2008 has reached 60,797. Control of oncological diseases is one of the most urgent tasks for doctors, pharmacists and chemists throughout the world.

The human body consists of $\sim 10^{13}$ cells and each of them has its own functions. In some cases, cell structure can change under the influence of various factors, and they can start to multiply uncontrollably losing the ability to recognize and repeat the original cell structure and turn into cancer cells. Defective cells form tumors which penetrate other organs and tissues and interfere with their activity.

Our work is based on biological studies showing that normalization of the functioning of cancer cell DNA may interrupt or terminate the "incorrect" information release to other cells, initiate oncological cell differentiation, apoptosis, or even convert them back to normal cells.

Histone deacetylases (HDAC) are Zn^{2+} ion containing enzymes which together with histone acetyltransferases (HAT) are responsible for histone acetylation – deacetylation processes in the cell. The incorrect regulation of these processes leads to inappropriate gene expression, and this is one of the main reasons of oncological cell emergence and growth. It was shown that oncoproteins use the inappropriate HDAC-mediated transcriptional repression resulting in changes of chromatin structure that blocks normal cell functioning. The data obtained in recent years show that HDAC inhibitors directly affect transcription of DNA in the cancer cell. They can reactivate gene expression, initiate cancer cell differentiation, cell cycle arrest and apoptosis.

Taking into account the literature data and our previous experience, we chose to synthesize quinoline containing compounds which could act as HDAC inhibitors. Current doctoral theses have been devoted to the synthesis of heteroaromatic cycle containing HDAC inhibitors and to the studies of their structure - activity relationships.

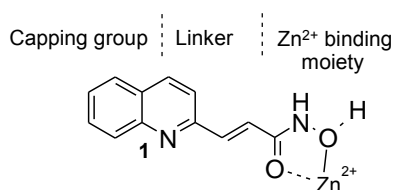
Purpose of the work

The main tasks of this thesis work are the synthesis of new HDAC inhibitors containing quinoline cycle and studies of their structure - activity relationships. To achieve this goal the following objectives were set:

- 1) summarize and analyze the literature data about HDAC inhibitors, their mechanisms of action and methods for the synthesis,
- 2) develop a methodology of the synthesis of (*E*)-*N*-hydroxy-3-quinolin-2-yl-acrylamide derivatives and analogues,
- 3) investigate possibilities of modification of the linker part of quinoline containing molecules,
- 4) identify prospective chemical fragments that may act as alternative Zn^{2+} ion binding domains (bioisosteres) to hydroxamic acid and develop the methods of their incorporation in the target molecules.

Results

Latvian Institute of Organic Synthesis (IOS) has been involved in research related to HDAC inhibitor synthesis for a long time. One of the most active compounds synthesized at IOS is (*E*)-*N*-hydroxy-3-quinolin-2-yl-acrylamide (**1**) (Fig.1). It shows high biological activity in HDAC enzyme inhibition tests with $IC_{50} = 35$ nM (HeLa). Guided by the analysis of literature data and IOS's experience, as a target of our work we chose such new hydroxamic acid synthesis that would contain a quinoline fragment in its structure similarly to **1** (Fig.1. shows a chelate structure of **1** with Zn^{2+} ion).



1. Fig. 1. The pharmacophoric domains of the synthesized compounds shown on the acrilamide **1** example

In order to improve the activity and get a perspective view of HDAC catalytic region modifications of the compound **1** were performed. By changing the substituent spatial volume, nature and attachment point to the quinoline ring, we could find active analogues and explore the potential inhibitor interaction possibilities with the HDAC catalytic region as well.

Modifications of the linker part could allow evaluating the parameters of the catalytic pocket. Borderline between the linker part and the receptor surface domain is not strictly defined; it depends on the molecular structure and its position in the catalytic pocket. In the molecule **1**, it is likely that pyridine part of the quinoline cycle also performs the linker's functions and its position is in the upper part of the catalytic pocket. We made changes to the linker structure, length and attachment position to get a perspective view of the HDAC catalytic region as well as to synthesize active analogues of the lead structure **1**.

Zinc chelating group affects the activity of the compound and selectivity towards specific HDAC isoforms. During this research, we were searching hydroxamic acid bioisosteres among different functional groups and their compositions to identify perspective chemical fragments that could interact with the Zn^{2+} ion and the HDAC catalytic region.

Synthesis and SAR profile of quinoline cycle containing hydroxamic acids

Synthesis of (*E*)-*N*-hydroxy-3-quinolin-2-yl-acrylamides

(*E*)-*N*-Hydroxy-3-quinolin-2-yl-acrylamide **1** was selected as a lead compound for further modification. To investigate the influence of the substituents at the quinoline cycle on the

inhibitory activity of the compound the modifications were performed in this part of the molecule keeping intact the double bond linker and the Zn²⁺ chelating group.

Synthesis of 2-methylquinolines via Skraup reaction

A large part of the required 2-methylquinoline derivatives were obtained via the modified Skraup reaction (Fig. 2) that is based on aniline treatment with unsaturated aldehydes in the presence of the oxidizing agent (chloranil) producing the quinoline derivatives. If crotonic aldehydes are used, the reaction results in 2-methylquinolines. Eight quinolines **3a-h** and **4a-h** were obtained from *para* and *meta* substituted anilines **2a-h**. In the case of *p*-substituted anilines **2b-f, h**, the reaction afforded sole products **3b-f, h**, whereas if the substituent was in the *meta* position, two differently substituted quinolines **3a, g** and **4a, g** formed.

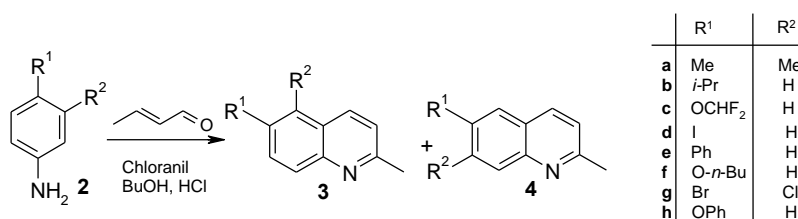


Fig. 2. The general scheme of the Skraup reaction

Based on the LIOS previous experience, the highest activity was expected for 6- and 6,7-substituted compound **1** analogues. Since the classic Skraup reaction in the case of 3,4-disubstituted anilines would yield disubstituted quinoline **3** and **4** mixture (~ 1:1) we used the modified Skraup reaction that allowed obtaining mostly 6,7-substituted products (Tab.1).

Table 1

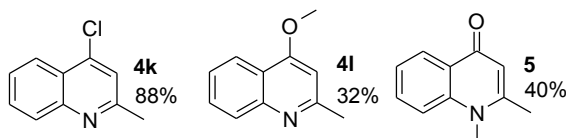
Skraup reaction conditions and yields

Amine 2	R ¹	R ²	Crotonaldehyde add. time (min)	Quinaldines	
				Nr.	Yields (%)
a	Me	CH ₃	60	3a	4
a	Me	CH ₃	60	4a	43
b	<i>i</i> -Pr	H	40	4b	88
c	OCHF ₂	H	40	4c	53
d	I	H	15	4d	41
e	Ph	H	35	4e	77
f	OBu	H	45	4f	31
g	Br	Cl	60	4g	32
g	Br	Cl	60	3g	7-21
h	OPh	H	90	4h	47

Final products were obtained in a form of zinc chloride complexes, and we managed to get the compounds **4a** and **3a** in 10:1 ratio, but the **4g** and **3g** - in 5:1 ratio. In iodoaniline **2d** reaction with crotonic aldehyde, a mixture of 6-iodoquinaldine and unsubstituted quinaldine (3:2) was obtained. Such a result could be associated with the fact that iodo-substituent readily deiodinates in the presence of a weak reducing agent. It is possible that *n*-BuOH may have acted as such reducing agent. By shortening the reaction time, we managed to increase the ratio to 6:1 in favor of the required product **4d**.

Modifications of the substituents of quinaldine cycle

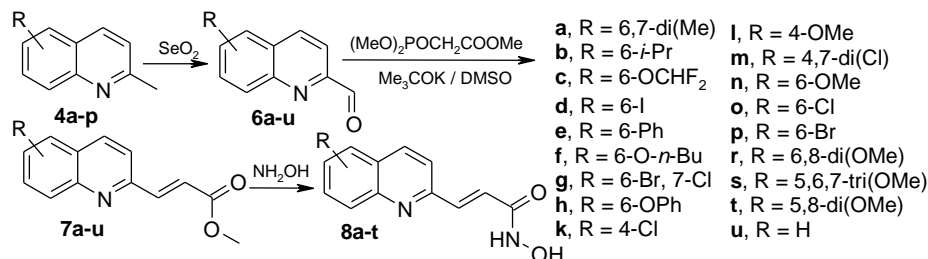
To expand the library of quinoline containing hydroxamic acids, the modifications of the substituents were made. One option was to replace the 4-hydroxy group of quinaldine with a chlorine atom by treating the former with phosphorus oxychloride. This conversion yielded 4-chloroquinaldine (**4k**).



For the same purpose, 4-hydroxyquinaldine was alkylated with MeI in the presence of K_2CO_3 . The reaction yielded *O*-alkylation product **4l** and its *N*-methyl regioisomer **5** in a ratio of 3:4. Since only *O*-alkylation product **4l** in hexane was soluble, we were able to easily separate one isomer from another.

Synthesis of quinolinylacrylamides from the corresponding acrylic acid methylesters

In order to get acrylamides **8a-p** from quinaldines **4a-p** we used the three stage process. The quinaldines **4m-p** were purchased from commercial sources.



In the first stage, the methyl groups of quinolines **4a-p** were oxidized with SeO_2 to aldehydes **6a-p** (Tab. 2). The quinolinealdehydes **6r-s** were purchased from commercial sources. Two approaches were used for the further synthesis of acrylic acids.

Horner-Wadsworth-Emmons reaction. By reaction of the aldehydes **6a-u** with methyl-2-(dimethoxyphosphoryl) acetate in the presence of Me_3COK in DMSO we obtained substituted acrylic acid methyl esters **7a-u** (Tab. 2) in yields from 16 to 89%.

Table 2

Compounds **6a-p**, **7a-u** and **8a-t**: yields

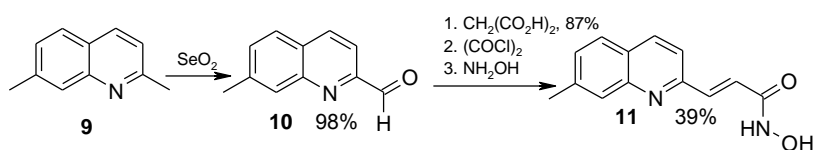
4	R	6 (%)	7 (%)	8 (%)
a	6,7-di(Me)	50	41	88
b	6- <i>i</i> -Pr	36	79	83
c	6-OCHF ₂	85	45	70
d	I	70	80	54:46 ^{**}
e	6-Ph	70	51	45
f	6-OBu	87	89	94
g	6-Br, 7-Cl	89	16	74
h	6-OPh	77	70	60
k	4-Cl	66	31	40
l	4-OMe	72	56	40
m	4,7-di(Cl)	86	81	49
n	6-OMe	68	72	23
o	6-Cl	70	54	57
p	6-Br	97	59	57
r	6,8-di(OMe)	-	87	36
s	5,6,7-di(OMe)	-	81	70
t	5,8-di(OMe)	-	83	77
u	H	-	74	-

^{**} (*E*)-*N*-Hydroxy-3-(6-iodoquinolin-2-yl)acrylamide and (*E*)-3-(6-iodoquinolin-2-yl)acrylic acid mixture.

^{***}Inhibitory activity at the substrate concentration of 100 nM.

It was observed that the yields depended not only on the Horner-Wadsworth-Emmons reaction conditions but also on the purity of the employed **6a-u** (mainly selenium impurities remaining in the aldehydes). We carried out an optimization of the method for the mentioned reaction in terms of the base and solvent effect on the yield of the desired product. Optimization was carried out on ester **7u** example using unsubstituted aldehyde **6u** as a starting material. It was established that the best reaction conditions were Me₃COK /DMSO affording **7u** in 74% yield after column chromatography.

Knoevenagel condensation. Knoevenagel condensation was used for the synthesis of compound **11**.



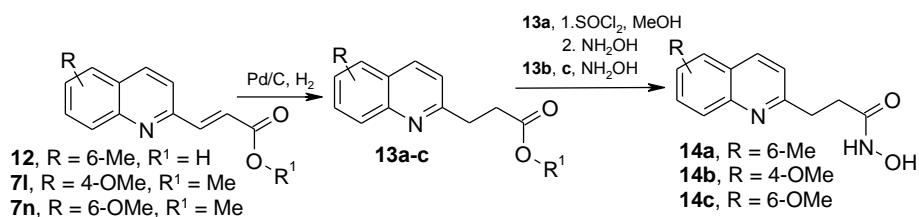
After obtaining the aldehyde **10**, the side-chain extension was performed with malonic acid using piperidine as a catalyst. In the first step of the reaction, 2-(7-methylquinolin-2-ylmethylene)malonic acid was produced which was decarboxylated in the following step yielding (*E*)-3-(7-methyl-quinolin-2-yl)acrylic acid (87%). A treatment of the acrylic acid with oxalyl chloride produced the acid chloride which upon the reaction with NH₂OH yielded hydroxamic acid **11**. This method of the acrylic acid containing linker construction can be used as an alternative to the Horner-Wadsworth-Emmons reaction.

The reaction of esters **7a-t** with NH₂OH was carried out using the following method. By treating the NH₂OH·HCl solution in MeOH with NaOEt and filtering off NaCl we obtained a fresh solution of NH₂OH. NH₂OH usually is taken in a large molar excess compared to the employed esters. The reaction included fast forming of hydroxamic acid sodium salts which could be easily converted to free hydroxamic acids **8a-t** by neutralization with acetic acid or dilute hydrochloric acid.

Synthesis of *N*-hydroxy-3-quinolin-2-yl-propionamides

One of the aims of the current research was to develop such compounds that would contain a variety of modifications in the linker domain part. As the starting structures for further modification (*E*)-*N*-hydroxy-3-quinolinyl acrylamides **8l** and **8n** were chosen. These compounds are interesting by their activity and we decided to synthesize their analogues with a saturated linker part. Saturated linkers would enable the molecule to accommodate HDAC catalytic pocket more freely, and the access to the Zn²⁺ ion could be facilitated contrary to the unsaturated linker that stabilizes the molecules geometrical shape making it almost planar.

N-Hydroxy-3-quinolin-2-yl-propionamides **14a-c** were synthesized from the corresponding acrylic acid **12** or acrylic acid esters **7l** and **7n** by reducing the double bond in methanol with H₂ in the presence of Pd/C catalyst (Tab.3).



In the next stage, the methyl esters **13b, c** (R¹ = OMe) were treated with NH₂OH yielding compounds **14b, c**. Alternatively, the carboxylic acid **13a** (R¹ = H) was converted into the ester with MeOH in the presence of thionyl chloride directly after the hydrogenation. The reaction with NH₂OH gave the hydroxamic acid **14a**.

Table 3

Methyl esters **13a-c** and propionamides **14a-c**: yields and **14a-c** HDAC activity

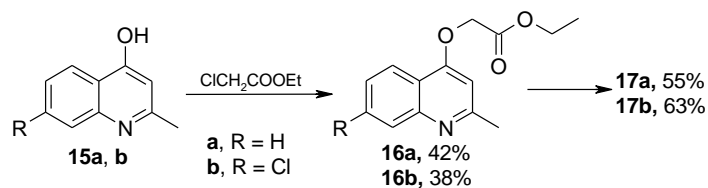
	13 (%)	14 (%)

a	65*	43
b	94	96
c	81	48

*The total yield of the two stages (hydrogenation and esterification).

Synthesis of *N*-hydroxy-2-(2-methylquinolin-4-yloxy)acetamides

In compounds **17a, b** an oxygen atom is incorporated into the linker structure and the linker connection position to the quinoline cycle has been changed from 2-quinolinyl- to 4-quinolinyl-.



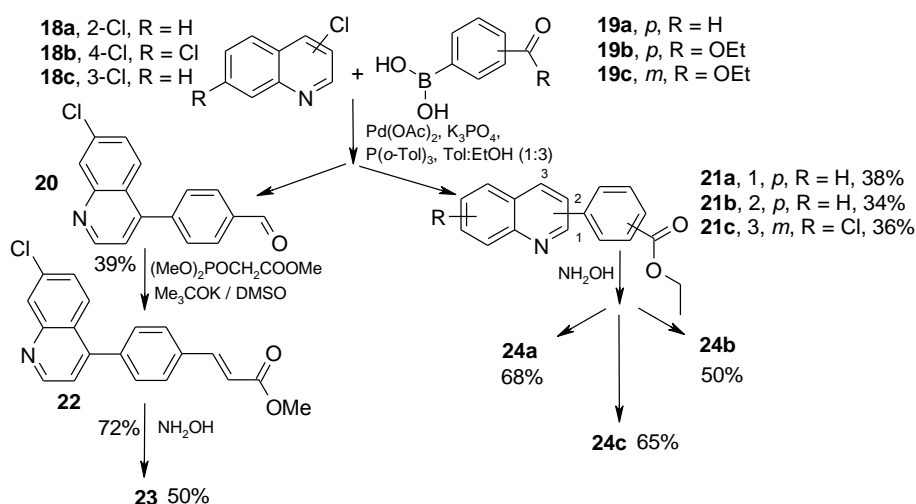
These changes were made with the aim of finding an alternative linker attachment position and assessing the influence of the oxygen atom incorporation into the linker to the activity of the compound.

Synthesis scheme of the compounds **17a, b** involves O-alkylation of quinaldines **15a, b** with chloroacetic acid ethyl ester and a treatment of the resulting esters **16a, b** with NH_2OH . Analysis of the ^1H NMR spectrum revealed that the compound **17a** exists as a dynamic mixture of two tautomeric forms - hydroxamic acid and hydroximic acid in a ratio of ~ 7:1. In the case of other hydroxamic acids synthesized during the current work, similar signal duplication was observed, however, the presence of the hydroximic acid form was not so pronounced.

Synthesis of (*E*)-3-[4-(7-chloroquinolin-4-yl)phenyl]-*N*-hydroxyacrylamide and *N*-hydroxy-quinolinylbenzamides

Continuing the studies related with the linker modifications, our next goal was to include aromatic fragments into the linker part of the molecule. We used the Suzuki reaction for the synthesis of compounds **23** and **24a-c**.

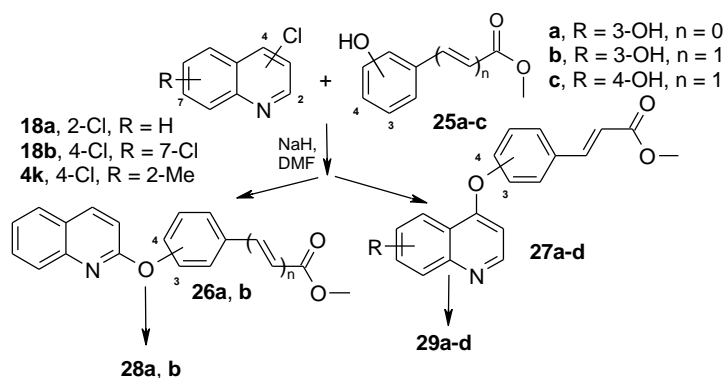
Starting from chloroquinolines **18a-c** and boronic acids **19a-c**, we obtained a derivative of benzaldehyde **20** and benzoic acid ethyl esters **21a-c** by the Suzuki reaction. In our case, the Suzuki reaction gave yields of < 40%.



Further in the reaction, the aldehyde **20** with dimethyl phosphonate reagent gave ester **22**. Synthesized esters **21a-c** and **22** were converted into hydroxamic acids **23** and **24a-c** by reaction with NH₂OH.

Synthesis of quinolinyloxyphenylacrylamides

Continuing the potential HDAC inhibitors linker's diversity research, we decided to synthesize the compound **1** analogues with linkers containing aromatic fragments and a heteroatom.



For synthesis of compounds with the oxyphenyl linker we used a two stage protocol, which consisted of esters **25a-c** arylation and condensation of resulting esters **26a, b** and **27a-d** with NH₂OH (Tab. 4).

Table 4

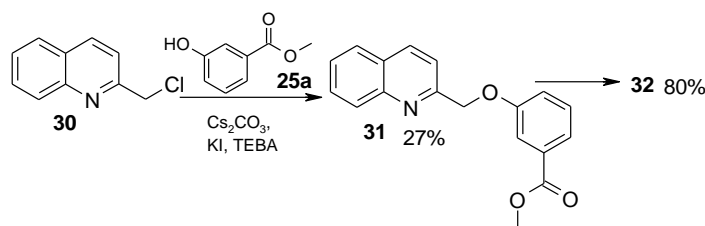
Hydroxamic acids **28a, b**, **29a-d** and their precursors **26a, b**, **27a-d**: yields and

Nr.	Yields (%)	Nr.	Yields (%)
26a	20	28a	80
26b	33	28b	48
27a	24	29a	91
27b	95	29b	55

27c	67	29c	80
27d	91	29d	90

Synthesis of *N*-hydroxy-3-(quinolin-2-ylmethoxy)benzamide

The compound **32** was synthesized to extend the oxyphenyl fragment containing linker. For the synthesis of the desired compound **32** a two stage process was used. The first stage is benzoic acid methylester **25a** alkylation reaction and the second stage is the ester **31** condensation with NH₂OH.

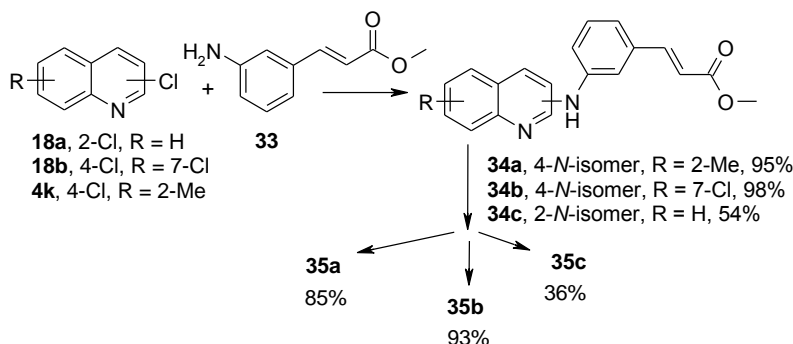


The ester's **25a** alkylation with chloromethylquinoline **30** in the presence of Cs₂CO₃ and KI leads to the product **31**. To increase the solubility of the phenolate of phenol **25a**, a TEBA was added to the reaction mixture. The hydroxamic acid **32** was obtained by treatment of the precursor **31** with NH₂OH.

Synthesis of *N*-hydroxy-3-(quinolinylaminophenyl)acrylamides

Continuing the research of linker modifications, our next aim was to synthesize and verify the effectiveness of inhibitory activity of aminophenyl linker containing compounds. Synthesis of compounds with aminophenyl linker **35a-c** was achieved by 2- or 4-chloroquinoline **3k**, **18a**, **b** aminoarylation and the resulting esters **34a-c** condensation with NH₂OH. The starting compounds **3k**, **18a**, **b** in the reaction with acrylic acid ester **33** yielded derivatives **34a-c**. Their treatment with NH₂OH gave the hydroxamic acids **35a-c**.

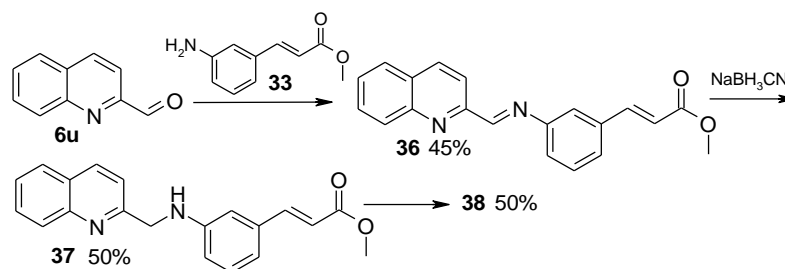
All synthesized aminophenyl linker-containing compounds possess considerably higher activity than the respective oxyphenyl linker-containing analogues; it proves that the amino group has the practical significance in the interaction with the catalytic pocket of HDAC.



Synthesis of (*E*)-*N*-hydroxy-3-{3-[(quinolin-2-ylmethyl)amino]phenyl}acrylamide

To investigate the aminophenyl linker-containing length effect on the compounds activity, we decided to synthesize the compound **35c** analogue **38**, where the linker has been extended by one methylene group.

For the synthesis of compound **38** we used quinolin-2-aldehyde reductive amination reaction with aniline derivative **33** that resulted in the ester **36**.



The imine derivative **36** synthesis was carried out by the reaction of **6u** with **33** in MeOH followed by reduction with NaBH_3CN , this reaction was catalyzed by acetic acid. After 15 min. stirring, we gained the necessary product **37**. The last stage of the process was the compound **37** treatment with NH_2OH that yielded the hydroxamic acid **38**.

Synthesis and SAR profile of non-hydroxamic acid potential HDAC inhibitors

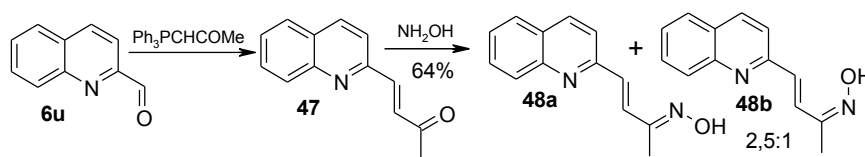
Despite the fact that hydroxamic acids act as effective HDAC inhibitors, their biological activity profile in the body limits their medical use. Therefore hydroxamic acid bioisostere investigations are an important issue to serve this goal. An ideal hydroxamic acid bioisosteric group should effectively interact with the catalytic center on the whole, not only with Zn^{2+} ion, and through this would be selective with regard to other metal containing proteins.

The next aim of our work was synthesis of compound **1** analogues that would contain a potential bioisosteric group instead of hydroxamic acid functional group.

Synthesis of 3-((*E*)-2-quinolin-2-yl-vinyl)-5-trifluoromethyl-4,5-dihydroisoxazol-5-ol

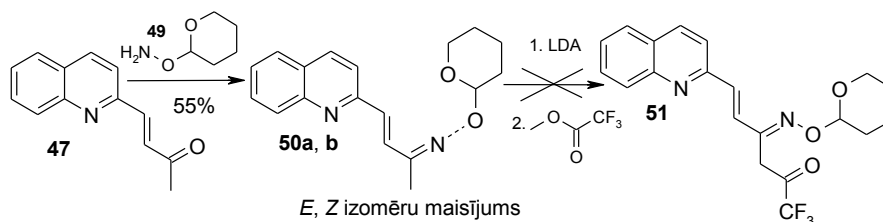
Compounds containing the electrophilic trifluoromethylketone group are known as HDAC inhibitors. Considering this knowledge, we decided to synthesize a compound **53** containing trifluoromethyl isoxazole group as a potential hydroxamic acid bioisosteric group. During the work, we have tried several methods.

Method 1. The aldehyde **6u** was used as a starting compound that gave the product **47** during Wittig reaction. The reaction was carried out in different solvents (the best of them- DMSO - 95%). The next step was the synthesis of oximes **48a, b** from ketone **47** followed by the BuLi deprotonation of the hydroxyl and methyl groups of the oximes and treatment of the acquired dianion with trifluoroacetic acid methyl ester to obtain the desired product **53**.



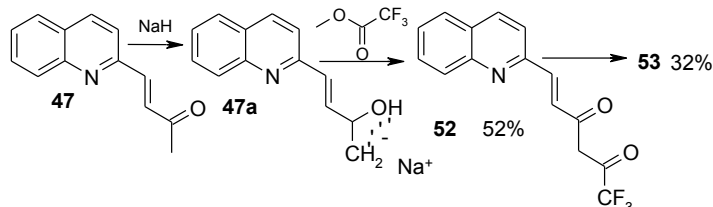
Akrilketone **47** reaction with NH_2OH gave the mixture of *cis* and *trans* oximes **48a**, **b** (1:2,5). Unfortunately, trifluoroacetic acid methyl ester reaction with deprotonated oximes **48a**, **b** was unsuccessful.

Method 2. One of the possible methods for synthesis of the product **53** would be the use of monoanion instead of oxime **48a**, **b** dianion. The first step was oxime **50a**, **b** hydroxyl group protection. In our case, we used *O*-(tetrahydropyran-2-yl)hydroxylamine **49**.



During the first stage - the protected hydroxylamine **49** reaction with ketone **47**, the mixture of *cis* and *trans* products **50a**, **b** with yield 55% was obtained. Isolation of the isomers by column chromatography was complicated because both isomers and starting ketone have the same R_f . Unfortunately, the next reaction with LDA did not give the desired results, and only minimal amount of the product **53** was noticed in ^1H NMR spectrum.

Method 3. The first step of the planned reaction sequence was **47a** anion generation. Both LDA and NaH were tested for the deprotonation of ketone **47** methyl group.



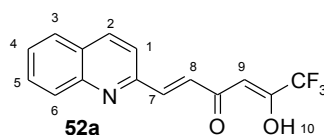
Reaction with LDA was unsuccessful - we observed only products of **47** decomposition. We were able to successfully abstract a proton by using NaH, and the resulting enolate **47a** reaction with trifluoroacetic acid methyl ester gave diketone **52**. The diketone **52** exists as an equilibrium of two enol forms. During this investigation we found that compound **52** ^1H NMR spectra in different

solvents (DMSO-d₆, CDCl₃ and THF-d₈) are significantly different (Tab. 7). For example, OH (10) proton was not observed in DMSO-d₆ and CDCl₃ spectra, it was found only in the THF-d₈ spectrum. One of the double bond protons (8) also was not observed in DMSO-d₆ spectrum, but one of the quinoline protons (1) gave a broad doublet. The signal dispersion could be explained by the ketone **72** and enol-forms fast equilibrium interchanges.

After the treatment of diketone **52** with NH₂OH, we managed to get the product **53**. It was found that the best solvents for this reaction were benzene and THF.

Table 7

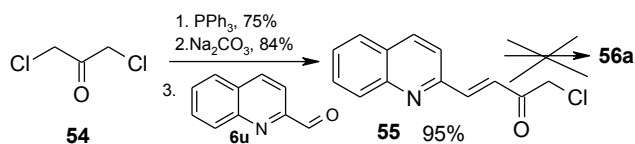
Enol **52a** ¹H NMR (DMSO-d₆, CDCl₃ and THF-d₈) spectrum data



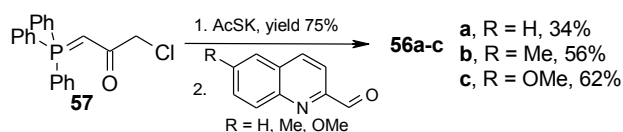
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DMSO-d ₆	7.85	8.35	7.95	7.58	7.75	7.99	7.42	n.n.	5.29	n.n.
	8.6	8.5	8.0	8.0	8.5	8.5	15.9		(pl.s)	
	(pl.d)	(d)	(d)	7.0 1.1 (ddd)	7.0 1.5 (ddd)	(d)	(d)			
CDCl ₃	7.49	7.93	7.95	7.39	7.57	7.64	7.51	7.07	5.70	n.n.
	8.6	8.6	8.1	8.1	8.4	8.4	15.9	15.9	(s)	
	(d)	(d)	(d)	7.0 1.1 (ddd)	7.0 1.6 (ddd)	1.1 (dd)	(d)	(d)		
THF-d ₈	7.74	8.00	7.81	7.48	7.66	8.18	7.59	7.22	5.62	4.81
	8.5	8.5	8.0	8.0	8.4	8.4	15.8	15.8	(s)	(pl.s)
	(d)	(d)	(d)	7.0 1.0 (ddd)	7.0 1.4 (ddd)	(d)	(d)	(d)		

Synthesis of thioacetic acid *S*-((*E*)-2-oxo-4-(6-substituted-quinolin-2-yl)but-3-enyl) esters

In several works, *S*-2-oxoethylethanethioate group was described as a potentially interesting Zn²⁺ ion chelating group. Two methods were tested for the synthesis of thioacetic acid esters **56a-c**.



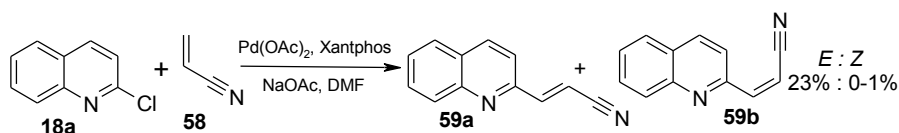
In the first method, triphenylphosphine reaction with 1,3-dichloroacetone (**54**) gave 1-chloro-3-(triphenylphosphoranylidene)acetone whereas the subsequent reaction with Na_2CO_3 turned it into the phosphorane **57**. Subsequent reaction with aldehyde **6u** gave the expected compound **55**; different solvents were tried (the best among them – DMSO, 95%) for this reaction. Unfortunately, the further reaction of the resulting intermediate **55** with potassium thioacetate was unsuccessful.



In the second method, treatment of previously acquired phosphorane **57** with potassium thioacetate gave thioacetic acid S-[2-oxo-3-(triphenyl- λ^5 -phosphanylidene)propyl] ester that gave the desired products **56a-c** during the further reaction with appropriate quinolinealdehydes.

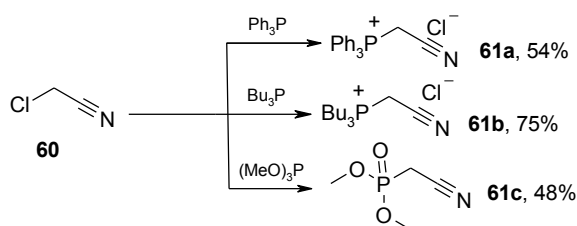
(*E*)-*N*-Hydroxy-3-quinolin-2-yl-acrylamidine and *N*-hydroxy-3-hydroxyamino-3-quinolin-2-yl-propionamidine synthesis

The *N*-hydroxyimidamide functional group containing compounds were obtained by two approaches. In the first one, 2-chloroquinoline **18a** was treated with acrylonitrile **58** in the presence of Pd-catalyst.

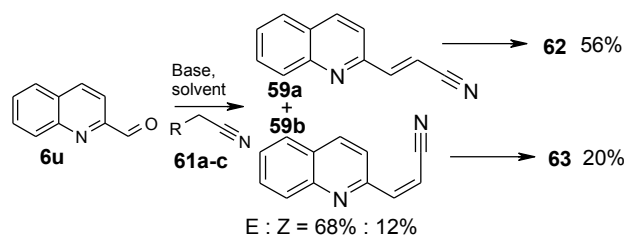


The reaction resulted in the *trans* isomer **59a**. Despite the fact that the reaction was successful, the yield of the product was too low and the Pd catalyst and ligand use was limited by the high price, so we decided to look for another method to obtain the compound **59a**.

In the second approach, quinolinealdehyde **6u** reaction with organophosphorus reagents **61a-c** gave the mixture of *trans* and *cis* isomers **59a** and **b**. Optimization of the current reaction conditions was made. We used three different organophosphate agents **61a-c** in our work.



For the optimization process the phosphorus reagents **61a-c** were used and as the base were tried EtONa, Me₃COK, *n*-BuLi and NaH.



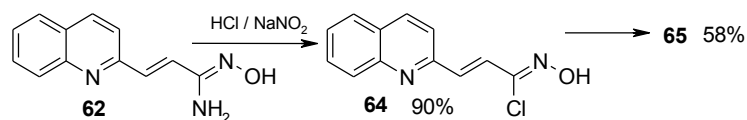
Reactions were carried out in such solvents as DMSO, THF and the mixture of THF: benzene (0.2:1). It was found that the best *trans*: *cis* ratio, as well as the yields gave the combination of phosphorderivative **61a**, *n*-BuLi, DMSO. In this case, the total yield of the mixture **59a, b** was 80%, while that of pure *trans* isomer was 68%.

The last step of the synthesis was quinolineacrylonitriles **59a, b** reaction with NH₂OH. In the *trans*-isomer **59a** case, reaction with NH₂OH gave the desired product **62**. While the *cis* isomer **59b** appeared much less active and did not respond under the similar reaction conditions as for the *trans*-isomer, however, the another product - **63** was obtained as a result of addition of two NH₂OH molecules after doubling the amount of the NH₂OH and increasing reaction time. It could be concluded from these results that the *cis* isomers **59b** nitrile group is inactive and it starts to react with NH₂OH only after addition of NH₂OH to the double bond.

Synthesis of (*E*)-1-aziridin-1-yl-3-quinolin-2-yl-propenone oxime

It is known that aziridine cycle containing compounds possess anti-cancer activity. During this research, we decided to synthesize aziridine cycle containing compound **65**.

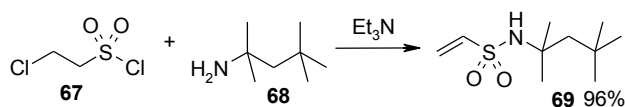
Two stage process was used for the synthesis of **65**. It consisted of acrylimideamide **62** transformation into chloride **64** and its subsequent reaction with aziridine.



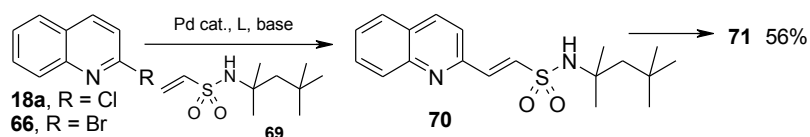
The resulting chlorinated derivative **64** reacted with aziridine in the presence of Et₃N and gave product **65** that cannot be chromatographed on silica gel due to its instability.

Synthesis of (*E*)-2-quinolin-2-yl-ethenesulfonic acid amide

Sulphonamides have been recognized as valuable anti-cancer agents. It was decided to synthesize sulfonamide **71** to examine whether sulphonamide functional group could act as a hydroxamic acid bioisostere.



We obtained the amide **69** in sulfochloride **67** reaction with amine **68**. Reaction consists of two chemical transformations - amidation and HCl elimination.



The next step is ethenesulfonic acid (1,1,3,3-tetramethylbutyl)amide **69** reaction with chloroquinoline **18a** in the Heck reaction conditions. In general, this transformation gave low yields, were different amounts of bis-quinoline as main impurity are formed depending on the catalyst and ligand (Tab. 8).

Table 8

Amide **70** synthesis conditions, yields and identified impurities

Nr.	Start. comp.	Pd cat.	Ligands	Base	Additive	70 (%)	Imp.
1	18a	Pd(OAc) ₂	PPh ₃	Et ₃ N	-	signs	18a , q-q
2	18a	Pd(OAc) ₂	JohnPhos	K ₃ PO ₄	-	16	18a , q-q
3	18a	Pd ₂ (dba) ₃	JohnPhos	K ₃ PO ₄	-	signs	18a
4	18a	Pd(OAc) ₂	<i>o</i> -Tol ₃ P	NaOAc	-	-	18a
5	18a	Pd(OAc) ₂	<i>o</i> -Tol ₃ P	K ₃ PO ₄	Et ₃ BnN ⁺ Cl ⁻	20	18a , q-q
6	66	Pd(OAc)₂	<i>o</i>-Tol₃P	Et₃N	-	35	66 , q-q
7	66	Pd(OAc) ₂	<i>o</i> -Tol ₃ P	K ₃ PO ₄	Et ₃ BnN ⁺ Cl ⁻	18	66 , q-q
8	66	Pd(OAc) ₂	<i>o</i> -Tol ₃ P	DBU	-	signs	2-OH-quinoline

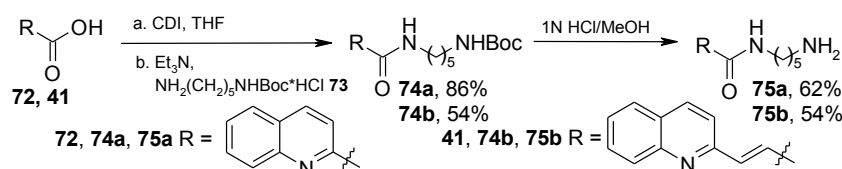
The best results (Tab. 8) we gained with the catalyst, ligand and base combination of Pd(OAc)₂, tris-*o*-tolylphosphine and Et₃N, and as starting material using 2-bromoquinoline (**66**). Bis-quinoline (q-q) is *homo* coupling product.

Synthesis of 1,5-diaminepentane linker containing compounds

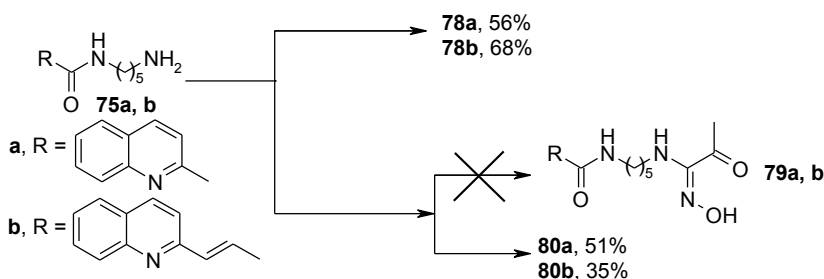
After the analysis of information about the HDAC inhibitor structure-activity relationships we can conclude that many active structures contain long aliphatic linkers (5-6 methylene groups). Therefore we decided to synthesize a compound group, structure of which would contain a long linker together with some new Zn²⁺ ion complexing groups.

Synthesis of amidoximes from quinoline-2-carboxylic acid (5-aminopentyl)amide and (*E*)-*N*-(5-aminopentyl)-3-quinolin-2-yl-acrylamide

Continuing studies of *N*-hydroxyimidamide group containing compound generation, we decided to synthesize compounds **78a, b**, where the Zn²⁺ chelating fragment would be a methylaminogloxime group. We used the mono-Boc-protected 1,5-diaminopentane **73** and acids **72** and **41** as a starting materials for the synthesis of **75a, b**.



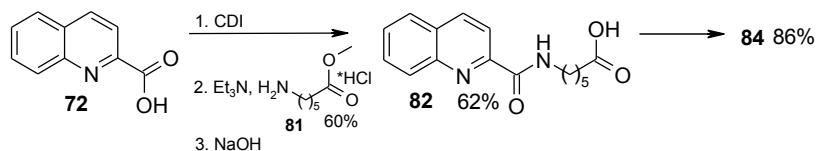
After the amine **73** acylation with acids **72** and **41** in the presence of CDI, we obtained amides **74a, b**. We used 1N HCl solution in MeOH for the removal of the protecting groups.



We used the amine **75a, b** reaction with chlorooxime **76** to obtain the products **78a, b**. In our work, we have planned to synthesize structures **79a, b** that contains oxogroup instead of one oxime group. However, amines **75a, b** reaction with chlorooxime **77** gave acetyl amides **80a, b** instead of desired propanimidamides **79a, b**.

Synthesis of quinoline-2-carboxylic acid (6-methanesulfonylamino-6-oxohexyl)amide

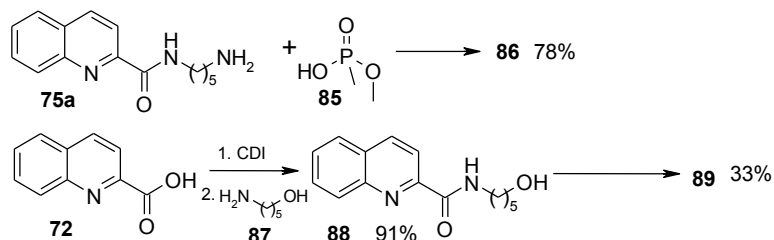
Continuing studies of sulfonamide derivatives, we decided to synthesize methyl sulfonamide **84**. We used the acid **72** as a starting material for this synthesis. The reaction with amine **81** in the presence of CDI and Et₃N gave amidoester with 60% yield that was hydrolysed to form an acid **82**.



The last step was acid **82** reaction with sulfonamide **83** in the presence of CDI and DBU; as result, the acylsulfonamide **84** was obtained in 86% yield.

Synthesis of methylphosphonic acid methylester derivatives

The methylphosphonic acid methylester functional group could be a potential Zn^{+2} complexing group. Considering the literature data, we decided to synthesize compounds **86** and **89** where hydroxamic acid group would be replaced by methylphosphonic acid methylester fragment that is bonded with main structure through *N*- and *O*-bridge, accordingly. We used amine **75a** that was treated with phosphorus reagent **85** in the presence of EDC to synthesize the compound **86** with *N*-bridge.



We used the acid **72** condensation with **87** aminopentanol to synthesize the compound **89** with *O*-bridge. The next step was compound **88** reaction with phosphorus reagent **85** in the presence of PyBOP. Product **89** was obtained in 33% yield.

Conclusions

1. Synthetic methodology has been developed for the preparation of (*E*)-*N*-hydroxy-3-(substituted-quinolin-2-yl)-2-propenamides from appropriate carboxylic esters by treating them with hydroxylamine in the presence of sodium ethoxide. According to this method, the hydroxamic acids can be successfully obtained from the appropriate carboxylic esters containing active double bond.
2. Synthesized *N*-hydroxy-2-(2-methylquinolin-4-yloxy)acetamide in the DMSO solution exists as an equilibrium mixture of two tautomeric forms – hydroxamic and hydroximic – in a ratio of 88:12. The presence of a hydroximic form in a solution of DMSO of other synthesized hydroxamic acids in negligible amounts was detected as well.
3. Synthetic methodology has been developed for the preparation of (*E*)-*N*-(substituted)-3-(quinolin-2-yl)-2-propenamides from (*E*)-3-(quinolin-2-yl)acrylic acid and appropriate aromatic amines. According to this method, 12 new compounds that exhibit HDAC inhibitory activity in the micromolar range *in vitro* were synthesized.
4. It is demonstrated that it is possible to obtain (*E*)-1-oxazol-2-yl-3-quinolin-2-yl-propenone from (*E*)-3-quinolin-2-yl-acryloyl chloride through reaction with oxazole metal-organic complex.
5. (*E*)-6-Quinolin-2-yl-hex-5-ene-2,4-dione was synthesized from (*E*)-4-quinolin-2-yl-but-3-en-2-one. It is shown that the compound exists mostly as (1*E*,4*Z*)-5-hydroxy-1-quinolin-2-yl-hexa-1,4-dien-3-one that ensures the formation of 5-methyl-3-((*E*)-2-quinolin-2-yl-vinyl)-4,5-dihydro-isoxazol-5-ol during the next stage with NH₂OH.
6. Synthetic methodology has been developed for the preparation of thioacetic acid *S*-((*E*)-2-oxo-4-quinolin-2-yl-but-3-enyl)ester from quinolinealdehydes. By using this method, 3 new compounds were synthesized that exhibit HDAC inhibitory activity in the nanomolar range *in vitro*.
7. Synthetic methodology for the (*E*)-3-quinolin-2-ylacrylnitrile synthesis from quinolinealdehyde has been developed and optimized.
8. Synthetic methodologies for the quinoline cycle containing potential hydroxamic acid bioisostere synthesis have been developed.

Darba aprobācija (Abstracts):

1. Habarova O., Bobileva O., Loza E. Synthesis of quinoline-2-carboxylic acid pentylamide derivatives as potential HDAC inhibitors. International Conference on Organic Synthesis. *Balticum Organicum Syntheticum*, 2010, Program and abstracts, 2010, p. 96.
2. Bobileva O., Habarova O. Preparation and isomerisation of *E*- and *Z*-quinolin-2-ylacrylonitriles. *Latvijas Kīmijas Žurnals*, 2009, p. 332.
3. Habarova O., Lolya D., Loza E., Andrianovs V., Bobileva O., Bjorkling F. The series of novel, potential quinoline and phenylpiperazine based histone deacetylase inhibitors. 42nd IUPAC Congress Chemistry Solutions, Glasgow, Scotland, UK, August 2-7, 2009. Abstract Book, p. 206.
4. Habarova O., Loza E., Andrianov V. Novel heterocyclic hydroxamic acid derivatives as inhibitors of histone deacetylase. The Eighteenth Lakeland Symposium on Heterocyclic chemistry, Grasmere, UK, May 10-14, 2007. Abstract Book, p. 51.
5. Habarova O., Loza E., Andrianov V. Quinoline hydroxamic acid derivatives as inhibitors of histone deacetylase. International Conference on Organic Synthesis. *Balticum Organicum Syntheticum*, 2006. Program and abstracts, 2006, p. 92.
6. Habarova O. Novel quinoline derivatives as inhibitors of histone deacetylase. *Latvijas Kīmijas Žurnals*, 2006, p. 66.

Publikācijas un patenti (Publications and patents):

1. Finn P.W., Kalvinsh I., Loza E., Andrianov V., Habarova O., Lolya D., Piskunova I. Carbamic acid compounds comprising a bicyclic heteroaryl group as HDAC inhibitors. US 2006/0079528 (A1), 2006.