

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.09.060>

УДК 547.856.1

**С.А. Андронаті¹, О.Ю. Корнилов¹, П.Г. Поліщук²,
А.А. Крисько¹, О.Л. Крисько¹, Т.А. Кабанова¹, С.Е. Самбурський¹**

¹ Фізико-хімічний інститут ім. А.В. Богатського НАН України, Одеса

² Інститут молекулярної та трансляційної медицини, Університет Палацького
та університетська лікарня в Оломоуці, Чехія

E-mail: peptides@physchem.od.ua

Синтез та антиагрегаційна активність антагоніста $\alpha_{IIb}\beta_3$ -рецепторів на основі 2-(4-піперазин-1-іл)-3H-хіназолін-4-ону

Представлено академіком НАН України С.А. Андронаті

*Синтезовано нове похідне 2-(4-піперазин-1-іл)-хіназолін-4-ону, що є антагоністом $\alpha_{IIb}\beta_3$ -рецепторів закритої форми. Досліджено антиагрегаційну активність сполуки на збагаченій тромбоцитами плазмі крові людини в досліді *in vitro*. Молекулярний механізм антиагрегаційної дії цільової сполуки підтверджено шляхом оцінки її здатності інгібувати зв'язування міченого флуоресцеїнізотіоціанатом фібриногену (FITC-Fg) з $\alpha_{IIb}\beta_3$. Методом молекулярного докінгу показано, що досліджувана сполука зв'язується з мішенню аналогічно до ліганду порівняння RUC-2.*

Ключові слова: 6-бром-3H-хіназолін-4-он, паладієвий каталіз, реакція C—C крос-сполучення, утворення пептидного зв'язку, агрегація тромбоцитів, антагоніст фібриногенових рецепторів, $\alpha_{IIb}\beta_3$

Встановлення механізму тромбоутворення та його ролі в розвитку ряду небезпечних серцево-судинних захворювань стимулювало пошук сполук, що перешкоджають агрегації тромбоцитів [1]. Як ефективні лікарські засоби для профілактики і лікування тромбозів були запропоновані антагоністи фібриногенових рецепторів [2]. Рецептор фібриногену (інтегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$) є важливою терапевтичною мішенню за перебігу тромботичних захворювань судин завдяки його ключовій ролі в процесі агрегації тромбоцитів. Формування тромбоцитарного агрегату відбувається в результаті утворення фібриногенових “містків” між $\alpha_{IIb}\beta_3$ -рецепторами тромбоцитів. Фібриноген утворює комплекс з $\alpha_{IIb}\beta_3$ -рецептором за допомогою трипептидної послідовності RGD (Arg—Gly—Asp). Антагоністи фібриногенових рецепторів блокують сайти зв'язування активного центру рецептора, запобігаючи утворенню фібриноген-рецепторного комплексу і, відповідно, тромбу [2]. Класичним шляхом створення антагоністів фібриногенових рецепторів є дизайн пептидоміметиків, що імітують

© С.А. Андронаті, О.Ю. Корнилов, П.Г. Поліщук, А.А. Крисько, О.Л. Крисько, Т.А. Кабанова,
С.Е. Самбурський, 2019

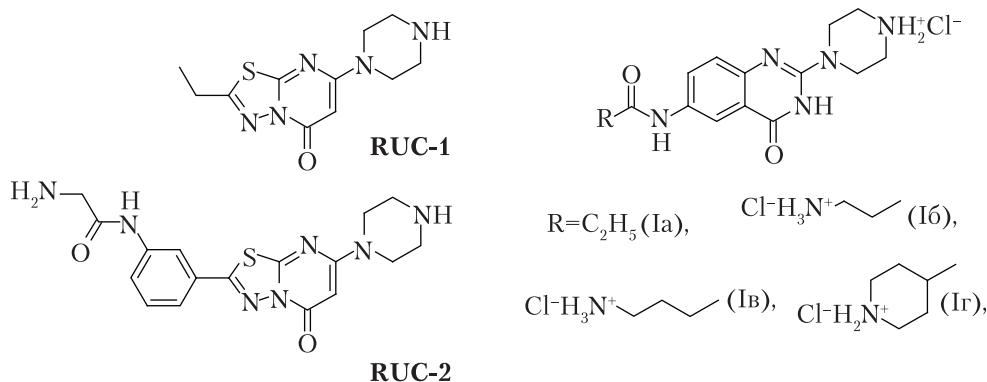


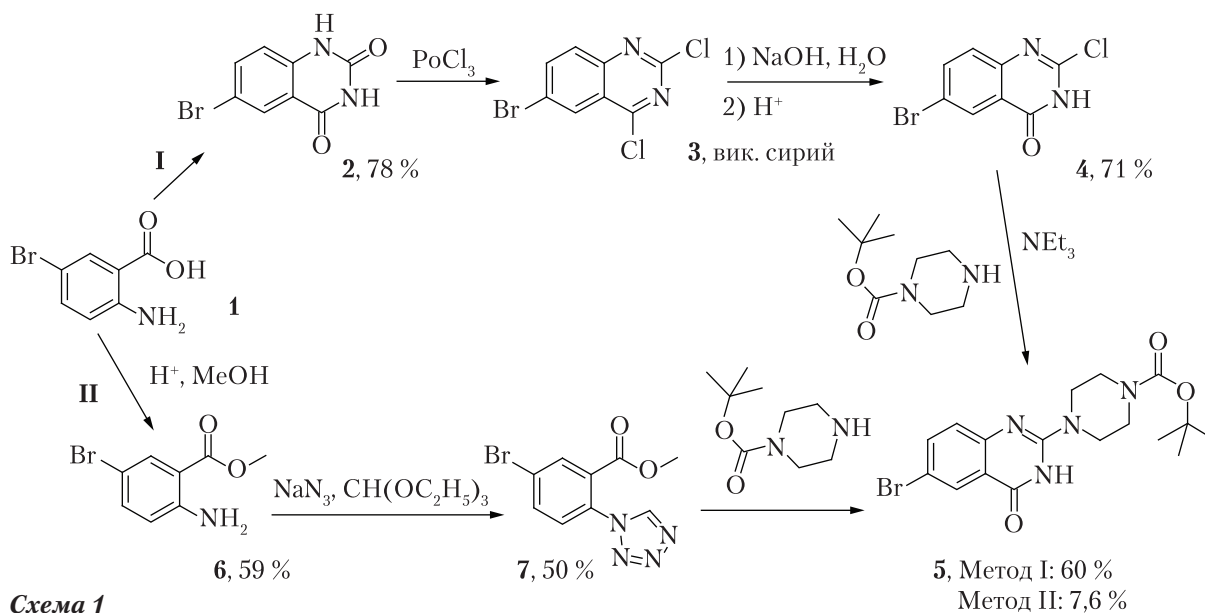
Рис. 1. Антагоністи фібриногенових рецепторів, що зв'язуються із закритою формою інтегрину $\alpha_{IIb}\beta_3$

RGD-послідовність і зв'язуються з відкритою формою інтегрину $\alpha_{IIb}\beta_3$. На сьогодні до клінічного застосування допущено два низькомолекулярних антагоністи інтегрину $\alpha_{IIb}\beta_3$: циклічний RGD-гептапептид ептифібатид (Integrilin®) та RGD-пептидоміметик тирофібан (Aggrastat®). Дані лікарські засоби є ефективними для запобігання тромбоутворенню, проте мають ряд недоліків, найістотнішим з яких є побічний ефект — тромбоцитопенія. Поява тромбоцитопенії пов'язують з імунологічною відповіддю організму на конформаційні зміни інтегрину $\alpha_{IIb}\beta_3$ внаслідок зв'язування RGD пептидів або пептидоміметиків з відкритою формою рецептора [3]. Сучасний підхід до пошуку біологічно активних сполук полягає у використанні віртуального скринінгу та молекулярного докінгу. Відносно нещодавно в результаті скринінгу було знайдено структуру RUC-1, а пізніше синтезовано її більш активне похідне RUC-2 (рис. 1), які зв'язуються із закритою формою інтегрину $\alpha_{IIb}\beta_3$ [4, 5].

Раніше нами було використано сполуку RUC-2 як фармакофорну модель для дизайну потенційних антагоністів $\alpha_{IIb}\beta_3$; синтезовано ряд похідних на основі 2-(4-піперазин-1-іл)-3*H*-хіназолін-4-ону (Ia–г, див. рис. 1) та досліджено їх антиагрегаційну активність [6]. Мета даного дослідження — синтез структурного аналогу сполуки RUC-2, що містить центральний хіназоліновий гетероцикл, та вивчення антиагрегаційних властивостей цієї сполуки.

Першим етапом синтезу було отримання 2-(4-Вос-піперазин)-6-бром-3*H*-хіназолін-4-ону (5), що здійснювалося двома шляхами. Метод одержання хіназолінового гетероциклу з подальшим приєднанням піперазинового кільця у друге положення (шлях I) аналогічний до описаного раніше [6]. Як вихідну сполуку ми використали 2-аміно-5-бромбензойну кислоту 1 (схема 1). Синтез 6-бромхіназолін-2,4-діону 2 здійснювали шляхом високотемпературної конденсації кислоти 1 з карбамідом. Хлоруванням хіназоліндіону 2 за допомогою оксихлориду фосфору отримали дихлорпохідне 3, а в результаті подальшого часткового лужного гідролізу — сполуку 4. Ввівши піперазинове кільце в положення 2 хіназолінового гетероциклу шляхом конденсації сполуки 4 з моно-Вос-піперазином, отримали 2-заміщений 6-бром-3*H*-хіназолін-4-он 5.

За аналогією з методом формування тієнопіримідинових та бензофурупіримідинових гетероциклічних систем, описаним у роботі [7], нами здійснений альтернативний шлях отримання сполуки 5 (шлях II). У результаті естерифікації 2-аміно-5-бромбензойної кислоти 1 отримано відповідний метиловий естер 6. Реакцією сполуки 6 з азидом натрію та



триетилортоформіатом отримано похідне тетразолу **7**. У результаті реакції з моно-Вос-піперазином зазнавало розщеплення тетразолільне кільце, відбувалося нуклеофільне приєднання та внутрішньомолекулярна циклізація з утворенням 2-заміщеного 6-бром-3*H*-хіназолін-4-ону **5**.

Виявилось, що використовуваний нами раніше метод синтезу (шлях **I**), хоча і є більш тривалим, дає змогу отримати 2-заміщений 6-бром-3*H*-хіназолін-4-он **5** з достатніми виходами. У випадку використання тетразол-похідного для синтезу продукту **5** (шлях **II**) вихід реакції є недостатнім.

Ключовою стадією другого етапу синтезу цільового антагоніста була реакція утворення С—С зв'язку між сполукою **5** та *мета*-нітрофенілборною кислотою за механізмом крос-сполучення (реакція Судзукі) (схема 2). Подальше каталітичне відновлення нітрогрупи сполуки **8** дією водню спричинило утворення амінопохідного **9**, яке ацилювалося моно-Вос-гліцином з використанням каплінг-реагенту НВТУ. У результаті ацидолітичного розщеплення Вос-захисних груп сполуки **10** отримано цільову молекулу антагоніста **11** у вигляді дигідрохлориду, що відрізняється від молекули RUC-2 лише центральним гетероциклом.

Антиагрегаційну активність досліджували *in vitro* на збагаченій тромбоцитами плазмі крові людини за методом Born G.V. на зразках крові, узятій від трьох донорів [8]. Збагачену тромбоцитами плазму отримували з крові здорових донорів, узятій з ліктьової вени натще. АДФ (кінцева концентрація 10 мкМ) використовували як індуктор агрегації тромбоцитів. Цільова сполука **11** мала антиагрегаційну активність з показником $IC_{50} = 0,47 \pm 0,4$ мкМ. Згідно з даними літератури сполука RUC-2 виявляє активність у тому ж експерименті з показником $IC_{50} = 0,096 \pm 0,005$ мкМ [5].

З метою встановлення молекулярного механізму антиагрегаційної дії досліджено вплив антагоніста **11** на специфічне зв'язування міченого флуоресцеїнізотіоціанатом фібриногену (FITC-Fg) з $\alpha_{IIb}\beta_3$ рецептором на суспензії відмитих тромбоцитів людини за методикою, описаною в роботі [9]. FITC-Fg специфічно зв'язується з рецепторами на поверхні

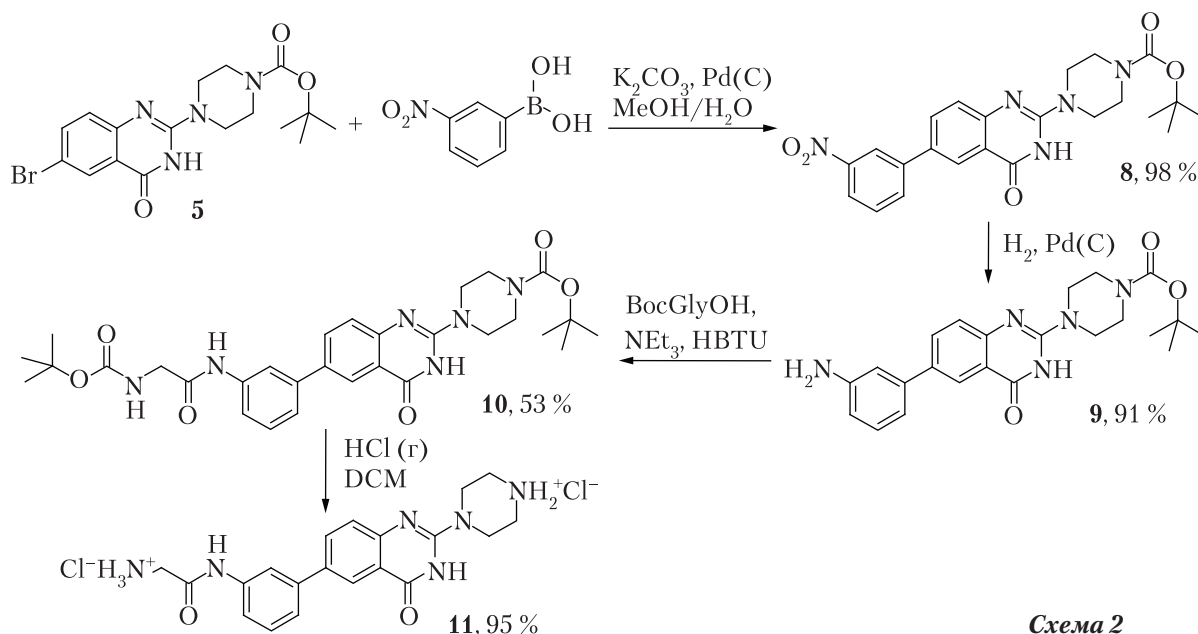


Схема 2

тромбоцитів з константою дисоціації (K_d), що дорівнює 1,02 мкМ. Згідно з експериментальними даними афінитет сполуки **11** до з $\alpha_{IIb}\beta_3$ становить $IC_{50} = 0,020 \pm 0,003$ мкМ (FITC-Fg/ $\alpha_{IIb}\beta_3$). Як сполуку порівняння використано тирофібан, класичний антагоніст $\alpha_{IIb}\beta_3$. Встановлено, що тирофібан інгібує специфічне зв'язування FITC-Fg з $\alpha_{IIb}\beta_3$ з показником $IC_{50} = 0,0024 \pm 0,0004$ мкМ (FITC-Fg/ $\alpha_{IIb}\beta_3$) та виявляє функціональну активність з показником $IC_{50} = 0,032 \pm 0,004$ мкМ.

Докінг-дослідження проводили з використанням програми S4MPLE [10]. Структура фібриногенового рецептора (ЗТЗМ) була взята з бази білкових молекул (Protein Data Bank) [11]. На рис. 2, а наведено структуру комплексу "RUC-2- $\alpha_{IIb}\beta_3$ ", а на рис. 2, б – схему взаємодії в комплексі "**11**- $\alpha_{IIb}\beta_3$ ". Встановлено, що сполука **11** зв'язується із залишком Asp224 α_{IIb} -субодиниці рецептора, аналогічно до сполуки RUC-2. Проте ліганд **11** має дещо іншу геометрію молекули, тому первинна аміногрупа сполуки **11** розташована в порожнині рецептора глибше відносно аналогічної аміногрупи RUC-2. Завдяки цьому аміногрупа сполуки **11** може утворювати водневий зв'язок із залишком Ser121 β_3 -субодиниці рецептора. Також встановлено, що молекули води, які беруть участь в утворенні водневого зв'язку ліганду із залишком Asp232 α_{IIb} -субодиниці рецептора, є важливими для правильної орієнтації ліганду та його зв'язування.

Таким чином, у результаті синтезу отримано структурний аналог сполуки RUC-2, що містить центральний хіназоліновий гетероцикл. Результати біологічних досліджень показали, що синтезована сполука є високоактивним антагоністом фібриногенових рецепторів. У свою чергу, результати молекулярного докінгу опосередковано підтверджують дані біологічних дослідів.

Експериментальна частина. Спектри 1H ЯМР отримано на приборі Bruker Avance DRX (500 МГц) в розчині ДМСО- d_6 (99,9%), внутрішній стандарт TMS, при 25 °С. Мас-спектри електронного удару сполук записано на мас-спектрометрі MX-1321 (іонізуюча напруга

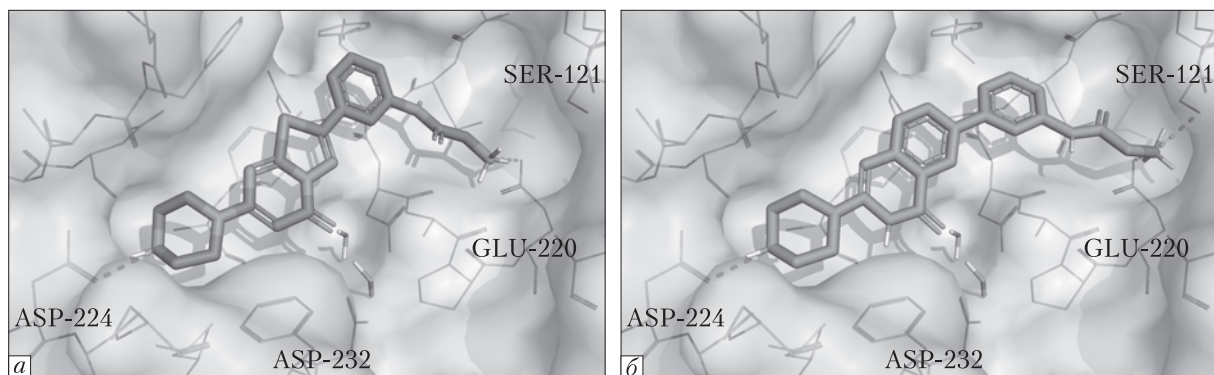


Рис. 2. Взаємодії сполук RUC-2 (а) та 11 (б) всередині порожнини рецептора $\alpha_{IIIb}\beta_3$

70 еВ, температура камери іонізації 200 °С). Спектри FАВ отримано на приборі VG 7070 (Великобританія), як матрицю використовували нітробензиловий спирт, іонізацію здійснювали пучком атомів Хе з енергією 8 кВ. Тонкошарову хроматографію (ТШХ) здійснювали на пластинках ALUGRAM[®] Xtra SIL G/UV₂₅₄ (MACHEREY-NAGEL). Речовини виявляли на хроматограмах за допомогою нінгідринового, хлор-толуїдинового реактивів або УФ світлом. Температуру плавлення визначали на приладі ПТП-1 у запаяних і відкритих капілярах, швидкість нагрівання 1 °С/хв.

6-Бром-3Н-хіназолін-4-он (2). Вихід 43,7 г (78,5 %). Т. пл. 325 °С. Мас-спектр (ЕІ), m/z : 242, 243.

6-Бром-2,4-дихлорхіназолін (3). Сирий продукт використовували безпосередньо на наступній стадії.

6-Бром-2-хлор-3Н-хіназолін-4-он (4). Вихід 71,3 %. $R_f = 0,6$ (Б, бензол – ацетон – оцтова кислота, 100 : 50 : 2). Т. пл. 175–177. Мас-спектр (ЕІ), m/z : 259, 261.

2-(4-Вос-піперазин-1-іл)-6-бром-3Н-хіназолін-4-он (5). Метод I. Вихід 60 %. $R_f = 0,49$ (Б). Т. пл. 250,5–251,5 °С. ЯМР ¹H (500 МГц, d_6 -ДМСО), δ , м.д.: 1,41 (с, 1 H); 3,40 (с, 4 H); 3,60 (с, 4 H); 7,22 (д, $J = 7,68$ Гц, 1 H); 7,70 (д, $J = 7,40$ Гц, 1 H); 7,96 (с, 1 H); 11,60 (уш с, 1 H). Мас-спектр (ЕІ), m/z : 410, 411.

Метилловий естер 5-бром-2-амінобензойної кислоти (6). Вихід 59 %. $R_f = 0,88$ (Б). Т. пл. 71–72. Мас-спектр (ЕІ), m/z : 230, 232.

Метилловий естер 5-бром-2-(1Н-тетразол-1-іл)бензойної кислоти (7). Метилловий естер 2-аміно-5-бромбензойної кислоти (2,6 г, 0,0113 моль) та NaN₃ (2,32 г, 0,0357 моль) суспендували у 4 мл триетилортоформіату і охолоджували до 0 °С. Додавали 40 мл оцтової кислоти і суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 16 год. Суспензію упарювали, залишок розчиняли в СНCl₃ (100 мл) та промивали розчином 3 Н НCl (50 мл). Органічну фазу сушили над Na₂SO₄, фільтрували та упарювали досуха. Продукт кристалізували з MeOH. Вихід 50 %. $R_f = 0,73$ (Б). Т. пл. 129–131 °С. Мас-спектр (ЕІ), m/z : 283, 285.

2-(4-Вос-піперазин-1-іл)-6-бром-3Н-хіназолін-4-он (5). Метод II. Суспензію тетразол-похідного 7 (0,001 моль) у 1 мл моно-Вос-піперазину при 80–90 °С перемішували протягом 1 год. Потім у ще теплу суміш додавали гексан, охолоджували та відфільтрували продукт. Вихід 7,6 %. $R_f = 0,49$ (Б). Мас-спектр (ЕІ), m/z : 410, 411.

2-(4-Вос-піперазин-1-іл)-6-(3-нітрофеніл)-3H-хіназолін-4-он (8). Вихід 0,22 г (98 %). $R_f = 0,47$ (Б). Т. пл. > 255 °С. ЯМР ^1H (500 МГц, d_6 -ДМСО), δ , м.д.: 1,43 (с, 9 Н), 3,43 (с, 4 Н), 3,65 (с, 4 Н), 7,39 (д, $J = 4,1$ Гц, 1 Н), 7,74 (т, $J = 7,1$ Гц, 1 Н), 8,03 (д, $J = 6,6$ Гц, 1 Н), 8,18–8,24 (м, 3 Н), 8,44 (с, 1 Н), 11,57 (с, 1 Н). Мас-спектр (FAB), m/z : 452 [M+H] $^+$.

6-(3-Амінофеніл)-2-(4-Вос-піперазин-1-іл)-3H-хіназолін-4-он (9). Через розчин нітропохідного **8** (0,5 г, 0,0013 моль) у 100 мл суміші бензол–метанол (1 : 1) пропускали водень у присутності 5 % паладію на вугіллі (0,05 г) при кімнатній температурі протягом 2–3 год (контроль ТШХ). Після завершення реакції через розчин пропускали потік гелію протягом 20 хв. Розчин фільтрували крізь шар цеоліту й упарювали досуха, отримуючи продукт. Вихід 91 %. $R_f = 0,35$ (Б). Т. пл. 265–270 °С. ЯМР ^1H (500 МГц, d_6 -ДМСО), δ , м.д.: 1,41 (с, 9 Н), 3,41 (с, 4 Н), 3,61 (с, 4 Н), 5,16 (с, 2 Н), 6,54 (д, $J = 6,9$ Гц, 1 Н), 6,81 (д, $J = 6,0$ Гц, 1 Н), 6,91 (с, 1 Н), 7,09 (т, $J = 7,4$ Гц, 1 Н), 7,34 (д, $J = 5,2$ Гц, 1 Н), 7,83 (д, $J = 7,1$ Гц, 1 Н), 8,09 (с, 1 Н), 11,49 (с, 1 Н). Мас-спектр (FAB), m/z : 422 [M+H] $^+$.

2-N-Вос-аміно-N-(3-[2-(4-Вос-піперазин-1-іл)-3H-хіназолін-6-іл]феніл)ацетамід (10). 0,01 моль N-Вос-Gly розчиняли в безводному ацетоніртилі (25 мл). Розчин охолоджували до –5 °С та додавали триетиламін (1,4 мл, 0,01 моль), а потім НВТУ (3,8 г, 0,01 моль). Суміш перемішували протягом 1 год при –5 °С, потім додавали 0,01 моль амінопохідного **9**. Отриманий розчин перемішували протягом 7 год при 50 °С. Залишкові кількості активованого ефіру вихідної Вос-кислоти руйнували додаванням декількох крапель N,N-диметилпропан-1,3-діаміну. Розчин упарювали досуха. Залишок розчиняли у 100 мл хлороформу. Розчин промивали водою (40 мл), водним розчином 1 М HCl (40 мл) та 5 %-м водним розчином NaHCO₃ (40 мл). Органічний шар сушили безводним Na₂SO₄, фільтрували та розчинник упарювали досуха. Продукт кристалізували з метанолу. Вихід 53 %. $R_f = 0,37$ (Б). Т. пл. > 255 °С. ЯМР ^1H (500 МГц, d_6 -ДМСО), δ , м.д.: 1,40 (с, 18 Н), 3,31 (с, 1 Н), 3,41 (с, 4 Н), 3,62 (с, 4 Н), 3,73 (с, 1 Н), 7,03 (уш. с, 1 Н), 7,37 (уш. с, 3 Н), 7,56 (уш. с, 1 Н), 7,78 (уш. с, 1 Н), 7,97 (с, 1 Н), 8,14 (уш. с, 1 Н), 10,00 (с, 1 Н), 11,48 (с, 1 Н). Мас-спектр (FAB), m/z : 579 [M+H] $^+$.

4-[6-(3-[2-аміноацетамід]феніл)-4-оксо-3H-хіназолін-2-іл]піперазин-1-іум дихлорид (11). Ди-Вос-похідне **10** (0,01 моль) розчиняли у 100 мл суміші CH₂Cl₂–метанол (10 : 1). Крізь розчин пропускали потік сухого HCl протягом 1 год. Розчинник упарювали досуха, та кристалічний залишок сушили під вакуумом (2 мм рт. ст.) протягом 2 год при 40 °С. Вихід 95 %. Речовина гігроскопічна. ЯМР ^1H (500 МГц, d_6 -ДМСО), δ , м.д.: 1,23 (с, 1 Н), 3,25 (уш. с, 4 Н), 3,84 (д, $J = 4,6$ Гц, 2 Н), 4,04 (уш. с, 4 Н), 7,45–7,48 (м, 2 Н), 7,64 (д, $J = 6,5$ Гц, 1 Н), 7,82 (д, $J = 7,4$ Гц, 1 Н), 8,03 (д, $J = 11,2$ Гц, 2 Н), 8,18 (с, 1 Н), 8,33 (уш. с, 2 Н), 9,72 (с, 2 Н), 11,00 (с, 1 Н). ЯМР ^{13}C (125 МГц, d_6 -ДМСО), δ , м.д.: 40,50, 41,11, 42,06, 43,19, 116,86, 117,07, 118,45, 121,88, 123,39, 129,89, 133,18, 135,29, 139,17, 139,25, 150,52, 162,59, 165,07. Мас-спектр (FAB), m/z : 452 [M+H] $^+$.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Coller B.S. Blockade of platelet GP IIb/IIIa receptors as an antithrombotic strategy. *Circulation*. 1995. **92**, Iss. 9. P. 2373–2380. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.9.2373>
2. Andronati S.A., Karaseva T.L., Krysko A.A. Peptidomimetics – antagonists of the fibrinogen receptors: molecular design, structures, properties and therapeutic applications. *Curr. Med. Chem*. 2004. **11**, Iss. 9. P. 1183–1211. <https://doi.org/10.2174/0929867043365314>

- Bougie D.W., Rasmussen M., Zhu J., Aster R.H. Antibodies causing thrombocytopenia in patients treated with RGD-mimetic platelet inhibitors recognize ligand-specific conformers of $\alpha_{\text{IIb}}/\beta_3$ integrin. *Blood*. 2012. **119**, Iss. 26. P. 6317–6325. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-406322>
- Blue R., Murcia M., Karan C., Jiroušková M., Collier B.S. Application of high-throughput screening to identify a novel α_{IIb} -specific small-molecule inhibitor of $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ -mediated platelet interaction with fibrinogen. *Blood*. 2008. **111**, Iss. 3. P. 1248–1257. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-08-105544>
- Zhu J., Choi W-S., McCoy J.G., Negri A., Zhu J., Naini S., Li J., Shen M., Huang W., Bougie D., Rasmussen M., Aster R., Thomas C.J., Filizola M., Springer T.A., Collier B.S. Structure-guided design of a high-affinity platelet integrin $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ receptor antagonist that disrupts Mg^{2+} binding to the MIDAS. *Sci. Transl. Med.* 2012. **4**, Iss. 125. 125ra32. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003576>
- Polishchuk P.G., Samoylenko G.V., Khristova T.M., Krysko O.L., Kabanova T.A., Kabanov V.M., Korniylov A.Yu., Klimchuk O., Langer T., Andronati S.A., Kuz'min V.E., Krysko A.A., Varnek A. Design, virtual screening, and synthesis of antagonists of $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ as antiplatelet agents. *J. Med. Chem.* 2015. **58**, Iss. 19. P. 7681–7694. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00865>
- Pokhodylo N.T., Shyyka O.Ya., Matiychuk V.S., Obushak M.D. New convenient strategy for annulation of pyrimidines to thiophenes or furans via the one-pot multistep cascade reaction of 1*H*-tetrazoles with aliphatic amines. *ACS Comb. Sci.* 2015. **17**, Iss. 7. P. 399–403. <https://doi.org/10.1021/co5001376>
- Born G.V.R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962. **194**. P. 927–929. <https://doi.org/10.1038/194927b0>
- Xia Z., Wong T., Liu Q., Kasirer-Friede A., Brown E., Frojmovic M.M. Optimally functional fluorescein isothiocyanate-labelled fibrinogen for quantitative studies of binding to activated platelets and platelet aggregation. *Br. J. Haematol.* 1996. **93**, Iss. 1. P. 204–214. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1996.445980.x>
- Hoffer L., Horvath D. S4MPLE – Sampler for multiple protein-ligand entities: simultaneous docking of several entities. *J. Chem. Inf. Model.* 2013. **53**, Iss. 1. P. 88–102. <https://doi.org/10.1021/ci300495r>
- RCSB PDB. URL: <http://www.rcsb.org/pdb/>

Надійшло до редакції 05.06.2019

REFERENCES

- Collier, B. S. (1995). Blockade of platelet GP IIb/IIIa receptors as an antithrombotic strategy. *Circulation*, 92, Iss. 9, pp. 2373-2380. doi: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.9.2373>
- Andronati, S. A., Karaseva, T. L. & Krysko, A. A. (2004). Peptidomimetics – antagonists of the fibrinogen receptors: molecular design, structures, properties and therapeutic applications. *Curr. Med. Chem.*, 11, Iss. 9, pp. 1183-1211. <https://doi.org/10.2174/0929867043365314>
- Bougie, D. W., Rasmussen, M., Zhu, J. & Aster, R. H. (2012) Antibodies causing thrombocytopenia in patients treated with RGD-mimetic platelet inhibitors recognize ligand-specific conformers of $\alpha_{\text{IIb}}/\beta_3$ integrin. *Blood.*, 119, Iss. 26, pp. 6317-6325. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-406322>
- Blue, R., Murcia, M., Karan, C., Jiroušková, M. & Collier, B. S. (2008). Application of high-throughput screening to identify a novel α_{IIb} -specific small-molecule inhibitor of $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ -mediated platelet interaction with fibrinogen. *Blood*, 111, Iss. 3, pp. 1248-1257. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-08-105544>
- Zhu, J., Choi, W-S., McCoy, J. G., Negri, A., Zhu, J., Naini, S., Li J., Shen, M., Huang, W., Bougie, D., Rasmussen, M., Aster, R., Thomas, C. J., Filizola, M., Springer, T. A. & Collier, B. S. (2012). Structure-guided design of a high-affinity platelet integrin $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ receptor antagonist that disrupts Mg^{2+} binding to the MIDAS. *Sci. Transl. Med.*, 4, Iss. 125, 125ra32. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003576>
- Polishchuk, P. G., Samoylenko, G. V., Khristova, T. M., Krysko, O. L., Kabanova, T. A., Kabanov, V. M., Korniylov, A. Yu., Klimchuk, O., Langer, T., Andronati, S. A., Kuz'min, V. E., Krysko, A. A. & Varnek, A. (2015). Design, virtual screening, and synthesis of antagonists of $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ as antiplatelet agents. *J. Med. Chem.*, 58, Iss. 19, pp. 7681-7694. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00865>
- Pokhodylo, N. T., Shyyka, O. Y., Matiychuk, V. S. & Obushak, M. D. (2015). New convenient strategy for annulation of pyrimidines to thiophenes or furans via the one-pot multistep cascade reaction of 1*H*-tetrazoles with aliphatic amines. *ACS Comb. Sci.*, 17, Iss. 7, pp. 399-403. <https://doi.org/10.1021/co5001376>
- Born, G. V. R. (1962). Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, 194, pp. 927-929. <https://doi.org/10.1038/194927b0>

9. Xia, Z., Wong, T., Liu, Q., Kasirer-Friede, A., Brown, E. & Frojmovic, M. M. (1996). Optimally functional fluorescein isothiocyanate-labelled fibrinogen for quantitative studies of binding to activated platelets and platelet aggregation. Br. J. Haematol., 93, Iss. 1, pp. 204-214. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1996.445980.x>
10. Hoffer, L. & Horvath, D. (2013). S4MPLE – Sampler for multiple protein-ligand entities: simultaneous docking of several entities. J. Chem. Inf. Model., 53, Iss. 1, pp. 88-102. <https://doi.org/10.1021/ci300495r>
11. RCSB PDB. Retrieved from: <http://www.rcsb.org/pdb/>

Received 05.06.2019

С.А. Андронати¹, А.Ю. Корнилов¹, П.Г. Полищук², А.А. Крысько¹,
О.Л. Крысько¹, Т.А. Кабанова¹, С.Э. Самбурский¹

¹ Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, Одесса

² Институт молекулярной и трансляционной медицины, Университет Палацкого и университетская клиника в Оломоуце, Чехия

E-mail: peptides@physchem.od.ua

СИНТЕЗ И АНТИАГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ АНТАГОНИСТА $\alpha_{IIb}\beta_3$ -РЕЦЕПТОРОВ НА ОСНОВЕ 2-(4-ПИПЕРАЗИН-1-ИЛ)-3H-ХИНАЗОЛИН-4-ОНА

Синтезировано новое производное 2-(4-пиперазин-1-ил)-хиназолин-4-она, являющегося антагонистом $\alpha_{IIb}\beta_3$ -рецепторов закрытой формы. Исследована антиагрегационная активность соединения на богатой тромбоцитами плазме крови человека в опыте *in vitro*. Молекулярный механизм антиагрегационного действия целевого соединения подтверждён путём оценки его способности ингибировать связывание меченого флуоресцеинизотиоцианатом фибриногена (FITC-Fg) с $\alpha_{IIb}\beta_3$. Методом молекулярного докинга показано, что исследованное соединение связывается с мишенью аналогично лиганду сравнения RUC-2.

Ключевые слова: 6-бром-3H-хиназолин-4-он, палладиевый катализ, реакция C–C кросс-сочетания, образование пептидной связи, агрегация тромбоцитов, антагонист фибриногеновых рецепторов, $\alpha_{IIb}\beta_3$.

S.A. Andronati¹, A.Yu. Kornilov¹, P.G. Polishchuk², A.A. Krysko¹,
O.L. Krysko¹, T.A. Kabanova¹, S.E. Sambursky¹

¹ A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NAS of Ukraine, Odesa

² Institute of Molecular and Translational Medicine, Palacký University and University Hospital in Olomouc, Czech Republic

E-mail: peptides@physchem.od.ua

SYNTHESIS AND ANTIAGGREGATIVE ACTIVITY OF $\alpha_{IIb}\beta_3$ -RECEPTOR ANTAGONIST BASED ON 2-(4-PIPERAZINE-1-YL)-3H-QUINAZOLINE-4-ONE

A new derivative of 2-(4-piperazin-1-yl)-quinazolin-4-one is synthesized, the compound has structure similar to small-molecule $\alpha_{IIb}\beta_3$ -receptor antagonist based on 7-(piperazin-1-yl)-[1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-one (RUC-2). To obtain the target compound, two alternative methods are used. The compound is an antagonist of the $\alpha_{IIb}\beta_3$ -receptor, which binds to the closed form of the protein. The antiaggregative activity of the compound is studied on platelet-rich plasma (PRP) in an *in vitro* test. The molecular mechanism of antiplatelet action is measured as the inhibition of the fluorescein isothiocyanate-labeled fibrinogen (FITC-Fg) binding to activated human platelets by the tested compound. Docking studies of the synthesized compound revealed that ligand–protein interactions mainly correspond to the complex RUC-2– $\alpha_{IIb}\beta_3$. The target compound has high antiaggregative activity and can be recommended for the further study as a promising antithrombotic agent.

Keywords: 6-bromo-3H-quinazoline-4-one, palladium-catalysis, C–C cross-coupling, peptide bond formation, platelet aggregation, fibrinogen receptor antagonist, $\alpha_{IIb}\beta_3$.