

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ВОЙТИРА МАГДАЛЕНА НАТАЛІЯ

УДК 547.789.1 + 547.821.2] – 542.91

**СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНУ З
ПІРИДИНОВИМ ФРАГМЕНТОМ У МОЛЕКУЛАХ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Львів - 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
Лесик Роман Богданович
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького,
завідувач кафедри фармацевтичної, органічної
і біоорганічної хімії.

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
Лубенець Віра Ільківна
Національний університет «Львівська Політехніка»,
професор кафедри технології біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології;

доктор фармацевтичних наук, професор
Перехода Ліна Олексіївна
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри медичної хімії.

Захист відбудеться «___» _____ 2017 року о 10⁰⁰ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий «___» _____ 2017 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

І.В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. На сьогодні важливим завданням фармацевтичної хімії є створення ефективних, високоселективних та низькотоксичних лікарських засобів. Одним із вирішень цієї проблеми є концепція «гібрид-фармакофорного підходу», яка полягає в поєднанні різнопланових біологічно важливих «структурних матриць» в одній молекулі з метою досягнення їх біосинергізму. Така стратегія молекулярного дизайну досить часто приводить до нового фармакологічного профілю, потенціювання дії та зниження токсичності нових «гібридних» молекул. У контексті зазначеного, одним з перспективних напрямків створення «лікоподібних молекул» є кон'югація 4-тіазолідинового чи тіазольного фрагментів з відомими «біофорними» гетероциклами, що відображено у ряді фундаментальних наукових праць (Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик, 2004, 2009, 2016; L.P. Mašić, T. Tomašić, 2009; C.D. Klein, T. Mendgen, 2012, 2014), що є одним з аргументів актуальності проблеми. Серед «біофорних» гетероциклів значної уваги заслуговує ядро піридину. Відомо, що піридинілзаміщені 4-тіазолідинони та тіазоли відомі суттєвим фармакологічним потенціалом, в тому числі гіпоглікемічною (H. Walter, G. Lubben, 2005), противірусною (Z. Li, M. Khaliq, 2008), протираковою (W. Li, X. Zhai, 2011), протимікробною (R. Maccari, 2005), протигрибковою (V. Petrikaite, E. Tarasevicius, 2007), протизапальною (A. Kumar, Ch. Singh, 2009) та іншими видами активності. Окрім того, останні досягнення в молекулярній біології дозволили пояснити фармакологічний профіль зазначених сполук експериментально встановленим афінитетом до PPAR γ - та FFAR1-рецепторів (G.J. Murphy, J.C. Holder, 2000), фактору росту ендотелію судин рецептора-2 (M. Borzilleri, R.S. Bhide, 2006), NS5B РНК-полімерази вірусу гепатиту С (R.K. Rawal, S.B. Katti, 2008), HIV-1 протеази (A. Rao, J. Balzarini, 2002, 2004), циклооксигенази-2 (S. Chlopicki, J. Swies, 2007), 5-ліпооксигенази (Sh.M. Sondhi, M. Dinodia, 2007), тощо. Тому молекулярний дизайн фармакологічно привабливих піридинілзаміщених 4-тіазолідинонів та тіазолів є актуальним і перспективним для сучасного процесу створення ліків.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом проблеми «Фармація» МОЗ України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (державна реєстрація № 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16).

Мета та завдання дослідження. Метою даної роботи був синтез нових похідних тіазолідину з піридиновим фрагментом у молекулах та пошук серед них ефективних та малотоксичних речовин як потенційних лікарських засобів. Для досягнення цієї мети були поставлені наступні завдання:

- на основі реакцій [2+3]-циклоконденсації синтезувати нові похідні 2-піридиніламіно- і 2-піридинілметилєнгідразоно-4-метилтіазолів та

4-тіазолідинонів, провести їх хімічну модифікацію в реакціях гідролізу, гідразінолізу, Кньовенагеля та Кляйзена-Шмідта;

- дослідити прототропну аміно-імінну таутомерію синтезованих 2-піридиніламініотіазол-4-онів на основі спектральних методів і даних рентгеноструктурного аналізу ключових сполук;

- запропонувати ефективні методи синтезу 5-ариліден-2-бензоїліміно-3-піридиніл-4-тіазолідинонів, а також структурно споріднених 2-тіоксо-4-тіазолідинонів (роданінів) та 2,4-тіазолідиндіонів;

- одержати нові піразолін-тіазолідинові кон'югати на основі 3-(3-піридиніл)- та 3-ізонікотиноїламід-2-тіоксо-4-тіазолідинонів;

- синтезувати серії 5-піридиніламінометил-4-тіазолідинонів;

- для синтезованих сполук дослідити протипухлинну, протитрипаносомну та антифіброзну активність *in vitro*, а також вивчити протизапальний ефект та гостру токсичність *in vivo*. На основі детального аналізу кореляції «структура – активність» виділити «сполуки-хіти» для подальших поглиблених досліджень;

- провести *in silico* дослідження методом *COMPARE* аналізу сполук з встановленим протипухлинним ефектом, запропонувати імовірний механізм дії та сформулювати рекомендації до спрямованого синтезу нових «лікоподібних молекул».

Об'єктами дослідження були процеси [2+3]-циклоконденсації у синтезі 4-тіазолідинонів та тіазолів, гідролізу, гідразінолізу, конденсації, амінолізу, реакція Кньовенагеля та Кляйзена-Шмідта.

Предметом дослідження стали 2, 3 та 5-піридинілзаміщені 4-тіазолідинони та тіазоли як базові “структурні блоки” для пошуку нових біологічно активних сполук.

Методи дослідження: органічний синтез, ^1H та ^{13}C ЯМР спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз, рентгеноструктурний аналіз (РСА), фармакологічні дослідження *in vitro* та *in vivo*, *COMPARE* аналіз.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено ефективні методи синтезу нових 4-тіазолідинонів та тіазолів з піридиновим фрагментом у молекулах. У результаті детального вивчення реакції [2+3]-циклоконденсації піридинілтіосечовин з різноманітними еквівалентами діелектрофільного синтону $[\text{C}_2]^{2+}$ вперше одержано серії нових 2-піридиніламіно- і 2-піридинілметилгідразоно-4-метилтіазолів та 4-тіазолідинонів, вивчено їх поведінку в реакціях гідролізу, гідразінолізу, Кньовенагеля та Кляйзена-Шмідта, що дозволило синтезувати потенційні біологічно активні 5-ариліден-4-тіазолідинони та 3-арилпропенотіазоли. На основі поєднання комплексного ЯМР аналізу та рентгеноструктурних досліджень підтверджено існування прототропної аміно-імінної таутомерії в розчині для 2-піридиніламініотіазол-4-онів, а також їх аміноформу у кристалічному стані. На основі спектрів ^1H ЯМР для 3-арил-1-(4-метил-2-піридинамініотіазол-5-іл)пропенонів встановлено транс-конфігурацію енонового фрагменту, а також стереоселективне проходження реакції Кньовенагеля з утворенням виключно 5-(*Z*)-ариліден-4-тіазолідинонів з піридиновим фрагментом. Показано, що 5-ариліден-2-бензоїліміно-3-піридиніл-4-тіазолідинони є ефективними інтермедіатами для

одержання важкодоступних 5-ариліден-3-піридиніл-2,4-тіазолідиндіонів, які, окрім того, можуть бути одержані на основі 1-бензоїл-3-піридинілтіосечовин в однореакторній мультикомпонентній (“one-pot”) реакції, що включає послідовний перебіг реакцій [2+3]-циклоконденсації, Кньюенагеля та кислотного гідролізу. Показано, що взаємодія 3-амінопіридину та ізоніазиду з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою є ефективним методом синтезу 3-піридинілзаміщених роданінів. Встановлено, що 3-заміщені 2-тіоксо-4-тіазолідинони та 2-амінотіазол-4(5*H*)-он в реакції з триетилортоформіатом в ацетангідриді утворюють 5-етоксиметилідепохідні, причому у випадку роданін-3-алканкарбонових кислот паралельно проходить реакція естерифікації, а для псевдотіогідантоїну відзначено ацетилювання аміногрупи. На основі 5-етоксиметилден-4-тіазолідинонів запропоновано ефективні синтетичні підходи до нових 5-амінометилденпохідних з фрагментами амінопіридинів, гідразидів піридинкарбонових кислот та 4-(піридин-2-іл)піперазину в молекулах, а також піразолін-роданінових кон’югатів як потенційних біологічно активних сполук. Показано, що 5-(піридин-3-іл)метиліденроданін-3-сукцинатна кислота при дії тіонілхлориду утворює відповідний циклічний ангідрид як базовий реагент для синтезу відповідних циклічних імідів. Вперше встановлено, що взаємодія діетилового естеру 5-етоксиметилденроданін-3-сукцинатної кислоти з двократною кількістю 3-амінопіридину характерна одночасним перебігом реакцій амінолізу та циклізації з утворенням 3,5-дипіридинілзаміщеного похідного роданіну, що відкриває шлях до одержання нових піролідін-роданінових кон’югатів як потенційних біологічно активних сполук.

Проведено спрямований синтез 136 сполук. У результаті фармакологічного скринінгу ідентифіковано 14 “сполук-хітів” з протипухлинною, протитрипаносомною, протизапальною та протифіброзною активностями, а також низькими токсикометричними параметрами *in vivo*. На основі SAR і COMPARE аналізу запропоновано рекомендації до раціонального дизайну протипухлинних агентів з групи тіазолідинів з піридиновим фрагментом. Наукова новизна роботи підтверджена деклараційним патентом України на корисну модель № 119882 (2017 р.).

Практичне значення одержаних результатів. Проведено систематичне дослідження фізико-хімічних властивостей синтезованих сполук, що важливо для теорії та практики органічного синтезу. Виявлено нові високоактивні і малотоксичні сполуки для поглиблених досліджень, що проявляють протипухлинну, протизапальну, протитрипаносомну та протифіброзну активності. Сформульовано деякі критерії для спрямованого синтезу біологічно активних сполук з групи піридинілзаміщених 4-тіазолідинонів. Фрагменти роботи впроваджено в навчальний та науковий процеси Запорізького державного медичного університету та Національного фармацевтичного університету (акти впровадження від 24.05.2017 р. та 19.07.2017 р.).

Особистий внесок здобувача. У процесі виконання роботи автором реалізовано виконання експериментальної частини, узагальнення результатів та формулювання положень і висновків, які виносяться на захист. Співавторами наукових праць є науковий керівник, а також науковці, з якими проводились спільні фізико-хімічні та біологічні дослідження.

Апробація результатів дослідження. Основні положення дисертаційної роботи доповідались на науково-практичних конференціях “Modern Directions in Chemistry, Biology, Pharmacy and Biotechnology” (Львів, 2015), VII International Conference „Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” (Харків, 2015), 24th Scientific Congress of the Austrian Pharmaceutical Society (OphG) (Відень, Австрія, 2015), V Lodzkie Sympozjum Doktorantow Chemii (Лодзь, Польща, 2017), VI Ogólnopolska Konferencja Naukowa «Pomiedzy Naukami» (Катовіце, Польща, 2017), XV та XVII наукових конференціях “Львівські хімічні читання” (Львів, 2015, 2017), Всеукраїнській науково-практичній конференції „Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації” (Вінниця, 2016), XVIII та XIX науковій молодіжній конференції „Проблеми та досягнення сучасної хімії” (Київ, 2016; Одеса, 2017), науково-практичній конференції "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2016), науковій конференції "Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології" (Харків, 2016), IX Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів „Хімічні Каразінські читання (Харків, 2017), V Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної науки» (Івано-Франківськ, 2017), VII Українській конференції «Домбровські хімічні читання 2017» (Яремче, 2017), звітних конференціях аспірантів та ординаторів факультету іноземних студентів ЛНМУ (Львів, 2015, 2016, 2017), засіданні кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького (Львів, 2017).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 23 наукових робіт, з них 7 статті в наукових фахових виданнях, 15 тез доповідей. Одержано 1 деклараційний патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 213 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, п'ятих розділів, висновків, списку літератури та 2 додатків (2 с.). Робота ілюстрована 42 таблицями, 50 рисунками та 72 схемами, перелік використаної літератури містить 170 джерел.

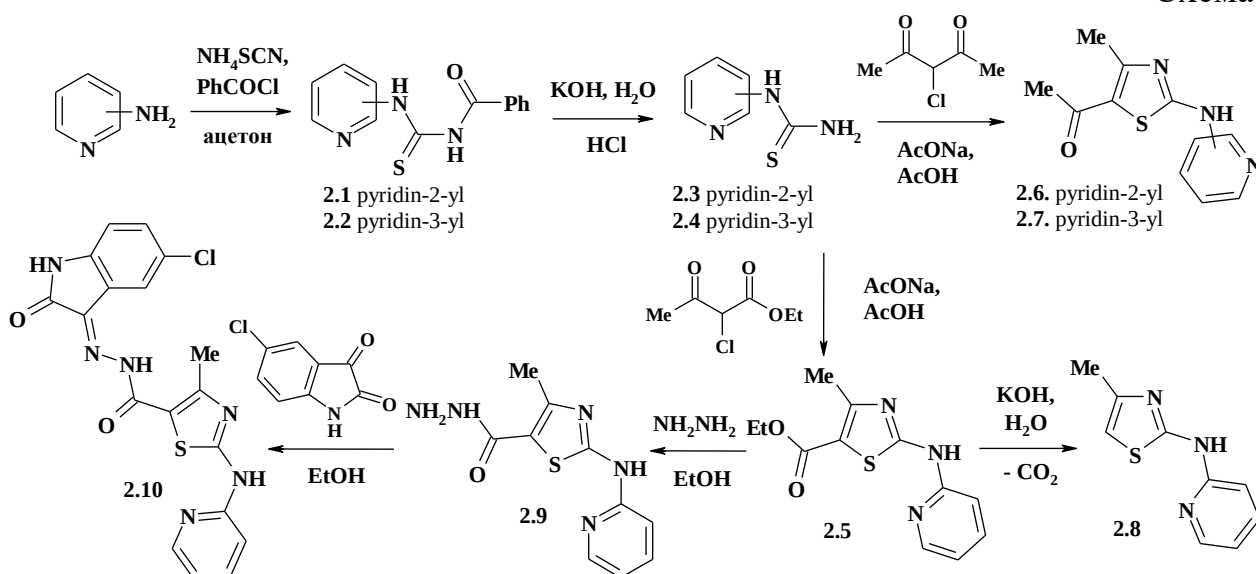
ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Синтез, фізико-хімічні властивості 2-піридинілзаміщених похідних тiazолідину як потенційних біологічно активних сполук

Вихідними сполуками для синтезу 2-піридиламінотіазолів обрано піридинілтіосечовини **2.3**, **2.4**, одержані взаємодією роданіду амонію, бензоїлхлориду та відповідного 2- або 3-амінопіридину у середовищі ацетону з подальшим гідролізом утворених бензоїлпохідних **2.1** та **2.2**. Сполуки **2.1** та **2.2** також виділено та очищено для використання в синтезі 3-піридинілзаміщених тіазолів та 4-тіазолідинонів. [2+3]-Циклоконденсацією тіосечовин **2.3**, **2.4** з етил 2-хлороацетоацетатом та 2-хлороацетилацетоном в середовищі оцтової кислоти

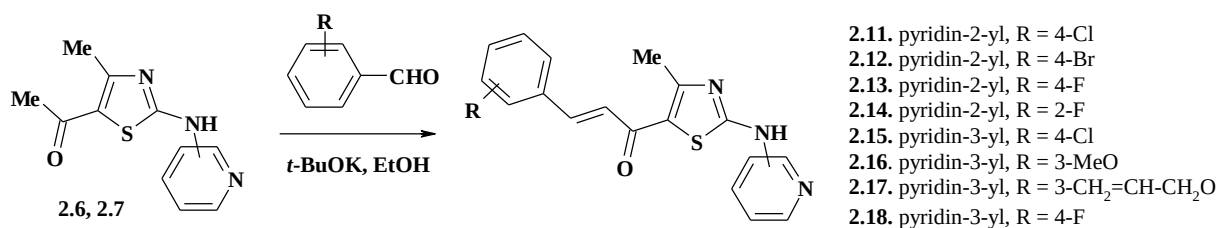
та присутності безводного ацетату натрію з задовільними виходами одержано неконденсовані піридин-тіазольні кон'югати **2.5-2.7**. Нами встановлено, що при лужному гідролізі сполуки **2.5** проміжна 4-метил-2-(піридин-2-іламіно)тіазол-5-карбонова кислота зазнає декарбоксилювання з утворенням 5-незаміщеного похідного **2.8**, що підтверджено спектральними даними. Так, для сполуки **2.8** спостерігається утворення молекулярного іону 192 (M+H)^+ у хромато-мас спектрі, а у спектрі ^1H ЯМР ідентифіковано синглет 5-Н протону при 6.52 м.ч., який відсутній у вихідної сполуки **2.5**. Гідразиноліз **2.5** проходить класично з утворенням гідразиду 4-метил-2-(піридин-2-іламіно)тіазол-5-карбонової кислоти **2.9**, при взаємодії якого з 5-хлороізатином одержано *N'*-(5-хлоро-2-оксо-2,3-дигідро-1*H*-індол-3-іл)гідразон 4-метил-2-(піридин-2-іламіно)тіазол-5-карбонової кислоти **2.10** (Схема 1).

Схема 1



Синтезовано ряд нових 3-ариліден-1-(4-метил-2-піридиламінотіазол-5-іл)пропенонів **2.11-2.18** в умовах реакції Кляйзена-Шмідта (середовище абсолютний етанол, каталізатор - *трет*-бутилат калію). Як вихідні речовини використано 1-[4-метил-2-(піридин-2/3-іламіно)тіазол-5-іл]етанони **2.6** і **2.7** та деякі ароматичні альдегіди (Схема 2).

Схема 2

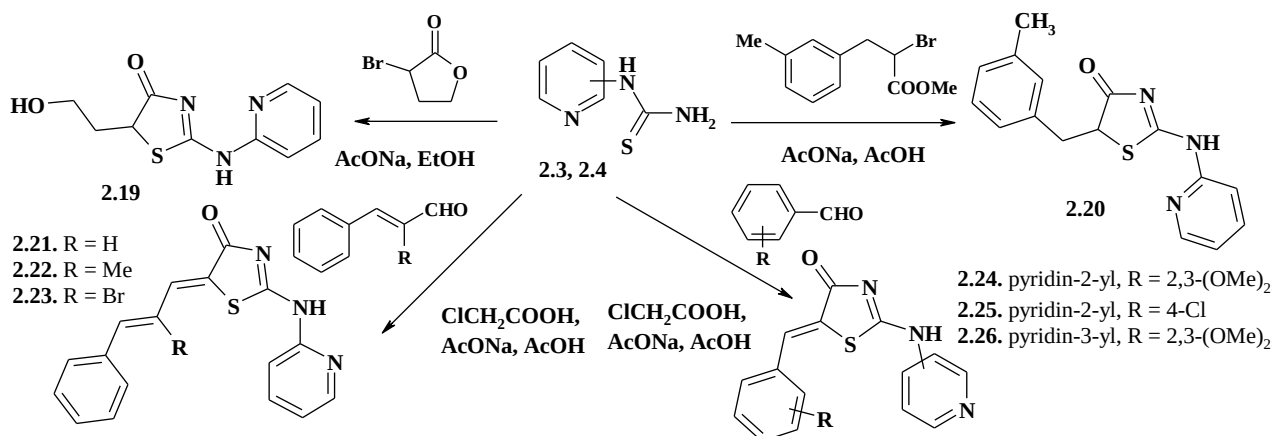


Для похідних **2.11-2.18** у спектрах ^1H ЯМР еноновий фрагмент утворює два дублети при 7.50-7.70 м.ч. з константою спин-спінової взаємодії (КССВ) 15.0-15.6 Гц, що свідчить про його транс-конфігурацію.

Використання похідних α -галогенокарбонових кислот як C_2 -циклізуючих агентів в реакціях із тиосечовинами як S_2N -бінуклеофілами є зручним методом синтезу похідних 2-іміно-4-тіазолідинону. Так, взаємодією α -бром- γ -

бутиролактону або метил 2-бromo-3-(4-метилфеніл)пропаноату з (піридин-2-іл)тіосечовиною **2.3** одержано похідні **2.19** та **2.20**. Нові 5-ариліден-2-піридиніламініотіазол-4-они **2.21-2.26** одержано в умовах одnoreакторного („one-pot”) процесу, що включає послідовний перебіг [2+3]-циклоконденсації тіосечовин **2.3**, **2.4** з монохлорооцтовою кислотою та реакції Кньюенагеля утвореного *in situ* 4-тіазолідинону з ароматичними альдегідами (Схема 3).

Схема 3



Важливо відзначити, що для 5-ариліденопохідних **2.24-2.26** у спектрах ¹H ЯМР протон метиліденової групи ідентифіковано як однопротонний синглет у ділянці 7.80-7.90 м.ч., що свідчить про Z-конфігурацію іліденового фрагменту.

Для 2-піридиніламініотіазол-4-онів імовірно є прототипна аміно-імінна таутомерія в розчині, причому імінна форма може існувати у вигляді Z- і E-таутомерних форм. Для констатації цього факту проведено комплексний ЯМР аналіз 5-(2-гідроксietил)-2-(піридин-2-іл)тіазол-4-ону **2.19**, для якого застосовано NOESY, COSY, HSQC та HMBC кореляційні підходи. Результати віднесення сигналів ¹H та ¹³C представлені на рис. 1. У спектрах ¹³C спостерігається уширення сигналу при 165.14, що, правдоподібно, пов'язано з таутомерними перетвореннями **2.19**. Рентгенгоструктурний аналіз (РСА) сполуки **2.19** дозволив трактувати її аміноформу у кристалічному стані (рис 2).

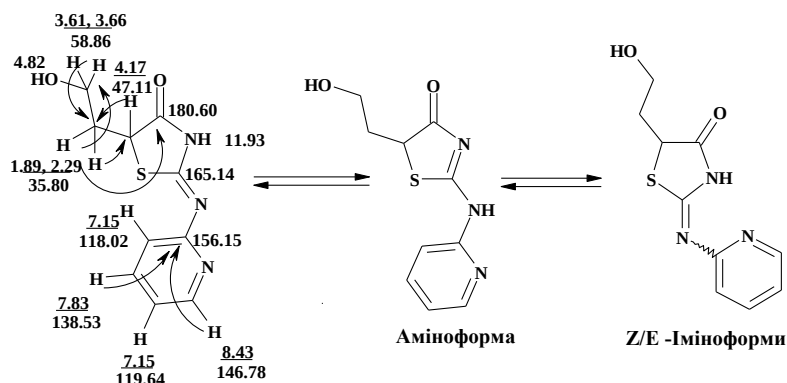
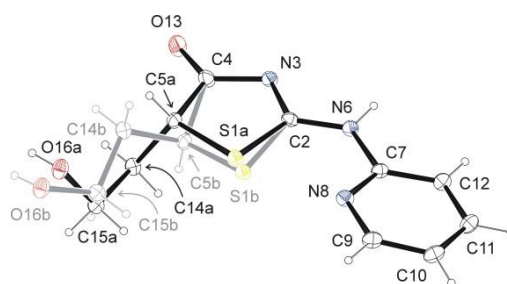


Рис. 1. Основні кореляції сигналів (м.ч.) в спектрах ¹H та ¹³C сполуки **2.19**.

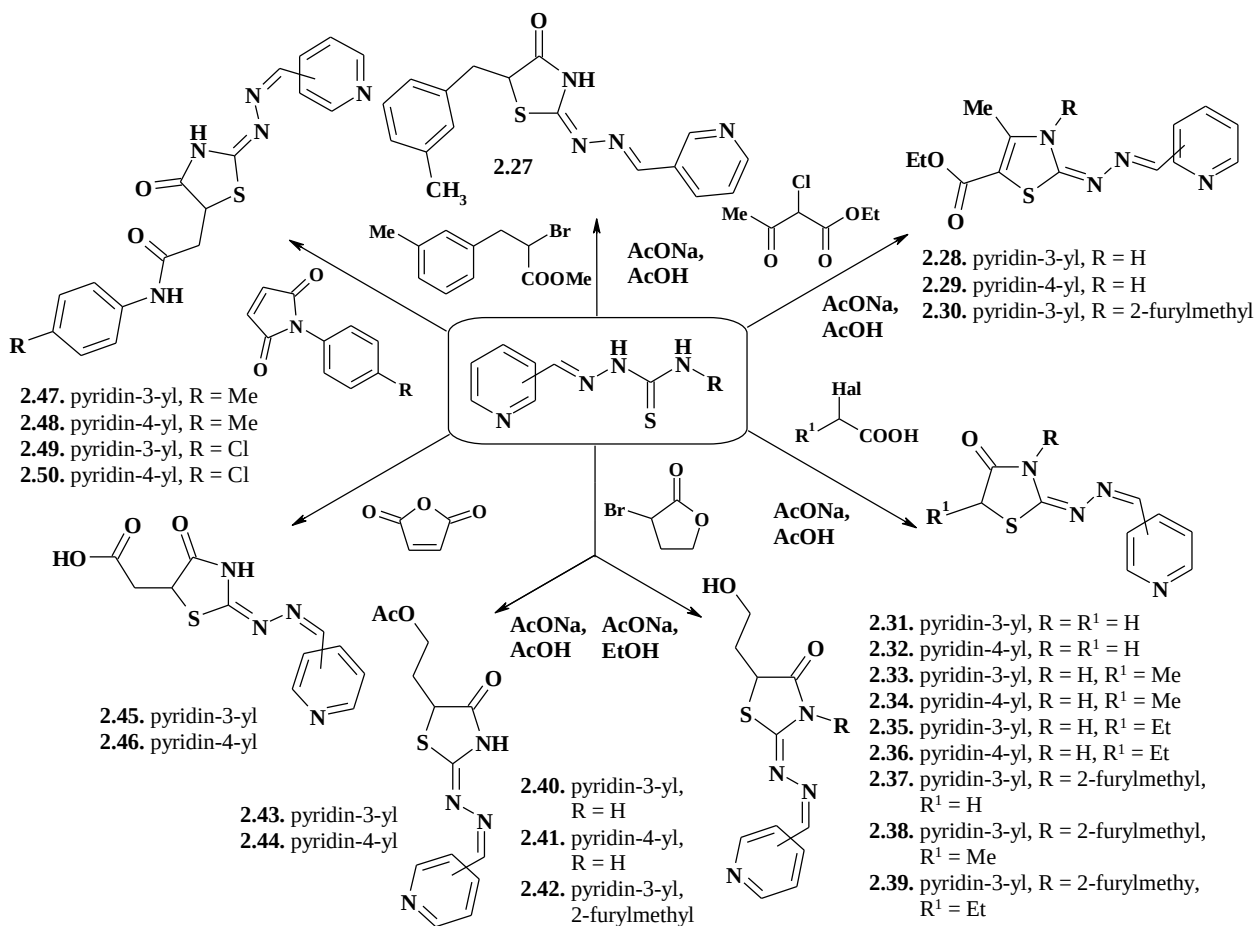
Рис. 2. РСА сполуки **2.19**.



Нові 2-піридинілметилєнгідразоно-4-тіазолідинони/тіазоліни одержані на основі тіосемікарбазонів піридинкарбальдегідів як S,N-бінуклеофілів. Як еквіваленти діелектрофільного синтону [C₂]²⁺ у [2+3]-циклоконденсаціях

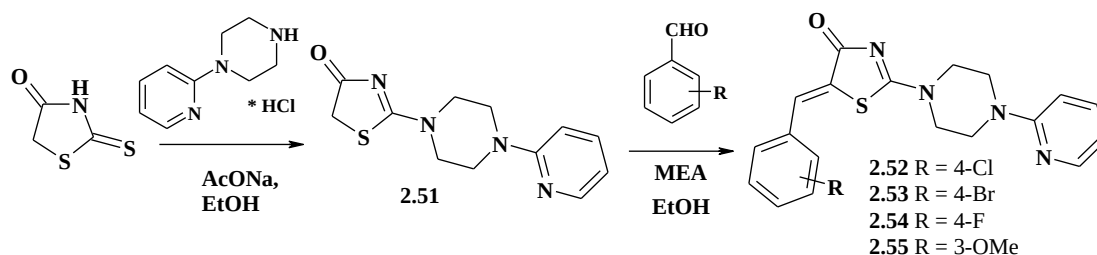
використано наступні реагенти: метил 2-бromo-3-(4-метилфеніл)пропаноат (2.27), α -галогенокарбонові кислоти (2.31-2.39), етил 2-хлороацетат (2.28-2.30), α -бromo- γ -бутиролактон (2.40-2.44), малеїангідрид (2.45, 2.46) та мадеїнамід (2.47-2.50) (схема 4). У випадку α -бromo- γ -бутиролактону продукт реакції залежить від реакційного середовища. Так, у етанолі утворюються похідні 5-(2-гідроксietил)-4-тіазолідинону 2.40-2.42, а у середовищі оцтової кислоти спостерігається супутня реакція ацетилювання з одержанням 5-(β -ацетилоксіетильних) аналогів 2.43, 2.44.

Схема 4



Враховуючи, що аліфатичні аміни володіють більш основними властивостями та здатні реагувати з роданіном без попередньої активації тіокарбонільної групи у положенні 2, нами синтезовано 2-(4-піридин-2-іл-піперазин-1-іл)-2-тіазолін-4-он 2.51 на основі 4-(піридин-2-іл)піперазину. Крім того, одержано ряд 5-ариліденопохідних 2.52-2.55 в реакції Кньюенагеля 2.51 з ароматичними альдегідами (Схема 5).

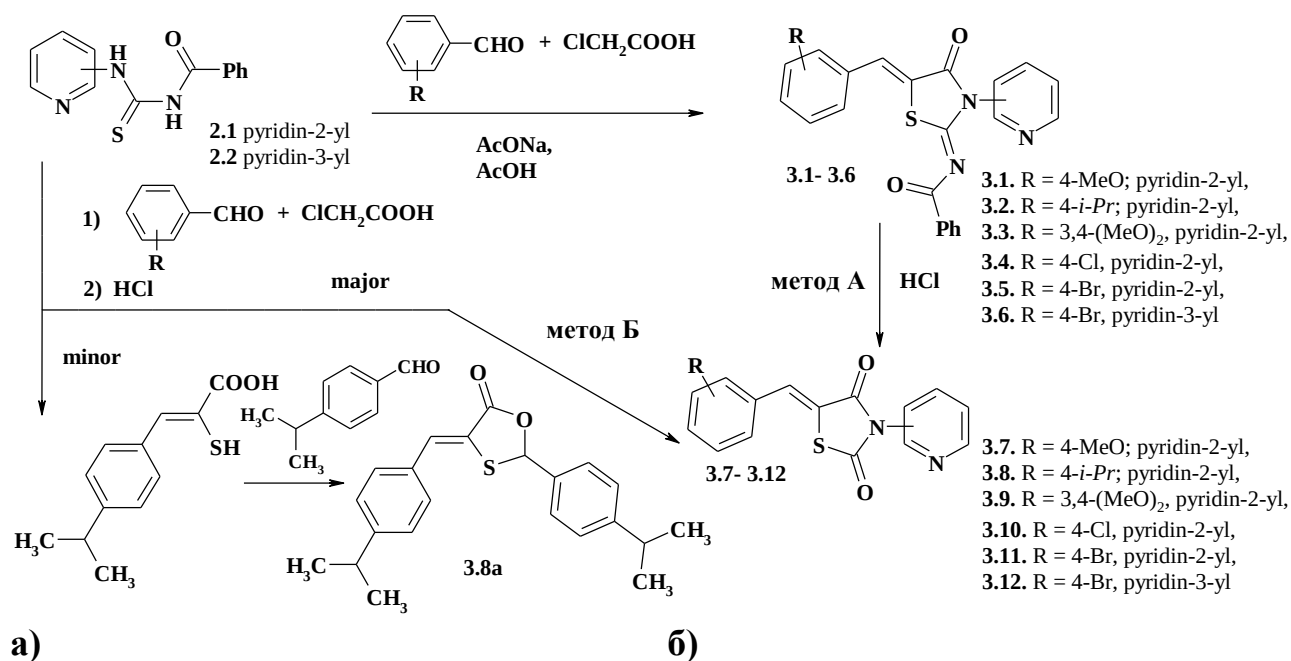
Схема 5



Синтез 3-піридинілзаміщених 4-тіазолідинонів як потенційних біологічно активних сполук

Для синтезу 5-ариліден-3-піридиніл-2-бензоїліміно-4-тіазолідинонів **3.1-3.6** як вихідні сполуки використано тіосечовини **2.1** та **2.2** в умовах одnoreакторної («one-pot») реакції з монохлороцтовою кислотою та рядом оксисполук. Слід відзначити, що синтезовані похідні псевдотіогідантоїну легко гідролізують під дією хлоридної кислоти до 2,4-тіазолідиндіонів **3.7-3.12** (метод А). Для сполук **3.7-3.12** запропоновано альтернативний одnoreакторний («one-pot») підхід, що відрізняється від методу А усуненням стадії виділення проміжного псевдотіогідантоїну, який піддають кислотному гідролізу безпосередньо в реакційній суміші. Обидва методи не мають суттєвих переваг один перед одним і можуть використовуватись для синтезу 3-заміщених 2,4-тіазолідиндіонів в залежності від поставленого завдання (схема 6).

Схема 6

Рис. 3. РСА сполук **3.8** (а) та **3.8a** (б).

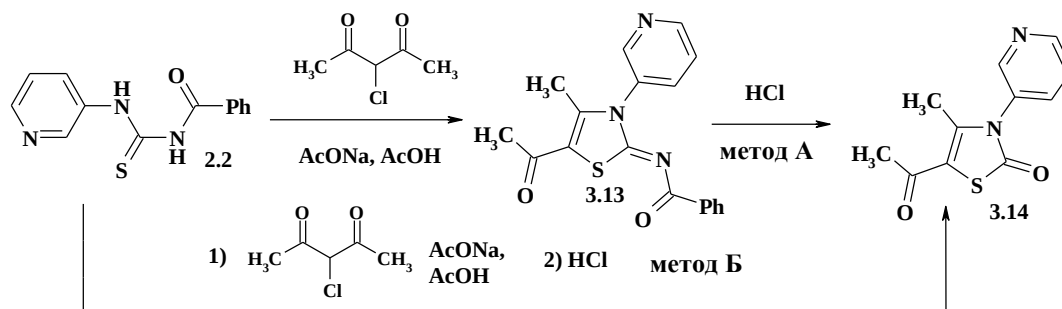
У технічному зразку сполуки **3.8**, одержаної за методом Б, на основі РСА ідентифіковано мінорний продукт реакції - 2-(4-ізопропілфеніл)-4-[(*Z*)-1-(4-ізопропропілфеніл)метиліден]-1,3-оксатіолан-5-он (**3.8a**), що, правдоподібно, можна пояснити супутнім гідролітичним розщепленням 5-ариліден-2,4-

тіазолідиндіону до 3-(4-ізопропілфеніл)-2-сульфаніл-2-пропенової кислоти та наступною її циклоконденсацією з наявним в реакційній суміші непрореагованим 4-ізопропілбензальдегідом (Схема 6). Мінорний продукт легко усувається методом перекристалізації. Структура основного (**3.8**) і мінорного (**3.8a**) продуктів підтверджена РСА (рис. 3).

У спектрах ^1H ЯМР сигнал метиліденового протону синтезованих 5-ариліден-4-тіазолідинонів **3.1-3.12** проявляється у вигляді синглету при 7.80-8.00 м.ч., що переконливо свідчить про *Z*-конфігурацію одержаних похідних.

Взаємодією 3-бензоїл-1-(2-піридиніл)тіосечовини **2.2** з 2-хлороацетил-ацетоном одержано 5-ацетилтіазол-2-іліденбензамід **3.13**, кислотний гідроліз якого приводить до 5-ацетил-4-метил-3-(3-піридиніл)-2,3-дигідротіазол-2-ону **3.14** (метод А). Як і у випадку похідних псевдотіогідантоїну та 2,4-тіазолідиндіону сполука **3.14** одержана альтернативно однореакторним ("one-pot") методом, що включає кислотний гідроліз продукту [2+3]-циклоконденсації безпосередньо в реакційній суміші (метод Б). Методи А і Б не мають суттєвих переваг один перед одним (схема 7).

Схема 7



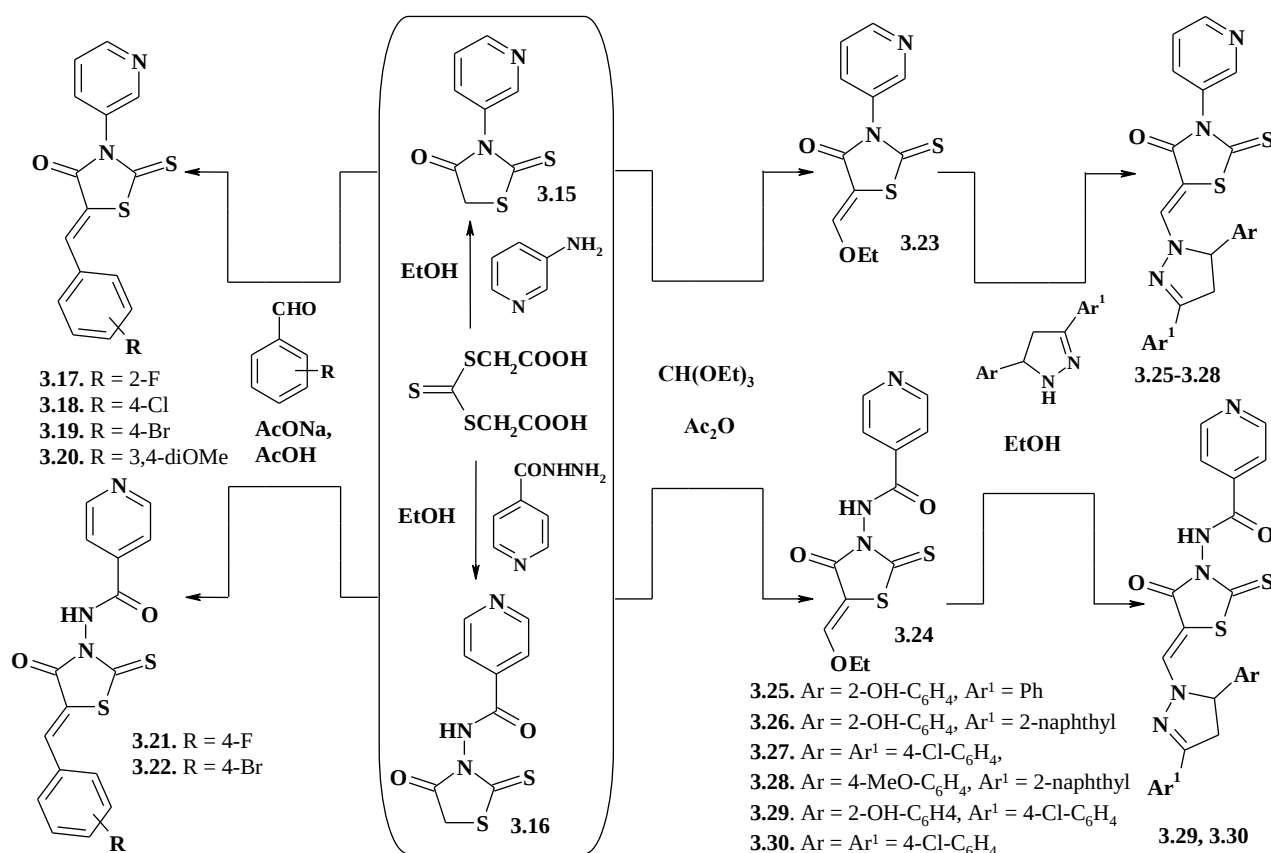
При взаємодії 3-амінопіридину та ізоніазиду, з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою в спиртовому середовищі закономірно одержано цільові 3-(3-піридиніл)- та 3-ізонікотиноїламід-2-тіоксо-4-тіазолідинони **3.15**, **3.16** (схема 8). Похідні **3.15** та **3.16** є метиленактивними гетероциклами, що дозволило отримати в реакції Кньювенагеля 5-ариліденпохідні **3.17-3.23**.

Окрім того, шляхом взаємодії 3-піридинілзаміщених 2-тіоксо-4-тіазолідинонів **3.15** та **3.16** із триетилортоформіатом в ацетангідриді були синтезовані відповідні 5-етоксиметиліденпохідні **3.23** та **3.24** як ключові реагенти у реакції амінолізу. Як амінну компоненту у зазначеній реакції ми апробували 3,5-діарилпіразоліни, що дозволило одержати неописані в хімічній літературі 5-піразолілзаміщені 3-піридинілроданіни **3.25-3.30** (схема 8).

Як і у випадку похідних псевдотіогідантоїну та тіазолідиндіону для 5-ариліденроданінів **3.15-3.22** у спектрах ^1H ЯМР сигнал метиліденового протону розташований при 7.83-8.04 м.ч., що свідчить про *Z*-конфігурацію ариліденового фрагменту. Спектри ^1H ЯМР 5-(піразоліл-1)метиленроданінів **3.25-3.30** характерні субспектром піразолінового циклу з АМХ-системою фрагменту CH_2CH , кожен з протонів якої виявляється дублетом дублетів при 3.38-3.64 та 3.72-4.15 та 5.62-5.77 м.ч. з КССВ $J_{AM} = 17.6-18.2$ Гц, $J_{AX} = 11.3-12.0$ Гц, $J_{MX} = 6.2-6.8$ Гц. Окрім того, протон метиленової групи в положенні 5

суттєво зміщений у слабше магнітне поле, що, правдоподібно, свідчить про Z-конфігурацію піразолілметиленового фрагменту відносно 4-тіазолідинового циклу.

Схема 8



Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості нових похідних 5-піридинілзаміщених 4-тіазолідинонів

З метою синтезу 5-піридинілзаміщених 4-тіазолідинонів як вихідні сполуки обрано 3-заміщені роданіни **4.1-4.6**, які завдяки лабільності атомів метиленової групи в положенні 5 легко реагують з триетилортоформіатом в середовищі ацетангідриду з утворенням 5-етоксиметилідепохідних **4.7-4.12**. Важливо відзначити, що у випадку роданін-3-алканкарбонових кислот **4.3**, **4.5** та **4.6** в умовах реакції паралельно з утворенням 5-етоксиметиленової групи відбувається естерифікація карбоксильних груп, а для сполуки **4.4** – ацетилювання фенольного гідроксилу (схема 9).

На основі здатності 5-етоксиметилєнроданінів **4.7-4.12** легко вступати в реакції нуклеофільного заміщення нами одержано 5-амінометилєнпохідні **4.13-4.38** (схема 10). У якості нуклеофілів використано амінопіридини, гідразиди 2- і 4-піридинкарбонових кислот, а також 4-(піридин-2-іл)піперазин.

Амінометиленова група сполук **4.13-4.36** у спектрах ¹H ЯМР характерна двома дублетами при ~8.0 та ~11.0 м.ч. з КССВ 11.6-12.4 Гц, що свідчить про її Z-конфігурацію. Остаточню зазначену структурну особливість синтезованих 5-амінометилєнроданінів підтверджує РСА похідних **4.14** та **4.30** (рис. 4).

Схема 9

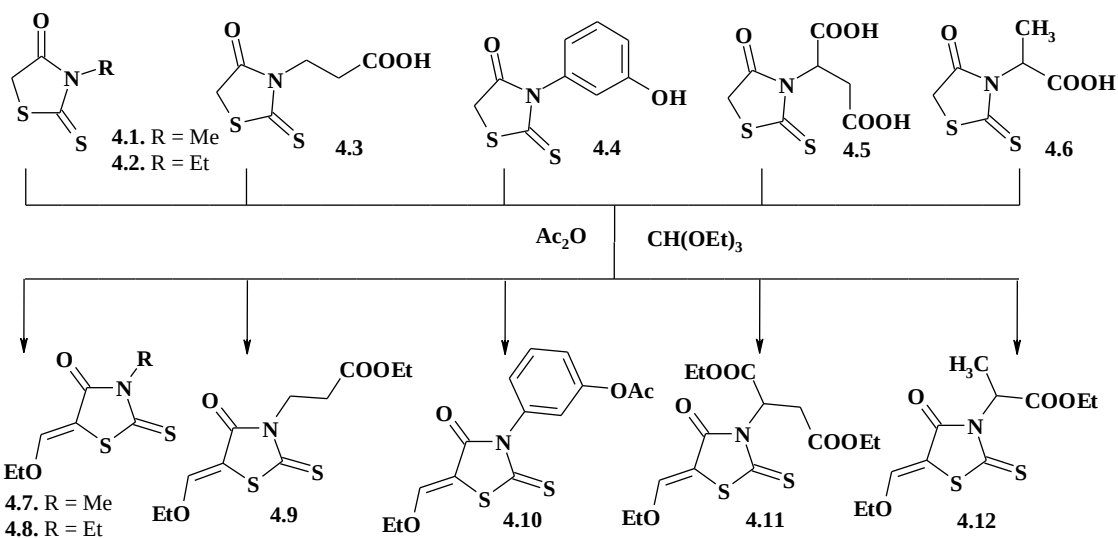
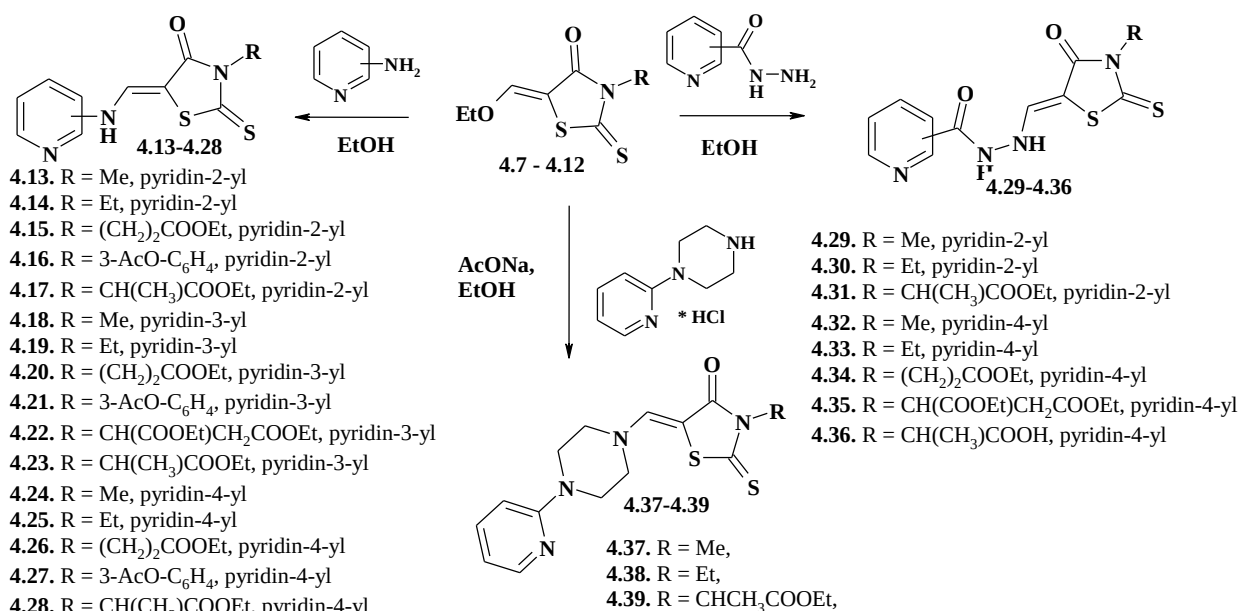
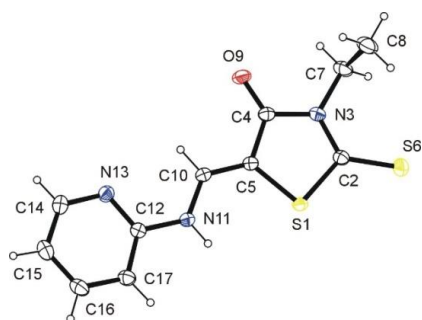


Схема 10



а)



б)

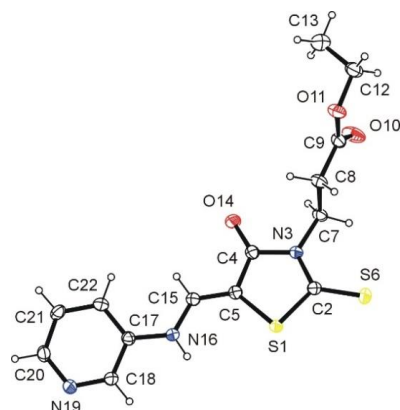
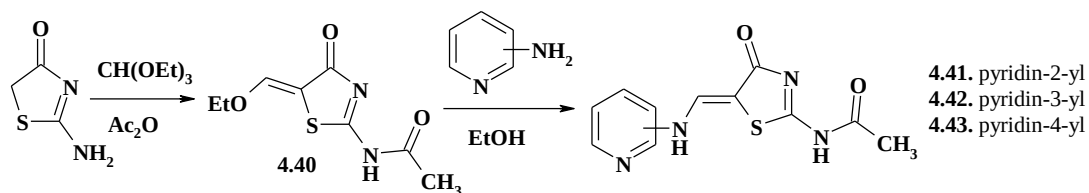


Рис. 4. Рис. 3. РСА сполук 4.14 (а) та 4.30 (б).

Взаємодією 2-амінотіазол-4(5H)-ону з ортоетилформіатом в ацетангідриді одержано *N*-(5-етоксиметилєн-4-оксо-4,5-дигідротіазол-2-іл)ацетамід 4.40,

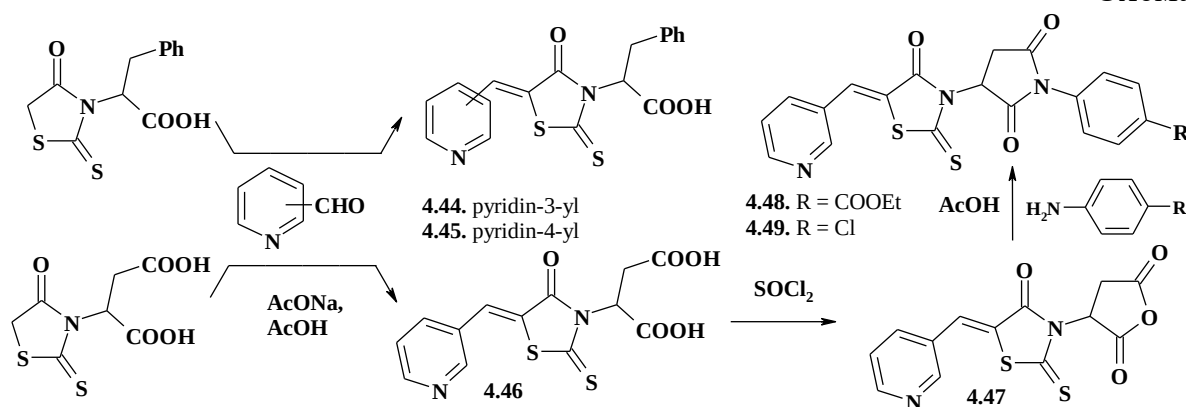
тобто паралельно відбувається ацетилювання 2-аміногрупи (схема 11). Синтез 5-амінометиленамінованих **4.41-4.44** здійснено амінолізом сполуки **4.40**.

Схема 11



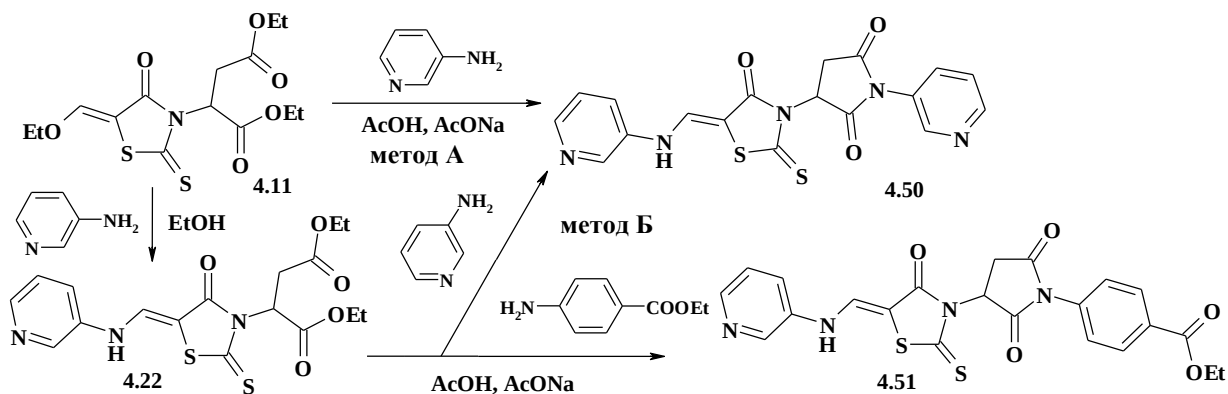
Для деталізації особливостей кореляції «структура - активність» в ряду піридин-тіазолідинових кон'югатів ми здійснили синтез 5-піридиніліден-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-алканкарбонових кислот **4.44-4.46** за реакцією Кньюенагеля. На основі сполуки **4.46** одержано сукциніміди **4.48** та **4.49** через стадію відповідного ангідриду **4.47** (схема 12).

Схема 12



Враховуючи ефективність одержання сукцинімідів на основі ангідридів роданін-3-сукцинатних кислот, ми вивчили у подібній реакції діетилові естери 5-етоксиметилена- (**4.11**) та 5-(піридин-3-іл)амінометилена-роданін-3-сукцинатних кислот (**4.22**). Так, при взаємодії **4.11** з двократною кількістю 3-амінопіридину утворюється 3,5-дипіридинілзаміщений роданін **4.50**, тобто спостерігається одночасний перебіг реакцій амінолізу та циклізації в положеннях 5 та 3 (метод А). Сполука **4.50** одержана зустрічно (метод Б) взаємодією **4.22** з 3-амінопіридином. Аналогічно синтезовано сукцинімід **4.51** (схема 13).

Схема 13



Структура та індивідуальність одержаних 2, 3 та 5-піридинілзаміщених похідних тіазолідину та тіазолу підтверджена методами спектроскопії ^1H та ^{13}C

ЯМР (прилад Varian Mercury - 400 100 MHz) та хромато-мас-спектрометрії (прилад Agilent 1100).

Біологічна активність нових похідних 4-тіазолідинону та тіазолу з піридиновим фрагментом у молекулах

Протипухлинний ефект *in vitro* для 7 сполук вивчався у рамках наукової програми Національного інституту раку США *Developmental Therapeutic Program (DTP NCI)*. На першому етапі згідно стандартного протоколу *DTP NCI* проведено вивчення ефекту на 60 лініях ракових клітин (лейкемії, меланоми, раку легень, кишківника, ЦНС, яйників, нирок, простати та молочної залози) в концентрації речовин 10^{-5} М. Розраховані середні значення відсотків росту клітин (GR, %) на фоні тестованих сполук становили 34.07-101.90 %. Для ґрунтового *in vitro* скринінгу відібрано «сполуки-хіти» **2.15** та **2.18**, які вивчалися в діапазоні концентрацій 10^{-4} - 10^{-8} М на 60 лініях клітин з розрахунком ефективного рівня інгібування (GI_{50}), цитостатичної (TGI) та цитотоксичної (LC_{50}) дії. Результати ґрунтового *in vitro* скринінгу підтвердили високу протипухлинну активність сполук **2.15** та **2.18**, про що свідчать середні значення $\log GI_{50}$, $\log TGI$ та $\log LC_{50}$, які становлять -5.51, -4.74, -4.13 (**2.15**) та -5.52, -4.63, -4.09 (**2.18**) (рис. 5). Сполуки-хіти **2.15** та **2.18** не володіють суттєвою селективністю дії, за винятком ефекту на лінії раку кишківника. Так, на рівні TGI для зазначених клітинних ліній відзначено помірну селективність з показниками індексу селективності (SI) 5.59 (**2.15**) та 4.67 (**2.18**).

Враховуючи достатньо перспективні результати скринінгових досліджень за програмою *DTP NCI*, ми провели вивчення активності 10 сполук на лініях лейкемії (HL-60, Jurkat), раку нирок (HEK-293T), гліобластоми (U251) та карциноми яйників (Skov3). Дослідження проведено у співпраці з науковою групою проф. Р.С. Стойки (Інститут біології клітини НАН України, Львів). Серед тестованих сполук заслуговують на увагу похідні **2.14**, **2.15**, **3.25** та **4.24**, що проявили активність у мікромольних концентраціях відносно ліній HL-60, Skov3 та HEK-293T (рис 5).

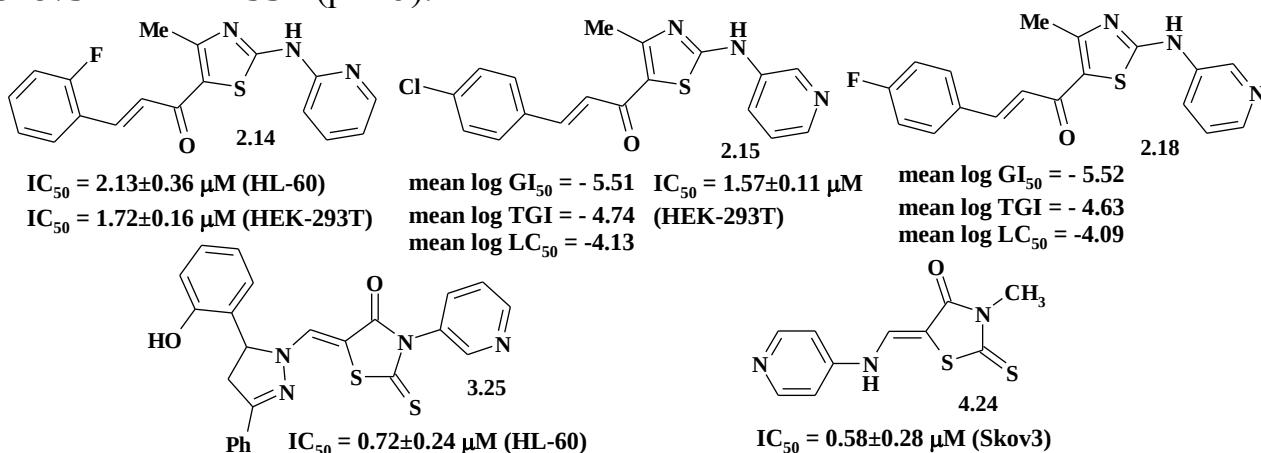


Рис. 5. Структурні формули сполук з експериментально встановленою високою протипухлинною активністю *in vitro*.

З метою встановлення можливого механізму протипухлинного ефекту проведено *COMPARE* аналіз, що полягав у порівнянні значень GI_{50} і TGI «сполук-хітів» **2.15**, **2.18** та відомих протиракових агентів, використовуючи web-ресурс програми *DTP NCI*. На основі одержаних значень коефіцієнтів Пірсона ($PCC = 0.500-0.644$) імовірними механізмами протиракового ефекту 3-арил-1-(4-метил-2-піридиніламінотіазол-5-іл)пропенонів є пригнічення синтезу нуклеїнових кислот, а також інгібування фосфоенолпіруват карбоксикінази, цитидин-трифосфат синтетази, топоізомерази I і II та полімеризації тубуліну.

Вивчення **антиексудативної активності** сполук проводилось на основі карагенінової моделі запального набряку лап білих щурів. Сполуки **2.11**, **2.12**, **3.18**, **3.26**, **3.28** та **4.33** вивчали в дозі 50 мг/кг, а еталонні лікарські засоби у їх середньотерапевтичних дозах. Практично всі тестовані похідні (за винятком **4.33**) проявили виразну антиексудативну активність. Ідентифіковано три високоактивні сполуки, для яких показник пригнічення запальної реакції (ПА, %) співмірний або переважає (38.4-43.7%) в умовах експерименту ефект диклофенаку натрію (43.6%) та кетанову (38.6%) (рис. 6).

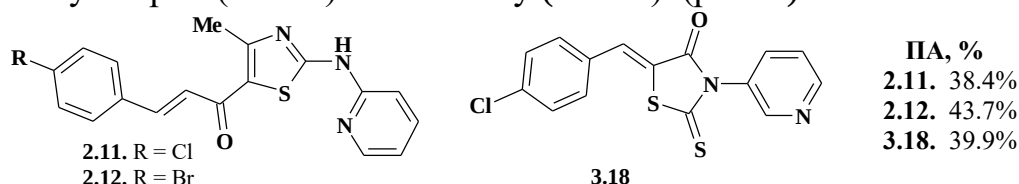


Рис. 6. Високоактивні сполуки з антиексудативним ефектом.

Вивчення **протитрипаносомної активності in vitro** сполук проводилось в Національному музеї природничої історії (проф. Філіп Грел'є (*Philippe Grellier*), Франція) на штамх *Trypanosoma brucei brucei* (TBV) та *Trypanosoma brucei gambiense* (TBG) при дії досліджуваних сполук у фіксованих концентраціях 10 та 1 мкг/мл. Для сполук, які продемонстрували значну трипаноцидну активність в концентрації 10 мкг/мл (>40-50% інгібування росту) проводили розрахунок значення інгібуючої концентрації IC_{50} (рис. 7).

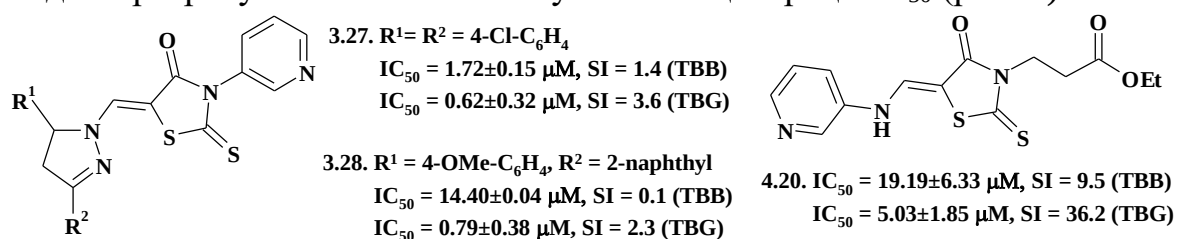


Рис. 7. Сполуки з експериментально встановленим трипаноцидним ефектом.

На основі проведених досліджень встановлено, що 5-амінометил-4-тіазолідинони з піридиновими фрагментами у положеннях 3 або 5 мають певну перспективу для дизайну потенційних лікарських засобів для фармакотерапії африканського трипаносоміазу. Так, похідні **3.27** та **3.28** характерні суттєвою протитрипаносомною дією, проте помірний показник індексу селективності (SI) свідчить про певну роль цитотоксичності сполук у загальній реалізації ефекту. З іншого боку, сполука **4.20** характерна високими SI (9.5 для TBV та 36.2 для TBG), що може бути основою для раціонального дизайну протитрипаносомних агентів з групи піридинілзаміщених 4-тіазолідинонів.

Вивчення **антифіброзної активності** сполук **2.31**, **2.33**, **2.35**, **2.37**, **2.39** та **2.40** проводилось на кафедрі фармакології та токсикології Маастрихтського університету (проф. Аальт Баст). Похідні **2.33** та **2.35** проявили високу антифіброзну активність і за рівнем інгібуючого впливу на життєздатність фібробластів є співмірними з пірфенідомом (рис. 8). Зазначені сполуки є перспективними «хітами» для молекулярного дизайну потенційних антифіброзних агентів.

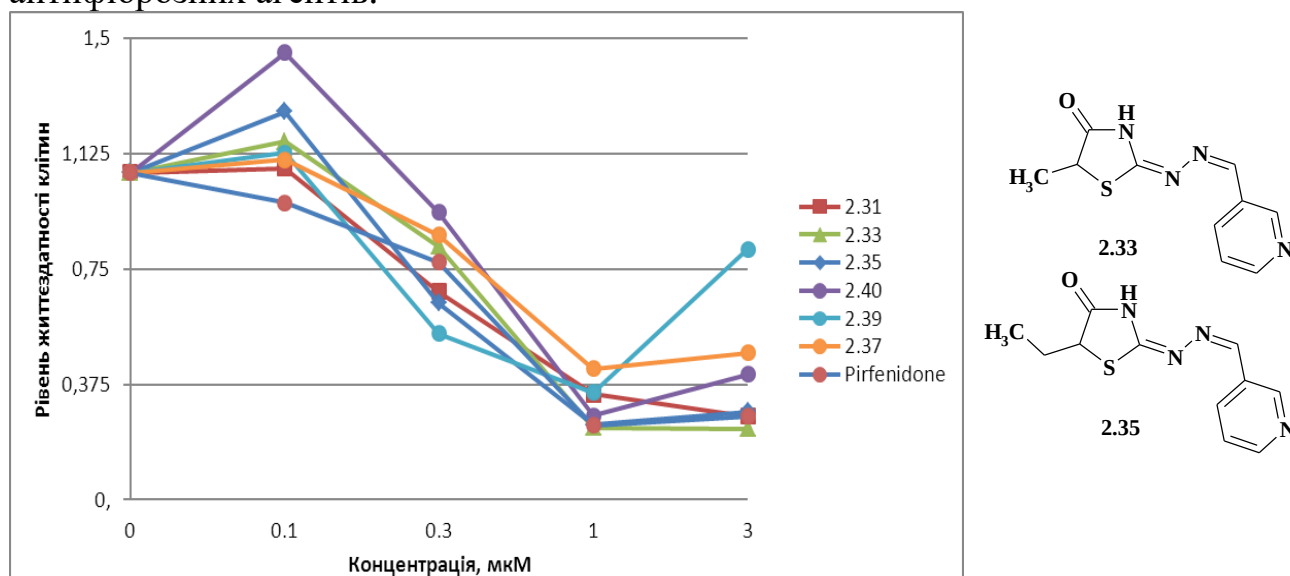


Рис. 8. Потенційні антифіброзні агенти.

За методом Літчфільда та Уілкоксона вивчено **гостру токсичність** високоактивних сполук **2.11**, **2.12**, **2.15**, **2.18**, **2.33**, **3.25**, **3.27**, **4.19** та **4.24**, LD₅₀ яких знаходиться в межах 180-420 мг/кг, що відповідає критеріям для малотоксичних сполук (І.О. Нектегаєв, ЛНМУ імені Данила Галицького).

ВИСНОВКИ

1. Розроблено ефективні методи синтезу і одержано 136 нових 2-, 3- і 5-піридинілзаміщених похідних 4-тіазолідинону та тіазолу, встановлена їх будова, вивчені фізико-хімічні параметри та біологічна активність. На основі комплексу досліджень, який включав синтез, фармакологічний скринінг, SAR і COMPARE аналіз ідентифіковано нові високоактивні сполуки з протипухлинною (5 речовин), антиексудативною (3), протитрипаносомною (3), антифіброзною (2) діями і задовільними токсикометричними параметрами. Пріоритет дослідження підтверджено патентом України на корисну модель.
2. Показано, що піридинілтіосечовини, їх 1-бензоїлзаміщені, а також тіосемікарбазони піридинкарбальдегідів є ефективними S,N-бінуклеофілами у [2+3]-циклоконденсаціях з різноманітними еквівалентами діелектрофільного синтону [C₂]²⁺ (етил 2-хлороацетоацетатом, 2-хлороацетилацетоном, α-галогенокарбоновими кислотами, α-бромо-γ-бутиролактоном, метил 2-бромо-3-(4-метилфеніл)пропаноатом, малеїнангідридом та малеїнімідами),

що дозволило одержати серії 2-піридиніламіно-, 2-піридилметилєнгідразоно- та 3-піридинілтїазолів та відповідних 4-тїазолїдинонїв.

3. Встановлено, що 1-[4-метил-2-(піридин-2/3-їламіно)тїазол-5-їл]етанони є ефективними реагентами в реакції Кляйзена-Шмїдта з ароматичними альдегідами, що дозволило синтезувати ряд нових 3-арилпропенонїв тїазольного ряду для фармакологічного скринінгу.
4. Підтверджено, що однореакторний („one-pot”) процес, що включає послїдовний перебіг [2+3]-циклоконденсації з моноклорооцтовою кислотою та реакції Кньовєнагєля утвореного *in situ* 4-тїазолїдинону з ароматичними альдегідами, є оптимальним підходом до синтезу бібліотеки 5-арилїденпохідних 2-піридиніламінотїазол-4-онїв та 2-бензоїліміно-3-піридинїл-4-тїазолїдинонїв.
5. Вперше встановлено, що 5-арилїден-3-піридинїл-2,4-тїазолїдиндіони можуть бути одержанї в однореакторній мультикомпонентній („one-pot”) реакції, що включає послїдовний перебіг реакцій [2+3]-циклоконденсації, Кньовєнагєля та кислотного гідролїзу з використанням 1-бензоїл-3-піридинїлтїосєчовин, моноклорооцтової кислоти, ароматичних альдегідїв, ацєтату натрію та концентрованої хлоридної кислоти в середовищі оцтової кислоти, що відкриває синтетичний шлях до важкодоступних 3,5-дизамїщєних тїазолїдиндіонїв як фармакологічно привабливих гєтероциклїчних сполук.
6. Показано, що 3-замїщенї 2-тїоксо-4-тїазолїдинони та 2-амїнотїазол-4(5*H*)-он легко вступають в реакцію конденсації з триєтилортоформїатом з утворєнням 5-єтоксимєтилєнпохідних, які використано в реакціях амінолїзу з амінопіридинами, гїдразидами 2- та 4-піридинкарбонових кислот, 4-(піридин-2-їл)пїперазином, а також різноманїтними 3,5-діарилпїразолїнами, що дозволило запропонувати ефективні синтетичні підходи до нових 3- та 5-піридинїлзамїщєних 4-тїазолїдинонїв як потенційних біологічно активних сполук.
7. Вперше встановлено, що взаємодія дієтилового єстеру 5-єтоксимєтилєн-2-тїоксо-4-тїазолїдинон-3-сукцинатної кислоти з двократною кількістю 3-амїнопіридину характерна одночасним перебігом реакції амінолїзу в положєнні 5 та циклізації в положєнні 3 базового гєтероциклу з утворєнням нових пїролїдин-роданїнових кон'югатїв, які можуть бути одержанї зустрічно реакцією 5-(піридин-3-їл)амїномєтилєн-2-тїоксо-4-тїазолїдинон-3-сукцинатної кислоти з різноманїтними амінами.
8. За результатами дослідження протипухлинної активності ідєнтифіковано високоактивні сполуки з груп 3-арил-1-(4-метил-2-піридиніламінотїазол-5-їл)пропенонїв, 5-пїразолїл-3-(3-піридинїл)- та 5-піридиніламіномєтилєн-роданїнїв, що проявили суттєву цитотоксичність на 60 лініях ракових клітин згідно протоколу *DTP NCI*, а також виявили ефективний рівень інгібування у мікромольних концентраціях відносно ліній лейкемії (HL-60), карциноми яйників (Skov3) та раку нирок (HEK-293T). На основі *COMPARE* аналізу встановлено, що 3-арил-1-(4-метил-2-піридиніламінотїазол-5-їл)пропенони можуть реалїзувати протираковий ефект шляхом пригнічення біосинтезу

нуклеїнових кислот, а також інгібування фосфоенолпіруват карбоксикінази, цитидин-трифосфат синтетази, топоізомераз I і II та полімеризації тубуліну.

9. Ідентифіковано 5-ариліден-3-(3-піридиніл)роданіни та 3-арил-1-(4-метил-2-піридиніламінотіазол-5-іл)пропенони з високою антиексудативною дією та 2-алкіл-2-[(піридин-3-іл)метиленгідразоно]-4-тіазолідинони з антифіброзним ефектом, що, при врахуванні суттєвого протиракового потенціалу зазначених класів сполук, відкриває нові напрямки дослідження похідних 4-тіазолідинону як поліфармакологічних сполук та об'єктів для молекулярного дизайну високоселективних лігандів до біомішеней, включених у різні патохімічні процеси.
10. За результатами вивчення трипаноцидної активності сполук щодо штамів *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei gambiense* виділено ряд 3- та 5-піридинілзаміщених 5-амінометилен-4-тіазолідинонів із значенням IC₅₀ на рівні мікромолярних концентрацій та задовільними індексами селективності, що свідчить про перспективу зазначеного класу гетероциклів для дизайну потенційних лікарських засобів фармакотерапії сонної хвороби.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Войтира М.Н. Синтез 3-піридилзаміщених 4-тіазолідинонів як потенційних біологічно активних сполук / М.Н. Войтира, Р.Б. Лесик // Фармацевтичний часопис. – 2017. – № 1. – С. 11-16. *Особистий внесок автора: синтез похідних 4-тіазолідинонів, інтерпретація спектрів ¹H ЯМР, підготовка статті до друку.*
2. Heterocyclic tautomerism: reassignment of two crystal structures of 2-amino-1,3-thiazolidin-4-one derivatives / A.K. Gzella, M. Kowiel, A. Susel, M.N. Wojtyra, R. Lesyk // Acta Crystallographica Section C. – 2014. – С 70. – Р. 812-816. *Особистий внесок автора: синтез 5-(2-гідроксіетил)-2-(піридин-2-іл)тіазол-4-ону, інтерпретація спектральних даних.*
3. Нові неконденсовані піридин-тіазол/тіазолідинони та їх протитрипаносомна активність / М.Н. Войтира, О.А. Винницька, Ф. Грельє, Р.Б. Лесик // Фармацевтичний часопис. – 2017. – № 2. – С. 12-18. *Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів біологічних досліджень, підготовка статті до друку.*
4. 5-Ene-4-thiazolidinones induce apoptosis in mammalian leukemia cells / J. Senkiv, N. Finiuk, D. Kaminsky, D. Havrylyuk, M. Wojtyra, I. Kril, A. Gzella, R. Stoika, R. Lesyk // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2016. – Vol. 117. – Р. 33-46. *Особистий внесок автора: синтез 5-(піразоліл-1)метилен-роданінів, узагальнення результатів протипухлинної активності.*
5. Antifibrotic and anticancer action of 5-ene amino/iminothiazolidinones / D. Kaminsky, G.J.M. den Hartog, M. Wojtyra, M. Lelyukh, A. Gzella, A. Bast, R. Lesyk // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2016. – Vol. 112. – Р. 180-195. *Особистий внесок автора: синтез 2-піридинілметиленгідразоно-*

4-тіазолідинонів, інтерпретація спектрів, узагальнення даних біологічних досліджень.

6. Wojtyra M.N. Synthesis of 4-Thiazolidinone with Pyridine Fragment in Molecules as Potential Biologically Active Compounds / M.N. Wojtyra, R.B. Lesyk, B.S. Zimenkovsky // "Modern Directions in Chemistry, Biology, Pharmacy and Biotechnology". – Lviv: Lviv Polytechnic Publishing House, 2015, – P. 205-211. *Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, інтерпретація спектрів, підготовка статті до друку.*
7. 4-Thiazolidinone-Based Michael Acceptors As Tool For Anticancer Agents Design / R. Lesyk, B. Zimenkovsky, D. Kaminsky, A. Kryshchyshyn, D. Havrylyuk, N. Zelisko, O. Devinyak, D. Khylyuk, O. Roman, A. Lozynskyi, M. Lelukh, M.N. Wojtyra // "Modern Directions in Chemistry, Biology, Pharmacy and Biotechnology". – Lviv: Lviv Polytechnic Publishing House, 2015, – P. 102-109. *Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення досліджень.*
8. Пат. 119882 Україна МПК C07D 277/08. (Z)-(5-[5-(3,5-Діарил-4,5-дигідропіразол-1-іл-метиліден)-3-(піридин-3-іл)-2-тіоксотіазолідин-4-оні, що проявляють протитрипаносомну дію / М.Н. Войтира, Ф. Грельє, Р.Б. Лесик, Б.С. Зіменковський; заявник і патентовласник ЛНМУ ім. Данила Галицького – № u201703760; заявл. 18.04.2017; Бюл. №19. *Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів біологічних досліджень, написання патенту.*
9. Войтира М.Н. Синтез похідних 4-тіазолідинону з піридиновим фрагментом у молекулах як потенційних біологічно активних сполук / М.Н. Войтира, Р.Б. Лесик // Збірник наукових праць XV наукової конференції «Львівські хімічні читання – 2015», 24-27 травня 2015 р.: матер. конф. - Львів: Львівський національний університет ім. Івана Франка, 2015. – С. 111.
10. Wojtyra M.N. Synthesis of New Pyridine-Thiazoles/Thiazolidinones and their Biological Activity / M.N. Wojtyra, R.B. Lesyk // VII International Conference «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles», 9-13 November, 2015: Abstract book. – Kharkov, 2015. – P. 9.
11. 5-Ene-4-thiazolidinones: Promiscuous or Polyfunctional Compounds in Drug Design / R. Lesyk, B. Zimenkovsky, D. Kaminsky, A. Kryshchyshyn, D. Havrylyuk, N. Zelisko, O. Devinyak, D. Khylyuk, O. Roman, A. Lozynskyi, M. Lelukh, M. Wojtyra // VII International Conference «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles», 9-13 November, 2015: Abstract book. – Kharkov, 2015. – P. 10.
12. 5-Ylidene-4-thiazolidinones as new anticancer agents: pro et contra / R. Lesyk, B. Zimenkovsky, D. Kaminsky, A. Kryshchyshyn, D. Havrylyuk, N. Zelisko, O. Devinyak, D. Khylyuk, O. Roman, A. Lozynskyi, M. Lelukh, M.N. Wojtyra // 24th Scientific Congress of the Austrian Pharmaceutical Society (OphG), 12-14 September, 2015: Program and Abstracts. – Vienna, Austria, 2015. – P. 37.
13. Войтира М.Н. Синтез нових неконденсованих похідних 4-тіазолідинону з піридиновим фрагментом у молекулах як потенційних біологічно активних

- сполук / М.Н. Войтира, Р.Б. Лесик // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації», 16 березня 2016 р.: матер. конф. – Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пригорова, 2016. – С. 24-25.
14. Wojtyra M.N. Synthesis of Novel Noncondensed Thiazolidine Derivatives with Pyridine Fragment in Molecules as Potential Biologically Active Compounds / M.N. Wojtyra, R. Lesyk // XVIII Наукова молодіжна конференція «Проблеми та досягнення сучасної хімії», 17-20 травня 2016 р.: матер. конф. – Київ: Тов НВП «Інтерсервіс», 2016. – С. 46.
 15. Войтира М.Н. Синтез нових похідних 4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолу з піридиновим фрагментом у молекулах та їхня протиракова активність / М.Н. Войтира, Р.Б. Лесик // Науково-практична конференція «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів», 10-11 листопада 2016 р.: матер. конф. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2016. – С. 11.
 16. Wojtyra M.N. Synthesis of novel non-condensed pyridine-thiazoles/thiazolidinones with furan fragments as potential biologically active compounds / M.N. Wojtyra, R. Lesyk // Збірник наукових праць «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології». – 2016 р.: матер. конф. – Харків: НФаУ, 2016. – С. 49-50.
 17. Войтира М.Н. Синтез нових піридин-тіазол-піразолінових кон'югатів як потенційних біологічно активних сполук / М.Н. Войтира, Р.Б. Лесик // XIX наукова молодіжна конференція «Проблеми та досягнення сучасної хімії», 26-28 квітня 2017 р.: матер. конф. – Одеса: Національна Академія Наук України, 2017. – С. 30.
 18. Войтира М.Н. Синтез похідних 5-(піридин-3-ілметиле)нроданін-3-сукцинатної кислоти як потенційних біологічно активних сполук / М.Н. Войтира, Р.Б. Лесик // Збірник наукових праць XVII наукової конференції «Львівські хімічні читання – 2017», 28-31 травня 2017 р.: матер. конф. - Львів: Львівський національний університет ім. Івана Франка, 2017. – У25.
 19. Синтез нових (*E*)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-3-арил-2-пропен-1-онів як потенційних біологічно активних сполук / М.Н. Войтира // IX Всеукраїнська наукова конференція студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2017», 18-20 квітня 2017 р.: матер. конф. Харків: Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, 2017. – С. 94.
 20. Wojtyra M.N. Synteza 4-tiazolidonow z pirydynowym fragmentem jako potencjalnie biologicznie aktywne związki / M.N. Wojtyra, R. Lesyk // V Lodzkie Sympozjum Doktorantow Chemii, 11-12 maja 2017 r. – Lodz, 2017. – P. 115.
 21. Войтира М.Н. Синтез та антитрипаносомна активність нових піразолін-піридин-тіазолідинонових кон'югатів / М.Н. Войтира, О.А. Винницька, Р.Б. Лесик // V Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні

питання сучасної науки», 7-8 липня 2017 р.: матер. конф. – Івано-Франківськ, 2017. – С. 78-80.

22. Войтира М.Н. Тіазол-піридинові гібридні молекули як потенційні протипухлинні агенти / М.Н. Войтира, О.А. Винницька, Р.Б. Лесик // VII Українська конференція «Домбровські хімічні читання-2017», 12-16 вересня 2017 р.: матер. конф. – Яремче, 2017. – С. 61.
23. Wojtyra M. Synteza i przeciwnowotworowa aktywnosc nowych pochodnych tiazolinow z pirydynowym fragmentem w czasteczce / M. Wojtyra, R. Lesyk // VI Ogolnopolska Konferencja Naukowa «Pomiedzy Naukami», 15 wrzesnia 2017 r.: Chorzow, 2017. – P. 107.

АНОТАЦІЯ

Войтира М.Н. Синтез та біологічна активність похідних тіазолідину з піридиновим фрагментом у молекулах. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Міністерство охорони здоров'я України, Львів, 2017.

Дисертація присвячена пошуку нових біологічно активних сполук серед похідних тіазолідину з піридиновим фрагментом у молекулах. В умовах реакції [2+3]-циклоконденсації синтезовано групу нових 2-піридиніламіно- і 2-піридинілметилєнгідразоно-4-метилтіазолів та 4-тіазолідинонів, проведено їх хімічну модифікацію в реакціях гідролізу, гідразинолізу, Кньюєнагеля та Кляйзена-Шмідта. Запропоновано ефективні методи синтезу 5-ариліден-2-бензоїліміно-3-піридиніл-4-тіазолідинонів, а також структурно споріднених 2-тіоксо-4-тіазолідинонів та 2,4-тіазолідиндіонів. Вперше отримано серії 5-амінометилєнпохідних, піразолін- та піролідін-тіазолідинових кон'югатів на основі 3-заміщених роданінів. Структуру сполук підтверджено спектроскопією ЯМР, хромато-мас-спектрометрією та рентгеноструктурним аналізом. Виділено перспективні похідні з протипухлинною, протизапальною, антитрипаносомною та антифіброзною активностями.

Ключові слова: синтез, 4-тіазолідинони, тіазоли, піридини, [2+3]-циклоконденсація, аміноліз, реакція Кньюєнагеля, реакція Кляйзена-Шмідта, спектральні характеристики, фармакологічні дослідження, *COMPARE* аналіз.

АННОТАЦИЯ

Войтыра М.Н. Синтез и биологическая активность производных тиазолидина с пиридиновым фрагментом в молекулах. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Министерство здравоохранения Украины, Львов, 2017.

Диссертация посвящена поиску новых биологически активных соединений производных тиазолидина с пиридиновым фрагментом в

молекулах. В условиях реакции [2+3]-циклоконденсации синтезирована группа новых 2-пиридиниламино- и 2-пиридинилметиленигидразоно-4-метилтиазолов и 4-тиазолидинонов, проведена их химическая модификация в реакциях гидролиза, гидразиолиза, Кневенагеля и Кляйзена-Шмидта. Предложены эффективные методы синтеза 5-арилиден-2-бензоилимино-3-пиридинил-4-тиазолидинонов, а также структурно родственных 2-тиоксо-4-тиазолидинонов и 2,4-тиазолидиндионов. Впервые получены серии 5-аминометиленипроизводных, пирозолин- и пирролидин-тиазолидиноновых конъюгатов на основе 3-замещенных роданинов. Строение соединений подтверждено спектроскопией ЯМР, хромато-масс-спектрометрией и рентгеноструктурным анализом. Идентифицированы перспективные производные из противоопухолевой, противовоспалительной, антигрипозной и антифиброзной активностями.

Ключевые слова: синтез, 4-тиазолидиноны, тиазолы, пиридины, [2+3]-циклоконденсация, аминолиз, реакция Кневенагеля, реакция Кляйзена-Шмидта, спектральные характеристики, фармакологические исследования, COMPARE анализ.

SUMMARY

Wojtyra M.N. Synthesis and biological activity of thiazolidine derivatives with pyridine moiety in molecules. – Manuscript.

The dissertation for candidate's degree in pharmaceutical sciences in the speciality 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Public Health of Ukraine, Lviv, 2017.

Dissertation is devoted to the search for new biologically active compounds among thiazolidine derivatives bearing pyridine moiety. It was shown that pyridinyl thioureas, their 1-benzoyl-substituted analogs, and thiosemicarbazones of pyridinecarboxaldehydes are efficient S,N-binucleophiles in [2+3]-cyclocondensation reactions, that allowed to obtain a series of novel 2-pyridinylamino-, 2-pyridylmethylenegidrazono- and 3-pyridinylthiazoles as well as corresponding 4-thiazolidinones. Ethyl 2-chloroacetoacetate, chloroacetylacetone, α -halocarboxylic acids, α -bromo- γ -butyrolactone, maleic anhydride, maleimides and methyl 2-bromo-3-(4-methylphenyl)propanoate were used as equivalent of dielectrophilic synthons $[C_2]^{2+}$ in [2+3]-cyclocondensation reactions.

It has been established that 1-[4-methyl-2-(pyridine-2/3-ylamino)thiazol-5-yl]ethanones are effective reagents in the Claisen–Schmidt condensation with aromatic aldehydes, which allowed to obtain series of thiazole based 3-arylpropenones for further pharmacological screening. It was observed that the one-pot process, which includes the sequential [2+3]-cyclocondensation with chloroacetic acid and the Knoevenagel reaction of *in situ* obtained 4-thiazolidinones and aromatic aldehydes, is an effective approach providing new 5-arylidene derivatives of 2-pyridinylaminothiazole-4-one and 2-benzoylimino-3-pyridinyl-4-thiazolidinones. 5-Arylidene-3-pyridinyl-2,4-thiazolidinediones can be obtained in one-pot reaction, which involves the sequential reaction of [2+3]-cyclocondensation, Knoevenagel

condensation and further acid hydrolysis starting from 1-benzoyl-3-pyridinylthioureas, chloroacetic acid, aromatic aldehydes, sodium acetate and concentrated hydrochloric acid. This reveals the efficient synthetic protocol for the inaccessible 3,5-disubstituted thiazolidinediones as pharmacologically attractive heterocycles.

3-Substituted 2-thioxo-4-thiazolidinones and 2-aminothiazole-4(5*H*)-one easily react with triethyl orthoformate yielded 5-ethoxymethylene derivatives. The latter were utilized in aminolysis reaction with aminopyridines, hydrazides 2- and 4-pyridinecarboxylic acids, 4-(pyridin-2-yl)piperazine, as well as various 3,5-diarylpyrazolines. This allows to propose the efficient synthetic approaches to the new 3- and 5-pyridinyl substituted 4-thiazolidinones as potential biologically active compounds.

It had been discovered that the reaction of 5-ethoxymethylene-2-thioxo-4-thiazolidinone-3-succinic acid diethyl ester and double equivalent of 3-aminopyridine is characterized by simultaneous aminolysis reaction at position 5 and cyclization reaction at the position 3 of core heterocycle to form new pyrrolidine-rhodanine conjugates. Target compounds were synthesized alternatively by the reaction of 5-(pyridin-3-yl)aminomethylene-2-thioxo-4-thiazolidinone-3-succinic acid and various amines.

In general, the synthesis of 136 new thiazolidine derivatives with pyridine moiety in molecules was described. Structure of synthesized compounds was confirmed by ^1H and ^{13}C NMR spectra, LC-MS, as well as X-ray analyses.

14 Compounds with high antitumor, anti-inflammatory, antitrypanosomal and antifibrotic activities and low toxicity levels were identified based on the pharmacological studies results. The synthesized compounds were tested for their anticancer activity *in vitro* (National Cancer Institute, 60 cancer cell lines assay). This allowed to identify hit-compounds with significant levels of tumor growth inhibition, namely 3-aryl-1-[4-methyl-2-(pyridine-3-ylamino)thiazol-5-yl]propenones **2.15** ($\log\text{GI}_{50} = -5.51$, $\log\text{TGI} = -4.74$, $\text{ra } \log\text{LC}_{50} = -4.13$) and **2.18** ($\log\text{GI}_{50} = -5.52$, $\log\text{TGI} = -4.63$, $\text{ra } \log\text{LC}_{50} = -4.09$). Following the hit-compounds *COMPARE* analysis it was found that the most plausible mechanisms of anticancer effect are inhibition of nucleic acids biosynthesis, activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase, cytidine triphosphate synthetase, topoisomerase I and II and inhibition of tubulin polymerization. For further evaluation of anticancer activity we conducted *in vitro* study of pyridinylsubstituted thiazolidines on the leukemia (HL-60, Jurkat), renal cancer (HEK-293T), glioblastoma (U251), and ovarian carcinoma (Skov3) lines. Among tested compounds, **2.14**, **2.15**, **3.25** and **4.24** showed activity in micromolar concentrations towards HL-60, Skov3 and HEK-293T lines. 3-Aryl-1-(4-methyl-2-pyridinaminethiazol-5-yl)propenones (**2.11**, **2.12**) and 5-arylidene-3-(pyridin-3-yl)-2-thioxo-4-thiazolidinone (**3.18**) possess sufficient level of anti-inflammatory activity *in vivo*. 5-Aminomethylene-4-thiazolidinones with pyridine moieties at positions 3 or 5 (**3.27**, **3.28** and **4.20**) were identified as hits with the highest trypanocidal effect against *Trypanosoma brucei* subspecies. 5-R-2-[(pyridin-3-yl)methylenehydrazone]-4-thiazolidinones **2.33** and **2.35** possessed high inhibitory

effect on fibroblast viability which was comparable with Pirfenidone. The pharmacological and *in silico* data can be considered as background for design of thiazolidine derivatives with pyridine moiety and further in-depth studies as potential drugs with antitumor, anti-inflammatory, antitrypanosomal and antifibrotic activity.

Keywords: synthesis, 4-thiazolidinones, thiazoles pyridines, [2+3]-cyclocondensation, aminolysis, Knoevenagel reaction, Claisen-Schmidt reaction, spectral characteristics, pharmacological studies, *COMPARE* analysis.