

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

ДЕРКАЧ ГАЛИНА ОЛЕГІВНА

УДК 615.1:615.015.11:547.789.6

**СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ КОРЕЛЯЦІЇ «СТРУКТУРА – БІОЛОГІЧНА
АКТИВНІСТЬ» ПОХІДНИХ 5-АМІНОМЕТИЛЕНТІАЗОЛІДИНОНІВ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Львів - 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі хімії фармацевтичного факультету Івано-Франківського національного медичного університету 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 фармацевтичних наук
Воскобойнік Олексій Юрійович
Запорізький державний медичний університет,
доцент кафедри органічної і біоорганічної хімії;

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

Захист відбудеться «___» _____ 2020 року о ___ 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 «___» _____ 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

І.В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Похідні 4-тіазолідинону є предметом системних досліджень у медичній хімії протягом останніх десятиріч, причому значна частина наукових праць присвячена вивченню методів синтезу та фармакологічним властивостям їх різноманітних 5-ариліден- та 5-гетериліден-похідних (Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик 2004, 2009, 2011, 2014, 2018; R. Ottanà, R. Maccari, 2005, 2009, 2011; T. Tomasic, L.P. Mašic, 2009; C.S. Ramaa, 2013). У зазначеному класі гетероциклічних похідних ідентифіковано агоністи PPAR γ рецепторів як потенційні протидіабетичні, протипухлинні та протизапальні засоби (G.J. Murphy, 2000), інгібітори взаємодії антиапоптотичних білків Bcl-XL та BH3 (A. Degterev, 2001), TNF α (P.H. Carter, 2001), некроптозу (W. Zheng, 2008), JSP-1 (M. Prezhdо, 2005) та PIM-1/2 протеїнкіназ (Z. Xia, 2009) як протипухлинні агенти, подвійні інгібітори COX-2/5-LOX (C. Charlier, C. Mishaux, 2003) як нестероїдні протизапальні засоби, MurB-інгібітори як протимікробні агенти (K.S. Rangappa, 2006; L.T. Ganpat, 2006), інгібітори DPMS (Т.К. Smith, 2009) як трипаноциди, тощо. У той же час 5-амінометилен-4-тіазолідинони залишаються маловивченими об'єктами. З позицій молекулярного дизайну трансформація 5-арил/гетериліденових фрагментів до 5-амінометиленового не порушує кон'югацію 4-тіазолідинового циклу, що часто є визначальним для реалізації біологічного ефекту. Крім того, інтродукція NH-груп в потенційні біофорні угруповання забезпечує можливість формування додаткових міжмолекулярних зв'язків з рецепторами та зберігає структурну гнучкість замісника в аміновому фрагменті. Поряд з тим створюються умови для отримання водорозчинних неорганічних/органічних солей як варіанту оптимізації структури хітів та значно розширюються можливості для синтетичної варіабельності. Таким чином, вивчення похідних 5-амінометилен-4-тіазолідинонів є актуальним питанням сучасної органічної та медичної хімії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами. Дисертаційна робота виконана згідно комплексного плану робіт кафедр хімії фармацевтичного факультету; біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка та кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету (№ державної реєстрації 0112U008505).

Мета та завдання дослідження. Розробка методів одержання, спрямований синтез та перетворення 5-амінометилентіазолідинонів для дослідження особливостей зв'язку «структура – дія» та пошуку високоактивних та малотоксичних сполук як потенційних лікарських засобів.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні завдання:

- синтезувати серії 5-R,R'-амінометилен-4-тіазолідин(ті)онів взаємодією відповідних 5-етоксиметиленапохідних та ряду N-нуклеофілів;
- опрацювати ефективні методи синтезу 5-амінометилен-4-тіазолідинонів амінолізом відповідних 5-етоксиметилен-4-тіазолідинонів дією гідрокарбонату амонію в спиртовому середовищі;

- вивчити реакції амінолізу 5-етоксиметилентіазолідинонів з 3,5-дизаміщеними піразолінами як метод введення потенційного фармакорфора з покращеними молекулярними характеристиками у тіазолідинонове ядро;
- опрацювати метод синтезу 5-етоксиметилідентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону як вихідної сполуки для синтезу нових 5-амінометиленпохідних;
- вивчити взаємодію 5-етоксиметилідентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону та гідразин гідрату як реакцію перегрупування по типу “ring-switch”, що дозволяє отримувати важкодоступні іншими препаративними методами меркаптопохідні піразол-3-ону;
- для синтезованих сполук дослідити протимікробну, протигрибкову, антитрипаносомну, протипухлинну та протизапальну активності, ідентифікувати «сполуки – хіти» та окреслити напрямки оптимізації їх структури, в тому числі з використанням *in silico* підходів молекулярного дизайну.

Об'єктами дослідження були реакції [2+3]-циклоконденсації, амінолізу, гідразинолізу, тіонування, Кньовенагеля, а також мультикомпонентні хімічні процеси.

Предметом дослідження стали похідні 5-амінометилентіазолідинонів як базові “структурні блоки” для пошуку нових біологічно активних сполук.

Методи дослідження: органічний синтез, спектроскопія ЯМР, хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз, рентгеноструктурний аналіз (РСА), фармакологічні дослідження *in vitro* та *in vivo*, COMPARE аналіз, молекулярний докінг.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено методи синтезу неописаних в літературі похідних 5-амінометилентіазолідинонів як сполук з прогнозованою біологічною активністю. Встановлено, що 5-етоксиметилентіазолідинони легко взаємодіють з такими нуклеофілами як функціоналізовані первинні і вторинні ароматичні та аліфатичні аміни в середовищі спиртів з утворенням відповідних єнамів. При вивченні реакції амінолізу 5-етоксиметилентіазолідинонів показано можливість заміни етоксигрупи на аміногрупу шляхом використання в якості «донора» аміаку гідрокарбонату амонію. Встановлено, що використання 3,5-диарилпіразолінів в якості амінокомпоненти при взаємодії з 5-етоксиметилентіазолідинонами є ефективним підходом до дизайну піразолін-тіазолідинонових кон'югатів у контексті реалізації «гібрид-фармакофорного» підходу у створенні нових «лікоподібних молекул». Виявлено, що взаємодія (2*H*-[1,2,4]-тріазол-3-ілсульфаніл)-оцтової кислоти з триетилортоформіатом в ацетангідриді є двохстадійним процесом, що включає реакції гетероциклізації та конденсації за метиленактивною групою з утворенням 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону. Показано, що етиловий естер 5-етоксиметилен-2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти та 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-он легко взаємодіють з аліфатичними, ароматичними та гетероциклічними амінами, а також гідрокарбонатом амонію в середовищі спиртів з утворенням відповідних єнамів. Вперше встановлено,

що взаємодія 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону з гідразин-гідратом в етанолі проходить з рециклізацією проміжного енаміну і утворенням важкодоступного 4-(2*H*-[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідропіразол-3-ону.

Проведено спрямований синтез 132 гетероциклічних сполук, серед яких вперше ідентифіковано 17 речовин з протимікробною та протигрибковою активностями, по 1 сполуці з високою протипухлинною та протизапальною діями та 6 високоселективних трипаноцидів із задовільними токсикометричними параметрами. На основі аналізу кореляції «структура – дія» та докінгових досліджень запропоновано рекомендації до раціонального дизайну потенційних лікарських засобів для фармакотерапії запальних станів, сонної хвороби, онкологічних та інфекційних захворювань. Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на винахід UA118268 C2 (2018 р.).

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено методи синтезу та перетворень 5-амінометилентіазолідинонів та їх функціональних похідних. Відібрано нові вискоефективні сполуки з протистафілоковою, антикандидозною, протипухлинною, антитрипаносомною та протизапальною активністю, які рекомендовані для подальших поглиблених досліджень. Встановлено ряд закономірностей в контексті залежності «структура – дія» і прогностичні характеристики для молекулярного дизайну потенційних «лікоподібних» молекул. Фрагменти роботи впроваджено в навчальний та науковий процеси НФаУ та ЗДМУ (акти впровадження від 26.09.2018 р., 18.10.2018 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. У ході виконання дисертаційної роботи спільно з Національним інститутом раку (міжнародна наукова програма Національного інституту здоров'я США *Developmental Therapeutic Program (DTP)*, Бетезда, Меріленд, США), лабораторією *UMR7245 CNRS «Molecules de Communication et Adaptation des Microorganismes»* Національного музею історії природи (керівник проф. Філіп Грельє, Париж, Франція), кафедрою органічної хімії Познанського медичного університету імені Кароля Марцінковського (проф. Анджей Гзелля, зав. кафедри проф. Луціюш Запрутко, Познань, Польща), кафедрою мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету (зав. кафедри проф. Р.В. Куцик), кафедрою фармакології ЛНМУ імені Данила Галицького (н. сп. І.О. Нектегаєв, зав. кафедри проф. О.Р. Піняжко) та ТОВ «Укроргсинтез» (м. Київ) проведено та узагальнено дані фізико-хімічних методів аналізу (спектри ЯМР, хромато-мас-спектри, рентгеноструктурний аналіз) та біологічної дії.

Апробація результатів дослідження. Матеріали дисертації представлялись на науково-практичній конференції XV наукова конференція “Львівські хімічні читання-2015” (м. Львів, 2015 р.), “Modern Directions in

Chemistry, Biology, Pharmacy and Biotechnology” (м. Львів, 2015 р.), 11th Annual Scientific Conference “Bridges in Life Sciences” (Prague, Czech Republic, 2016), XXXIII всеукраїнської науково-практичної конференції “ЛІКИ – ЛЮДИНІ” (м. Харків, 2016 р.), VIII національному з’їзді фармацевтів України “Фармація ХХІ століття – тенденції та перспективи” (м. Харків, 2016), XXIV Українській конференції з органічної хімії (м. Полтава, 2016), міжнародній науково-практичній конференції “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (2016, м. Тернопіль), всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (2018, м. Харків), VIII International Conference Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles (2018, м. Харків), XXV Українська конференція з органічної та біоорганічної хімії (2019, м. Луцьк), 10th RECOOP Annual Project Review Meeting (2019, Poland) та засіданні кафедри хімії фармацевтичного факультету Івано-Франківського національного медичного університету (Івано-Франківськ, 2019).

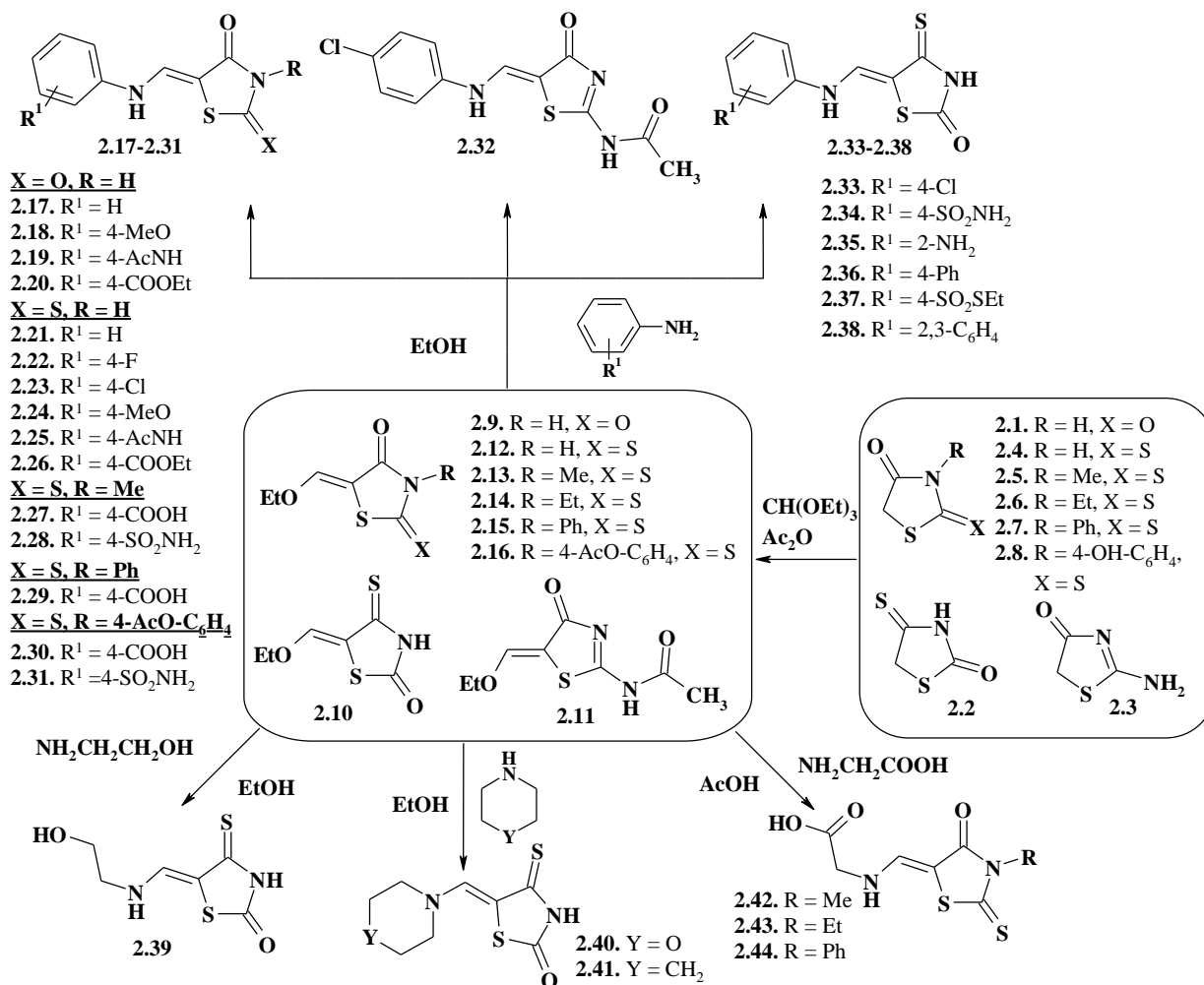
Публікації. За результатами дисертації опубліковано 19 наукових робіт, з яких 7 статей у наукових фахових виданнях (4 статті у журналах, реферованих у Scopus) та 11 тез доповідей. Одержано 1 патент України на винахід.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 230 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літератури та двох додатків (2 с.). Робота ілюстрована 39 таблицями, 55 схемами і 35 рисунками, перелік використаної літератури містить 282 джерела.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

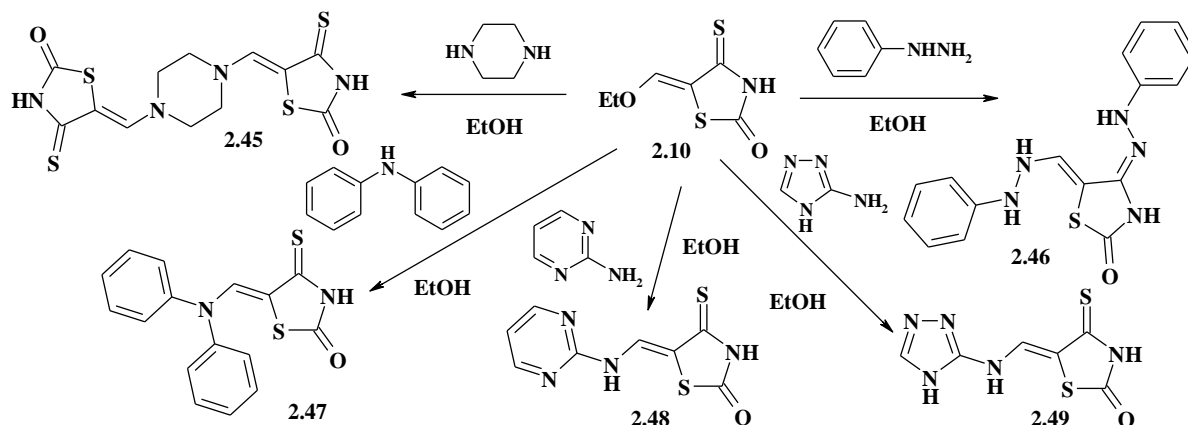
Синтез, фізико-хімічні властивості 5-амінометилентіазолідинонів як потенційних біологічно активних «малих молекул» для пошуку нових лікарських засобів

Для синтезу ключових реагентів взаємодією 2,4-тіазолідиндіону **2.1**, 4-тіоксо-2-тіазолідинону (ізороданіну) **2.2**, 2-амінотіазол-4(5*H*)-ону (псевдотіогідантоїну) **2.3** та похідних 2-тіоксо-4-тіазолідинону (роданіну) **2.4-2.8** з триетилортоформіатом в середовищі ацетангідриду одержано відповідні 5-етоксиметиленпохідні **2.9-2.16** (схема 1). Важливо відзначити, що у випадку псевдотіогідантоїну **2.3** та 3-(4-гідроксифеніл)роданіну **2.8** поряд з утворенням відповідного 5-етоксиметиленпохідного закономірно відбувається супутнє ацилювання аміногрупи та фенольного гідроксилу з утворенням похідних **2.11** та **2.16**, відповідно. Синтезовані реагенти **2.9-2.16** при взаємодії з такими нуклеофілами як функціоналізовані первинні і вторинні ароматичні та аліфатичні аміни в середовищі спиртів утворюють 5-*R,R'*-амінометиленпохідні **2.17-2.41**. В аналогічній манері в середовищі оцтової кислоти реагує гліцин, що дозволило одержати амінокислотні похідні **2.42-2.44**.



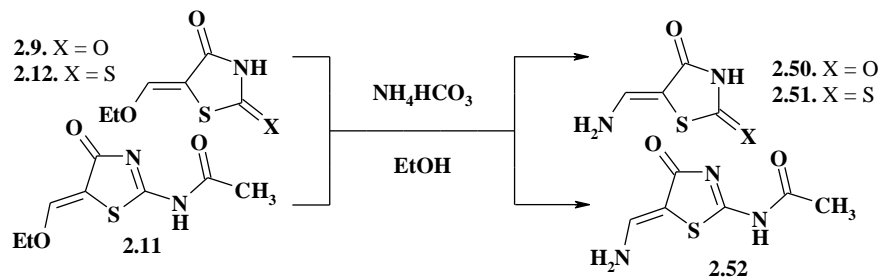
Взаємодією 5-етоксиметилізороданіну **2.10** з піперазином одержано біциклічне похідне **2.45**, а у випадку фенілгідразину спостерігається аміноліз як етоксильній, так і 4-тіоксогрупі з утворенням дизаміщеного похідного **2.46**. Крім того, тривале кип'ятінні в етанолі відповідних реагентів дозволяє одержати цільові сполуки **2.47-2.49** при використанні таких слабких основ як дифеніламін, амінопіримідин та 3-аміно-4*H*-[1,2,4]тріазол (схема 2).

Схема 2



При вивченні амінолізу 5-етоксиметилентіазолідинонів нами показано можливість заміни етоксигрупи на аміногрупу при використанні як «донора» аміаку гідрокарбонату амонію для одержання похідних **2.50-2.52** (схема 3).

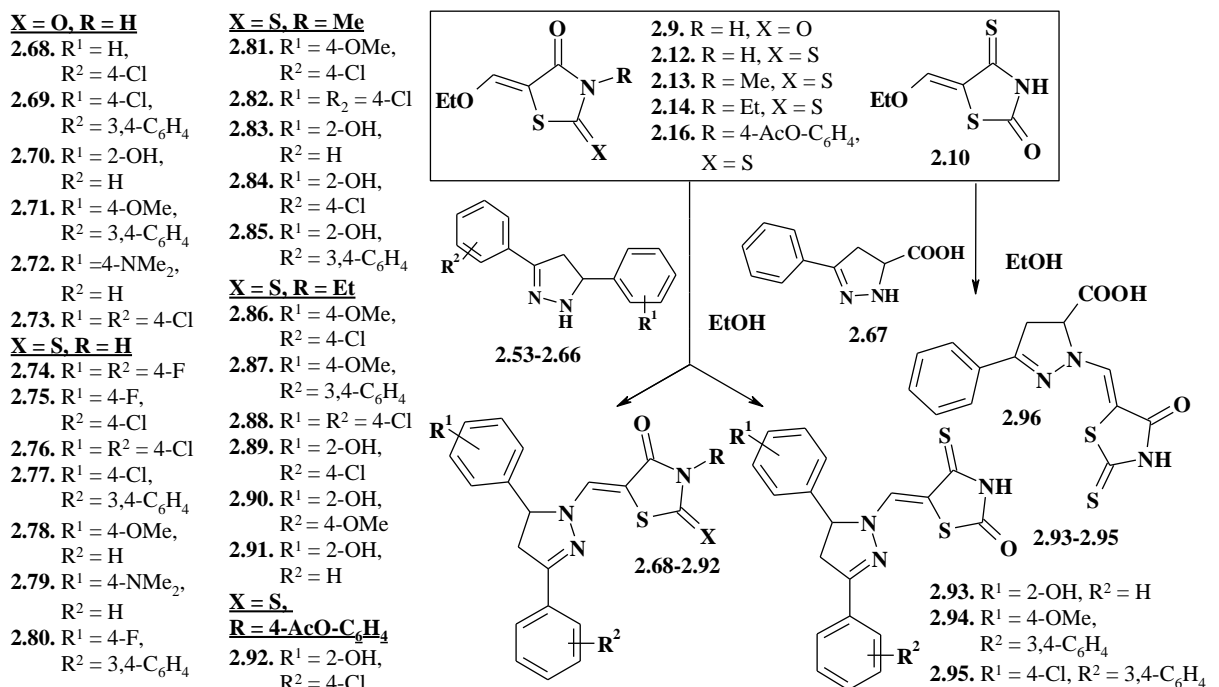
Схема 3



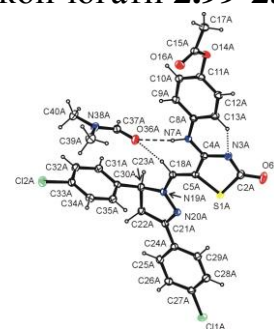
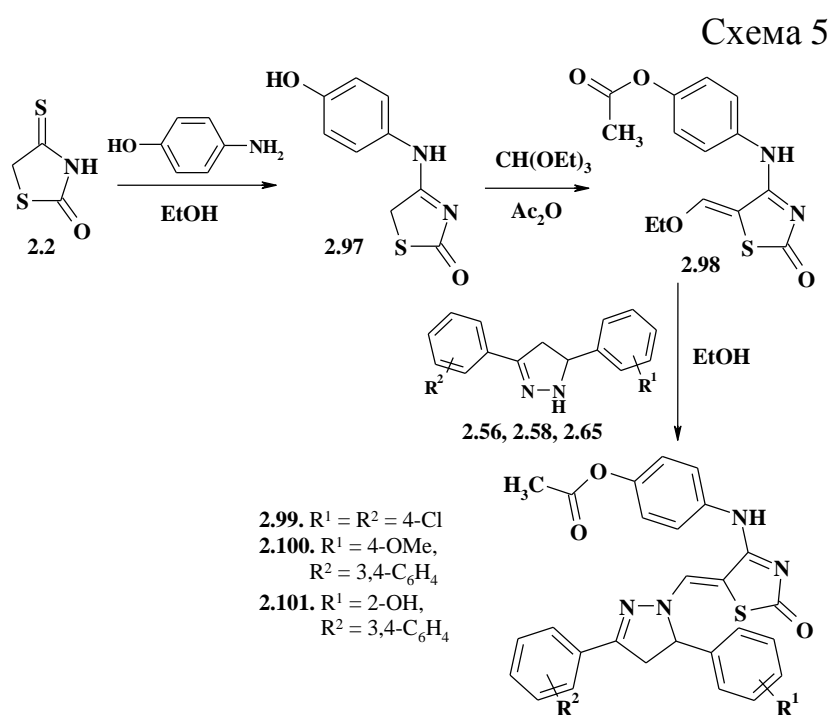
У спектрах ^1H ЯМР 5-амінометилентіазолідинонів на основі первинних амінів протони енамінового фрагменту проявляються у вигляді пари дублетів з константами спин-спінової взаємодії (КССВ) 12.9-13.5 Гц або уширених синглетів при 8.00-8.40 м.ч. (CH=) та 9.73-10.30 м.ч. (NH). Зміщення сигналу CH= в слабе магнітне поле, правдоподібно, свідчить про утворення Z-ізомерів. 5-Незаміщені амінометилентіазолідинони **2.50-2.52** характерні триплетом при 7.43-7.60 м.ч. (CH=) та дублетом аміногрупи при 7.75-7.85 м.ч.

Поєднання фармакологічно привабливих 4-тіазолідинонів та піразолінів у одній молекулі є перспективним напрямком у контексті сучасного «гібрид-фармакофорного підходу». Для реалізації синтетичних досліджень одержано діарилпіразоліни **2.53-2.66** взаємодією відповідних діарилпропенонів з гідразин гідратом в середовищі етанолу. Аналогічно одержано 3-карбокси-5-фенілпіразолін **2.67** на основі бензиліденпіровиноградної кислоти. Одержані піразоліни використано в реакції з 5-етоксиметилентіазолідиніону **2.9**, ізороданіну **2.10** та роданіну **2.12-2.14**, **2.16** для синтезу 5-(піразол-1-іл)метилентіазолідинонів **2.68-2.96** (схема 4).

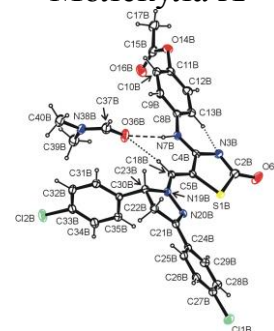
Схема 4



Для структурної різноманітності 5-амінометилентіазолідионів ми запропонували ефективний підхід до одержання 5-(піразол-1-іл)метилен-4-(ариламіно)-5*H*-тіазол-2-онів (схема 5). Так, при взаємодії 4-(4-гідроксифеніламіно)-5*H*-тіазол-2-ону **2.97** з ортоетилформіатом в ацетангідриді закономірно проходить ацетилювання фенольної групи сполуки з утворенням 5-етоксиметилентіазолідиону **2.98**, реакцією якого з діарилпіразолінами **2.56**, **2.58** та **2.65** в етанолі одержано цільові піразолін-5*H*-тіазольні кон'югати **2.99-2.101**.



Молекула А



Молекула В

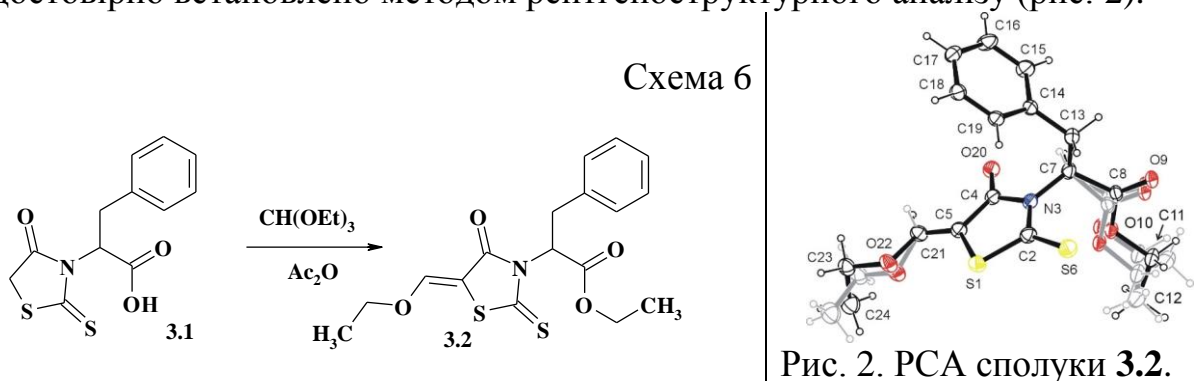
Рис. 1. РСА сполуки **2.99**.

У спектрах ¹H ЯМР піразолін-тіазолідионів протони піразолінового фрагменту у положеннях 4 та 5 утворюють характерну АМХ систему у вигляді трьох дублетів в ділянках ~3.40 м.ч., ~ 4.10 м.ч. та ~5.70 м.ч. з відповідними КССВ ($J_{AX} \sim 18.0$ Гц, $J_{AM} \sim 11.0$ Гц та $J_{MX} \sim 4.0$ Гц). Сигнал олефінового протону =СН у вигляді синглету суттєво зміщений у слабе магнітне поле (~7.20-8.10 м.ч.), що опосередковано свідчить про *Z*-конфігурацію 5-енового фрагменту. Крім того, особливості одержаних похідних достовірно встановлено методом рентгеноструктурного аналізу (РСА) сполуки **2.99**, у асиметричній частині елементарної комірки якої знаходяться дві симетрично незалежні молекули (А і В). Враховуючи наявність хірального центру у положенні С23 (рис. 1), молекули утворюють пару енантіомерів. Симетрично незалежна молекула А має абсолютну конфігурацію *S*, молекула В конфігурацію *R*.

Синтез та фізико-хімічні властивості 5-енамінопохідних 2-(роданін-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти та тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону

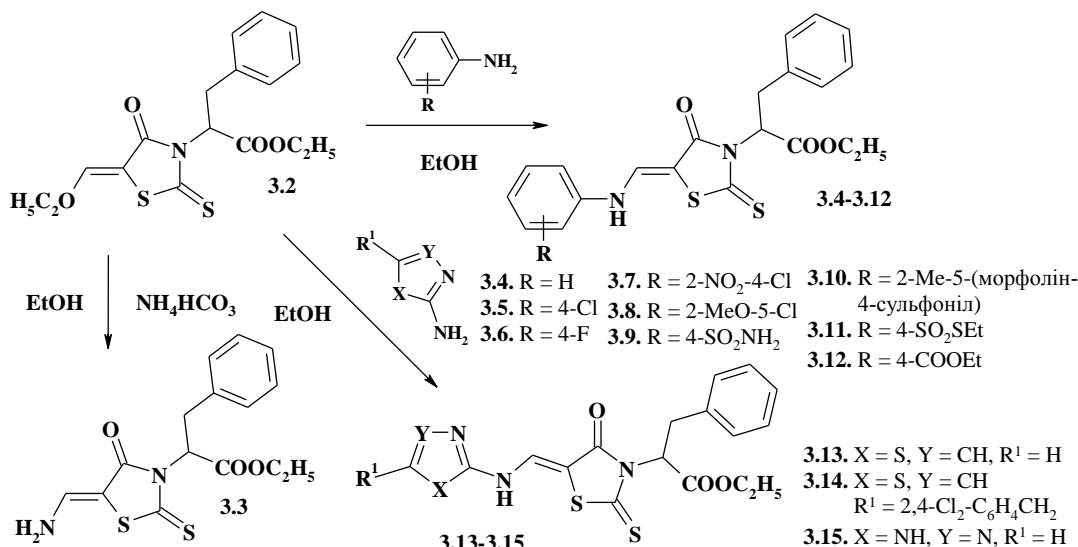
2-(4-Оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонову кислоту **3.1**, як вихідну сполуку, одержано за класичним дітіокарбамінатним методом на основі α -аміно- β -фенілпропіонової кислоти (*DL*-фенілаланіну). При взаємодії

3.1 з триетилортоформіатом в середовищі ацетангідриду паралельно з утворенням 5-етоксиметиліденопохідного відбувається естерифікація карбоксильної групи частиною молекули триетилортоформіату з утворенням відповідного етилового естеру 2-(5-етоксиметиліден-(роданін-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **3.2** (схема 6). Особливості етилового естеру 5-етоксиметиліден-2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **3.2** достовірно встановлено методом рентгеноструктурного аналізу (рис. 2).



На основі сполуки **3.2** в реакціях гідрокарбонатом амонію та рядом первинних ароматичних і гетероциклічних (2-амінотіазол, 5-(2,4-дихлоробензил)-2-амінотіазол, 3-аміно-4*H*-[1,2,4]тріазол) амінів синтезовано серію 5-енамінів **3.3-3.15** (схема 7).

Схема 7



Відомо, що первинні і вторинні енаміни характеризуються енаміно-імінною таутомерією. Тому для спектрів ¹H і ¹³C ЯМР сполук **3.4-3.15** спостерігається характерне дублювання сигналів або утворення мультиплетів за рахунок перекриття сигналів. На основі спектрів ¹H ЯМР та LCMS співвідношення таутомерів варіюється від 1:1 для похідних з *орто*-метил- і метоксифеніламіногрупами (**3.8**, **3.10**) до 9:1 для інших сполук. У спектрах ¹H ЯМР амінометилієна група (-NH=CH-) характерна двома дублетами (*J* ~ 12.0 Гц) або широкими синглетами при δ ~7.91-8.65 і δ ~10.20-12.20 м.ч. Для незаміщеного 5-амінометиліденопохідного **3.3** протон іліденового фрагменту (=CH) утворює триплет при 7.60 м.ч., а протони NH₂-групи - широкий синглет

при 8.0 м.ч. На основі рентгеноструктурного дослідження встановлено, що сполука **3.3** кристалізується у вигляді двох незалежними молекул А і В в асиметричній комірці, які є парою *R*- і *S*-енантіомерів. За результатами РСА сполуки **3.3** та **3.12** є *Z*-стереоізомерами (рис. 3).

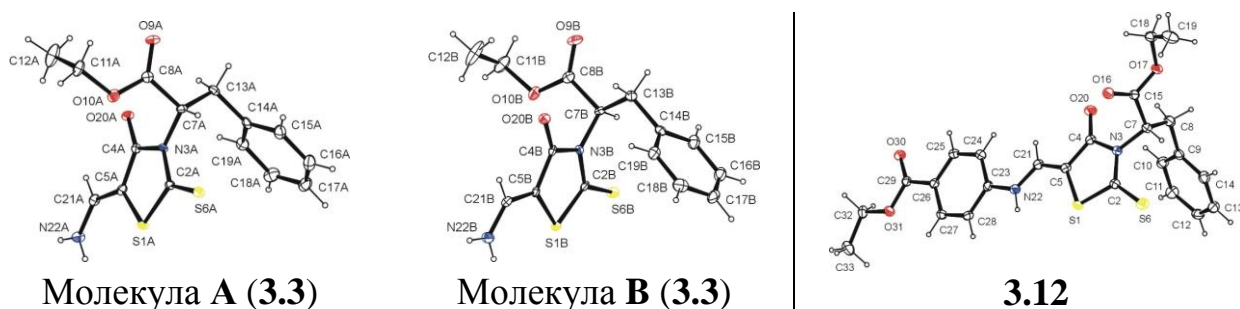
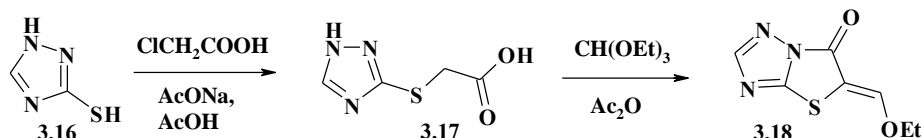


Рис. 3. РСА сполук **3.3** та **3.12**.

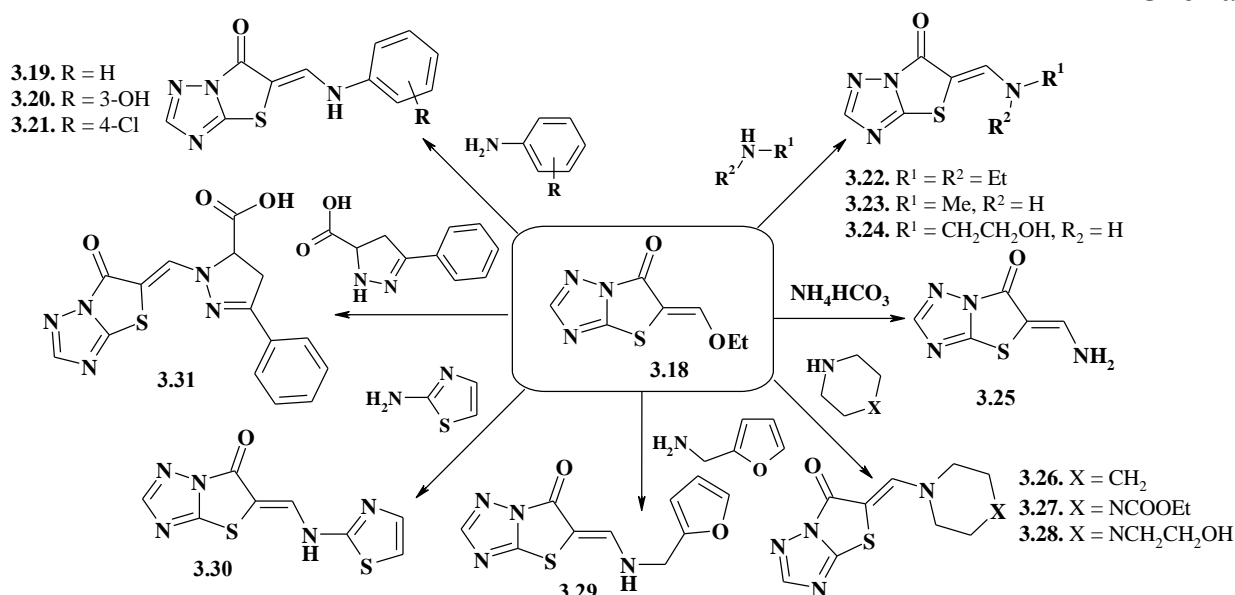
Синтез вихідного 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону **3.18** здійснено на основі 1*H*-[1,2,4]тріазол-3-тіолу **3.16** (схема 8). При алкілуванні монохлороцтовою кислотою сполуки **3.16** синтезовано (2*H*-[1,2,4]-тріазол-3-ілсульфаніл)-оцтову кислоту **3.17**, яку в реакції з триетилортоформіатом в ацетангідриді трансформовано у цільове похідне **3.18**.

Схема 8



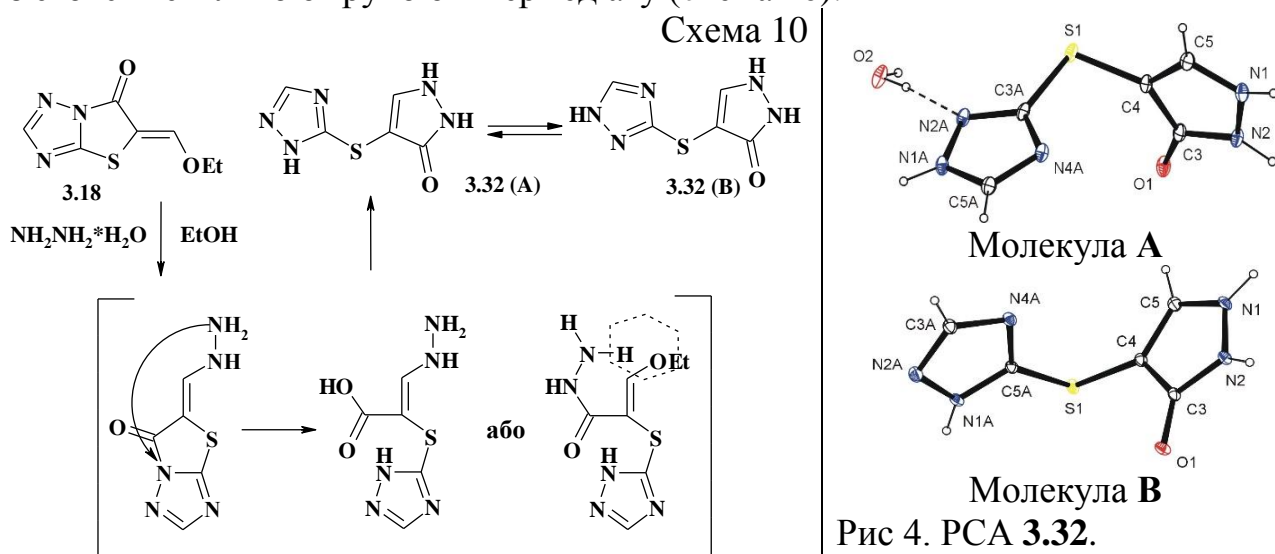
Одержаний 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-он **3.18** активно реагує з первинними ароматичними, первинними і вторинними аліфатичними та гетероциклічними амінами з утворенням відповідних енамінів **3.19-3.24** та **3.26-3.31** (схема 9). За аналогією до сполук **2.50-2.52** та **3.3** синтезовано 5-амінометиленпохідне **3.25** при використанні гідрокарбонату амонію.

Схема 9



У спектрах ^1H ЯМР сполук **3.19-3.24** та **3.26-3.31** характеристичним є сигнал протону тріазольного фрагменту у вигляді синглету при 8.35-8.40 м.ч. Окрім того, аналітичне значення має картина субспектра амінометиленового залишку для похідних на основі первинних амінів (**3.19-3.21**) у вигляді двох синглетів (часто уширених) при $\sim 8.20-8.50$ (для $=\text{CH}$) та $8.80-10.80$ (для NH). Для похідних на основі вторинних амінів (**3.22**, **3.26-3.28**, **3.31**) закономірно спостерігається лише сигнал метиліденового протону.

При взаємодії похідного **3.18** з гідразин гідратом спостерігається реакція рециклізації з утворенням важкодоступного 4-(2*H*-[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідропіразол-3-ону **3.32**. На нашу думку можливими є два шляхи процесу - рециклізація проміжного енаміну або формування тріазольного циклу через утворення *in situ* гідразиду, який циклізує взаємодією з етоксиметильною групою інтермедіату (схема 10).



На основі РСА (рис. 4) встановлено, що 1,2,4-тріазольна система в молекулі **3.32** зазнає таутомерних перетворень в розчині. До такого висновку приводять кристали **3.32** (А) (пластинчатої форми) та **3.32** (В) (призматичної форми), отримані одночасно з однієї і тієї ж суміші розчинників $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ (1:1). Кристали форми А утворені таутомером з атомами Гідрогену у положенні $\text{N}2$, а форму В утворюють молекули з Гідрогеном у положенні $\text{N}1$.

Біологічна активність «малих молекул» з групи 5-амінометилентіазолідинонів як потенційних лікарських засобів

Вивчення протимікробної активності синтезованих сполук проведено методом дифузії в агар та мікрометодом серійних розведень в агарі з використанням тест-мікроорганізмів (проф. Р.В. Куциком, кафедра мікробіології, вірусології та імунології ІФНМУ). Дослідження полягало у вивченні прямої протимікробної дії щодо ізольованих клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів: чутливий до метициліну *Staphylococcus aureus* (MSSA); резистентний до метициліну *Staphylococcus aureus* (MRSA); метицилін-резистентний *Staphylococcus haemolyticus* (MRSH); грамнегативні

бактерії *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; дріжджі *Candida albicans*; *Candida tropicalis*. Крім того, проведено оцінку синергізму сполук з оксациліном та амоксиклавом щодо ізольованих клінічних збудників умовно-патогенних штамів з резистентністю до антибіотиків: ES β L (β -лактамаза розширеного спектру дії), що продукує *Klebsiella pneumoniae*; резистентний до метициліну гемолітичний стафілокок (MRSH) з атиповою активністю пеніцилін-зв'язуючого білка PBP2 і β -лактамазою.

За результатами скринінгу одними з найбільш перспективних виявились похідні ізороданіну **2.33**, **2.37** та **2.47**, що проявили суттєву антистафілокову активність (зони затримки росту MSSA та MRSA - 14-26 мм). У контексті SAR-аналізу переміщення 4-тіоксогрупи у положення 2 (похідні роданіну) чи заміна на оксогрупу (похідні тiazолідиніону) приводить до певної втрати ефекту. У 5-*R,R'*-амінометиленовому фрагменті (рис. 5) найбільш перспективними є *n*-хлорофенільний (**2.33**), *n*-етилсульфаніл-сульфонілфенільний (**2.37**), дифенільний (**2.47**), піримідиновий (**2.48**) та тριαзольний (**2.49**). Крім того, ідентифіковано сполуки **2.34**, **2.39** та **2.48**, які підвищують чутливість клінічних штамів *S. aureus* і *S. haemolyticus* до оксациліну.

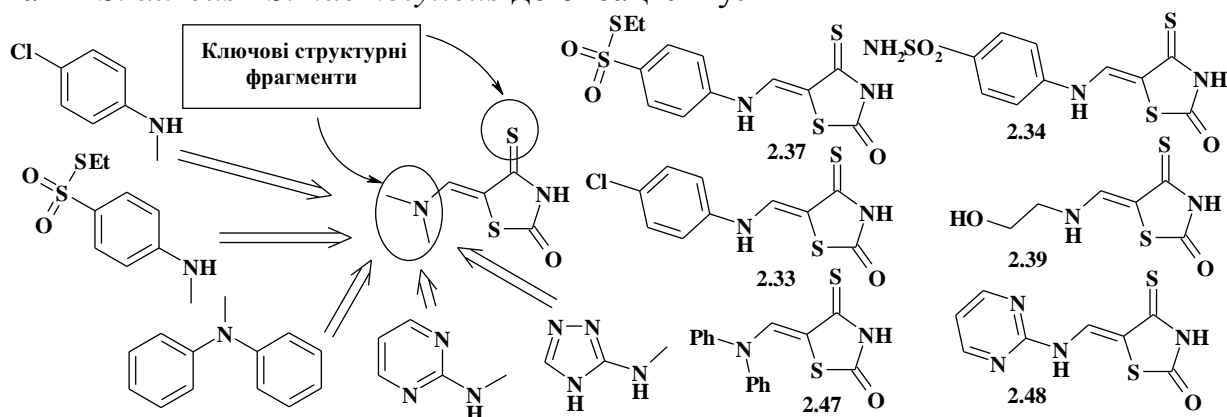


Рис. 5. Особливості кореляції «структура-промікробна дія».

Тестований (5*Z*)-5-[(4-етилсульфанілсульфоніланіліно)метилен]-4-тіоксо-2-тіазолідинон (**2.37**) виявив значний рівень фунгістатичної (Фс = <0.20-1.56 мкг/мл) і фунгіцидної (Фц = <0.20-3.13 мкг/мл) активності відносно різних видів кандид (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*), про що свідчать його антифунгальні концентрації в порівнянні з клотримазолом (Фс = <0.50-4.00 мкг/мл, Фц = <0.50-8.00 мкг/мл) та флуконазолом (Фс = 2.0-64.0 мкг/мл, Фц = 32.0-250.0 мкг/мл). Крім того, для сполуки **2.37** встановлено синергізм ефекту з амоксициліном і амоксиклавом щодо штаму *Klebsiella pneumoniae*, який є продуцентом β -лактамази ES β L, що може свідчити про властивості похідного як інгібітора зазначеного ферменту.

Серед 5-амінометиленових етилового естеру 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти (**3.3-3.15**) найвищий ефект щодо *S. aureus* (MRSA) проявили похідні **3.9** і **3.13** (МІК = 3.12 мкг/мл і 12.5 мкг/мл, відповідно), відносно *Ps. Aeruginosa* - сполуки **3.5** і **3.10** (МІК = 6.5 мкг/мл і 12.5 мкг/мл, відповідно). Крім того, похідні роданіну **3.3-3.15** проявили високий рівень активності проти *C. albicans* (МІК (**3.13**) = 12.5 мкг/мл). Для

похідних 5-амінометилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-онів також можна трактувати селективність ефекту щодо *C. albicans*. Найвищу дію проявили 5-(3-гідроксифеніламіно)метиленопохідне **3.20** та піразолін-заміщене **3.31** (зона затримки росту 8.46 ± 0.22 мм та 7.44 ± 0.43 мм, відповідно), що суттєво перевищує ефект амфотерицину Б (6.79 ± 0.65 мм).

Вивчення протипаразитарної дії синтезованих сполук проведено на штаммах *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei gambiense* в лабораторії UMR7245 CNRS «Molecules de Communication et Adaptation des Microorganismes» Національного музею історії природи (Париж, Франція).

3-Незаміщені 5-амінометилен-4-тіазолідинони проявили помірний ефект, який, в той же час, свідчить про перспективу подальших досліджень у зазначеному напрямку. Зокрема серед 10 спорадично вибраних похідних виявлено 5 «сполук-хітів» (**2.21, 2.22, 2.23, 2.76, 2.77**), які є перспективними для наступної структурної модифікації ($IC_{50} = 3.18-80.08$ μM). У той же час, 5-амінометиленопохідні етилового естеру 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти пригнічували ріст паразитів у мікро- і субмікромольних концентраціях. Встановлено суттєву роль природи енамінового фрагменту на прояв ефекту. Так, введення тіазольного та тріазольного кільця (сполуки **3.13-3.15**) не сприяє істотному підвищенню дії, зате підвищує рівень цитотоксичності на міобласти L-6. З іншого боку, наявність фенільних фрагментів (**3.4-3.10, 3.12**) сприяє прояву активності (IC_{50} 0.091-3.916 μM для *Tbb* і 0.027-1.936 μM для *Tbg*), причому її рівень був помітно вищим у порівнянні з 5-незаміщеним аналогом **3.3** (IC_{50} 37.551 μM для *Tbb* і 11.592 μM для *Tbg*). На підставі встановленої трипаноцидної активності до *Tbg* і цитотоксичності щодо фібробластів найбільш активними сполуками були **3.8, 3.10** і **3.12** з індексом селективності (SI) в межах 158-1396.2 (SI пентамідину і ніфуртімоксу – 5396.9 і 14.0, відповідно). Таку ж тенденцію спостерігали для активних сполук у тестах відносно *Tbb* - SI = 108-409.4 (SI пентамідину і ніфуртімоксу – 5793.9 і 27.3, відповідно). Серед тестованих сполук, 5-(4-етоксикарбонілфеніл)амінометиленове похідне **3.12** показало найвищу трипаноцидну активність з значеннями IC_{50} 0.091 μM (*Tbb*) і 0.027 μM (*Tbg*). Крім того, зазначена сполука характерна індексами селективності ефекту, що в 15 (*Tbb*) та 100 разів (*Tbg*) перевищують показники ніфуртімоксу.

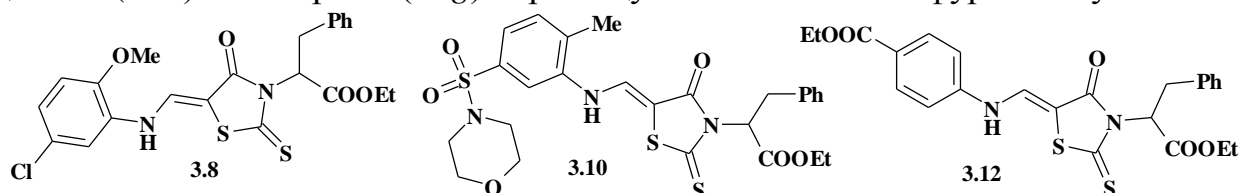


Рис. 6. Сполуки-хіти з трипаноцидною дією.

На основі SAR-аналізу показано, що комбінація тіазолідинового кільця, ариламінотетиленового фрагменту в положенні C5 і естера фенілпропіонової кислоти в положенні N3 істотно сприяє прояву антитрипаносомної дії. Крім того, природа замісника в ариламінотетиленовому фрагменті значно впливає на трипаноцидну активність, яка зростає в ряду наступних субституентів: 4-

$\text{SO}_2\text{SEt} < 4\text{-SO}_2\text{NH}_2 < \text{H} < 2\text{-MeO-5-Cl} < 4\text{-F} < 2\text{-NO}_2\text{-4-Cl} < 4\text{-Cl}$ або 2-Me-5-(морфолін-4-сульфоніл) < 4-COOEt.

Протипухлинна активність синтезованих 5-енамінотіазолідинонів (12 сполук) вивчалась у Національному інституті раку США (програма *DTP NCI*). На першому етапі сполуки вивчались концентрації 10^{-5} М на 60 лініях клітин лейкемії, меланоми, раку легень, кишківника, ЦНС, яєчників, нирок, простати та молочної залози. Кількісним критерієм активності є відсоток росту клітин (GR, %) у порівнянні з контролем. На фоні тестованих сполук середнє значення показника росту пухлинних клітин усіх ліній, за винятком сполуки-хіта **3.14**, знаходиться у межах 48-100%. Натомість сполуки проявляють специфічний ефект на окремі лінії ракових клітин, практично не впливаючи на інші. Однією з найчутливіших є лінія раку NCI-H522 недрібноклітинного раку легень, дещо в меншій мірі - лінії раку молочної залози та лейкемії.

За результатами прескринінгу протипухлинної активності синтезованих сполук *in vitro*, ідентифіковано сполуку-хіт **3.14**, яка характеризується високим рівнем активності по відношенню до ліній раку кишківника, лейкемії, недрібноклітинного раку легень, раку нирок та представляє інтерес для поглиблених досліджень. Сполуку **3.14** було відібрано для поглибленого вивчення у градієнті мінімум п'яти концентрацій при 10-кратному розведенні (від 10^{-4} до 10^{-8} М) на 60 лініях наведених вище людських ракових клітин. Важливо відзначити, що похідне виявилось активним щодо всіх протестованих ракових клітинних ліній ($\text{GI}_{50} < 10 \mu\text{M}$), причому середні значення параметрів активності становили $\text{GI}_{50} / \text{TGI} / \text{LC}_{50} - 2.57 / 57.27 / 94.71 \mu\text{M}$. Рівень ефекту **3.14** є співмірним (рис. 7) з тамоксифеном, фторурацилом та піразофурином.

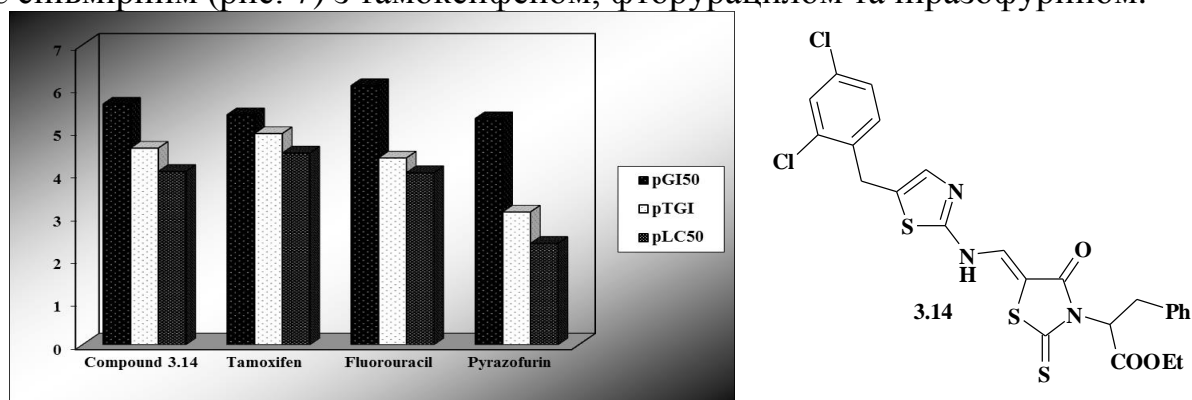


Рис. 7. Протипухлинний профіль **3.14** у порівнянні з стандартними засобами.

З метою оцінки специфічної активності сполуки **3.14** розраховано індекс селективності (SI). Сполука **3.14** виявилась неселективною як на рівнях GI_{50} , так і на TGI ($\text{SI} \div 0.86\text{-}1.26$ та $0.56\text{-}2.20$, відповідно), проте виявлено певний профіль селективності щодо деяких окремих клітинних ліній на рівні TGI. Так, показники селективності SI склали 6.14-14.15 для HL(60)-ТВ (лейкемія), HOP-92 та NCI-H522 (недрібноклітинний рак легень), COLO 205 та HT29 (рак товстої кишки), SF-295 та SF-539 (рак ЦНС), SK-MEL-2 та SK-MEL-5 (меланома), A498, RXF 393 та UO-31 (рак нирок), а також MDA-MB-468 (рак молочної залози). У той же час, на рівні GI_{50} спостерігалася лише помірна селективність для клітинної лінії раку товстої кишки HCT-15 ($\text{SI} = 4.69$).

Для пошуку механізму дії етилового естеру 2-(5-{[5-(2,4-дихлоробензил)-тіазол-2-іламіно]-метиле́н}-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **3.14** проведено *COMPARE* аналіз його протиракового профілю на рівні TGI. Похідне **3.14** виявило найвищу кореляцію (коефіцієнти Пірсона $RCC \geq 0.50$) з інгібітором транскрипції Актиноміцином D, антиметаболітом Морфоліно-АДР, інгібітором полімеризації тубуліну Ризоксином, інгібітором біосинтезу РНК Мітраміцином, інгібітором біосинтезу піримідину Дихлороалліллавсоном та інгібітором р-глікопротеїну Талікарпіном.

На основі вивчення антимікробної, протигрибкової, протитрипаносомної та протипухлинної активностей встановлено факт поліфармакологічних властивостей 5-амінометиленапохідних етилового естеру 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти, причому відзначено чітка кореляція між природою енамінового фрагменту та видом активності. Так, 5-(2,4-дихлоробензил)тіазол-2-іламіновий залишок зумовлює протипухлинну дію, 4-етоксикарбонілфеніламіновий – трипаноцидну, 4-сульфамойлфеніламіновий – антистафілококову, а тіазол-2-іламіновий – антикандидозну (рис. 8).

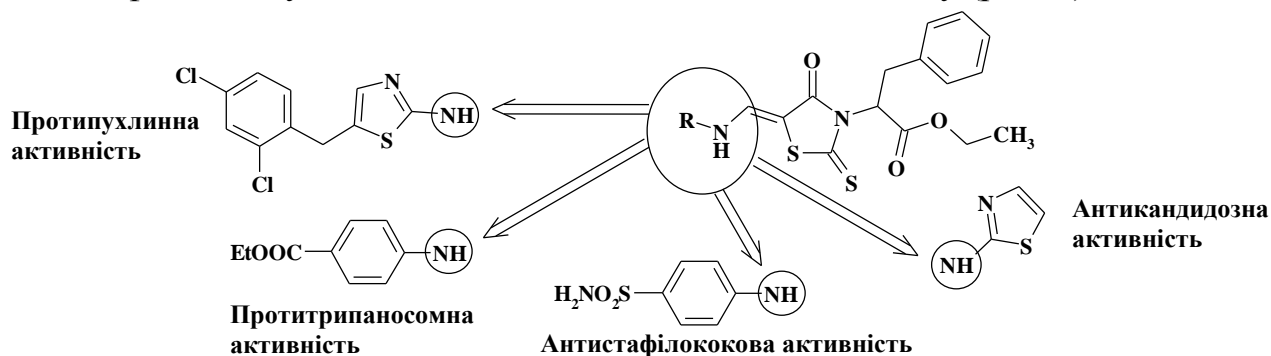


Рис. 8. Кореляція «структура-дія» 5-амінометиленапохідних етилового естеру 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти.

Протизапальна (антиексудативна) активність піразолінзаміщених 4-тіазолідинонів **2.69**, **2.76**, **2.77**, **2.78** та **2.91** вивчалась на карагеніновій моделі запального набряку лапи білого щура *in vivo* (наук. співр. І.О. Нектегаєв, ЛНМУ імені Данила Галицького). Найвищу активність виявив 5-[3,5-біс-(4-хлорофеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметиле́н]-2-тіоксо-4-тіазолідинон **2.76**, дія якого була співрозмірна з ефектами еталонних лікарських засобів (диклофенаку натрію, аспірину, ібупрофену та кетанову). Для оцінки впливу сполуки-хіта **2.76** на хронічний запальний процес використано формалінову модель запального набряку лапи білого щура. Встановлено, що у дозі 50 мг/кг похідне **2.76** продемонструвало антиексудативну активність, яка зростає в динаміці протягом усіх 5 днів експерименту, причому найвищий рівень ефекту (45.1%) спостерігався за 120 год (5 день) порівняно з диклофенаком натрію в однакових умовах.

Враховуючи перспективну специфічну протизапальну активність сполуки **2.76** проведено оцінку гематологічного профілю та вплив на систему крові для обох моделей запалення в аналізі крові щурів, а також визначення біохімічних показників сироватки для оцінки функціонального стану печінки на фоні

застосування сполуки **2.76** у формаліновій моделі запального набряку. В умовах експерименту (гостре і хронічне запалення) не спостерігалось жодного впливу сполуки на картину крові (рівень тромбоцитів, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), відсутність сильної нейтрофілії і лімфоцитопенії у порівнянні з дією диклофенаку натрію). Введення сполуки **2.76** не привело до негативного впливу на біохімічні показники печінкових ферментів (лужна фосфатаза ALP, гамма-глутамілтрансфераза γ -GGT, аланін-амінотрансфераза ALT та аспартат амінотрансфераза AST), які знаходились в межах норми. На основі аналізу слизової оболонки шлунка у щурів при формаліновій моделі запального набряку після повторної аплікації сполуки **2.76** у дозі 50 мг/кг досліджуване похідне не проявило ульцерогенної активності. Відсутність ульцерогенної дії та впливу на загальні показники крові дозволяють припустити, що в протизапальному ефекті високоактивного 5-[3,5-біс-(4-хлорофеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметиле]-2-тіоксо-4-тіазолідинону **2.76** ключову роль можуть відігравати пригнічення COX-2 або 5-LOX, а не гальмування COX-1.

Для встановлення механізму протизапальної активності сполуки-хіта **2.76** проведено докінгові дослідження (*AutoDock Vina*®), на основі яких окреслено незначну афінність до COX-1 (енергія -6,7 ккал/моль) без утворення водневих зв'язків з цільовим ферментом. Однак, при вивченні можливої взаємодії з COX-2 та 5-LOX (рис. 9) встановлено ряд можливих розташувань з високою енергією зв'язування (-9,0 ккал/моль та -8,1 ккал/моль) всередині алостеричного центру та утворенням водневого зв'язку атому Оксигену 4-тіазолідинового ядра з Ser516 довжиною 2.09 Å та енергією -0.41 ккал/моль. Результати молекулярного докінгу корелюють з даними експериментальних досліджень і свідчать про можливу наявність афінитету сполуки **2.76** до COX-2 та 5-LOX.

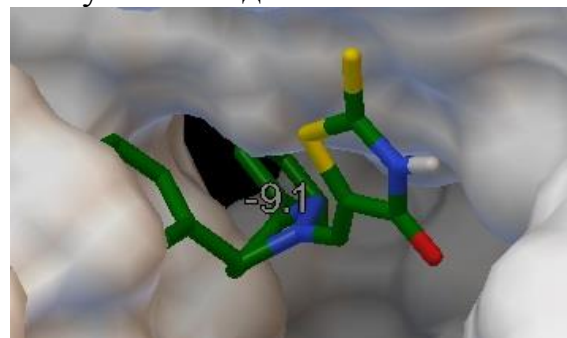
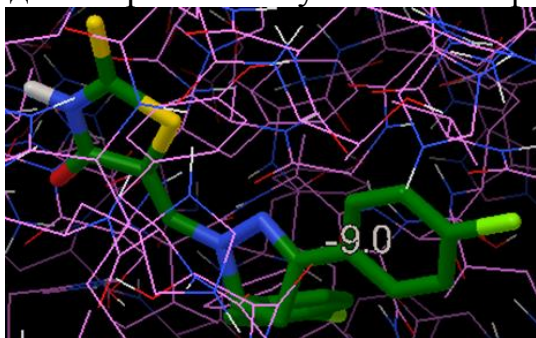


Рис. 9. Візуалізація розташування сполуки **2.76** в ділянці зв'язування активних сайтів COX-2 та 5-LOX.

За методом Літчфільда та Уїлкоксона вивчено **гостру токсичність** високоактивних сполук **2.17, 2.23, 2.28, 2.33, 2.37, 2.46-2.48, 2.76, 2.96, 3.4, 3.10, 3.12, 3.14, 3.15**, LD₅₀ яких знаходиться в межах 289-1021 мг/кг.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено ефективні методи синтезу і одержано 132 нових похідних 5-амінометилентіазолідинонів, встановлена їх будова, вивчені фізико-хімічні параметри та біологічна активність. На основі комплексу досліджень, який включав синтез, фармакологічний скринінг, молекулярний докінг, SAR- і *COMPARE* аналіз, ідентифіковано високоактивні похідні з протимікробною та протигрибковою (17 сполук), протипухлинною (1), антитрипаносомною (5), протизапальною (1) дією і задовільними токсикометричними параметрами. Пріоритет дослідження підтверджено патентом України на винахід.
2. Показано, що при взаємодії тіазолідинонів та (2*H*-[1,2,4]-тріазол-3-ілсульфаніл)-оцтової кислоти з триетилортоформіатом в середовищі ацетангідриду утворюються відповідні 5-етоксиметиленпохідні, причому у випадку 2-амінотріазол-4(5*H*)-ону, 3-(4-гідроксифеніл)-2-тіоксо-4-тіазолідинону та 4-(4-гідроксифеніламіно)-5*H*-тріазол-2-ону поряд з утворенням відповідного 5-етоксиметиленпохідного закономірно відбувається супутнє ацилювання аміногрупи та фенольного гідроксилу, для 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти відзначено паралельне утворення етилового естеру, а взаємодія (2*H*-[1,2,4]-тріазол-3-ілсульфаніл)-оцтової кислоти є двохстадійним процесом, що включає реакції гетероциклізації та конденсації за метиленактивною групою з утворенням 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону. Одержані вихідні сполуки є ефективними реагентами для досягнення хімічного розмаїття в ряду похідних тіазолідинонів.
3. Встановлено, що 5-етоксиметилентіазолідинони легко взаємодіють з такими нуклеофілами як функціоналізовані первинні і вторинні ароматичні та аліфатичні аміни, а також гідрокарбонатом амонію як «донором» аміаку в середовищі спиртів з утворенням відповідних енамів, що значно розширює асортимент методів одержання 5-ен-тіазолідинонів як біологічно активних сполук, причому використання 3,5-діарилпіразолінів в якості амінокомпоненти є ефективним підходом до дизайну піразолін-тіазолідинонових кон'югатів у контексті реалізації «гібрид-фармакофорного» підходу у створенні нових «лікоподібних молекул».
4. Вперше встановлено, що при кип'ятінні 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону з гідразин гідратом в етанолі проходить рециклізація проміжного енаміну з утворенням важкодоступного 4-(2*H*-[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідропіразол-3-ону.
5. Встановлено суттєву антистафілококову активність 5-амінометилен-4-тіоксо-2-тіазолідинонів, причому переміщення тіоксогрупи з положення 4 у положення 2 (похідні роданіну) чи заміна на оксогрупу (похідні тіазолідиндіону) приводить до певної втрати ефекту, а серед субституентів в 5-амінометиленовому фрагменті найбільш перспективними виявились *n*-

- хлорофенільний, *n*-етилсульфанілсульфонілфенільний, дифенільний, піримідиновий та тіазольний.
6. Ідентифіковано (5*Z*)-5-[(4-етилсульфанілсульфоніланіліно)метилен]-4-тіоксо-2-тіазолідинон, що характеризується значною протистафілоковою активністю, проявляє властивості інгібітора бактеріальної β-лактамази розширеного спектру і відрізняється високою антикандидозною активністю, за рівнем якої значно переважає клотримазол та флуконазол.
 7. Виявлено, що 5-амінометиленпохідні етилового естеру 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти є перспективним класом біологічно активних сполук для спрямованого пошуку різнопланових «лікоподібних молекул», а 5-єнаміновий субституент у їх структурі може бути ключовим молекулярним фрагментом для селективної оптимізації протипухлинної, протитрипаносомної, протимікробної чи протигрибкової дії.
 8. Вперше встановлено, що 5-амінометиленпохідні етилового естеру 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти пригнічують ріст паразитів роду *Trypanosoma* у мікро- і субмікромольних концентраціях. Зокрема високоактивне та низькотоксичне похідне на основі етил 4-амінобензоату суттєво перевищує ефект ніфуртимоксу відносно *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei gambiense* при вищих індексах селективності ефекту у 15 та 100 разів, що є підставою для поглибленого вивчення зазначеного класу сполук як потенційних лікарських засобів у фармакокорекції сонної хвороби.
 9. Вперше ідентифіковано етиловий естер 2-(5-{[5-(2,4-дихлоробензил)-тіазол-2-іламіно]-метилен}-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти з високими показниками пригнічення росту ракових клітин основних онкозахворювань людини. Зазначену сполуку можна розглядати як базову для спрямованого дизайну потенційних протиракових агентів.
 10. Ідентифіковано 5-[3,5-біс-(4-хлорофеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-2-тіоксо-4-тіазолідинон як потенційний нестероїдний протизапальний лікарський засіб з невисокою токсичністю, відсутністю ульцерогенної дії та впливу на загальні показники крові. Показано, що в протизапальному ефекті досліджуваної сполуки ключову роль може відігравати подвійне інгібування біосистеми COX-2/5-LOX, що відкриває нові можливості пошуку оригінальних «лікоподібних молекул» з групи 5-ен-4-тіазолідинонів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Synthesis of 5-enamine-4-thiazolidinone derivatives with trypanocidal and anticancer activity / S. Holota, A. Kryshchyshyn, H. Derkach, Y. Trufin, I. Demchuk, A. Gzella, Ph. Grellier, R. Lesyk // *Bioorganic Chemistry*. – 2019. – Vol. 86. – P. 126-136. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності.*

2. Synthesis of 4-(2*H*-[1,2,4]-Triazol-5-ylsulfanyl)-1,2-dihydropyrazol-3-one via Ring-Switching Hydrazinolysis of 5-Ethoxymethylidenethiazolo[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6-one / S. Holota, Ya. Shylych, H. Derkach, O. Karpenko, A. Gzella, R. Lesyk // Molbank. – 2018. – Vol. 4. – M1022. *Особистий внесок: синтез цільових сполук, інтерпретація спектрів.*
3. Синтез та біологічна активність нових похідних 5-амінометилєн-2-тіоксотіазолідин-4-онів / Г. Деркач, С. Голота, Я. Труфін, О. Роман, І. Демчук, Г. Семенців, І. Соронович, Р. Куцик, Ф. Грельє, Р. Лесик // Фармацевтичний часопис. – 2017. – № 2. – С. 5-11. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності, підготовка статті до друку.*
4. Synthesis and study of antimicrobial properties of 5-*R,R'*-aminomethylene derivatives of thiazolidine-2,4-dione and 4-thioxothiazolidine-2-one / G.O. Derkach, S.M. Golota, V.V. Zasadko, I.I. Soronovych, R.V. Kutsyk, R.B. Lesyk // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2016. – Т. 14., № 3 (55). – С. 32-37. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності, підготовка статті до друку.*
5. 5-Ethoxymethylidene moiety as a useful tool for desing biologically active molecules among 4-thiazolidinone derivatives / S. Golota, Ya. Trufin, Ya. Shylych, G. Derkach, R. Kutsyk, B. Zimenkovsky, R. Lesyk // Modern directions in chemistry, biology, pharmacy and biotechnology. – Lviv: Lviv Polytechnic Publishing House, 2015. – P. 71-75. *Особистий внесок: синтез 5-амінометилєн-4-тіазолідинонів, інтерпретація спектральних даних, підготовка статті до друку.*
6. Features of antimicrobial activity of some 5-aminomethylene-2-thioxo-4-thiazolidinones / S.M. Holota, G.O. Derkach, V.V. Zasadko, V.V. Trokhymchuk, L.O. Furdychko, I.L. Demchuk, G.M. Semenciv, I.I. Soronovych, R.V. Kutsyk, R.B. Lesyk // Biopolymers and Cell. – 2019. – Vol. 35, № 5. – P. 371-380. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності, підготовка статті до друку.*
7. Synthesis and in vivo evaluation of pyrazoline-thiazolidin-4-one hybrid Les-5581 as a potential non-steroidal anti-inflammatory agent / S.M. Holota, H.O. Derkach, I.L. Demchuk, R.B. Vynnytska, O.I. Antoniv, L.O. Furdychko, N.Yu. Slyvka, I.O. Nektegayev, R.B. Lesyk // Biopolymers and Cell. – 2019. – Vol. 35, № 6. – P. 437-447. *Особистий внесок: синтез цільової сполуки, інтерпретація спектрів.*
8. Патент на винахід 118268. України МПК С07С 323/65. (5*Z*)-5-[(4-Етилсульфанілсульфоніл-аніліно)-метилєн]-4-тіоксотіазолідин-2-он з високим рівнем протистафілокової і антикандидозної активності та спосіб його одержання / Г.О. Деркач, Р.В. Куцик, Р.Б. Лесик, С.М. Голота, В.В. Засідко; заявник і патентовласник Івано-Франківський національний медичний університет – № а201604568; заявл. 25.10.2017; опубл. 26.12.2018; Бюл. №24. *Особистий внесок: синтез сполуки, інтерпретація даних біологічної дії, оформлення патенту.*

9. Синтез нових 5-метилідентіазолідинонів з піразоліновим фрагментом в молекулах / Г.О. Деркач, М.І. Лелюх, Д.Я. Гаврилук, А. Гзелля, Р.В. Куцик, 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. 138. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи.*
10. Вивчення антибактеріальних властивостей в ряду 4-тіазолідинонів: 5-R-амінометиленапохідні 4-тіоксо-тіазолідин-2-ону та 2-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти / Г.О. Деркач, С.М. Голота, В.В. Засідко, Р.В. Куцик, Я.О. Труфін, Р.Б. Лесик // XXXIII всеукраїнська науково-практична конференція «ЛІКИ – ЛЮДИНИ», 8 квітня 2016 р.: матер. конф. – Харків: НФаУ, 2016. – С. 67-68. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи.*
11. Search for antibacterial and antifungal agents among 4-thiazolidinones and related heterocycles. Screening results and perspectives / S. Golota, Ya. Trufin, Ya. Shylych, G. Derkach, V. Zasidko, R. Kutsyk, R. Lesyk // 11th Annual Scientific Conference «Bridges in Life Sciences», 7-10 April, 2016: Program and Abstract. – Prague, Czech Republic, 2016. – P. 22. *Особистий внесок: синтез 5-амінометилена-4-тіазолідинонів, інтерпретація спектральних даних.*
12. Пошук потенційних протимікробних агентів серед 5-R,R'-амінометиленапохідних тіазолідин-2,4-діону та 4-тіоксо-тіазолідин-2-ону / Г.О. Деркач, С.М. Голота, В.В. Засідко, І.І. Соронович, Р.В. Куцик, Р.Б. Лесик // VIII національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття – тенденції та перспективи», 13-16 вересня 2016 р.: матер. конф. – Харків: НФаУ, 2016. – Т. I. – С. 21. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, інтерпретація спектральних та біологічних даних.*
13. Search for biologically active molecules among thiazolidin-4-(thi)one derivatives with 5-aminomethylene moiety / S. Golota, G. Derkach, Ya. Trufin, Ya. Shylych, I. Soronovych, R. Kutsyk, R. Lesyk // XXIV Всеукраїнська конференція з органічної хімії, 13-19 вересня 2016 р.: матер. конф. – Полтава: Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка, 2016. – С. 288. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, інтерпретація спектральних та біологічних даних.*
14. Пошук потенційних протимікробних агентів серед 4-тіазолідин(ті)онів з 5-R,R'-амінометиленовим фрагментом в молекулі / Г. Деркач, С. Голота, І. Сидоренко, Я. Труфін, Р. Сурма, В. Засідко, Г. Семенців, І. Соронович, Р. Куцик, Р. Лесик // VI Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів», 10-11 листопада 2016 р.: матер. конф. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2016. – С. 14-15. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, інтерпретація спектральних та біологічних даних.*
15. Antimicrobial activity of some thiopyrano[2,3-d]thiazoles and their structure-related analogue / A. Lozynskyi, V. Zasidko, H. Derkach, R. Lesyk // 7th

- International Weigl Conference, 26-29 September 2017: Abstract book. – Lviv, 2017. – P. 54. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, інтерпретація даних протимікробної активності.*
16. Дослідження взаємодії 2-іміно-тіазолідин-4-ону з диметилацеталем N,N-диметилформаміду та тріетилортоформіатом / Г.О. Деркач, С.М. Голота, Я.О. Труфін, Р.С. Сурма, І.І. Соронович, Р.В. Куцик, Р.Б. Лесик // Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12-13 квітня 2018р.: матер. конф. – Харків: НФаУ, 2018. – С. 43. *Особистий внесок: експериментальна частина.*
 17. Synthesis of new heterocycles based on the 1H-[1,2,4]triazole-3-thiol / S. Holota, H. Derkach, G. Semenciv, I. Demchuk, I. Soronovych, R. Lesyk // 8th International Conference «Chemistry of nitrogen containing heterocycles» in memoriam of Prof. Valeriy Orlov, 12-16 November, 2018: Abstract book. – Kharkiv, 2018. – P. 90. *Особистий внесок: експериментальна частина.*
 18. 5-Ен-тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-они: синтез, перетворення та біологічна активність / С. Голота, Г. Деркач, Г. Семенців, І. Демчук, І. Соронович, Н. Сливка, І. Нектегаєв, Р. Куцик, А. Гзелля, Р. Лесик // XXV Українська конференція з органічної та біоорганічної хімії, 16-20 вересня 2019: матер. конф. – Луцьк: Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки, 2019. – С. 145. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи.*
 19. Antimicrobial and antifungal activity of the 1-(4-R-phenyl)-3-(2H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-pyrrolidine-2,5-diones / S. Holota, H. Derkach, L. Roman, I. Demchuk, O. Antoniv, R. Vynnytska, R. Kutsyk, R. Lesyk // 10th RECOOP Annual Project Review Meeting, 11-12 October, 2019: Program and Abstract. – Poland, Wroclaw, 2019. – P. 93. *Особистий внесок: експериментальна частина роботи, інтерпретація даних протимікробної та протигрибкової активностей.*

АНОТАЦІЯ

Деркач Г.О. Синтез та вивчення кореляції «структура – біологічна активність» похідних 5-амінометилентіазолідинонів. – 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, 2020.

Дисертація присвячена пошуку нових біологічно активних сполук серед 5-амінометилентіазолідинонів. Конденсацією тіазолідинонів та (2H-[1,2,4]-тріазол-3-ілсульфаніл)-оцтової кислоти з триетилортоформіатом синтезовано 5-етоксиметиленпохідні, які при взаємодії з функціоналізованими первинними і вторинними ароматичними та аліфатичними амінами, а також гідрокарбонатом амонію утворюють 5-амінометилентіазолідинони, причому використання 3,5-діарилпіразолінів в якості амінокомпоненти є ефективним підходом до дизайну

піразолін-тіазолідинонових кон'югатів у контексті «гібрид-фармакофорного» підходу у створенні «лікоподібних молекул». Встановлено, що в реакції 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону з гідразин гідратом проходить рециклізація проміжного енаміну з утворенням важкодоступного 4-(2*H*-[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідропіразол-3-ону. Структура сполук підтверджена спектроскопією ¹H та ¹³C ЯМР, хромато-мас-спектрометрією та рентгеноструктурним аналізом. Виділено ряд перспективних похідних із значною протипухлинною, протитрипаносомною та протизапальною діями.

Ключові слова: синтез, 5-амінометилентіазолідинони, [2+3]-циклоконденсація, аміноліз, енаміни, спектральні характеристики, фармакологічні дослідження, *COMPARE* аналіз, *SAR* аналіз, молекулярне моделювання.

АННОТАЦІЯ

Деркач Г.О. Синтез и изучение корреляции «структура – биологическая активность» производных 5-аминометилентиазолидинонов. – 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, 2020.

Диссертация посвящена поиску новых биологически активных соединений среди 5-аминометилентиазолидинонов. Конденсацией тиазолидинонов или (2*H*-[1,2,4]-тріазол-3-ілсульфаніл)-уксусной кислоты с триэтилортоформиатом синтезированы 5-етоксиметилентіазололідинонові, которые при взаимодействии с функционализированными первичными и вторичными ароматическими и алифатическими аминами, а также гидрокарбонатом аммония образуют 5-амінометилентіазололідиноны, причем использование 3,5-диарилпіразолінон в качестве амінокомпоненты является эффективным подходом к дизайну піразолін-тіазололідинонових кон'югатів в контексте «гібрид-фармакофорного» подхода в создании «лекарственоподобных молекул». Установлено, что в реакции 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-она и гідразин гідрата проходит рециклізація проміжного енаміна с образованием труднодоступного 4-(2*H*-[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідропіразол-3-она. Структура соединений подтверждена спектроскопией ¹H- и ¹³C-ЯМР, хромато-масс-спектрометрией и рентгеноструктурным анализом. Выделено ряд перспективных соединений со значительной противоопухолевой, антитрипаносомной и противовоспалительной активностями.

Ключевые слова: синтез, 5-амінометилентіазололідиноны, [2+3]-циклоконденсація, аміноліз, енаміни, спектральні характеристики, фармакологічні дослідження, *COMPARE* аналіз, *SAR* аналіз, молекулярне моделювання.

SUMMARY

Derkach H.O. Synthesis and study of the “structure - biological activity” correlation of 5-aminomethylenetiazolidinone derivatives. – 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, 2020.

The thesis is devoted to the development and improvement of synthetic methods, study of physicochemical and biological properties of 5-aminomethylene-thiazolidinones.

The reaction of 2,4-thiazolidinedione, 4-thioxo-2-thiazolidinone, 2-aminothiazol-4(5*H*)-one and 2-thioxo-4-thiazolidinone derivatives with triethyl orthoformate in acetic anhydride yielded the corresponding 5-ethoxymethylene derivatives. It has been found that 5-ethoxymethylenetiazolidinones readily interact in ethanol medium with such nucleophiles as functionalized primary and secondary aromatic and aliphatic amines yielding the corresponding enamines. Obtaining of 5-aminomethylene-4-thiazolidinones based on amino acids was realized by aminolysis of 5-ethoxymethylene reagents in acetic acid. Using 5-ethoxymethyleneisorodanine, a bis-isorodanine derivative is formed in reaction with piperazine, and in the case of phenylhydrazine, as amino component, in addition to the interaction on the ethoxymethylene group, the concomitant aminolysis of 4-thioxo group with the formation of 5-phenylhydrazinemethylene-4-phenylhydrazono-2-thiazolidinone. The study of the aminolysis reaction of 5-ethoxymethylene-thiazolidinones showed the possibility of replacing the ethoxy group with an amino group by using ammonium hydrogen carbonate. Using of 3,5-diarylpyrazolines as an amino component in reaction with 5-ethoxymethylenethiazolidinones is an effective approach to the design of pyrazoline-thiazolidinone conjugates. The structural features of synthesized compounds were studied by the X-ray analysis, on the basis of which the *Z*-configuration and aminoform of the thiazolidine moiety were uniquely confirmed.

Following reaction of 2-(4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)-3-phenylpropionic acid with triethyl orthoformate in the acetic anhydride in parallel with the formation of the 5-ethoxymethylene derivative, the esterification of the carboxylic group was observed. A similar reaction of (2*H*-[1,2,4]-triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid as a starting reagent is a two-step process involving reactions of heterocyclization and condensation on a methylene active group yielding 5-ethoxymethylenetiazolo[3,2-*b*][1,2,4]triazole-6-one. The synthesized 5-ethoxymethylene derivatives easily interact with aliphatic, aromatic and heterocyclic amines, as well as ammonium hydrocarbonate in ethanol yielding the corresponding 5-enamines. It was established that reaction of 5-ethoxymethylenetiazolo[3,2-*b*][1,2,4]triazole-6-one with hydrazine hydrate passed as ring transformation process with 4-(2*H*-[1,2,4]triazol-5-ylsulfanyl)-1,2-dihydropyrazol-3-one formation.

The structural features of 2-(5-*R*-aminomethylene-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)-3-phenylpropionic acid ethyl esters were studied by X-ray analysis, on the basis of which the *Z*-configuration of the 5-enamine fragment was uniquely verified. X-ray

study of 4-(2*H*-[1,2,4]triazol-5-ylsulfanyl)-1,2-dihydropyrazol-3-one confirmed the prototropic tautomerism of the triazole moiety.

The structure and composition of the synthesized compounds were confirmed by elemental analysis, LCMS, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. It is noted that the singlet of =CH proton for 5-enaminethiazolidinones is substantially shifted into the weak magnetic field, which indicates the *Z*-configuration of the 5-ene fragment.

Significant antistaphylococcal activity of 5-aminomethylene-4-thioxo-2-thiazolidinones has been established. It was identified (5*Z*)-5-[(4-ethylsulfanylsulfonylanilino)methylene]-4-thioxo-2-thiazolidinone, which are characterized by significant antistaphylococcal activity, exhibits the properties of a broad-spectrum β-lactamase inhibitor, and are distinguished by a high level of anti-*Candida* activity. It was established that 5-aminomethylene-2-(rhodanin-3-yl)-3-phenylpropionic acid ethyl esters have a higher antimicrobial activity than the N3-unsubstituted 2,4-thiazolidinedione and rhodanine analogues indicating the positive effect of introducing amino acid fragments into the 4-thiazolidinone moiety.

It was established that 5-aminomethylene-2-(4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)-3-phenylpropionic acid ethyl esters inhibited the growth of *Trypanosoma* parasites in micro- and sub-micromolar concentrations. Highly-active and low-toxic 5-(4-ethoxycarbonylphenyl)aminomethylene-2-(rhodanin-3-yl)-3-phenylpropionic acid ester was identified. Compound significantly exceeded the effect of Nifurtimox against *Trypanosoma brucei brucei* and *Trypanosoma brucei gambiense* and *brucei* with selectivity indexes higher in 15 and 100 times, respectively.

Following the antitumor activity study ethyl ester of 2-(5-{[5-(2,4-dichlorobenzyl)-thiazol-2-ylamino]-methylene}-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)-3-phenylpropionic acid with high level of inhibition of cancer cell growth of major type of oncological diseases was identified.

It was established that 5-aminomethylene-2-(rhodanin-3-yl)-3-phenylpropionic acid ethyl esters are promising “drug-like molecules”. 5-Enamine substructures can be a key molecular moiety for the selective optimization of antitumor, antitrypanosomal, antimicrobial or antifungal activity.

5-[3,5-Bis-(4-chlorophenyl)-4,5-dihydropyrazol-1-ylmethylene]-2-thioxo-4-thiazolidinone has been identified as a new potential non-steroidal anti-inflammatory drug with low toxicity, no ulcerogenic action and effects on overall blood counts. Based on detailed analysis of biological data and molecular docking, it is suggested that COX-2 and 5-LOX may play a key role in its anti-inflammatory effect.

Highly active hit-compounds with antimicrobial, antifungal, antitumor, antitrypanosomal and anti-inflammatory activities are characterized by relatively low toxicity *in vivo*. They refer to low-toxic substances (LD₅₀ = 289-1021 mg/kg).

Keywords: synthesis, 5-aminomethylenethiazolidinones, [2+3]-cyclocondensation, aminolysis, enamines, spectral characteristics, pharmacological studies, COMPARE analysis, SAR analysis, molecular modeling.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

NCI – Національний інститут раку США (National Cancer Institute)
DTP – Developmental Therapeutic Program
KCCB – константа спін-спінової взаємодії
PDB – protein data bank
SAR-аналіз – емпіричний аналіз взаємозв'язку «структура - дія»
PBP2 – протеїн-зв'язуючий білок (*penicillin binding protein 2*)
PSA – рентгеноструктурний аналіз
TBB – *Trypanosoma brucei brucei*
TBG – *Trypanosoma brucei gambiense*
SI – індекс селективності
5-LOX- 5-ліпооксигеназа
COX-2 - циклооксигеназа 2
GI₅₀ - концентрація, яка викликає пригнічення росту 50% клітин лінії
GP - відсотки росту (*growth percent*)
LC₅₀ - концентрація речовини, що приводить до 50% загибелі клітин
TGI – концентрація, яка викликає пригнічення росту 100% клітин лінії
MIK - мінімальна інгібуюча концентрація