

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

ШЕПЕТА ЮЛІЯ ЛЕОНІДІВНА

УДК 615.276:(547.791+547.787+547.789)].012.1.015.4

**СИНТЕЗ, ПЕРЕТВОРЕННЯ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ
ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНУ, ОКСАДІАЗОЛУ ТА ТРІАЗОЛУ З
ФРАГМЕНТАМИ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ
ДИКЛОФЕНАКУ ТА ІБУПРОФЕНУ В МОЛЕКУЛАХ**

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 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 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 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 «___» _____ 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

І.В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Протягом останніх десятиліть увагу вчених, що працюють в галузі пошуку нових синтетичних лікарських засобів, привертають похідні 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу. Більшість авторів відносить зазначені хімічні каркаси до «привілейованих» структур, що підтверджено створенням численних «лікоподібних» молекул з протипухлинною, антимікробною, противірусною, протизапальною, імуносупресорною, гіпоглікемічною, протитуберкульозною та іншими активностями. Актуальність цих гетероциклічних фрагментів в структурах потенційних лікарських засобів підтверджується великою кількістю ґрунтовних наукових праць, що систематизують дані про ці класи речовин (Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик 2006-2020; I. Khan, A. Ibrar, N. Abbas 2013; S. K. Manjal, R. Kaur, R. Bhatia 2017; A. K. Jain, A. Vaidya, V. Ravichandran 2012; T. Mendgen, C. Steuer, C. D. Klein 2012; P. P. Gadhav, S. R. Pattan 2010, 2012, тощо).

Одним з популярних методів сучасної медичної хімії є синтез нових фармакологічно активних субстанцій шляхом модифікації відомих лікарських засобів з метою покращення їх фармакологічних і фармакодинамічних характеристик, а також розширення спектру біологічної активності. Так, відомо, що поєднання диклофенаку з оксадіазольним фрагментом (S.V. Bhandari, 2008; Mahesh B. Palkar, 2014), а також комбінація ібупрофену з оксадіазольним (M. Amir, 2007) та тріазольним (A. Uzgören-Baran, 2012) гетероциклами призводить до суттєвого зниження ульцерогенності та підвищення протизапального ефекту в порівнянні з вихідними лікарськими засобами (НПЗП) (K.V. Sujith, 2009). Крім того, модифікація зазначених нестероїдних протизапальних лікарських засобів (НПЛЗ) з різними п'ятичленими гетероциклами зумовлює появу нових фармакологічних ефектів, нетипових для НПЛЗ, в тому числі антимікробного (N.V. Patel, 2007), антиоксидантного (M. Amir, 2007; Ioana M. Vasincu, 2014), інсуліносенсибілізуючого (F. Hafeez, 2019).

Таким чином, покращення фармакологічних параметрів та пошук нових видів біологічної активності шляхом введення до структур відомих нестероїдних протизапальних лікарських засобів диклофенаку та ібупрофену інших біофорних фрагментів (4-тіазолідинонового, тріазольного та оксадіазольного, тощо), є актуальним та важливим напрямком сучасної фармацевтичної науки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом проблемної комісії «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 роботи був синтез нових похідних нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену з

фрагментами 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу в молекулах, їх перетворення та дослідження біологічної активності отриманих сполук.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- опрацювати синтетичні протоколи та одержати 1,3,4-оксадіазол-2-тіоли та 1,2,4-тріазол-3-тіоли на основі ібупрофену та диклофенаку натрію як вихідних сполук для синтетичних досліджень;
- отримати ряд нових *S*-алкільованих похідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу та 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах;
- одержати 2-тіоксо-4-тіазолідинони на основі гідразидів ібупрофену та диклофенаку та синтезувати їх 5-арил(гетерил)іденпохідні на основі реакції Кньовенагеля;
- одержати роданін-тріазольні та роданін-піразолінові гібридні похідні з фрагментом диклофенаку в молекулах в рамках реалізації «гібрид-фармакофорного» підходу;
- синтезувати (4-оксотіазолідин-5-іліденметил)-гідразиди з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах на основі 5-етоксиметин-4-тіазолідинонів;
- одержати похідні 4-тіазолідинону та 3*H*-тріазолу з 2-({2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-феніл]-ацетил}-гідразоновим фрагментом у положенні 2 базового гетероциклу);
- для синтезованих сполук дослідити протипухлинну, антитрипаносомну та протизапальну активність, а також вивчити гостру токсичність *in vivo* для високоактивних речовин. Провести аналіз залежності «структура – активність» і виділити «сполуки-хіти» для їх подальшої оптимізації, поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних молекул;
- провести *in silico* молекулярний докінг групи потенційних протизапальних агентів, на основі якого висунути гіпотези про механізм дії та сформулювати рекомендації для спрямованого синтезу нових похідних.

Об'єктами дослідження були реакції [2+3]-циклоконденсації, реакція Кньовенагеля, *S*-алкілювання, аміноліз, а також полікомпонентні *one-pot* хімічні процеси.

Предметом дослідження стали похідні 1,2,4-тріазол-3-тіолу, 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу, 3*H*-тріазолу та 4-тіазолідинону, 5-арил(гетерил)іденпохідні роданіну з 2-[2,6-дихлорофеніламіно]бензильним та 2-(4-ізобутилфеніл)-пропіонатним фрагментами в молекулах.

Методи дослідження: органічний синтез, спектроскопія ЯМР, хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз, фармакологічний скринінг, молекулярний докінг.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено методи синтезу неописаних в літературі похідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу, 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу, 3*H*-тріазолу та 4-тіазолідинону з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах як нових біологічно активних сполук. Встановлено, що 1,3,4-оксадіазол-2-тіоли та 1,2,4-тріазол-3-тіоли легко вступають в реакцію

S-алкілювання з 2-хлороацетамідами на основі ароматичних амінів, 3,5-диарилпіразолінів, 2-амінобензилтіазолів та 2-аміно-4,5-диметилтіофену з утворенням раніше неописаних в літературних джерелах похідних. Вперше показано, що гідразиди 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної та 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислот легко реагують з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою з утворенням похідних роданіну з фрагментами зазначених НПЛЗ в положенні 3 базового гетероциклу, що відкриває нові синтетичні шляхи для хімічної модифікації похідних 4-тіазолідинону. Запропоновано альтернативний метод синтезу 2-(4-ізобутилфеніл)-*N*-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-пропіонаміду, який базується на реакції ацилювання хлорангідридом ібупрофену 3-амінороданіну. Вперше показано, що гідразиди {5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}-ацетатних кислот є ефективними реагентами в дизайні тіазолідин-тріазольних гібридних молекул, що дозволило одержати нове похідне роданіну в реакції з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою та серію його 5-ариліденпохідних. Запропоновано системний підхід до молекулярного дизайну 5-амінометилен-4-тіазолідинонів з фрагментами диклофенаку і ібупрофену в положенні 3 або 5 базового гетероциклу, який базується на взаємодії 5-етоксиметилен-2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-*N*-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)ацетаміду з різноманітними амінами або 5-етоксиметилен-4-тіазолідинонів з гідразидидами 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної та 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислот. Експериментально встановлено, що *N*¹-ацильовані тіосемікарбазиди диклофенаку є ефективними *S,N*-бінуклеофілами в [2+3]-циклоконденсаціях з різноманітними еквівалентами діелектрофільного синтону [C₂]²⁺, що дозволяє одержати (4-оксотіазолідин-2-іліден)- та (3*H*-тіазол-2-іліден)-гідразиди [2-(2,6-дихлорофеніламіно)-феніл]-ацетатної кислоти.

Проведено спрямований синтез 152 нових гетероциклічних сполук, серед яких вперше ідентифіковано 2 речовини з високою протипухлинною активністю, 2 сполуки з антитрипаносомною дією та 26 похідних з протизапальним ефектом і задовільними токсикометричними параметрами. На основі аналізу кореляції «структура – активність» та докінгових досліджень запропоновано рекомендації до раціонального дизайну потенційних лікарських засобів для фармакотерапії сонної хвороби, онкологічних захворювань та запальних процесів. Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на корисну модель № 123803 (2018 р.).

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено методи синтезу та перетворення нових похідних 4-тіазолідинону, 3*H*-тіазолу, 1,2,4-тріазолу та 1,3,4-оксадіазолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену у молекулах. Виявлено нові високоефективні сполуки з антитрипаносомною, протипухлинною та протизапальною активністю. Встановлено ряд закономірностей залежності «структура – дія» і прогностичні характеристики для дизайну «лікоподібних» молекул. Фрагменти роботи впроваджено в навчальний та науковий процеси ВНМУ імені М.І. Пирогова, НФаУ та ЗДМУ (акти впровадження від 05.05.2020 р., 14.01.2020 р., 05.05.2020 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 США (міжнародна наукова програма *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 фармакології ЛНМУ імені Данила Галицького (н. сп. І.О. Нектегаєв, зав. кафедри проф. О.Р. Піняжко) та ТОВ «Укроргсинтез» (м. Київ) виконані та узагальнені результати фізико-хімічних методів аналізу (^1H та ^{13}C ЯМР спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія) та біологічної активності.

Апробація результатів дослідження. Основні положення дисертаційної роботи доповідались на науково-практичних конференціях: VI Українська конференція «Домбровські хімічні читання» (Чернівці, 2015), XV Наукова конференція «Львівські хімічні читання-2015», XXXII, XXXIII Науково-практичні конференції з міжнародною участю «Ліки – людині» (Харків, 2015, 2016), I, II і III Міжнародні науково-практичні конференції «Ліки – людині» (Харків 2017, 2018, 2019), XVIII Наукова молодіжна конференція «Проблеми та досягнення сучасної хімії» (Одеса, 2016), XXIV Українська конференція з органічної хімії (Полтава, 2016), VI Науково-практична конференція “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 2016), звітних конференціях аспірантів і здобувачів фармацевтичного факультету ЛНМУ імені Данила Галицького (Львів, 2016-2020) та засіданнях кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького (Львів, 2016-2019).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 22 наукових роботи, з яких 7 статей у наукових фахових виданнях (2 статті у журналах, реферованих у Scopus), 14 тез доповідей, одержано 1 патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 227 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літератури та трьох додатків (3 с.). Робота ілюстрована 25 таблицями (59 с.), 86 схемами (32 с.) і 9 рисунками (6 с.), перелік використаної літератури містить 210 джерел.

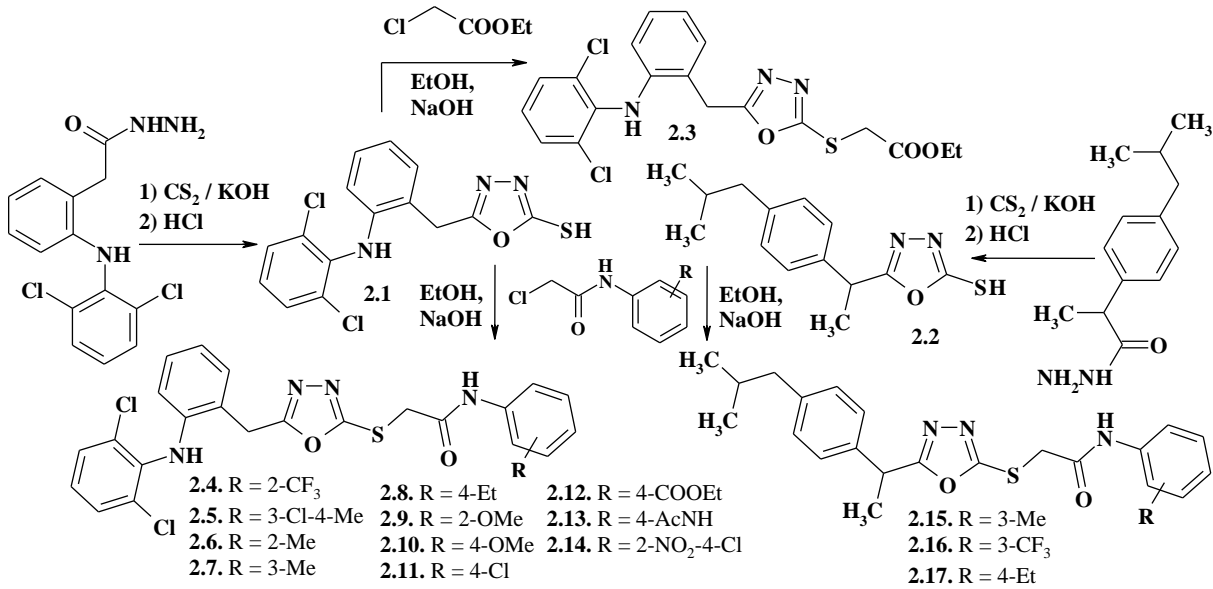
ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Синтез, фізико-хімічні властивості оксадіазолів та тріазолів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах

Вихідні 1,3,4-оксадіазол-2-тіоли з фрагментами диклофенаку (**2.1**) та ібупрофену (**2.2**) в молекулах синтезовані циклізацією відповідних гідразидів

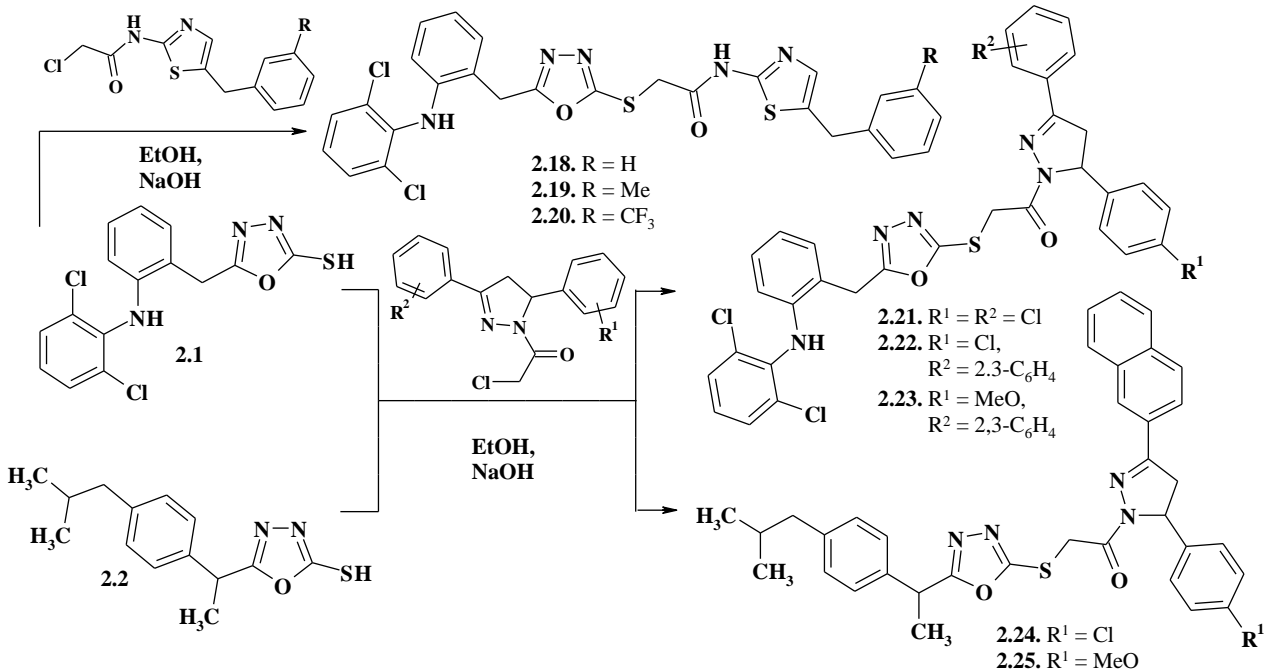
під дією дисульфіду карбону в середовищі спиртового розчину гідроксиду натрію. Подальші перетворення сполук **2.1** та **2.2** проводили в реакціях *S*-алкілювання етилхлороацетатом та 2-хлороацетанілідами шляхом генерування *in situ* їх калійних солей в етанолі, що дозволило отримати похідні 1,3,4-оксадіазол-2-сульфанілацетатної кислоти **2.3-2.17** (схема 1).

Схема 1



Аналогічно в реакціях *S*-алкілювання використано хлороацетаміди на основі 3,5-діарилпіразолінів та 2-аміно-5-бензилтіазолів (схема 2).

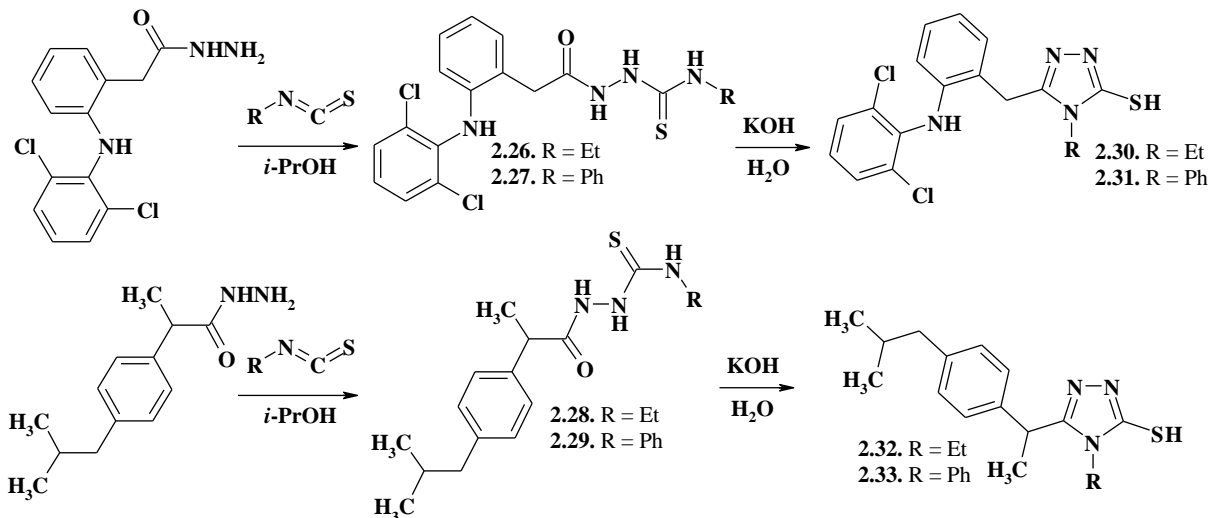
Схема 2



Взаємодією гідразидів 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної та 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислот з етил- або фенілізотіоціанатами в середовищі ізопропанолу синтезовано відповідні *N*'-ацильовані 4-етил(феніл)заміщені тіосемікарбазиди **2.26-2.29**. Останні під дією KOH у водному середовищі прогнозовано циклізують з утворенням відповідних

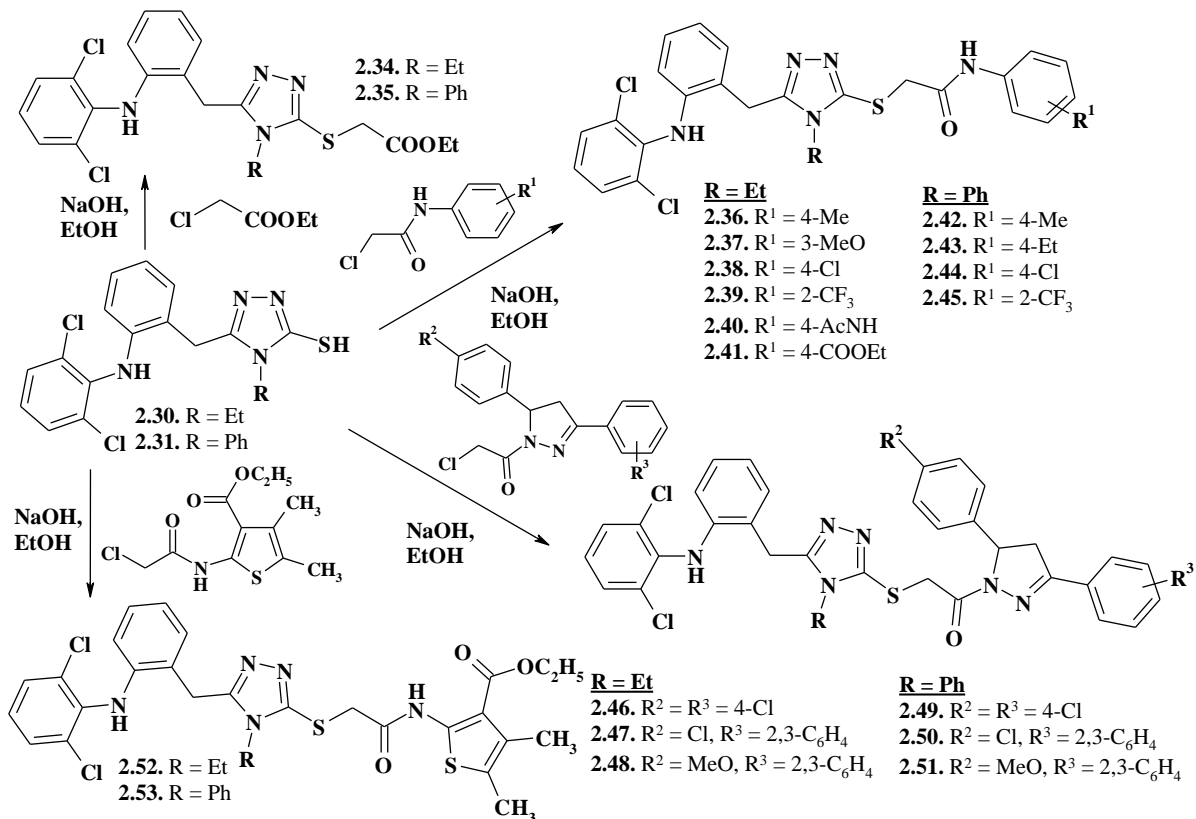
похідних 4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах **2.30-2.33** (схема 3).

Схема 3

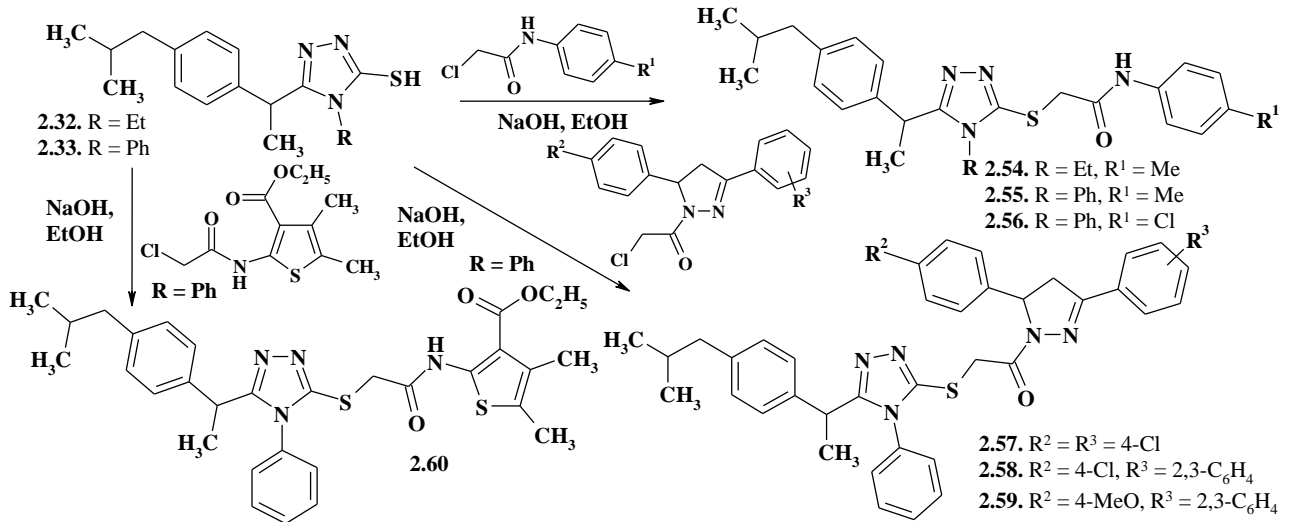


Взаємодією 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолів **2.30** та **2.31** через проміжне генерування калійних солей *in situ* з етилхлороацетатом, *N*-заміщеними 2-хлороацетамидами на основі анілінів, 3,5-диарилпіразолінів та 2-аміно-4,5-диметилтіофену одержано відповідні *S*-алкільовані похідні **2.34-2.53** (схема 4).

Схема 4



Аналогічні до наведених вище перетворення здійснено для 5-[1-(4-ізобутилфеніл)етил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолів **2.32** та **2.33**, що дозволило одержати нові похідні 1,2,4-тріазол-3-тіолу **2.54-2.60** (схема 5).

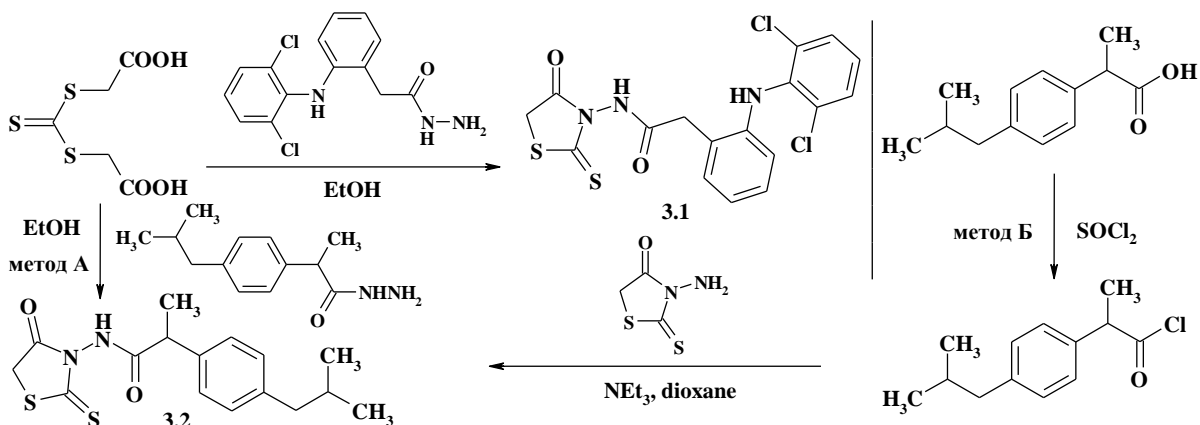


У спектрах ¹H ЯМР 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-заміщених похідних оксадіазолу та тріазолу фрагмент диклофенаку утворює субспектр з трьох дублетів та трьох триплетів у ділянці 6.20-7.60 м.ч. NH-протон дифеніламіногрупи утворює синглет при 6.90-7.70 м.ч., а метиленова група бензильного фрагменту - синглет при 3.93-4.25 м.ч. Для похідних на основі ібупрофену ізобутильний фрагмент утворює субспектр алифатичних протонів у вигляді дублету в ділянці 0.80-0.90 м.ч. для метильних груп, мультиплет для СН-групи при 1.70-1.80 м.ч. та дублет метиленової групи при 2.35-2.45 м.ч. Крім того, протони групи СНСН₃ утворюють дублет у ділянці 1.54-1.64 м.ч. та кватрет при 4.30-4.42 м.ч. (*J* = 6.8-7.4 Гц).

Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості похідних 4-тіазолідинону з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах

2-Тіоксо-4-тіазолідинони на основі ібупрофену та диклофенаку **3.1** та **3.2** одержано взаємодією тіокарбоніл-біс-тіогліколевої кислоти (метод Гольмберга) з гідрозидами 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної та 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислот в середовищі етанолу. Сполуку **3.2** одержано зустрічно (метод Б) ацилюванням 3-амінороданину хлорангідридом ібупрофену (схема 6).

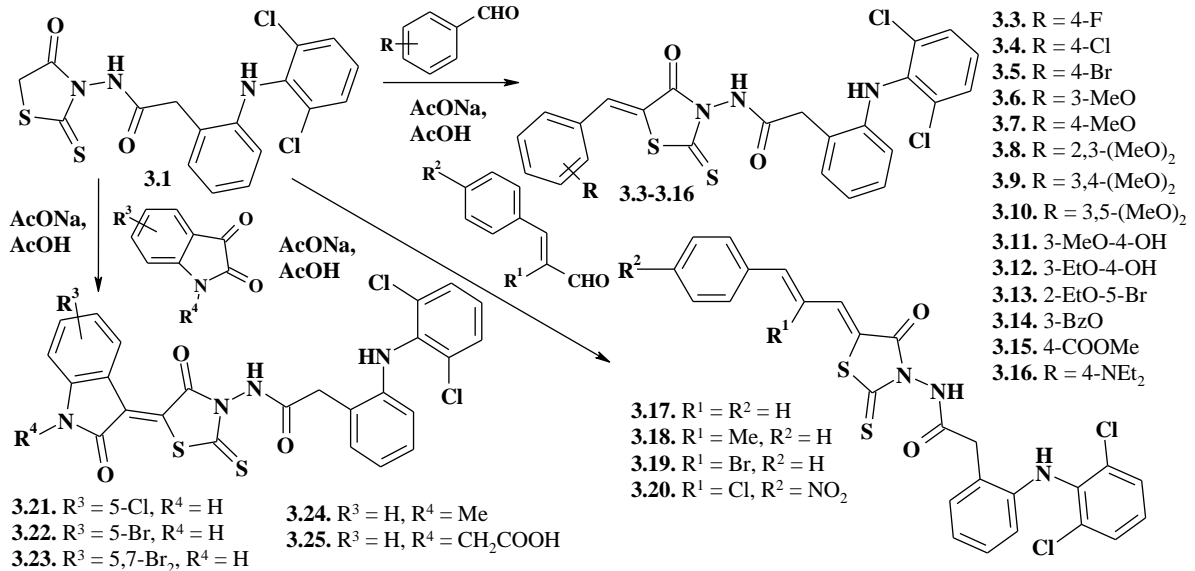
Схема 6



Важливо відзначити, що альтернативні методи синтезу **3.2** не мають суттєвих переваг один перед одним і можуть використовуватися в залежності від поставленого завдання.

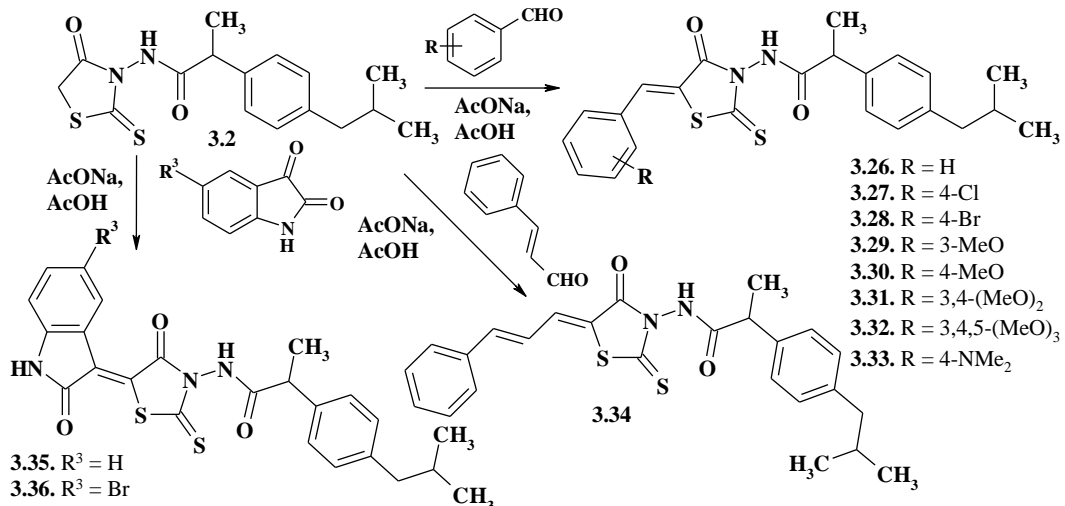
Синтезоване похідне **3.1** використане в якості метиленактивної сполуки в реакції Кньювенегеля з різноманітними ароматичними альдегідами, похідними ізатину та циннамового альдегіду (середовище – оцтова кислота, каталізатор – ацетат натрію), що дозволило одержати серії відповідних 5-іліденопохідних 2-тіоксо-4-тіазолідинону **3.3.-3.25** (схема 7).

Схема 7



За аналогічним підходом в реакції Кньювенегеля 2-(4-ізобутилфеніл)-*N*-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)пропіонамід **3.2** з оксосполуками синтезовано 5-ен-роданіни з фрагментами ібупрофену в молекулах **3.26-3.36** (схема 8).

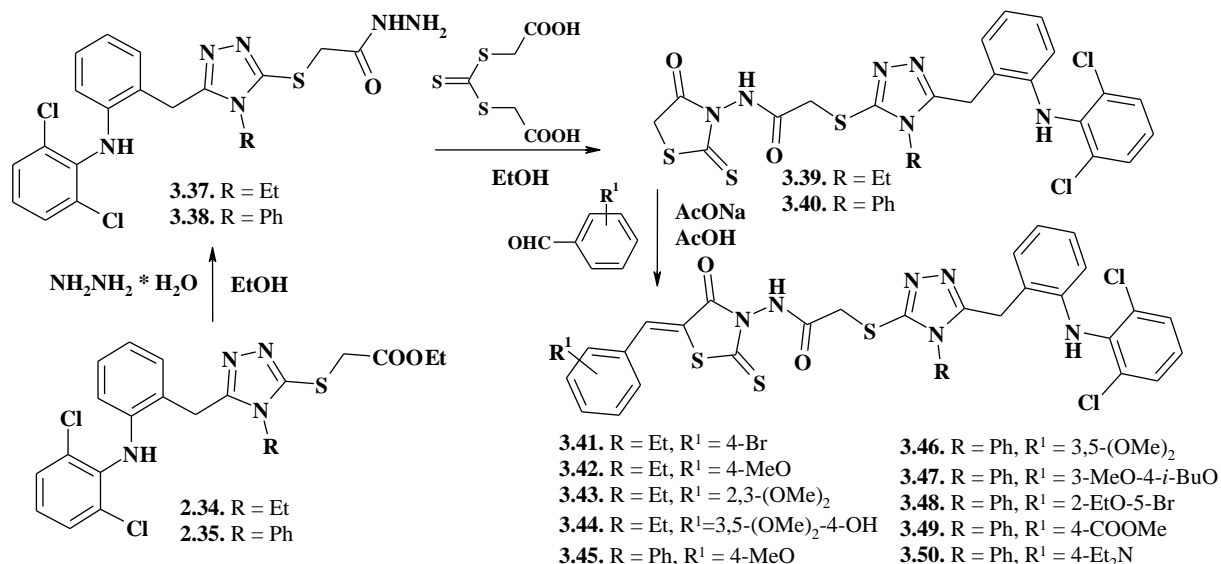
Схема 8



Продовжуючи системні дослідження гетероциклічних похідних на основі нестероїдних протизапальних лікарських засобів, ми опрацювали метод синтезу роданін-тріазольних кон'югатів з фрагментом диклофенаку в молекулах. Вихідними сполуками обрано синтезовані етилові естери {5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}ацетатних кислот

2.34 та **2.35**, які при взаємодії з гідразин-гідратом в середовищі етанолу трансформовані у гідразиди **3.37**, **3.38**. Взаємодією гідразидів **3.37**, **3.38** з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою в етанолі одержано 2-{5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}-*N*-(роданін-3-іл)-ацетаміди **3.39**, **3.40** для синтезу 5-ариліденопохідних **3.41-3.50** в реакції Кньювенегеля з альдегідами (середовище – оцтова кислота, каталізатор – ацетат натрію) (схема 9).

Схема 9



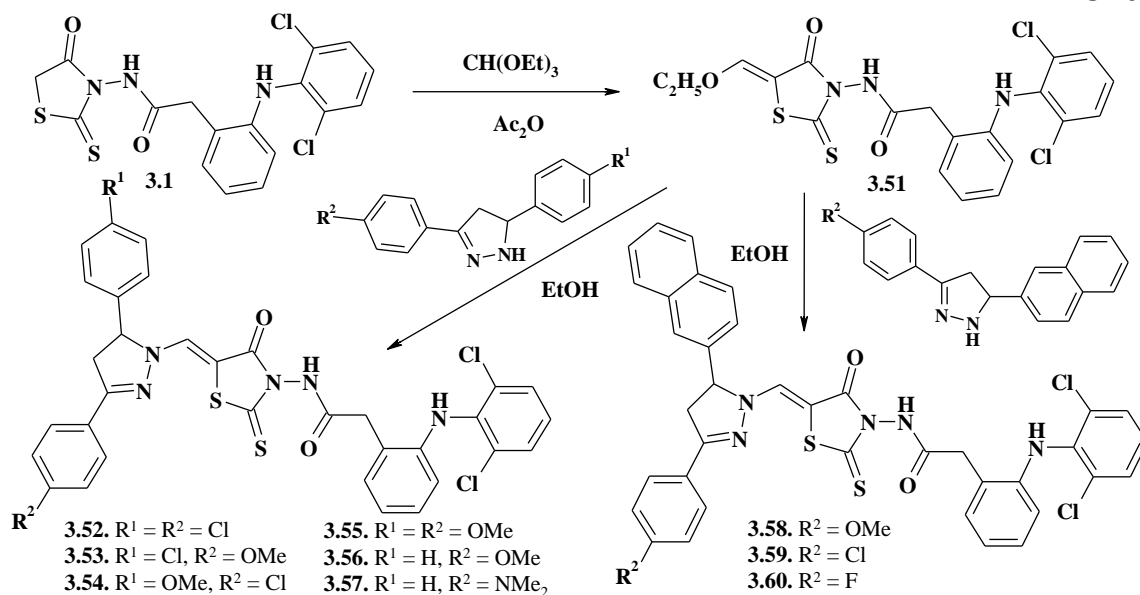
У спектрах ¹H ЯМР 5-незаміщених 2-тіоксо-4-тіазолідинонів (сполуки **3.1**, **3.2**, **3.37**, **3.38**) протони 5-CH₂ групи закономірно утворюють два дублети при 4.32-4.46 м.ч. з КССВ 18.2-18.6 Гц, що вказує на їх магнітну нееквівалентність. Для синтезованих 5-ариліденопохідних **3.3-3.16**, **3.26-3.33** та **3.41-3.50** метиліденовий протон утворює синглет в діапазоні 7.71-7.99 м.ч., що свідчить про його *Z*-конфігурацію. Сигнал 4-Н протону ізатинового фрагменту похідних **3.21-3.25**, **3.35**, **3.36** проявляється у вигляді синглету або дублету при 8.73-8.89 м.ч. та є суттєво зміщеним в область слабого магнітного поля, що можна пояснити впливом карбонільної групи у положенні 4 роданіну та, відповідно, також утворенням *Z*-ізомеру.

Ми опрацювали метод синтезу нових роданін-піразолінових кон'югатів на основі 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-*N*-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)ацетаміду **3.1** як вихідної речовини. Конденсацією сполуки **3.1** з триетилортоформіатом в середовищі ацетангідриду одержано відповідне 5-етоксиметилепохідне **3.51**, амінолізом якого різноманітними 3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразолами в етанолі (схема 10) одержано серію цільових 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-феніл]-*N*-{5-[3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-ілметиле]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-ацетамідів **3.52-3.60**.

У спектрах ¹H ЯМР сполук **3.52-3.60** піразоліновий фрагмент утворює характеристичну систему АМХ для протонів CH₂-CH. Протони Н_А, Н_М та Н_Х утворюють дублети дублетів при δ 3.39–3.79 м.ч., δ ≈ 3.97–4.14 м.ч. та δ ≈ 5.50–5.74 м.ч. з відповідними КССВ J_{AM} = 18.0–19.2 Гц, J_{AX} = 10.2–11.4 Гц та J_{MX} =

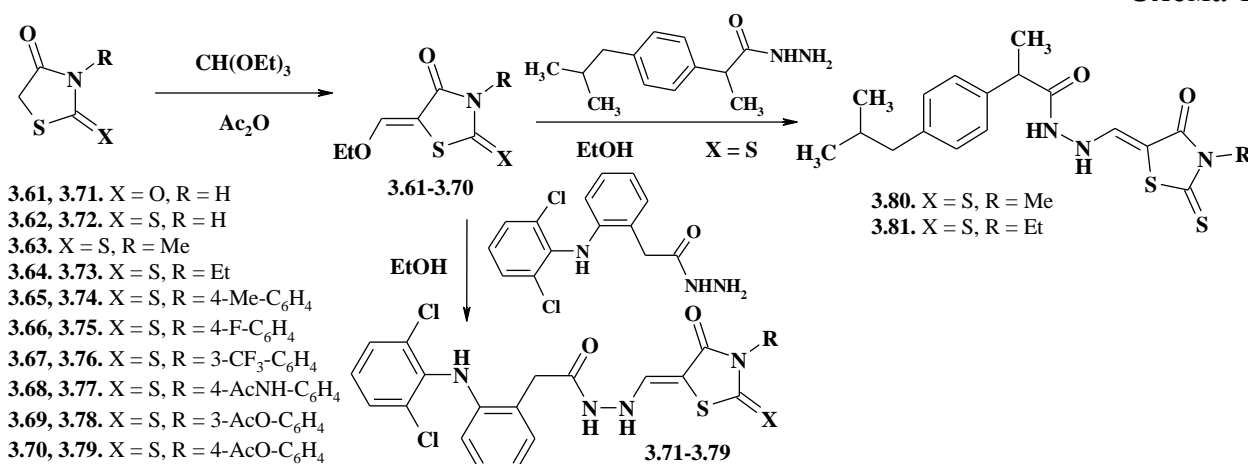
5.6–6.8 Гц, відповідно. Протони метиленової групи (= CH) синтезованих сполук характерні синглетами при δ 7.39–8.11 м.ч.

Схема 10



Для синтезу 4-оксотіазолідин-5-іліденметилгідразидів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену взаємодією 2,4-тіазолідиндіону та похідних роданіну з триетилортоформіатом в середовищі ацетангідриду одержано відповідні 5-етоксиметиленпохідні **3.61-3.70**. Важливо відзначити, що у випадку 3-(3/4-гідроксифеніл)-2-тіоксо-4-тіазолідинонів поряд з утворенням відповідного 5-етоксиметиленпохідного закономірно відбувається супутнє ацилювання фенольного гідроксилу з утворенням похідних **3.69** та **3.70**. Одержані сполуки **3.61-3.70** використані в реакції амінолізу з гідразидами 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної та 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислот, що дозволило одержати цільові сполуки **3.71-3.81** (схема 11).

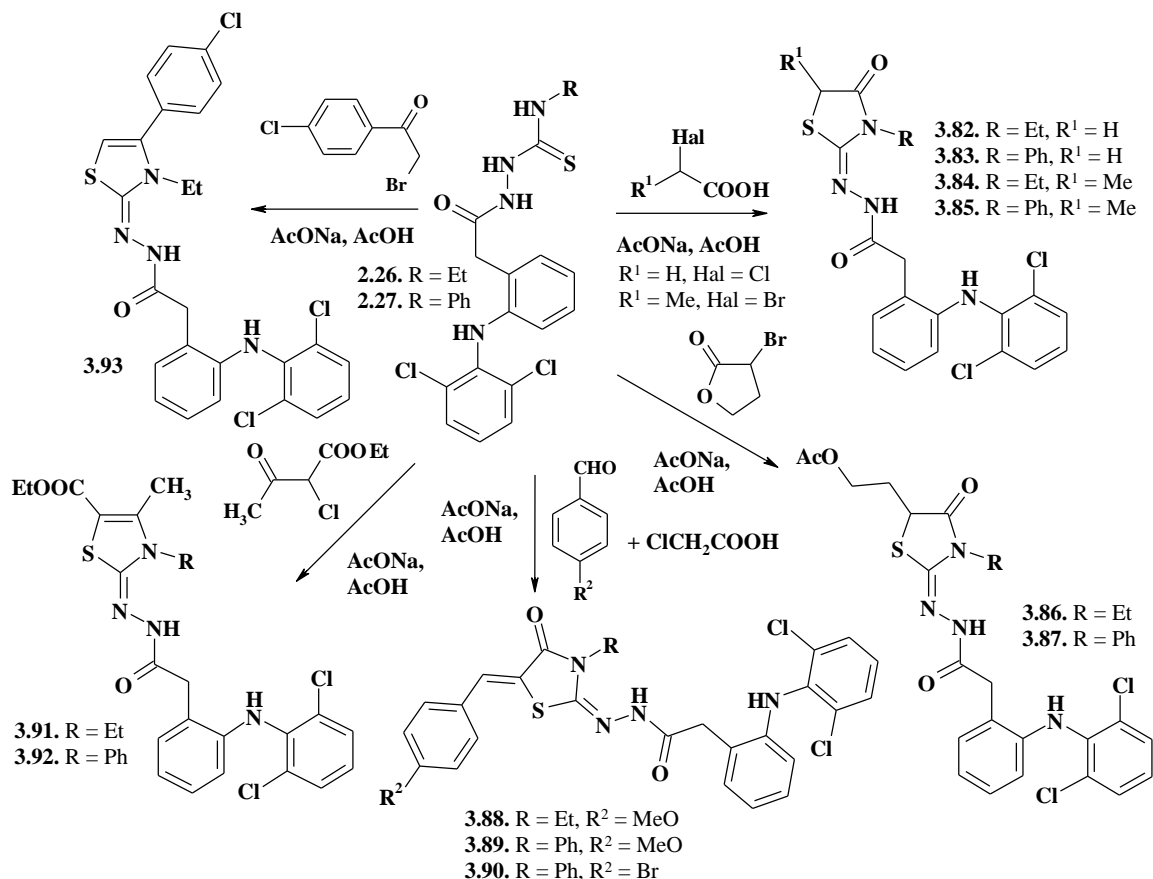
Схема 11



[2+3]-Циклоконденсацією N^1 -ацильованих тіосемікарбазидів диклофенаку **2.26**, **2.27** з монохлорооцтовою і 2-бромпропіоною кислотами, α -бромобутиролактоном, 2-хлороацетоацетатом та 2-бromo-1-(4-хлорофеніл)етаноном синтезовано (4-оксотіазолідин-2-іліден)- (**3.82-3.87**) та (3*H*-тіазол-2-іліден)-гідразида 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної

кислоти (**3.91-3.93**) (схема 12). Реакції проведено в середовищі оцтової кислоти та еквімолекулярної кількості ацетату натрію, що зумовлює утворення ацетилпохідних **3.86**, **3.87** у випадку використання α -бромобутиролактону. 5-Ариліден-4-тіазолідинони з фрагментом диклофенаку в молекулах **3.88-3.90** одержані в трикомпонентній *one-pot* реакції **2.26**, **2.27**, монохлороцтової кислоти та ароматичних альдегідів в середовищі оцтової кислоти та в присутності безводного ацетату натрію (схема 12).

Схема 12



Структура, чистота та індивідуальність синтезованих похідних оксадіазолу, тріазолу, 4-тіазолідинону та 3*H*-тіазолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену у молекулах підтверджена методами спектроскопії ¹H та ¹³C ЯМР (прилад Varian Mercury – 400/100 MHz) і хромато-мас-спектрометрії (Agilent 1100 Series LCMS).

Біологічна активність похідних оксадіазолу, тріазолу та 4-тіазолідинону з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах

Вивчення протизапальної (антиексудативної) дії похідних оксадіазолу, тріазолу, 4-тіазолідинону та тіазолу проводилось на основі карагенінової моделі запального набряку лап білих шурів. Серед тестованих 63 сполук ідентифіковано 26 похідних, що перевищують ефект ібупрофену (показник пригнічення 34.6%), 19 нових молекул з дією сильнішою, ніж кетанов (37.8%) та 4 речовини (**2.18**, **2.13**, **2.36**, **2.47**), що мають вищу активність (рис. 1), ніж

диклофенак натрію (43.3%). Виділено 6 груп гетероциклічних похідних, перспективних для раціонального дизайну «лікоподібних молекул», а саме:

- 1) *S*-алкільовані 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-оксадіазол-2-тіоли;
- 2) *S*-алкільовані 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіоли;
- 3) *S*-алкільовані 5-[1-(4-ізобутилфеніл)етил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіоли;
- 4) 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-*N*-(роданін-3-іл)ацетаміди;
- 5) 2-{5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}-*N*-(роданін-3-іл)ацетаміди;
- 6) *N*-3-арил-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідрaziди 2-(2,6-дихлорофеніламіно)-фенілацетатної кислоти.

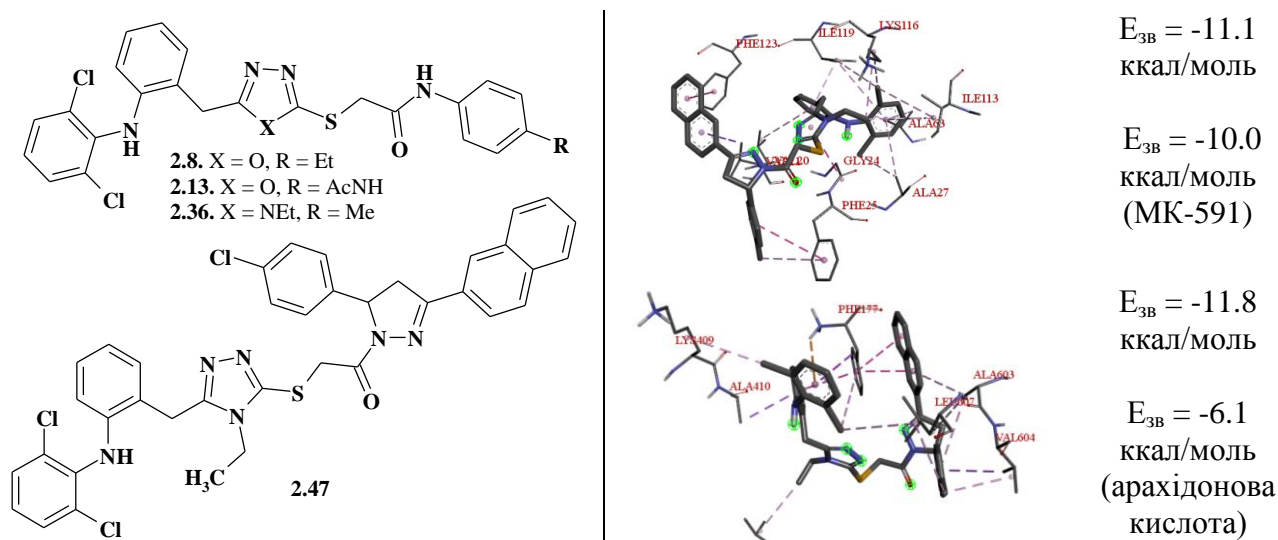


Рис. 1. Сполуки-хіти з високою протизапальною активністю та візуалізація розташування сполуки **2.47** в ділянці активних сайтів 5-LOX та FLAP.

Для прогнозу можливого механізму реалізації протизапальної активності синтезованих похідних проведено докінгові дослідження (програмний пакет *AutoDock Vina*®, *HyperChem 7.5*, *Discovery Studio Visualizer*) для 9 похідних оксадіазолу, тріазолу та 4-тіазолідинону з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах, які проявили високу протизапальну активність *in vivo* і представляють практично всі групи об'єктів дисертаційної роботи. Для розрахунків та візуалізації використано як біомішені COX-1 (код 5WBE), COX-2 (код 3LN1), 5-LOX (код 3V99) та 5-ліпооксигеназа активуючий протеїн FLAP (код 2Q7M), які одержані з Protein Data Bank (PDB). На основі результатів докінгових досліджень сполуки-хіти **2.8**, **2.29**, **2.36** та **3.75** можуть здійснювати протизапальний вплив через зв'язування з циклооксигеназою-1 (COX-1) та циклооксигеназою-2 (COX-2), причому взаємодія з COX-1 є наближеною за параметрами до еталонного лікарського засобу Мофезолаку. Також в даних сполук можна з певною імовірністю трактувати частковий вплив на COX-2, проте, він значно нижчий у порівнянні з афінністю відомого селективного інгібітора COX-2 Целекоксибу. Важливо відзначити, що всі досліджувані сполуки проявили потенційну афінність до 5-ліпооксигенази (5-LOX) та 5-ліпооксигеназа активуючого протеїну, причому розрахована енергія

приєднання до ліпооксигеназа активуючого протеїну є співмірною з параметрами МК-591, який інгібує синтез лейкотрієнів LTB_4 , LTC_4 та LTE_4 . Таким чином, досліджувані сполуки-хіти можуть проявляти свою протизапальну (антиексудативну) активність через вплив на 5-ліпооксигеназу, причому як прямий, так і опосередкований шляхом інгібування FLAP.

Протитрипаносомна дія синтезованих сполук вивчалася на штамі *Trypanosoma brucei brucei* в лабораторії UMR7245 CNRS «Molecules de Communication et Adaptation des Microorganismes» Національного музею історії природи. Встановлено, що серед 17 тестованих похідних 2,4-тіазолідиндіону та роданіну 12 сполук проявили перспективний для подальшого вивчення та оптимізації рівень трипаноцидного ефекту ($IC_{50} \div 4.80-49.3 \mu M$). Ідентифіковано дві сполуки-хіти **3.71** та **3.73** з групи похідних *N*-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідрозидів 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти. При аналізі результатів в площині кореляції «структура - дія» для даних похідних важливо відзначити, що похідне 2,4-тіазолідиндіону (**3.71**) є найбільш активним, а заміна оксогрупи в положенні 2 базового гетероциклу на тіоксогрупу (перехід від тіазолідиндіонів до роданінів), приводить до зменшення ефекту у 10 разів (**3.72**). В той же час, введення етильної групи в положення 3 роданінового кільця (**3.73**) приводить до відновлення активності практично на рівні похідного 2,4-тіазолідиндіону. Наявність арильного замісника в положенні 3 роданінового циклу не має вирішального впливу на рівень ефекту, проте є певна кореляція характеру заміщення у бенzenовому фрагменті і протитрипаносомної активності (рис. 2).

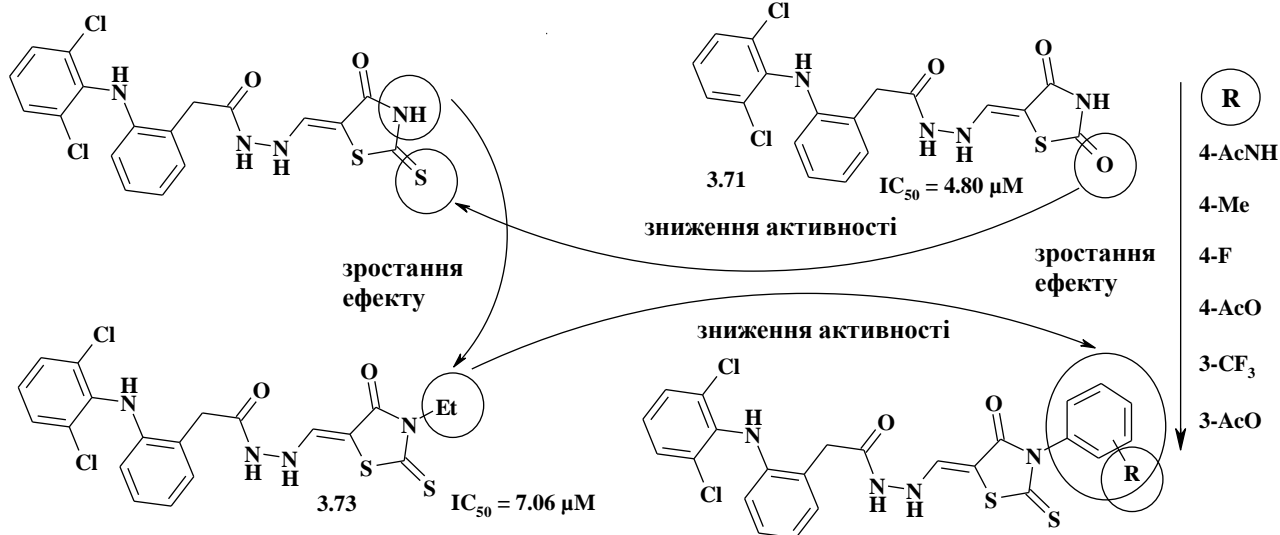


Рис. 2. Деякі особливості кореляції «структура – протитрипаносомна активність» в ряду *N*-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідрозидів 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти.

Тестовані 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-*N*-{5-[3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-ілметил]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-ацетаміди в загальному проявили помірну протитрипаносомну дію. У зазначеній групі сполук найбільш активними виявились похідні **3.52** та **3.55**, для яких встановлено IC_{50} на рівні 15.0 та 17.3 μM , відповідно.

Протипухлинна активність синтезованих сполук вивчалась у рамках міжнародної наукової програми Національного інституту раку (Бетезда, Меріленд, США) – *DTP NCI (Developmental Therapeutic Program)*. Перший етап протипухлинного скринінгу (*SRB protein assay*) полягав у встановленні активності (ріст клітин, GP, %) у одній концентрації (10^{-5} М) на 60 лініях ракових клітин лейкемії, недрібноклітинного раку легень, меланоми, раку товстої кишки, ЦНС, яєчників, нирок, простати та молочної залози. Вивчались 28 нових похідних оксадіазолу, тріазолу та тіазолідину з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах, які проявили різнопланову протипухлинну активність *in vitro*. Так, ідентифіковано 2 найбільш активні сполуки-хіти **3.58** (похідне диклофенаку) та **3.81** (похідне ібупрофену). 2-[2-(2,6-Дихлорофеніламіно)феніл]-*N*-{5-[3-(нафтил-2)-5-(4-метоксифеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилден]-роданін-3-іл}-ацетамід **3.58** продемонстрував високу видову тропність до лейкемії (GP = $-27.37 \div 13.91\%$), а також суттєву цитотоксичну дію до клітин недрібноклітинного раку легень NCI-H522 (GP = -15.38%), меланоми M14 (GP = -25.06%) і MDA-MB-435 (GP = -49.77%), раку ЦНС SF-539 (GP = -16.88%) і SNB-75 (GP = -15.72%). Для *N*-3-етил-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідразиду 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислоти **3.81** також відзначено високу видову селективність дії щодо субпанелі лейкемії (GP = $-32.49 \div 18.41\%$), раку товстої кишки (GP = $10.14 \div 18.75\%$) та ЦНС ($-13.52 \div 15.82\%$), а також суттєву цитотоксичність до лінії меланоми MDA-MB-435 (GP = -44.42%). Крім того, заслуговує на увагу 2-{5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-1-етил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}-*N*-(5-(4-гідрокси-3,5-диметоксифенілметиліден)-роданін-3-іл)-ацетамід **3.44**, який є перспективним для подальших досліджень як потенційний протираковий агент. Так, для зазначеного похідного встановлено суттєвий цитотоксичний ефект щодо лінії меланоми MDA-MB-435 та високу цитостатичну дію відносно ліній лейкемії, недрібноклітинного раку легень, раку товстої кишки, ЦНС, яєчників, нирок та молочної залози. Крім того, у контексті кореляції «структура – дія» варто відзначити, що поєднання тріазольного і 4-тіазолідинонового фрагментів в одній молекулі є перспективною комбінацією гетероциклічних каркасів для дизайну нових «лікоподібних» молекул.

Похідні оксадіазолу та тріазолу в основному не проявили помітного протипухлинного ефекту, за винятком похідного тріазолу **2.37**. Зазначена сполука характерна селективним ефектом щодо NCI-H522 (недрібноклітинний рак легень, GP = 42.59%), UACC-62 (меланома, GP = 33.60%) та A498 (рак нирок, GP = 40.87%) при середніх показниках пригнічення росту для панелі з 60 клітинних ліній на рівні $33.60 \div 104.84\%$.

Сполуки **3.58** та **3.81** вивчались у градієнті п'яти концентрацій (від 10^{-4} до 10^{-8} М) на 60 лініях людських ракових клітин згідно стандартної процедури *DTP NCI* для встановлення протипухлинних параметрів ефекту - GI_{50} , TGI та LC_{50} . Для сполук-хітів **3.58** та **3.81** найвищий рівень активності відзначено для лінії лейкемії CCRF-CEM (GI_{50} = $0.143 \mu\text{M}$ та $0.122 \mu\text{M}$, відповідно).

З метою оцінки специфічної активності сполуки **3.14** розраховано індекс селективності (SI). Одержані дані дозволяють трактувати незначну селективність похідних **3.58** та **3.81** до панелі лейкемії на рівні GI_{50} . На рівні TGI та LC_{50} селективності ефекту не відзначено. У той же час варто відзначити суттєві середні показники ефективного рівня інгібування щодо лейкемії, епітеліального раку кишківника, меланоми, раку ЦНС, яєчників, нирок, простати та молочної залози, які знаходяться в межах 0.256-2.51 μM .

За методом Літчфільда та Уілкоксона вивчено **гостру токсичність** високоактивних сполук **2.6, 2.8, 2.11-2.13, 2.18-2.20, 2.22, 2.23, 2.36, 2.37, 2.47, 2.57, 2.75, 3.1, 3.7, 3.44, 3.52, 3.55, 3.58, 3.71-3.73, 3.75, 3.81, 3.82, 3.84, 3.88, 3.92** LD_{50} яких знаходиться в межах 356-980 мг/кг, що свідчить про відносну безпечність тестованих сполук та дозволяє віднести їх до IV класу токсичності за класифікацією Сидорова.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено ефективні методи синтезу і одержано 152 нових похідних оксадіазолу, тріазолу, 4-тіазолідинону та 3*H*-тіазолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену у молекулах, встановлена їх будова, вивчені фізико-хімічні параметри та біологічна активність. На основі комплексу досліджень, який включав синтез, фармакологічний скринінг, молекулярний докінг та SAR-аналіз, ідентифіковано високоактивні похідні з протипухлинною (3), антитрипаносомною (2), протизапальною (26) дією і задовільними токсикометричними параметрами ($LD_{50} = 356-980$ мг/кг). Пріоритет дослідження підтверджено патентом України на корисну модель.
2. Показано, що гідразиди 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти та ібупрофену є ефективними реагентами в різноманітних реакціях гетероциклізації, що дозволило одержати серії нових 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів, 1,2,4-тріазол-3-тіолів, 2-тіоксо-4-тіазолідинонів, 2-іміно-4-тіазолідинонів, тіазолідин-тріазольних гібридних молекул та 3*H*-тіазолів як потенційних біологічно активних сполук.
3. Встановлено, що 1,3,4-оксадіазол-2-тіоли та 1,2,4-тріазол-3-тіоли з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в структурі легко вступають в реакції алкілювання з 2-хлороацетамідами на основі ароматичних амінів, 3,5-діарилпіразолінів, 2-аміно-5-бензилтіазолів та 2-аміно-4,5-диметилтіофену, що дозволило одержати серії неописаних в хімічній літературі нових *S*-заміщених вказаних гетероциклів.
4. При вивченні реакції Кньюенагеля різноманітних оксосполук і 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-*N*-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)ацетаміду, 2-(4-ізобутилфеніл)-*N*-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-пропіонаміду або 2-{5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}-*N*-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-ацетамідів одержано серії біологічно активних 5-іліденроданінів, для яких на основі спектрів ^1H ЯМР встановлено

Z-конфігурацію іліденового фрагменту, що важливо для проведення *in silico* досліджень з молекулярного докінгу до потенційних біологічних мішеней.

5. Показано, що 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)ацетамід легко вступає в реакцію конденсації з триетилортоформіатом з утворенням 5-етоксиметиленапохідного як вихідної сполуки в реакціях амінолізу, а гідразида 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної та 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислот з високими виходами реагують з 5-етоксиметилена-4-тіазолідинонами, що дозволяє реалізувати синтетичний підхід до 5-енаміно-4-тіазолідинонів з фрагментами диклофенаку і ібупрофену в положенні 3 або 5 базового гетероциклу для дизайну «лікоподібних» поліфармакофорних молекул, в тому числі з фрагментами фармакологічно важливих 3,5-діарилпіразолінів.
6. N'-Ацильовані 4-етил(феніл)заміщені тіосемікарбазида диклофенаку є ефективними S,N-бінуклеофілами в [2+3]-циклоконденсаціях з різноманітними еквівалентами діелектрофільного синтону [C₂]²⁺ (монохлорооцтовою та 2-бромпропіоновою кислотами, α-бромобутиролактоном, 2-хлороацетоацетатом або 2-бromo-1-(4-хлорофеніл)етаноном), що дозволяє реалізувати ефективний синтетичний підхід до різноманітних (4-оксотіазолідин-2-іліден)- та (3H-тіазол-2-іліден)-гідразидів 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти як потенційних біологічно активних сполук.
7. На основі результатів скринінгу протизапальної активності ідентифіковано шість груп гетероциклічних похідних – S-алкільовані похідні 5-[1-(4-ізобутилфеніл)етил]-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолів, 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-оксадіазол-2-тіолів та 4H-1,2,4-тріазол-3-тіолів, а також 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-N-(роданін-3-іл)ацетаміди, 2-{5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4H-1,2,4-тріазол-3-ілульфаніл}-N-(роданін-3-іл)ацетаміди та N'-3-арил-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідразида 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти. Методом молекулярного докінгу обґрунтовано ймовірний вплив сполук-хітів на 5-ліпооксигеназу, причому як прямий, так і опосередкований через приєднання до ліпооксигеназа активуючого протеїну (FLAP), що є підґрунтям для поглибленого вивчення можливих механізмів реалізації ефекту та проектування нових нестероїдних протизапальних засобів з групи оксадіазолів, тріазолів та тіазолідинів.
8. Вперше встановлено, що N'-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідразида 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти пригнічують ріст паразитів *Trypanosoma brucei brucei* у мікромольних концентраціях, що відкриває новий напрямок для пошуку оригінальних «малих молекул» для фармакокорекції сонної хвороби.
9. Поєднання 4-тіазолідинононого кільця з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в одній молекулі є перспективною комбінацією структурних каркасів для дизайну нових «лікоподібних» молекул, що продемонстровано на прикладі 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-феніл]-N-{5-[3-(нафтил-2)-5-(4-метоксифеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилена]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-

іл}-ацетаміду та *N*-3-етил-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідрозиду 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислот, які проявили суттєвий рівень ефективного інгібування в межах $GI_{50} = 0.256-2.51 \mu\text{M}$ щодо панелі 60 ліній ракових клітин лейкемії, меланоми, недрібноклітинного раку легень, раку товстої кишки, ЦНС, нирок, простати та молочної залози.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дослідження антиексудативної активності *S*-алкілованих похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу / Ю. Л. Шепета, А.В. Лозинський, І.О. Нектегаєв, Р.Б. Лесик // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – 2019. – Т.12 – №3 (31). – С. 266-269. *Особистий внесок: інтерпретація даних про протизапальну активність досліджуваних речовин.*
2. Synthesis and biological activity evaluation of new thiazolidinone-diclofenac hybrid molecules / Yu. Shepeta, A. Lozynskiy, M. Sulyma, I. Nektegayev, Ph. Grellier, R. Lesyk // Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements – 2020. – Vol. 195, Iss. 10. – P. 829-834. *Особистий внесок: синтез досліджуваних речовин, інтерпретація даних про їх біологічну активність.*
3. Synthesis and biological activity evaluation of rhodanine-pyrazoline hybrids with 2-(2,6-dichlorophenylamino)-phenylacetamide fragment in molecules / Yu.L. Shepeta, A.V. Lozynskiy, Z.V. Tomkiv, Ph. Grellier, R.V. Lesyk // Biopolymers and Cell – 2020. – Vol. 63. – №2. – P. 133-145. *Особистий внесок: синтез досліджуваних речовин, інтерпретація даних про їх біологічну активність.*
4. Синтез та біологічна активність нових роданін-тріазольних кон'югатів з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензольним фрагментом у молекулах / Ю.Л. Шепета, О.М. Роман, І.О. Нектегаєв, Р.Б. Лесик // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – 2020. – Т.13 – №2 (33). – С. 206-213. *Особистий внесок: синтез досліджуваних речовин, інтерпретація даних про їх біологічну активність.*
5. Синтез *S*-алкілованих похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, О.М. Роман, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація – 2015. – №3-4 (27-28). – С. 81-87. *Особистий внесок: синтез 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах та їх *S*-алкілованих похідних, інтерпретація спектральних даних.*
6. Синтез нових похідних 4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолу з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензильним фрагментом у молекулах та їхня протизапальна активність / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – 2016. – №1 (20). – С. 18-25. *Особистий внесок: синтез нових*

похідних 4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу з фрагментом диклофенаку в молекулах, систематизація даних скринінгу протизапальної активності.

7. Синтез та оцінка протизапальної активності похідних роданіну з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетамідним фрагментом в молекулах / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, І.О. Нектегаєв, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Фармацевтичний часопис – 2018. - №1. – с. 5-14. *Особистий внесок: синтез досліджуваних речовин та систематизація даних про їхню протизапальну активність.*
8. Пат. 123803. Україна МПК С07D 277/08. 5-(4-Карбоксиметилбензиліден)-3-{2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]ацетиламіно}-2-тіоксотіазолідин-4-он, що виявляє антиексудативну активність. / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, І.О. Нектегаєв, О.Б. Пошивак, О.Р. Піняжко, Р.Б. Лесик; заявник і патентовласник ЛНМУ імені Данила Галицького – №u201709104; заявл. 14.09.2017; опубл. 12.03.2018; Бюл. №5/2018. *Особистий внесок: синтез сполуки, інтерпретація даних біологічної дії, оформлення патенту.*
9. Синтез та перетворення нових 3-заміщених похідних роданіну на основі гідразиду 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Матеріали XXXII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». - 21 травня 2015. – С. 136. *Особистий внесок: синтез 3-заміщених похідних роданіну з фрагментами диклофенаку у молекулах.*
10. Синтез та перетворення нових 4-заміщених 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолів / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Збірник наукових праць XV наукової конференції «Львівські хімічні читання – 2015». – Львів, 24-27 травня 2015 р. – С. 014. *Особистий внесок: синтез 4-заміщених 5-[2-(2,6-дихлорофеніл-аміно)бензил]-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолів.*
11. Синтез S-алкільованих похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензильним фрагментом у молекулах / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Матеріали VI Української конференції «Домбровські хімічні читання – 2015». – Чернівці, 22-25 вересня 2015 р. – С. С-93. *Особистий внесок: експериментальна частина.*
12. Синтез нових похідних 4-тіазолідинонів з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетамідним фрагментом у молекулах / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Матеріали VI Української конференції «Домбровські хімічні читання – 2015». – Чернівці, 22-25 вересня 2015 р. – С. С-94. *Особистий внесок: експериментальна частина.*
13. Синтез 4-етил(феніл)заміщених похідних 4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу з 1-(4-ізобутилфеніл)етильним фрагментом у молекулах / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Матеріали XXXIII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і

- призначення лікарських засобів». – Харків, 08 квітня 2016. – С. 225. *Особистий внесок: експериментальна частина.*
14. Дослідження протизапальної активності 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолів та їх *S*-алкільованих похідних / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Матеріали XXXIII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». – Харків, 08 квітня 2016. – С. 226-227. *Особистий внесок: систематизація даних скринінгу протизапальної активності.*
 15. Synthesis of novel *S*-alkylated ibuprofen based 1,3,4-oxadiazole-2-thiol derivatives / Yu.L. Shepeta, M.I. Lelyukh // Збірник тез доповідей XVIII Наукової молодіжної конференції «Проблеми та досягнення сучасної хімії». – Одеса, 17-20 травня 2016. – С. 86. *Особистий внесок: синтез S-алкільованих похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу з фрагментом ібупрофену в молекулах.*
 16. Синтез 5-ілідензаміщених роданінів на основі 2-(4-етил(феніл)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілітіо)ацетгідрозидів з фрагментом диклофенаку в молекулах / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, П.В. Грабовий, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Матеріали XXIV Української конференції з органічної хімії. – Полтава, 19-23 вересня 2016 р. – С. 267. *Особистий внесок: синтез досліджуваних сполук.*
 17. Дослідження протипухлинної активності *S*-алкільованих похідних 4-етил(феніл)заміщених 4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолів з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензольним фрагментом / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик // Матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів». Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р. – С. 28-29. *Особистий внесок: синтез досліджуваних сполук, систематизація даних по їх протипухлинній активності.*
 18. Синтез 2-гідразонотіазолідин-4-онів та їх 5-алкілпохідних з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетамідним фрагментом / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, Р.Б. Лесик // Матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів». Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р. – С. 29-30. *Особистий внесок: синтез 2-гідразонотіазолідин-4-онів та їх 5-алкілпохідних з фрагментом диклофенаку в молекулах.*
 19. Дослідження антиексудативної активності 5-іліденпохідних роданіну з 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетамідним фрагментом в положенні 3 / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, І.О. Нектегаєв, Б.С. Зіменковський, О.Р. Піняжко, Р.Б. Лесик // Матеріали I Міжнародної науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні

- проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». – Харків, 30-31 березня 2017. – С. 361-362. *Особистий внесок: синтез досліджуваних речовин і систематизація даних стосовно їх протизапальної активності.*
20. SAR-аналіз результатів дослідження протизапальної активності 5-ізатин(3-фенілінпропен)іліденроданінів з фрагментом диклофенаку в положенні 3 / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, І.О. Нектегаєв, Р.Б. Лесик // Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». – Харків, 28-29 березня 2018. – Т.2, С. 325-326. *Особистий внесок: синтез 5-ізатин(3-фенілінпропен)іліденроданінів з фрагментом диклофенаку в молекулах, систематизація даних про їх протизапальну активність.*
21. Вивчення залежності «структура-протизапальна активність» для 5-ариліденпохідних роданіну з фрагментом диклофенаку в молекулах / Ю.Л. Шепета, М.І. Лелюх, І.О. Нектегаєв, О.М. Роман, Р.Б. Лесик // Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». – Харків, 28-29 березня 2018. – Т.2, С. 327-328. *Особистий внесок: інтерпретація даних про протизапальну активність досліджуваних речовин.*
22. Дослідження протизапальної активності похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу з 1-(4-ізобутилфеніл)етильним фрагментом у молекулах / Ю.Л. Шепета, І.О. Нектегаєв, Р.Б. Лесик // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів». – Харків, 14-15 березня 2019. – Т.2, С. 315-316. *Особистий внесок: інтерпретація даних про протизапальну активність досліджуваних речовин.*

АНОТАЦІЯ

Шепета Ю.Л. Синтез, перетворення та біологічна активність похідних 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену в 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, 2020.

На основі гідрозидів диклофенаку та ібупрофену одержано серії 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів, 1,2,4-тріазол-3-тіолів, 2-тіоксо-4-тіазолідинонів, 2-іміно-4-тіазолідинонів, тіазолідин-тріазольних гібридних молекул та 3*H*-тіазолів. Встановлено, що 1,3,4-оксадіазол-2-тіоли та 1,2,4-тріазол-3-тіоли легко вступають в реакції алкілювання з 2-хлороацетамидами на основі ароматичних та гетероциклічних амінів. На основі похідних роданіну одержано нові 5-амінометиленпохідні з фрагментами диклофенаку і ібупрофену в положенні 3 або 5 базового гетероциклу. [2+3]-Циклоконденсацією *N*¹-ацильованих

тіосемікарбазидів диклофенаку з різноманітними еквівалентами діелектрофільного синтону $[C_2]^{2+}$ синтезовано (4-оксотіазолідин-2-іліден)- та (3*H*-тіазол-2-іліден)-гідразиди. Структуру синтезованих сполук підтверджено спектроскопією 1H і ^{13}C ЯМР та хромато-мас-спектрометрією. Виділено перспективні похідні із протипухлинною, трипаноцидною та протизапальною активностями.

Ключові слова: синтез, 4-тіазолідинони, оксадіазоли, триазоли, диклофенак, ібупрофен, спектральні характеристики, фармакологічні дослідження, SAR аналіз, молекулярне моделювання.

АННОТАЦИЯ

Шепета Ю.Л. Синтез, превращения и биологическая активность производных 4-тиазолидинона, оксадиазола и триазола с фрагментами нестероидных противовоспалительных средств диклофенака и ибупрофена 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, 2020.

На основе гидразидов диклофенака и ибупрофена синтезированы серии 1,3,4-оксадиазол-2-тиолов, 1,2,4-триазол-3-тиолов, 2-тиоксо-4-тиазолидинонов, 2-имино-4-тиазолидинонов, тиазолидин-триазольных гибридных молекул и 3*H*-тиазолов. Установлено, что 1,3,4-оксадиазол-2-тиолы та 1,2,4-триазол-3-тиолы легко вступают в реакции алкилирования с 2-хлороацетамидами на основе ароматических и гетероциклических аминов. На основе производных роданина синтезированы 5-аминометилпроизводные с фрагментами диклофенака и ибупрофена в положениях 3 или 5 базового гетероцикла. [2+3]-Циклоконденсацией *N*¹-ацилированных тиосемікарбазидов диклофенака с различными эквивалентами диелектрофільного синтона $[C_2]^{2+}$ получены (4-оксотіазолідин-2-илиден)- та (3*H*-тіазол-2-илиден)-гідразиди. Структура синтезованных соединений подтверждена спектроскопией 1H и ^{13}C ЯМР, а также хромато-масс-спектрометрией. Выделены перспективные соединения с противоопухолевой, трипаноцидной и противовоспалительной активностями.

Ключевые слова: синтез, 4-тиазолидиноны, оксадиазолы, триазолы, диклофенак, ибупрофен, спектральные характеристики, фармакологические исследования, SAR анализ, молекулярное моделирование.

SUMMARY

Shepeta Yu.L. Synthesis, transformation and biological activity of 4-thiazolidinone, oxadiazole and triazole derivatives with fragments of non-steroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and ibuprofen 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, 2020.

The thesis is devoted to the development and improvement of synthetic methods, study of physicochemical and biological properties of 4-thiazolidinone, 3*H*-thiazole, oxadiazole and triazole derivatives with fragments of non-steroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and ibuprofen in molecules.

It was established that hydrazides of 2-(2,6-dichlorophenylamino)phenylacetic acid and ibuprofen are effective reagents in heterocyclization reactions and can be used for the synthesis of 1,3,4-oxadiazole-2-thiols, 1,2,4-triazole-3-thiols, 3*H*-thiazoles and 4-thiazolidinones as starting substances for subsequent chemical transformations. Thus, 1,3,4-oxadiazole-2-thiols and 1,2,4-triazole-3-thiols easily reacted with 2-chloroacetamides based on aromatic amines, 3,5-diarylpyrazolines, 2-amino-5-benzylthiazoles and 2-amino-4,5-dimethylthiophene, which allowed to obtain a series of novel *S*-substituted derivatives. The use of 2-chloro-1-(3,5-diaryl-4,5-dihydropyrazol-1-yl)ethanones as alkylating agents in the interaction with mercaptooxadi(tri)azoles is an effective approach to the design of pyrazoline-diazole conjugates in the context of "hybrid-pharmacophore" approach.

The reaction of hydrazides of 2-(4-isobutylphenyl)propionic or 2-(2,6-dichlorophenylamino)phenylacetic acids with thiocarbonyl-bis-thioglycolic acid yields new 2-thioxo-4-thiazolidinones (rhodanines). A counter synthesis method of 2-(4-isobutylphenyl)-*N*-(rhodanin-3-yl)-propionamide is proposed, which is based on the acylation reaction of 3-aminorhodanine by ibuprofen acid chloride. Following Knoevenagel reaction of 2-[2-(2,6-dichlorophenylamino)phenyl]-*N*-(rhodanin-3-yl)acetamide or 2-(4-isobutylphenyl)-*N*-(rhodanin-3-yl)-propionamide with various oxocompounds a series of 5-ylidenerhodanines were synthesized.

It has been established that {5-[2-(2,6-dichlorophenylamino)-benzyl]-4*H*-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl}-acetic acid hydrazides are effective reagents in the design of thiazolidine-triazole hybrid molecules, which allowed to obtain a new rhodanine derivative *via* reaction with thiocarbonyl-bis-thioglycolic acid and a series of 5-arylidene derivatives *via* Knoevenagel reaction.

Condensation of 2-[2-(2,6-dichlorophenylamino)phenyl]-*N*-(4-rhodanin-3-yl)acetamide with triethylorthoformate yielded a 5-ethoxymethylene derivative, based on which a series of 5-aminomethylene derivatives *via* aminolysis were synthesized. Reaction of 2-(4-isobutylphenyl)propionic or 2-(2,6-dichlorophenylamino)phenylacetic acid hydrazides with 5-ethoxymethylene-4-thiazolidinones yielded 5-enamino-4-thiazolidinones with fragments of diclofenac and ibuprofen in position 5 of the basic core.

It is shown that *N*^l-acylated 4-ethyl(phenyl) substituted thiosemicarbazides of diclofenac are effective *S,N*-binucleophiles in [2+3]-cyclocondensations with different equivalents of dielectrophilic synthon [C₂]²⁺ (chloroacetic and 2-bromopropionic acids, α-bromobutyrolactone, ethyl 2-chloroacetoacetate or 2-bromo-1-(4-chlorophenyl)ethanone), which allows to implement an effective synthetic approach to various (4-oxothiazolidin-2-ylidene)- and (3*H*-thiazol-2-ylidene)-hydrazides of 2-(2,6-dichlorophenylamino)phenylacetic acid. Moreover, one-pot

reaction of *N*¹-acylated 4-ethyl(phenyl)substituted thiosemicarbazides of 2-(2,6-dichlorophenylamino)phenylacetic acid, chloroacetic acid and aromatic aldehydes in the presence of anhydrous sodium acetate in acetic acid is the optimal method for the synthesis of 5-arylidene-4-thiazolidinones with a diclofenac fragment in position 2 of the basic core.

The structure and purity of the synthesized compounds were confirmed by elemental analysis, LCMS, ¹H and ¹³C NMR spectrometry.

Pharmacological studies have shown significant antiexudative activity of new derivatives of oxadiazole, triazole, 4-thiazolidinone and thiazole. Among the tested 63 compounds, 26 hit-compounds with significant anti-inflammatory effect were selected. Six groups of heterocyclic derivatives have been identified as potential anti-inflammatory agents: *S*-alkylated derivatives of 5-[2-(2,6-dichlorophenylamino)benzyl]-oxadiazole-2-thiols, 5-[2-(2,6-dichlorophenylamino)benzyl]-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiols, 5-[1-(4-isobutylphenyl)-ethyl]-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiols, as well as 2-[2-(2,6-dichlorophenylamino)phenyl]-*N*-(rhodanin-3-yl)acetamides, 2-{5-[2-(2,6-dichlorophenylamino)benzyl]-4*H*-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl}-*N*-(rhodanin-3-yl)-acetamides and *N*³-aryl-4-thiazolidinone-5-ylidenemethylhydrazides of 2-(2,6-dichlorophenylamino)phenylacetic acid. Molecular docking *in silico* has shown that the hit-compounds can exhibit their anti-inflammatory (anti-exudative) activity through inhibition of 5-lipoxygenase, both directly and indirectly *via* binding to lipoxygenase activating protein (FLAP).

For the first time it was established that *N*⁴-thiazolidinone-5-ylidemethylhydrazides of 2-(2,6-dichlorophenylamino)phenylacetic acid inhibit the growth of parasites of the *Trypanosoma brucei brucei* in micromolar concentrations.

*N*³-Ethyl-4-thiazolidinon-5-ylidemethylhydrazide of 2-(4-isobutylphenyl) propionic acid and 2-[2-(2,6-dichlorophenylamino) phenyl]-*N*-{5-[3-(naphthyl-2)-5-(4-methoxyphenyl)-4,5-dihydropyrazol-1-ylmethylene]-rhodanin-3-yl}-acetamide and were identified as potential anticancer agents. These derivatives have shown a significant level of effective inhibition toward panel of 60 cancer cell lines representing 9 types of cancer, in the range of GI₅₀ = 0.256-2.51 μM.

Highly active hit-compounds with anticancer, antitrypanosomal and anti-inflammatory activities are referred to low-toxic substances (LD₅₀ = 356-980 mg/kg).

Keywords: synthesis, 4-thiazolidinones, oxadiazoles, triazoles, diclophenac, ibuprofen, spectral characteristics, pharmacological studies, SAR analysis, molecular modeling.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

NCI	– Національний інститут раку США (National Cancer Institute)
DTP	– Developmental Therapeutic Program
AACF	– Antimicrobial Acquisition & Coordination Facility
KCCB	– константа спін-спінової взаємодії
PDB	– protein data bank
SAR-аналіз	– емпіричний аналіз взаємозв'язку «структура – дія»
PCA	– рентгеноструктурний аналіз
TBB	– <i>Trypanosoma brucei brucei</i>
SI	– індекс селективності
5-LOX	– 5-ліпооксигеназа
COX-1	– циклооксигеназа 1
COX-2	– циклооксигеназа 2
FLAP	– 5-ліпооксигеназа активуючий протеїн
GI ₅₀	– концентрація, яка викликає пригнічення росту 50% клітин лінії
GP	– відсотки росту (<i>growth percent</i>)
LC ₅₀	– концентрація речовини, що приводить до 50% загибелі клітин
TGI	– концентрація, що створює повне пригнічення росту клітин