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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КРИЩИШИН-ДИЛЕВИЧ АННА ПЕТРІВНА

УДК 615.283.+615.277.3):547.789.1].012.1

ДИСЕРТАЦІЯ

4-ТІАЗОЛІДИНОНИ ТА СПОРІДЕНІ ГЕТЕРОЦИКЛИ В ДИЗАЙНІ ПРОТИПАРАЗИТАРНИХ ТА ПРОТИПУХЛИННИХ АГЕНТІВ ЯК ПОЛІФАРМАКОЛОГІЧНИХ ЛІКОПОДІБНИХ МОЛЕКУЛ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія
226 – фармація, промислова фармація
22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів та текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

А. П. Крищишин-Дилевич

Науковий консультант Лесик Роман Богданович,
доктор фармацевтичних наук, професор

Львів - 2021

АНОТАЦІЯ

Крищишин-Дилевич А. П. 4-Тіазолідинони та спорідені гетероцикли в дизайні протипаразитарних та протипухлинних агентів як поліфармакологічних лікоподібних молекул. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія (226 – фармація, промислова фармація). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, МОЗ України, Львів, 2020.

Дисертаційна робота присвячена спрямованому дизайну та синтезу нових біологічно активних похідних 5-єнамін-4-тіазолідинонів, тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних гібридних молекул, конденсованих тіазолвмісних поліциклічних сполук та біоізостерних кон'югатів як лікоподібних молекул з поліфармакологічним профілем; вивченню їх фізико-хімічних, фармакологічних властивостей, встановленню молекулярних механізмів реалізації їх біологічної активності з метою впровадження нових прототипів протипухлинних та протипаразитарних лікарських засобів.

Проведено огляд літературних даних, що узагальнює сучасні підходи у терапії трипаносомозів, лейшманіозів та малярії, окреслено стратегії пошуку нових протипаразитарних агентів на основі гетероциклічних сполук, в тому числі похідних тіазолу/тіазолідинону; розглянуто можливість застосування стратегії перепрофілювання в розробці нових малих лікоподібних молекул як антипроліферативних агентів із подвійною протипаразитарною та/чи протипухлинною активностями.

Методом множинної регресії розроблено математичну модель, що дозволяє прогнозувати протипухлинну дію тіазолідинонів на основі їх протитрипаносомної активності та ряду обчислених дескрипторів. Виділено 8 ліній ракових клітин, показники інгібування росту яких найкраще корелюють із показниками напівмаксимальних інгібуючих концентрацій на *Trypanosoma brucei brucei* та розроблено рівняння регресії, в кожному з яких виокремлено певну кількість ознак,

що мають вплив на значення протипухлинної дії для кожної з них. На основі QSAR-аналізу ряду ізотіокумаринів, тіопіранотіазолів, імідазотіадіазолів та піразоло-тіазол/тіазолідинонів із протипаразитарною дією на *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei gambiense*, методами асоціативних нейронних мереж та регресії Random Forest, виділені молекулярні дескриптори, що критично впливають на реалізацію протипухлинної та/або протитрипаносомної активності даних похідних. Отримані дані використано для дизайну цільових суб-бібліотек сполук для подальших синтетичних і біологічних досліджень.

На основі розроблених синтетичних методик отримано 5-етоксиметиліден-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонові кислоти та їх естери, які функціоналізовано в реакціях з ароматичними амінами, амінопіридинами, гідразидом 4-піридинкарбонової кислоти та амонію гідрокарбонатом. Розроблено ефективний альтернативний одностадійний метод синтезу (5-іліден)-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів, що включав взаємодію (5-іліден)-роданін-3-сукцинатних кислот з ароматичними амінами, оминаючи стадію отримання відповідних ангідридів. Дослідження протитрипаносомної, антилейшманіозної та протипухлинної активності зазначених 5-іліден-2-тіоксо-4-тіазолідин-3-карбонових кислот та їх похідних дозволило виділити ряд сполук-хітів з високою протитрипаносомною активністю, протилейшманіозною активністю, протилейкеміною активністю та низькими токсикометричними показниками щодо людських первинних фібробластів. Серед 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-роданінів виділено високоактивні протипухлинні агенти – 2-(5-іліден-роданін-3-іл)-сукциніміди із 2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліденовим та 2-алілоксибензиліденовим фрагментами у С5 положенні, що використано для дизайну нових бібліотек потенційних біологічно активних молекул. Вперше синтезовано ряд похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл- та 2-ціано-N-(*о*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетамідів та їх 5-ілідена-наналогів. Серед останніх виділено сполуки із протираковою активністю.

У рамках гібрид-фармакофорного підходу синтезовано ряд 2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та похідних 2-{(6-феніл)-

імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл]етилацетату за відомим методом із тіосемікарбазонів та відповідних $[C_2]^{2+}$-реагентів. З метою встановлення взаємозв'язків структура-активність, одержано ряд 2-{N'-[2-(феніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразино}-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів при взаємодії відповідних тіосемікарбазонів із α-галогенкетонами. Для більшості з тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних гібридних молекул встановлено високу протипаразитарну активність в *in vitro* експериментах на паразитах T*rypanosoma brucei brucei* та T*rypanosoma brucei gambiense* на рівні субмікромолярних значень напівмаксимальних інігібуючих концентрацій. Для найактивніших сполук-хітів проводилося дослідження цитотоксичності на людських первинних фібробластах (клітинна лінія AB943); 5 із них характеризувалися високими індексами селективності (IC > 100), більшість з яких належить до групи похідних 2-[(2-феніл-1H-індол-3-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-4-ону. Результати вивчення гострої токсичності (на мишах) ряду найактивніших тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних гібридів свідчать про низькі рівні такої (LD_{50} = 200-330 мг/кг). Протилейшманіозна активність тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазолів щодо *Leishmania major (штам* Friedlin V1) корелює із показниками протитрипаносомної активності для 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів, які ідентифіковані як сполуки-хіти в обох тестах. 5-[2-(4-Флюорофеніл)-2-оксоетил]-2-[(2-феніл-*1H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он характеризувався мікромолярною величиною IC_{50} щодо *Plasmodium falciparum* в *in vitro* експерименті.

Наступними об'єктами представленого дослідження були нові поліциклічні ізотіохроменотіазоли та 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-они-6 і їх N-заміщені похідні. Дослідження протитрипаносомної активності наведених груп тіопіранотіазолів в *in vitro* експериментах на кровяних формах *Trypanosoma brucei brucei*, свідчить про їх високу та помірну трипаноцидну активність; похідні 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 характеризувалися нижчими

значеннями $IC_{50.}$ Вивчення протилейшманіозної активності ряду ізотіохроменотіазолів на промастиготах *Leishmania major (штам* Friedlin V1), дозволило виділити N-(феніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2*H*-ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід із мікромолярною величиною IC_{50} співмірною із такою щодо *Tb brucei*.

У рамках гібрид-фармакофорного підходу вперше синтезовано молекули, що вміщують тіазолідоновий/тіогідантоїновий та індольний гетероцикли. В реакції гідролізу 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1H-індол-карбонових кислот та їх метильних естерів отримано трициклічні системи 1-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонових кислот. Досліджено взаємодію 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот із 2-тіогідантоїном, в результаті якої отримано тетрациклічні 1-тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони**.** При взаємодії метил-3-форміліндолін-2-карбоксилату із 2-тіогідантоїном в таких самих умовах, не відбувається циклізація, а продуктом реакції є 5-[(5-флюоро-1*H*-індол-3-іл)метилен]-2-тіоксо-імідазолідин-4-он**.** Досліджено реакцію гідролізу метилових естерів 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-4-карбонових кислот, внаслідок якої утворюються енергетично вигідніші біс-аддукти з’єднані дисульфідним містком, ніж очікувані поліциклічних систем із семичленним циклом. Досліджено протитрипаносомну та протипухлинну активності тіазол-індольних гібридів та продуктів їх циклізації дозволили виділити активний метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти, що володів високою протипухлинною активністю щодо більшості досліджуваних ракових ліній із середнім значенням інгібуючої концентрації GI_{50} на рівні 0,649/0,452 мкМ.

На основі систематизації молекулярних фрагментів високоактивних сполук здійснено дизайн суб-бібліотек молекул для отримання потенційних фармакологічно активних сполук. Так, в однореакторній реакції арилтіосечовини, хлороацетатної кислоти та відповідного ароматичного аміну синтезовано ряд 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5H)-онів, серед яких знайдено високоактивні сполуки із селективною дією щодо панелі ліній лейкемічних клітин, в

тому числі резистентних до дії таксолу. Вперше синтезовано низку гібридних 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1H-індол-2-карбонових кислот та апробовано метод однореакторної трикомпонентної реакції заміщених тіосечовин, хлороацетатної кислоти та 3-форміл-1H-індол-2-карбонових кислот і їх карбоксилатів, що дозволив із високими виходами отримання 3-[(2-аміно-4-оксотіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонові кислоти. Дослідження їх протипухлинної активності дозволило ідентифікувати сполуку-хіт метил 5-флюоро-3-[(2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбоксилат, що селективно інгібував ріст ліній лейкемії людини.

На основі стратегії гібрид-фармакофорного підходу синтезовано 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5H-тіазол-2-он та його 5-іліден-похідні, а також ряд інших піразол вмісних гібридних молекул, таких, як 5-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-они. Інші піразолвмісні гібридні молекули отримані шляхом комбінації 3,5-діарил-3,4-дигідропіразольного циклу із фрагментами 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-карбонових кислот та 2-ціано-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-N-феніл-ацетамідів. Доведено подвійну протипаразитарну та протипухлинну активності 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5H-тіазол-2-ону. Синтезовано потенційні лікоподібні тіопіранотіазол-піразоліни на основі хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-2-ону та 3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-ону, що вміщують два фармакофори. Серед 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів та гібридних молекул роданін-3-карбонових кислот із 2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліденовим залишком виділено сполуки, що інгібували ріст ліній раку шлунку AGS, товстої кишки людини DLD-1 та карциноми молочної залози MCF-7. Також, вперше встановлено високу протималярійну активність ряду 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів щодо *Plasmodium falciparum.*

Структуру та чистоту синтезованих сполук підтверджено методами елементного аналізу, ^{1}H, ^{13}C ЯМР спектроскопії, рентгеноструктурного аналізу та мас-спектрометрії, тонко-шарової хроматографії.

Систематизація даних про протитрипаносомну активність більш, ніж 200 сполук за допомогою 4-ох алгоритмів машинного навчання: методу Random Forest, методу стохастичного підвищення градієнта, сплайнів багатовимірної адаптивної регресії та регресії Гаусівських процесів дозволило виділити оптимальні методи – метод регресії Random Forest та Гаусівських процесів, на основі яких розроблено дві нові QSAR-моделі, що описують антитрипаносомну активність та володіють хорошою прогностичною здатністю з відповідними Q2ext = 0,812 та Q2ext = 0,830. Аналіз впливу дескрипторів у QSAR-моделях та інтерпретація їх хімічного значення дозволив окреслити ряд взаємозв'язків структура-активність: i) наявність фенільних кілець з електроноакцепторними атомами або групами у пара-положенні, ii) збільшена кількість ароматичних кілець, iii) висока розгалуженість, але короткі ланцюги, iv) висока енергія HOMO та введення 1-заміщеного індолільного фрагменту у молекули є передумовами високої протитрипаносомної активності.

Для 5 сполук-лідерів, виділених у результаті проведеного комплексного дослідження протипаразитарної і протипухлинної активності різних класів тіазолів/тіазолідинонів, проведено поглиблене *in vitro* вивчення цитотоксичності на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3 у MTT, лізосомному (NRU), LDG тестах та дослідженні загального вмісту білку (TCP). Позитивним результатом досліджень для всіх сполук-хітів є те, що клітини гепатоцелюлярної карциноми HepG2 людини виявилися чутливішими до їх дії, ніж нормальні клітини Balb/c 3T3. В загальному, результати вивчення цитотоксичності зазначених сполук-лідерів свідчать про дезінтеграцію клітинної мембрани, інгібування мітохондріальної та лізосомальної активності і як наслідок інгібування проліферації ракових клітин.

Додаткове вивчення антипроліферативних властивостей метилового естру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-2-карбонової кислоти у MTT тесті на клітинах карциноми молочної залози (MCF-7), прямої

кишки (HCT116), шийки матки (HeLa), легень (A549), та лінії псевдо-нормальних клітин (кератиноцитів HaCaT людини) виявили селективне інгібування росту клітин лінії MCF-7 та лінії HCT116. Вестерн-блот аналіз білків, що беруть участь у регуляції процесів ініціювання, здійснення апоптозу, та стадіях клітинного циклу на клітинах HepG2 довів, що зазначений естер індукував апоптоз через каспаз 3-, PARP1- та Bax-протеїн-залежні шляхи та не впливав на проходження G1/S фази у клітинах HepG2, ймовірно реалізовуючи антипроліфеартивний ефект через зупинку фази G2/M в пухлинних клітинах. Дослідження впливу метилового естру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-2-карбонової кислоти на пошкодження ДНК у клітинах HepG2 методом ДНК-комет в лужному середовищі, показало, він спричиняє пошкодження ДНК у клітинах HepG2 на рівні співмірному із преапартом порівняння доксорубіцином.

Вивчення впливу метил 5-флюоро-3-[(2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1H-індол-2-карбоксилату на експресію та активність Cyp1a1, Cyp1b1, Cyp1a2 та Cyp2b10 генів на лінії клітин 3T3-L1 показали, що він знижує експресію мРНК AhR рецептора та знижує експресію Cyp1b1 мРНК, впливаючи на ендогенні метаболічні шляхи, екстрагепатичний метаболізм ксенобіотиків та опсередковано канцерогенез.

Дослідження інтеркаляції 3-[5-[(2-алілоксифеніл)метилен]- та 3-[(5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-хлорофеніл)піролідин-2,5-діонів, а також 3-[(5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-гідроксифеніл)піролідин-2,5-діону у ДНК методом заміщення досліджуваними речовинами метилового зеленого із комплексу ДНК-метиловий зелений показало, що дані молекули не інтеркалюють в ДНК, відповідно не мають прямого впливу на ДНК. Відсутність впливу зазначених речовин на ДНК доведено й методом електрофорезу плазмідної ДНК pEGFPc-1. Натомість, методом ДНК-комет в лужному середовищі на клітинах лінії лейкемії Jurkat, довів, що вище зазначені сполуки спричиняють пошкодження ДНК на рівні препарату порівняння доксорубіцину.

Пошук протимікробних агентів серед різних неконденсованих поліциклічних похідних тіазолідинону-4 із встановленими іншими фармакологічними профілями дозволив ідентифікувати ряд високоактивних протигрибкових сполук-лідерів, що інгібували ріст *Candida albicans*, при цьому найактивнішими були похідні 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти та 5-амінометиліден-2-іліден-3-феніл-4-тіазолідинону. Найактивнішою щодо *Staphylococcus aureus* була група 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-сукцинімідів.

Ключові слова: похідні 4-тіазолідинону, протитрипаносомна активність, протипухлинна активність, протилейшманіозна активність, гібрид-фармакофорний підхід, поліфармакологічний підхід, цитотоксичність.

ANNOTATION

Kryshchyshyn-Dylevych A.P. 4-Thiazolidinones and related heterocycles in the design of antiparasitic and antitumor agents as polypharmacological drug-like molecules. - Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a doctor of pharmaceutical science degree in speciality 15.00.02 - pharmaceutical chemistry and pharmacognosy (226 - pharmacy, industrial pharmacy). Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2020.

The dissertation work is devoted to the directed design and synthesis of new derivatives of 5-enamine-4-thiazolidinones, thiazolidinone/thiazole-indole/imidazothiadiazole hybrid molecules, fused thiazole containing polycyclic compounds and their bioisosters as drug-like molecules with the polypharmacological profile, study of their physicochemical, pharmacological properties, investigation of molecular mechanisms of their biological activity for the purpose of introduction of new prototypes of antitumor and antiparasitic drugs.

A literature review summarizing current approaches in the treatment of trypanosomiasis, leishmaniasis and malaria has been conduced, main strategies of the search for new antiparasitic agents based on heterocyclic compounds including

thiazole/thiazolidinone derivatives have been outlined; the possibility of applying the repurposing strategy for the development of new small drug-like molecules as antiproliferative agents with dual antiparasitic and/or antitumor activities has been considered.

Using the method of multiple regression a mathematical model had been developed which allows prediction of the antitumor effect of thiazolidinones on the basis of their antitrypanosomal activity and a number descriptors had been calculated. Eight lines of cancer cells were identified, whose growth inhibition rates correlated best with the half-maximal inhibitory concentrations for *Trypanosoma brucei brucei* and the regression equations were developed, each of which identified a number of features that affect the antitumor activity. Based on the QSAR-analysis of the series of isothiocoumarins, thiopyranothiazoles, imidazothiadiazoles and pyrazolo-thiazole/thiazolidinones with antiparasitic activity on *Trypanosoma brucei brucei* and *Trypanosoma brucei gambiense*, and on the methods of associative neural networks and Random Forest regression, the molecular descriptors critically influencing the antitrypanosomal and/or antitumor activity of these derivatives had been identified. The obtained data were used for the design of target sub-libraries of compounds for further synthetic and biological studies.

Based on the developed synthetic methods, 5-ethoxymethylidene-2-thioxo-4-thiazolidinone-3-carboxylic acids and their esters were obtained, which were functionalized in the reactions with aromatic amines, aminopyridines, 4-pyridinecarboxylic acid hydrazide and ammonium bicarbonate. An efficient alternative one-step method for the synthesis of (5-ylidene)-3-(1-aryl-pyrrolidine-2,5-dione)-rhodanines that included the interaction of (5-ylidene)-rhodanine-3-succinic acid with aromatic amines and allowed skipping the stage of the corresponding anhydrides synthesis had been proposed. The study of antitrypanosomal, antileishmanial and anticancer activity of mentioned 5-ylidene-2-thioxo-4-thiazolidine-3-carboxylic acids and their derivatives allowed to identify a number of hit-compounds with high antitrypanosomal, antileishmanial, antileukemic activity and low cytotoxicity towards human primary fibroblasts. Among 5-ylidene-3-(1-arylpyrrolidine-2,5-dione)-rhodanines, highly active antitumor agents – 2-(5-ylidene-rhodanin-3-yl)-succinimides with 2-chloro-3- (4-

nitrophenyl)prop-2-enylidene and 2-allyloxybenzylidene moieties at the C5 position were identified and used for the new libraries of potential biologically active molecules design. For the first time, a series of 2-cyano-2-(4-oxo-3-phenylthiazolidin-2-ylidene)-N-phenyl- and 2-cyano-N-(o-tolyl)-2-(4-oxo-3-phenylthiazolidin-2-ylidene)acetamides and their 5-ylidene analogs were synthesized. Among the latter the compounds with anticancer activity were identified.

Within the hybrid-pharmacophore approach a row of 2-[(2-phenyl-1*H*-indol-3-ylmethylene)-hydrazono]-thiazolidin-4-ones and the derivatives of 2-{(6-phenyl)-imidazo[2,1-*b*][1,3,4]thiadiazol-5-ylmethylene]-hydrazino}-4-oxo-thiazolidin-5-yl]ethylacetate were synthesized in the reactions of thiosemicarbazones and appropriate $[C_2]^{2+}$-reagents using the known methods. In order to establish the structure-activity relationship, a number of 2-{N'-[2-(phenyl)-1*H*-indol-3-ylmethylene]-hydrazino}-thiazoles and 2-[6-phenyl-imidazo[2,1-*b*][1,3,4]thiadiazol-5-ylmethylene)-hydrazino]-thiazoles were synthesized in the reaction of the corresponding thiosemicarbazones with α-haloketones. For the majority of thiazolidinone/thiazole-indole/imidazothiadiazole hybrid molecules, high antiparasitic activity with the submicromolar levels of the half-maximal inhibiting concentrations was found in *in vitro* experiments on the *Trypanosoma brucei brucei* and *Trypanosoma brucei gambiense* parasites. For the most active hit-compounds, cytotoxicity studies were performed on human primary fibroblasts (cell line AB943); 5 of them were characterized by high selectivity indices (IC> 100), most of which belong to the group of 2-[(2-phenyl-1*H*-indol-3-yl)methylenehydrazono]thiazolidin-4-one derivatives. The results of the study of acute toxicity (in mice) of some of the most active thiazolidinone/thiazole-indole/imidazothiadiazole hybrids indicate low levels of LD_{50} (200-330 mg/kg). The anti-leishmanial activity of thiazolidinone/thiazole-indole/imidazothiadiazoles against *Leishmania major* (strain Friedlin V1) correlates with the antitrypanosomal activity for 2-[(2-phenyl-1*H*-indol-3-ylmethylene)-hydrazone]thiazolidine-4-ones that were identified as hit-compounds in both tests. 5-[2-(4-Fluorophenyl)-2-oxoethyl]-2-[(2-phenyl-1*H*-indol-3-ylmethylene)-hydrazono]-thiazolidin-4-one was characterized by a micromolar IC_{50} value against *Plasmodium falciparum* in the *in vitro* experiments.

The next objects of the presented research became new polycyclic isothiochromenothiazoles and 9-aryl(heteryl)-3,7-dithia-5-azatetracyclo[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]tetradecen-4(8)-ones-6 and their N-substituted derivatives. The study of antitrypanosomal activity of these groups of thiopyranothiazoles in *in vitro* experiments on blood forms of *Trypanosoma brucei brucei* indicates their high and moderate trypanocidal activity; 9-aryl(heteryl)-3,7-dithia-5-azatetracyclo[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]tetradecen-4(8)-ones-6 derivatives were characterized by lower levels of $IC_{50.}$ The study of antileishmanial activity of a number of isothiochromenothiazoles on *Leishmania major* promastigotes (strain Friedlin V1) allowed to isolate N-(phenyl)-2- {5,5,8-trimethyl-3,5,5a, 6,7,8,9,9a-octahydro-2*H*-isothiochromeno[4a,4-*d*][1,3]thiazol-2-one-3-yl}-acetamide with micromolar value of IC_{50} comparable to that against *Tb brucei*.

Within the hybrid pharmacophore approach, molecules containing thiazolidone/thiohydantoin and indole heterocycles were synthesized for the first time. In the hydrolysis reaction of 3-(4-oxo-2-thioxothiazolidin-5-ylidenemethylene)-1*H*-indole-carboxylic acids and their methyl esters, tricyclic systems of 1-oxo-1,9-dihydro-2-thia-9-aza-fluorene-3-carboxylic acids were obtained. The reaction of 3-(4-oxo-2-thioxothiazolidin-5-ylidenemethylene)-1*H*-indole-carboxylic acids with 2-thiohydantoin yielding tetracyclic 1-thioxo-9,10a-dihydropyrrolo[3,4-*b*]carbazole-3,10-diones was studied. When methyl 3-formylindoline-2-carboxylate reacted with 2-thiohydantoin under the same conditions, no cyclization occured and the reaction product was 5-[(5-fluoro-1*H*-indol-3-yl)methylene]-2-thioxo-imidazoyldin-4-one. It was investigated that the hydrolysis reaction of 3-(4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-5-ylidenemethylene)-1H-indole-4-carboxylic acids methyl esters resulted in the formation of more energetically favorable disulfides than the expected polycyclic systems with seven-membered cycle. The antitrypanosomal and antitumor activities of thiazole-indole hybrids and their cyclization products were investigated that allowed to identify active 5-fluoro-3-(4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-5-ylidenemethyl)-1*H*-indole-2-carboxylic acid methyl ester possessing high antitumor activity against most of the studied cancer lines with a mean value of the GI_{50} concentrations – 0.649/0.452 μM.

Based on the systematization of molecular fragments of highly active compounds, the sub-libraries of molecules were designed to obtain potential pharmacologically active compounds. Thus, in a one-pot reaction of arylthiourea, chloroacetic acid and the corresponding aromatic amine, a number of 5-arylidene-2-(4-hydroxyphenyl)aminothiazol-4(5H)-ones were synthesized, among which highly active compounds with selective action against leukemic cell lines, including taxol-resistant one. A series of hybrid 3-[(4-oxo-3-carboxy-2-thioxo-thiazolidin-5-yl)]-1*H*-indole-2-carboxylic acids were synthesized for the first time and the method of one-pot three-component reaction of substituted thioureas, chloroacetic acid and 3-formyl-1*H*-indole-2-carboxylic acids and their carboxylates that allowed the synthesis of 3-[(2-amino-4-oxothiazol-5-ylidene)methyl]-1*H*-indole-2-carboxylic acids with high yields. The study of their antitumor activity indicate the hit-compound methyl 5-fluoro-3-[(2-(4-hydroxyanilino)-4-oxo-thiazol-5-ylidene)methyl]-1*H*-indole-2-carboxylate that selectively inhibited growth of human leukemic lines.

Based on the hybrid pharmacophore approach, 4-[3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydropyrazol-2-yl]-5H-thiazol-2-one, its 5-ylidene derivatives as well as a row of other pyrazole-containing hybrid molecules such as 5-[3,5-diaryl-3,4-dihydropyrazol-2-yl]methylene]-2-thioxo-thiazolidin-4-one were synthesized. Other pyrazole-containing hybrid molecules were obtained by combining the 3,5-diaryl-3,4-dihydropyrazole ring with fragments of 2-thioxo-4-thiazolidone-3-carboxylic acids and 2-cyano-2-(4-oxo-3-phenyl-thiazolidine-2-ylidene)-N-phenyl-acetamides. The dual antiparasitic and antitumor activity of 4-[3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydropyrazol-2-yl]-5H-thiazol-2-one had been proven. Potential drug-like thiopyranothiazole-pyrazolines bearing two pharmacophores were synthesized based on chromeno[4',3':4,5]thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles, isothiochromeno[3,4-*d*]thiazol-2-one and 3,7-dithiazole-5-azatetracyclo[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]tetradecen-4(8)-one. Among the 5-[[3,5-diaryl-3,4-dihydropyrazol-2-yl]methylene]-2-thioxo-thiazolidin-4-ones and hybrid molecules of rhodanine-3-carboxylic acids with 2-chloro-3-(4-nitrophenyl)prop-2-enylidene moiety compounds that inhibited growth of the gastric cancer (AGS), colon cancer (DLD-1) and breast cancer (MCF-7) cell lines were identified. Also, for the first

time, high antimalarial activity of a number of 5-arylidene-2-arylidenehydrazono-3-(4-hydroxyphenyl)-4-thiazolidinones against *Plasmodium falciparum* was established.

The structure and purity of the synthesized compounds was confirmed by the methods of elemental analysis, ^{1}H, ^{13}C NMR spectroscopy, X-ray analysis and mass-spectrometry, thin layer chromatography.

Systematization of the data on antitrypanosomal activity of more than 200 compounds using 4 machine learning algorithms: Random Forest, Stochastic Gradient Boosting (SGB), Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) and Gaussian Processes regression allowed to identify the optimal methods – Random Forest regression and Gaussian Processes regression based on which two new QSAR-models have been developed that describe antitrypanosomal activity and have good prognostic ability with the corresponding Q2ext = 0.812 and Q2ext = 0.830. Analysis of the descriptors impact in QSAR models and the interpretation of their chemical significance allowed to outline a number of structure-activity relationships: i) the presence of phenyl rings with electron-accepting atoms or groups in the *para*-position, ii) increased number of aromatic rings, iii) high branching, but short chains, and iv) high HOMO energy and introduction of the 1-substituted indolyl fragment into molecules are prerequisites for high antitrypanosomal activity.

For the 5 lead-compounds identified in a result of a comprehensive studies of antiparasitic and antitumor activity of different classes of thiazoles/thiazolidinones, an in-depth *in vitro* study of cytotoxicity on hepatocellular carcinoma HepG2 cells and normal fibroblasts in Balb/c 3T3 was carried out using the MTT, NRU, LDG and TCP tests. A positive result for all hit compounds is that human hepatocellular carcinoma HepG2 cells were more sensitive to their action than normal Balb /c 3T3 cells. In general, the results of the study of the cytotoxicity of these lead-compounds indicate disintegration of the cell membrane, inhibition of mitochondrial and lysosomal activity and as a consequence inhibition of the cancer cells proliferation.

An additional study of the antiproliferative properties of 5-fluoro-3-(4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-5-ylidenemethyl)-1*H*-indole-2-carboxylic acid methyl ester in the MTT test on the lines of breast cancer (MCF-7), colon cancer (HCT116), cervical cancer (HeLa), lung

cancer (A549), and pseudo-normal cell lines (human HaCaT keratinocytes) showed selective inhibition of MCF-7 and HCT116 cells growth. Western blot analysis of proteins involved in the regulation of initiation, apoptosis, and cell cycle stages in HepG2 cells showed that this ester induced apoptosis through caspase 3-, PARP1- and Bax-protein-dependent pathways and did not affect the passage of G1/S phase in HepG2 cells. Probably, the mechanism of its antiproliferative effect occurs through the G2/M phase arrest in tumor cells. A study of the effect of 5-fluoro-3-(4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-5-ylidenemethyl)-1*H*-indole-2-carboxylic acid methyl ester on DNA damage in HepG2 cells by the alkaline comet assay showed that it causes DNA damage in HepG2 cells at a level comparable to that of doxorubicin.

Study of the effect of methyl 5-fluoro-3-[(2-(4-hydroxyanilino)-4-oxo-thiazol-5-ylidene)methyl]-1*H*-indole-2-carboxylate on the expression and activity of the Cyp1a1, Cyp1b1, Cyp1a2 and Cyp2b10 genes in the 3T3-L1 cell line showed that it decreased the AhR receptor mRNA expression and decreased Cyp1b1 mRNA expression, therefore affecting endogenous metabolic pathways, extrahepatic xenobiotic metabolism, and indirectly carcinogenesis.

Study of the intercalation of 3-[5-[(2-allyloxyphenyl)methylene]- and 3-[(5-[2-chloro-3-(4-nitrophenyl)prop-2-enylidene]-4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-3-yl]-1-(4-chlorophenyl)pyrrolidine-2,5-diones as well as 3-[(5-[2-chloro-3-(4-nitrophenyl)prop-2-enylidene]-4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-3-yl]-1-(4-hydroxyphenyl)pyrrolidine-2,5-dione in the DNA in the methyl green method showed that these molecules do not intercalate in the DNA, therefore do not have a direct effect on DNA. The absence of the impact of mentioned compounds on DNA was also proved by the method of electrophoresis of plasmid DNA pEGFPc-1. In contrast, the alkaline comet assay on *Jurkat* leukemia cell line proved that the above compounds cause DNA damage at the same level as doxorubicin.

Search for the antimicrobial agents among various non-fused polycyclic thiazolidinone-4 derivatives with the established other pharmacological profiles allowed to identify a number of highly active antifungal lead-compounds that inhibited the growth of *Candida albicans*, with the most active being the derivatives of 5-aminomethylidene-5-

rhodanine-3-propionic acid and 5-aminomethylidene-2-ylidene-3-phenyl-4-thiazolidinone. The most active class among tested compounds against *Staphylococcus aureus* was the group of 2-(5-ylidene-4-oxo-2-thioxo-thiazolidin-3-yl)-succinimides.

Key words: 4-thiazolidinone derivatives, antitrypanosomal activity, antitumor activity, antileishmanial activity, hybrid pharmacophore approach, polypharmacological approach, cytotoxicity.

Список публікацій здобувача

1. **Крищишин АП,** Камінський ДВ, Зеліско НІ, Хилюк ДВ, Грельє Ф, Лесик РБ. Вивчення протитрипаносомної активності тіазолідинонів та споріднених гетероциклічних систем. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2013; 11(42):57-62. (*Особистий внесок* – дизайн дослідження, синтез тіопіранотіазолів, інтерпретації даних фізико-хімічних методів аналізу та фармакологічних досліджень, обговорення результатів, оформленні статті).

2. Атаманюк ДВ, **Крищишин АП,** Зименковский БС, Лесык РБ. Синтез и фармакологические свойства конденсированных полициклических соединений на основе тиазолидинонов в кн. "Химия и биологическая активность азолов. Избранные обзоры" (под. ред. В. Броварца, В. Зябрева), LAP Lambert Academic Publishing, 2014; 339-390. ISBN 978-3-659-55188-8. (*Особистий внесок* – розробка методик та синтезі сполук, інтерпретація фармакологічних досліджень, узагальнення результатів, оформленні розділу монографії).

3. **Kryshchyshyn A,** Kaminskyy D, Grellier P, Lesyk R. Trends in research of antitrypanosomal agents among synthetic heterocycles. Eur J Med Chem. 2014; 85:51-64. (*Особистий внесок* – дизайн роботи, аналіз літературних даних та узагальнення результатів, оформлення статті).

4. **Kryshchyshyn AP,** Kaminskyy DV, Atamanyuk DV, Lesyk RB. Computer technologies in pharmacy - Filling in the gaps in Ukrainian PharmD curriculum. Curr Pharm Teach Learn. 2015; 7(4):556-9. (*Особистий внесок* – постановка задачі, дизайн роботи, оформлення статті).

5. **Крищишин АП,** Камінський ДВ, Лесик РБ. Створення інноваційних лікарських засобів (підходи та методологія drug design) – одне з ключових питань

сучасної фармацевтичної освіти. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2015; 13(1):49-58. (*Особистий внесок* – постановка завдання і дизайн дослідження, обговорення результатів, оформлення статті).

6. Lesyk R, Zimenkovsky B, Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A**, Havrylyuk D, Zelisko N, Devinyak O, Khyluk D, Roman O, Lozynskyi A, Leliuch M, Wojtyra M. 4-Thiazolidinone-based Michael acceptors as tool for anticancer agents design. Modern directions in chemistry, biology, pharmacy and biotechnology (Ed. V. Novikov), Lviv: Lviv Polytechnic Publishing House, 2015;102-113. (*Особистий внесок* – участь у постановці задачі дослідження, дизайні роботи, експериментальних дослідженнях, обговоренні результатів, оформленні розділу монографії).

7. Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A**, Lesyk R. 5-Ene-4-thiazolidinones – An efficient tool in medicinal chemistry. Eur J Med Chem. 2017; 140:542-594. (*Особистий внесок* – дизайн та обговорення результатів, оформлення статті).

8. Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A,** Lesyk R. Recent developments with rhodanine as a scaffold for drug discovery. Expert Opin Drug Dis. 2017; 12(12):1233-1252. (*Особистий внесок* – дизайн та обговорення результатів, оформлення статті).

9. **Kryshchyshyn AP,** Atamanyuk DV, Kaminskyy DV, Grellier P, Lesyk RB. Investigation of anticancer and anti-parasitic activity of thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles bearing norbornane moiety. Biopolym Cell. 2017; 33(3):183-205. (*Особистий внесок* – постановка завдання, дизайн роботи, синтез сполук, інтерпретація спектральних даних та фармакологічних досліджень, оформлення статті).

10. **Крищишин АП.** Фрагмент-орієнтований дизайн лікарських засобів. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2017; 15(1):28-44.

11. Szychowski KA, Leja ML, Kaminskyy DV, **Kryshchyshyn AP**, Binduga UE, Pinyazhko OR, Lesyk RB, Tobiasz J, Gmiński J. Anticancer properties of 4-thiazolidinone derivatives depend on peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ). Eur J Med Chem. 2017; 141:162-168. (*Особистий внесок* – синтез тіопіранотіазолів, обговорення результатів, оформлення статті).

12. **Kryshchyshyn A**, Roman O, Lozynskyi A, Lesyk R. Thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles as new efficient scaffolds in medicinal chemistry. Sci Pharm. 2018; 86(2):26. (*Особистий внесок* – дизайн дослідження, узагальнення результатів, оформлення статті).

13. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Nektegayev I, Grellier P, Lesyk R. Isothiochromenothiazoles – a class of fused thiazolidinone derivatives with established anticancer activity that inhibits growth of Trypanosoma brucei brucei. Sci Pharm. 2018, 86(4):47. (*Особистий внесок* – постановка завдання, дизайн роботи, розробка методик одержання та синтез сполук, інтерпретація спектрів ЯМР та результатів фармакологічних досліджень, обговорення результатів, оформлення статті).

14. **Kryshchyshyn A**, Devinyak O, Kaminskyy D, Grellier P, Lesyk R. Development of Predictive QSAR Models of 4-Thiazolidinones Antitrypanosomal Activity Using Modern Machine Learning Algorithms. Mol Inform. 2018; 37(5):1700078. (*Особистий внесок* – участь в постановці завдання, проведенні *in silico* досліджень, обговоренні результатів, оформлення статті).

15. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Karpenko O, Gzella A, Grelier P, Lesyk R. Thiazolidinone/thiazole based hybrids – New class of antitrypanosomal agents. Eur J Med Chem. 2019; 174:292-308. (*Особистий внесок* – синтез тіазолідин-феніліндолів, інтерпретація результатів фармакологічних досліджень, обговорення результатів, оформлення статті).

16. Holota S, **Kryshchyshyn A**, Derkach H, Trufin Y, Demchuk I, Gzella A, Grelier P, Lesyk R. Synthesis of 5-enamine-4-thiazolidinone derivatives with trypanocidal and anticancer activity. Bioorg Chem. 2019; 86:126-136. (*Особистий внесок* – синтез сполук, інтерпретація фармакологічних досліджень, оформлення статті).

17. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Grellier P, Lesyk R. Thiazolidinone-related heterocyclic compounds as potential antitrypanosomal agents. In Azoles-Synthesis, Properties, Applications and Perspectives. IntechOpen. 2020; 1-30. (*Особистий внесок* – дизайн роботи, узагальнення результатів, оформлення розділу монографії).

18. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Roman O, Kralovics R, Karpenko O, Lesyk R. Synthesis and anti-leukemic activity of pyrrolidinedione-thiazolidinone hybrids. Ukr

Biochem J. 2020; 92(2):108-19. (*Особистий внесок* – синтез сполук, інтерпретація спектрів та фармакологічних досліджень, оформлення статті).

19. **Kryshchyshyn-Dylevych AP**, Zelisko NI, Grellier P, Lesyk RB. Preliminary evaluation of thiazolidinone-and pyrazoline-related heterocyclic derivatives as potential antimalarial agents. Biopolym Cell. 2020; 36(1):47-59. (*Особистий внесок* – синтез сполук, інтерпретація даних фізико-хімічних методів аналізу та фармакологічних досліджень, обговорення результатів, оформлення статті).

20. **Крищишин-Дилевич АП.** Синтез і протипухлинна активність 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-N-арилацетамідів. Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. 2020; 13(2):194-201.

21. **Kryshchyshyn-Dylevych AP**. 5-Ene-rhodanine-3-carboxylic acids as potential antimicrobial and antiparasitic agents. Biopolym Cell. 2020, 36(3):229-241.

22. **Kryshchyshyn-Dylevych A**, Garazd M, Karkhut A, Polovkovych S, Lesyk R. Synthesis and anticancer activity evaluation of 3-(4-oxo-2-thioxothiazolidin-5-yl)-1 H-indole-carboxylic acids derivatives. Synth Commun. 2020; 50(18):2830-8. (*Особистий внесок* – розробка методик одержання та синтез сполук, інтерпретація спектральних даних та результатів протиракової активності, оформлення статті).

23. Schadich E, **Kryshchyshyn-Dylevych A,** Holota S, Polishchuk P, Džubak P, Gurska S, Hajduch M, Lesyk R. Assessing different thiazolidine and thiazole based compounds as antileishmanial scaffolds. Bioorg Med Chem Lett. 2020; 30:127616. (*Особистий внесок* – постановка задачі дослідження, синтез сполук, обговорення результатів, оформлення статті).

24. **Крищишин-Дилевич АП.** Синтез та вивчення біологічної активності поліциклічних 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діонів. Фармацевтичний Часопис. 2020; 4:5-10.

25. Subtelna I, **Kryshchyshyn-Dylevych A**, Ruochen J, Lelyukh M, Ringler A, Kubicek S, Zagrijtschuk O, Kralovics R, Lesyk R. 5-Arylidene-2-(4-hydroxyphenyl)aminothiazol-4(5H)-ones with selective inhibitory activity against some leukemia cell lines. Arch Pharm. 2020; e2000342. (*Особистий внесок* – участь у

дизайні дослідження, інтерпретації спектральних даних та результатів фармакологічних досліджень, оформлення статті).

26. Szychowski KA, Skóra B, **Kryshchyshyn-Dylevych A**, Kaminskyy D, Rybczyńska-Tkaczyk K, Lesyk R, Gmiński J. Induction of Cyp450 enzymes by 4-thiazolidinone-based derivatives in 3T3-L1 cells in vitro. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2020; 1-13. (*Особистий внесок* – синтез, інтерпретації спектрів та результатів фармакологічних досліджень, оформлення статті).

27. **Kryshchyshyn-Dylevych A.** Some pharmacological properties of 4-[3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydropyrazol-2-yl]-5H-thiazol-2-one. Ukr Bioorg Acta. 2020; 5(2):40-47.

28. **Крищишин-Дилевич АП.** QSAR-Аналіз бібліотек 4-тіазолідинон-споріднених гетероциклів для прогнозування протитрипаносомних властивостей нових похідних. Медична та клінічна хімія 2020; 22(4):39-46.

29. **Крищишин АП,** Лесык РБ. (5*aRS*,11*bSR*)-3,5*a*,6,11*b*-Тетрагидро-2*H*,5*H*-хромено[4',3':4,5]тиопирано[2,3-*d*][1,3]тиазол-2-тион. “Химия гетероциклических соединений. Современные аспекты” (Том 2/Ред. В.Г. Карцев), Москва, Международ. Благотворител. фонд "Научное Партнерство", МБФНП (International charitable foundation "Scientific Partnership Foundation", ICSPF), 2014; 237-238. (*Особистий внесок* – дизайн роботи, експериментальні дослідження, оформлення статті).

30. Лесик РБ, **Крищишин АП**, Піняжко ОР, Коропецька НЮ, Нєктєгаєв ІО, Остапів ДД. N-(3-трифторметилфеніл)-2-(2-оксо-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4’,3’:4,5]тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-3-іл)ацетамід, що проявляє анаболічну і андрогенну активність. Патент (на корисну модель) №98069; 05.12.2014; 10.04.2015,7. (*Особистий внесок* – синтез сполуки, інтерпретація спектрів, дизайн фармакологічних дослідженнь, обговорення результатів, оформлення патенту).

31. Зіменковський БС, Лесик РБ, **Крищишин АП**, Камінський ДВ, Нєктєгаєв ІО. 5-(1-Феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-он-6, що проявляє протипухлинну активність. Патент (на корисну модель) № 98037; 01.12.2014;10.04.2015,7.

(*Особистий внесок* – синтез сполуки, інтерпретація спектрів, дизайн фармакологічних досліджень, обговорення результатів, оформлення патенту).

32. Лесик РБ, **Крищишин АП**, Зіменковський БС. 4-[3-(5-Бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5н-тіазол-2-он, що проявляє протипухлинну дію. Патент (на корисну модель) № 142117; 27.12.2019;12.05.2020,9. (*Особистий внесок* – синтез сполуки, інтерпретація спектрів, дизайн фармакологічних досліджень, обговорення результатів, оформлення патенту).

33. Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A**, Havrylyuk D, Zelisko N, Devinyak O, Subtel'na I, Khyluk D, Atamanyuk V, Lozynskyi A, Hyrkov S, Lesyk R. Search of new anticancer thiazolidinones within structure-based design. Bridges in Life Sciences 8th Annual Scientific Conference RECOOP HST; 2013 Apr. 5-7, Prague, Czech Republic; 2013. 29:81. (*Особистий внесок* – постановка завдання та дизайн досліджень).

34. Зіменковський БС, Камінський ДВ, **Крищишин АП**, Лесик РБ. Досвід викладання ІТ-суміжних дисциплін на прикладі «Комп'ютерних технологій у фармації». Матеріали X ювілейної Всеукраїнської навчально-наук. конф. з міжнародною участю «Кредитно-модульна система організації навчального процесу у вищих медичних (фарм.) навчальних закладах України на новому етапі»; 2013 квіт. 18-19, Тернопіль; 2013. (*Особистий внесок* – постановка завдання та дизайн роботи, обговорення результатів, оформлення тез).

35. Камінський ДВ, **Крищишин АП,** Драпак ІВ, Хилюк ДВ, Лесик РБ. Пошук нових протитрипаносомних агентів серед 4-тіазолідинонів та споріднених гетероциклічних систем. Матеріали XXX Всеукр. Наук-практ. конф. з міжнародною участю «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»; 2013 трав. 23, Харків; 2013, 65-6. (*Особистий внесок* – дизайн досліджень, синтез сполук, участь в обговоренні результатів, оформленні тез).

36. Lesyk R, Zimenkovsky B, Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A**, Havrylyuk D, Zelisko N, Atamanyuk V, Lozynskyi A. Prospects of the thiopyrano[2,3-*d*]thiazole heterocyclic system exploration in structure-based drug design. Abstaract book "XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego"; 2013 Sep. 18-21, Białystok,

Polska; 2013, 175. (*Особистий внесок* – дизайн досліджень, синтез сполук, оформлення тез).

37. Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A**, Havrylyuk D, Zelisko N, Khyluk D, Zimenkovsky B, Grellier P, Lesyk R. Thiazolidinone-based design of new antitrypanosomal agents. Bridges in Life Science 10th Annual Scientific Conference, 2015 Apr. 16-19, Wroclaw; 2015, 80. (*Особистий внесок* – участь в постановці завдання та дизайні досліджень, обговоренні результатів, оформленні тез).

38. Kaminskyy D, Havrylyuk D, **Kryshchyshyn A**, Zelisko N, Leliuch M, Grellier P, Lesyk R. Design of new antitrypanosomal agents bearing 4-thiazolidinone core. Abstract book 24th Scientific Congress of the Austrian Pharmaceutical Society (OPhG); 2015, Sep. 12-14, Vienna, Austria; 2015, 38. (*Особистий внесок* – участь у дизайні досліджень, синтезі сполук та обговоренні результатів).

39. Lesyk R, Zimenkovsky B, Kaminskyy D, Havrylyuk D, **Kryshchyshyn A**, Zelisko N, Devinyak O, Khyluk D, Roman O, Lozynskyi A, Leliuch M, Wojtyra M. 5-Ene-4-thiazolidinones: Promiscous or Polyfunctional Compounds in Drug Design. Book of Abstracts Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles, CNCH-2015; 2015, Nov. 9-13, Kharkiv, Ukraine; 2015, O3. (*Особистий внесок* – участь у дизайні досліджень, синтезі сполук та обговоренні результатів).

40. Kaminskyy D, Havrylyuk D, **Kryshchyshyn A**, Zelisko N, Leliuch M, Grellier P, Lesyk R. Search for new antitrypanosomal agents among 4-thiazolidinones. Book of Abstracts The 6th International Pharmaceutical conference Science and Practice; 2015 Nov. 5-6, Kaunas, Lithuania; 2015, 14. (*Особистий внесок* – участь у дизайні дослідження, синтезі сполук, обговоренні результатів та оформленні тез).

41. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Devinyak O, Grellier P, Lesyk R. QSAR studies of 4-thiazolidinone derivatives showing antitrypanosomal activity. Abstract book Bridges in Life Sciences 11th Annual Scientific Meeting RECOOP HST; 2016 Apr. 7-10, Prague, Czech Republic; 2016, 43. (*Особистий внесок* – дизайн дослідження, участь у *in silico* розрахунках та обговоренні результатів, оформлення тез).

42. **Kryshchyshyn A**, Grellier P, Lesyk R. Dual anticancer and antitrypanosomal activity as a tool in new drug-like molecules design. Mat. of the IX Internat. Meet “From

molecular to Cellular Events in Human Pathologies"; 2016 Sep. 19-22, Lviv, Ukraine; 2016, 307. (*Особистий внесок* – постановка завдання, участь у дизайні дослідження, обговорення результатів, оформлення тез).

43. **Kryshchyshyn A**, Grellier P., Lesyk R. Hybrid-pharmacophore approach – an efficient tool in novel antitrypanosomal agents' development. Abstract book XXIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego; 2017 Sep. 19-22, Kraków, Polska; 2017, 307. (*Особистий внесок* – участь в постановці завдання, дизайні роботи, обговоренні результатів, оформленні тез).

44. Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A**, Grellier P, Lesyk R. Thiazolidinone core in the design and development of new antitrypanosomals. Abstract book International Weigl Conference; 2017 Sep. 26-29, Lviv, Ukraine; 2017, 56. (*Особистий внесок* – дизайн дослідження, синтез сполук, обговорення результатів, оформлення тез).

45. **Kryshchyshyn A**, Grellier P, Lesyk R. Summarizing recent advances in the search for new antitrypanosomals among the thiazolidine-based compounds. 8th RECOOP Annual Project Review Meeting; 2017 Oct. 19 – 21, Zagreb, Croatia; 2017, 91. (*Особистий внесок* – дизайн дослідження, синтез сполук, оформлення тез).

46. Kaminskyy D, **Kryshchyshyn A**, Lesyk R. 5-Ene-thiazolidinone based design of drug-like molecules. Abstract book XIII Diagnostic, predictive and experimental oncology days; 2017 Nov. 28 – 30, Olomouc, Chech Republic; 2017, 9. (*Особистий внесок* – участь у постановці завдання та розробленні стратегії досліджень).

47. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Golota S, Trufin Y, Derkach H, Grellier P, Lesyk R. Study of 5-aminomethylene-4-thiazolidinones as potential trypanocidals. Abstract Book 25th Wilhelm Bernard Workshop on the cell Nucleus; 2017 Jun 19-22, Nizhny Novgorod; 2017, 96. (*Особистий внесок* – участь у плануванні експерименту, розробленні стратегії досліджень та синтезі сполук, оформлення тез).

48. **Kryshchyshyn A**, Lesyk R. Search for drug-like molecules among thiopyranothiazoles. IX Konwersatorium Chemii Medycznej; 2018 Sep. 13-15, Lublin; 2018, 63. (*Особистий внесок* – синтез сполук, оформлення тез).

49. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Lesyk R. ROS dependent/antioxidant effects of thiazolidinones with dual action. 2-й міжнародний симпозіум Innovation in Medicine

Smart Lion 2018; 2018 Oct. 11-12, Lviv; 2018. (*Особистий внесок* – розроблення стратегії досліджень, оформлення тез).

50. **Kryshchyshyn A**, Lesyk R. Combination of [6+5]-heterocycles with thiazolidinone core in the design of new anticancer agents. Abstract book Recoop 14th Bridges in Life Sciences and 2nd Recoop – KFSD International Student Conference; 2019 Apr. 10-14, Bratislava, Slovak Republic; 2019, 171. (*Особистий внесок* – розроблення стратегії досліджень, синтез сполук, оформлення тез).

51. **Крищишин А**, Грельє Ф, Щадіч Е, Джубак П, Гайдук М, Лесик Р. Тіазолідинон/тіазол-феніліндол/імідазотіадіазольні гібриди – новий клас протипаразитарних агентів. Збірник наукових праць: XVII наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2019». Львів: Видавничий центр Львівського національного університету імені Івана Франка; 2019 чер 2-5, Львів; 2019, У34. (*Особистий внесок* – стратегія досліджень, синтез сполук, оформлення тез).

52. Lesyk RB, Kaminskyy DV, **Kryshchyshyn AP**. Design and development of new thiazolidinone-based drug-like molecules. Biopolym. Cell. 2019; 35(3):222. (*Особистий внесок* – участь в дизайні досліджень, обговоренні результатів та оформленні тез).

53. **А. Крищишин**, Ф. Грельє, Р. Лесик. Похідні тіазолідинону – потенційні протипаразитарні агенти. Результати досліджень та майбутні перспективи. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України “Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку”; 2019 вер.19-20, Харків; 2019, Т1:30-32. (*Особистий внесок* – планування та експериментальні дослідження).

54. **Kryshchyshyn A**, Kaminskyy D, Roman O, Kralovics R, Karpenko O, Lesyk R. Synthesis and antileukemic activity of pyrrolidinedione-thiazolidinone hybrids. Abstract book Bridges in Life Sciences 10th RECOOP Annual Review Meeting; 2019 Oct. 11-12, Wroclaw, Poland; 2019, 78. (*Особистий внесок* – участь у розробленні стратегії дослідження, опрацюванні даних, обговоренні результатів та оформленні тез).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ……... 31
ВСТУП …… 33
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ НАПРЯМКИ ПОШУКУ НОВИХ МАЛИХ МОЛЕКУЛ СЕРЕД ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНОНУ ІЗ ПРОТИПАРАЗИТАРНОЮ ДІЄЮ. МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ «СТРАТЕГІЇ ПЕРЕПРОФІЛЮВАННЯ» В ПОШУКУ АКТИВНИХ ПРОТИПАРАЗИТАРНИХ ТА ПРОТИПУХЛИННИХ АГЕНТІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)…….…….. 44
1.1. Забуті хвороби: трипаносомоз, лейшманіоз, малярія – сучасна терапія та стратегії пошуку нових лікарських засобів……..... 45
1.1.1. Трипаносомози: характеристика, сучасна фармакотерапія……. 45
1.1.2. Стратегії пошуку нових протипаразитарних агентів……..... 49
1.1.3. Лейшманіоз, малярія……..... 56
1.2. Синтетичні гетероциклічні сполуки, що використовуються у пошуку нових протипаразитарних агентів……. 57
1.2.1. Основні групи гетероциклічних похідних як протитрипаносомні агенти…….. 58
1.2.2. Протилейшманіозні агенти……..... 73
1.2.3. Протималярійні агенти……. 75
1.2.4. Розробка сполук із подвійною протипаразитарною активністю…. 77
1.3. Можливість застосування стратегії перепрофілювання в розробці нових «малих лікоподібних молекул» як антипроліферативних агентів із подвійною протипаразитарною та/чи протипухлинною активностями…… 79
1.4. Протипухлинна активність похідних тіазолідинону та споріднених гетероциклічних сполук…….…… 81
РОЗДІЛ 2 ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ…….. 85
2.1. Фізико-хімічні методи дослідження……..... 85
2.2. Дослідження біологічної активності……..... 86
2.3. Дослідження гострої токсичності *in vivo*……... 100

2.4. *In silico* дослідження……..... 101
РОЗДІЛ 3 ФОРМУВАННЯ СФОКУСОВАНИХ БІБЛІОТЕК СПОЛУК ДЛЯ СИНТЕТИЧНИХ І БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ……..…… 103
3.1. Пошук похідних тіазолідинону із подвійною протипаразитарною і протипухлинною активностями. Побудова математичної моделі для прогнозування активності різних ліній раку на їх основі…….. 103
3.2. Побудова моделей на основі QSAR-аналізу бібліотек тіазолідинон-піразолінових гібридів, ізотікумаринів та тіопіранотіазолів для прогнозування протитрипаносомних властивостей похідних тіазолідинону……... 114
ВИСНОВКИ……. 122
РОЗДІЛ 4 ДИЗАЙН ТА СИНТЕЗ ПРОТИПАРАЗИТАРНИХ І ПРОТИПУХЛИННИХ АГЕНТІВ НА ОСНОВІ 5-ЄНАМІН-4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ ТА 5-ІЛІДЕН-4-ТІАЗОЛІДИНОН-3-АЛКАНКАРБОНОВИХ КИСЛОТ……. 123
4.1. Розробка та оптимізація методів синтезу 5-іліден(ариліден) похідних 4-тіазолідинону та введення єнамінового угрупування в положення С5 базового гетероциклу……..…….. 123
4.1.1. Отримання 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-монокарбонових кислот та їх 5-етоксиметиліден похідних……..…..…….. 124
4.1.2. Синтез та перетворення 5-амінометиліден-4-тіазолідинонів із фрагментом алканкарбонових кислот у N3-положенні базового гетероциклу……. 128
4.2. Синтез та перетворення 5-іліден-роданін-3-дикарбонових кислот……. 133
4.3. Синтез та перетворення комбінаторної бібліотеки сполук на основі 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-фенілацетамідів…… 138
4.4. Спектральні характеристики одержаних сполук……... 144
4.5. Дослідження протипаразитарної та протипухлинної активності отриманих N3-заміщених похідних 5-амінометиліден-4-тіазолідинонів…….. 174
4.5.1. Дослідження протитрипаносомної активності…….. 174

4.5.2. Дослідження протипухлинної активності…….. 178
4.5.3. Дослідження протилейшманіозної активності……..…… 188
4.6. Експериментальна частина……. 189
ВИСНОВКИ……. 194
РОЗДІЛ 5 СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТІАЗОЛІДИНОН/ТІАЗОЛ-ІНДОЛЬНИХ ГІБРИДНИХ МОЛЕКУЛ……. 196
5.1. Обгрунтування гібрид-фармакофорного підходу у пошуку потенційних протипаразитарних та протипухлинних агентів. Дизайн структури тіазолідинон(тіазол)-індол(імідазотіадіазол)вмісних гібридів……... 196
5.2. Синтез ряду 4-тіазолідинон-гідразонів…….. 198
5.2.1. Синтез 2-арил-1*H*-індол-3-карбальдегідтіосемікарбазонів та 6-фенілімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбіальдегід-тіосемікарбазонів……. 198
5.2.2. Синтез 2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та 2-[(6-феніл-2,3,7,7а-тетрагідроімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів. Синтез 5-(2-*R*-етил)-2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та 5-(2-*R*-етил)-2-[(6-феніл-2,3,7,7а-тетрагідро-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів…….. 202
5.2.3. Синтез 2-{N'-[2-(феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразино}-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолів……. 209
5.3. Спектральні характеристики одержаних сполук…….. 213
5.4. Протипаразитарна активність тіазолідинон(тіазол)-індол(імідазотіадіол) вмісних гібридів……..……..…. 244
5.4.1. Скринінг протитрипаносомної активності…….…… 244
5.4.2. Скринінг протилейшманіозної та протималярійної активності…..... 249
5.5. Встановлення кореляцій структура-активність, розробка методів оптимізації найактивніших структур…..…….……. 251
5.6. Експериментальна частина…….. 252
ВИСНОВКИ……. 255

РОЗДІЛ 6 СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ КОНДЕНСОВАНИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНОНУ ТА ІНШИХ ПОЛІЦИКЛІЧНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ……... 257
6.1. Застосування гібрид-фармакофорного, комбінаторного підходів та методу молекулярної гібридизації у дизайні біологічно-активних конденсованих похідних тіазолідинону…….……. 257
6.1.1.Оптимізація підходів до отримання ізотіохроменотіазолів……. 258
6.1.2. Синтез нових похідних тіопіранотіазолу із норборнановим фрагментом у молекулі……..……... 260
6.2. Синтез та перетворення 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)-1*H*-індол-2-карбонових кислот…..……..... 266
6.2.1. Синтез похідних 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот……... 267
6.3. Спектральні характеристики одержаних сполук……... 274
6.4. Дослідження протипаразитарної та протипухлинної активності новосинтезованих сполук. Встановлення кореляцій структура-активність, розробка методів оптимізації структури……..…… 291
6.4.1. Результати дослідження біологічної активності тіазолотіопіранів…. 291
6.4.2. Результати дослідження біологічної аткивності 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1Н-індолкарбонових кислот та їх конденсованих похідних…… 298
6.5. Експериментальна частина……. 307
ВИСНОВКИ …… 312
РОЗДІЛ 7 ДИЗАЙН, СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ГІБРИДНИХ МОЛЕКУЛ, ЩО ВМІЩУЮТЬ ІНДОЛЬНИЙ ЦИКЛ, 2-ТІОКСО-4-ТІАЗОЛІДОН, 4-ТІОКСО-2-ТІАЗОЛІДОН, 3,5-ДІАРИЛПІРАЗОЛ ТА ТІОПІРАНОТІАЗОЛЬНУ СИСТЕМУ…… 314
7.1. Застосування гібрид-фармакофорного та комбінаторного підходів для спрямованого дизайну та синтезу гібридних молекул на основі тіазолідинону та інших гетероциклів…….. 314
7.2. Дизайн та синтез 5-ариліден-2-ариламінотіазолідонів-4…….. 315

7.3. Синтез гібридних молекул на основі індолін-2-карбонових кислот та індолін-2-карбоксилатів як потенційних біологічно активних сполук……..... 318
7.3.1. Отримання гібридних 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1*H*-індол-2-карбоксилатів……..…….…..... 318
7.3.2. Синтез 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот та їх похідних……..…….. 319
7.4. Синтез 4-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-онів. Комбінація піразольного циклу та 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-карбонових кислот……..... 322
7.5. Комбінація піразольного та тіопіранотіазольного циклів……..... 328
7.6. Спектральні характеристики одержаних сполук…….. 332
7.7. Дослідження біологічної активності…….. 349
7.7.1. Вивчення протипухлинної активності ряду 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів…….…….... 349
7.7.2. Дослідження протипухлинної активності гібридних молекул, що вміщують індольний та тіазолідиноновий цикли…… 357
7.7.3. Дослідження протипухлинної та протипаразитарної активності тіазолідон-піразолінових гібридних молекул……. 360
7.7.4. Дослідження протималярійної активності 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів ……..... 363
7.8. Експериментальна частина……..…… 364
ВИСНОВКИ……. 368
РОЗДІЛ 8 РОЗРОБКА QSAR- ТА ФАРМАКОФОРНИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ ПРОТИПАРАЗИТРАНОЇ АКТИВНОСТІ РІЗНОМАНІТНИХ ТІАЗОЛІДИНОНІВ. ПОГЛИБЛЕНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ РЕАЛІЗАЦІЇ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ЕФЕКТІВ ВИЯВЛЕНИХ СПОЛУК-ХІТІВ…….. 370
8.1. Розробка QSAR-моделей для прогнозування антитрипаносомної активності…… 371
8.2. Поглиблене вивчення цитотоксичності сполук-хітів до нормальних клітин

та клітин ряду пухлинних ліній та встановлення їх індексів селективності…..... 390
8.3. Дослідження механізмів дії сполуки-хіта **7.32** через PPARγ-залежні шляхи та її вплив на Cyp450 ензими……. 408
8.4. Поглиблене дослідження токсичності та інтеркаляції в ДНК сполук-хітів з групи 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів……. 412
8.5. Дослідження впливу 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-оні на полімеризацію тубуліну……..…… 416
8.6. Дослідження протимікробної та протигрибкової активності серії 5-іліден-роданін-3-сукцинімідів, 2-іліден-4-тіазолідонів та піразолідин-тіазолідинонових гібридних молекул……. 418
ВИСНОВКИ……. 426
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ…… 430
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ……... 435

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини

ЛАТ – людський африканський трипаносомоз

НЕКТ – ніфуртимокс-ефлорнітин комбінована терапія

ЛЗ – лікарський засіб

ХШ – хвороба Шагаса

РОР – проліл олігопептидаза

РФК – реактивні форми кисню

НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат

TryR – трипанотіон редуктаза

ЛЗ – лікарський засіб

VSG (variant surface glycoprotein) – поверхневий глікопротеїн

ДМСО – диметилсульфоксид

IC_{50} – концентрація досліджуваної речовини, що інгібує ріст 50% клітин

GP% – відсоток росту пухлинних клітин

GI_{50} – концентрація досліджуваної речовини, що спричиняє інгібування росту 50% клітин

TGI – концентрація досліджуваної речовини, що спричиняє тотальне інгібування росту пухлинних клітин

LC_{50} – концентрація досліджуваної речовини, що спричиняє загибель 50% пухлинних клітин

LD_{50} – концентрація, що викликає загибель 50 відсотків тварин

ЯМР – ядерно-магнітний резонанс

МТТ – метил тетразоліум тест

NRU – тест з нейтральним червоним

ТСР – дослідження вмісту загального білку клітини

LDH – дослідження виходу лактатдегідрогенази

CC_{20}, CC_{50}, CC_{80} – цитотоксичні концентрації, що інгібують життєздатність клітин на 20%, 50% та 80% відповідно

AhR – арил-гідрокарбонові рецептори

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

βNF – β-нафтофлавон

Cyp1a1, Cyp1b1, Cyp1a2 та Cyp2b10 – гени, що кодують синтез білків родини родини цитохрому Р450 - CYP1A1, CYP1B1, CYP1A2 та CYP2B10 відповідно

ЕРОД – етоксирезоруфін-О-деетилаза

МРОД – 7-метоксирезоруфін-О-деметилаза

ПРОД – пентоксирезоруфін О-деалкілази

МІС – мінімальна інгібуюча концентрація

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Протягом останніх десятиріч, процес розробки нових лікарських засобів суттєво трансформувався від *in vivo* моделей до таргетних досліджень, що, в основному, представлені спямованим дизайном високо афінних лігандів до так званих валідних біо-мішеней, що беруть участь в ключових ланках патогенезу захворювань. Таким чином береться до уваги тільки один механізм дії потенційної активної молекули. Дана редукціоністська стратегія лежить в основі високоефективного біологічного скринінгу, що дозволяє вивчення афінності тисяч сполук до визначеної біо-мішені. Незважаючи на успіх останнього в розробці декількох високоселективних лікарських засобів, часто сполуки-хіти знайдені в цьому процесі виявляються неефективними в *in vivo* дослідженняхта/або не враховують біохімічні процеси на інших рівнях складних біологічних систем. Альтернативою такому підходу є пошук активних молекул, які б впливали на різні біо-мішені, відповідальні за визначену біологічну відповідь системи. Таким чином виправданою є концепція «привілегійованих структур», що характеризуються широким спектром біологічної активності. До таких структур належать похідні 4-тіазолідинону, які виявляють широкий спектр біологічної активності, що разом із різносторонніми можливостями модифікації тіазолідинового скафолду свідчить про перспективність дослідження їх в контексті сучасної медичної/фармацевтичної хімії.

Сучасні підходи до пошуку нових високоактивних сполук часто передбачають поєднання в одній молекулі різних гетероциклічних фрагментів – використання «гібрид-фармакофорного» підходу, що дозволяє потенціювати бажану дію чи зумовлює появу нових ефектів. Зазначеній тематиці, зокрема пошуку «гібридних» протипухлинних агентів, присвячено ряд оглядових статей, що свідчать про перспективу створення інноваційних «лікоподібних» молекул шляхом поєднання різних гетероциклічних фрагментів. Ця стратегія є актуальною й для пошуку нових протипаразитарних агентів, зокрема сполук із протитрипаносомною та протилейшманіозною активностями.

Обґрунтованим є вибір гетроциклів, таких як індольний, ізатиновий, фталімідний, бензоксазольний, кумариновий, ізотіокумариновий фрагменти, що в поєднанні з тіазолідиноном утворюватимуть «гібридні сполуки». Одним з ключових фармакологічних векторів роботи є пошук потенційних протипухлинних та протипаразитарних агентів, а також сполук із кількома видами активності. В контексті розробки молекул з поліфармакологічним профілем, актуальним є пошук сполук із протипухлинною та протипаразитарною активностями зважаючи на подібність метаболічних процесів (генетична спорідненість ряду кіназ), в тому числі швидку проліферацію клітин найпростіших та пухлинних клітин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (державна реєстрація 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16).

Мета і завдання дослідження

Метою дисертаційної роботи є спрямований дизайн та синтез нових похідних 5-ен-4-тіазолідинонів, тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних гібридних молекул та тіазолвмісних поліциклічних сполук і їх біоізостерних кон'югатів як потенційних «лікоподібних молекул» із поліфармакологічним профілем, що включає протипухлинну, протипаразитарну та атимікробну активність. Застосування методів комп'ютерної хімії та експериментальних досліджень механізмів реалізації нових ефективних та низькотоксичних сполук спрямовані на створення нових прототипів протипухлинних та протипаразитарних ЛЗ.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- Провести огляд літературних даних та узагальнити сучасні підходи у терапії трипаносомозів, лейшманіозів та малярії, застосування стратегії перепрофілювання в розробці лікоподібних молекул як антипроліферативних агентів із подвійною протипаразитарною та/чи протипухлинною активностями;
- Розробити математичні моделі та провести QSAR-аналіз для різноманітних груп тіазолідинонів та споріднених гетероциклів, включно із такими, що володіють

подвійною протитрипаносомною/протипухлинною активністю з метою формування сфокусованих бібліотеки сполук для подальших досліджень;

- Розробити методи синтезу 5-єнамін-4-тіазолідинонів на основі роданін-3-карбонових кислот та 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-фенілацетамідів як потенційних протипухлинних та протипаразитарних агентів;
- На основі гібрид-фармакофорного і комбінаторного підходів та методу молекулярної гібридизації отримати ряд нових похідних тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазолів, тіопіранотіазолів та тіазолідинон/тіогідантоїн-індольних гібридних молекул і їх поліциклічних похідних. Дослідити їх протипухлинну, протипаразитарну та протимікробну активності для встановлення кореляції структура-активність;
- На основі SAR-аналізу виділити фрагменти високоактивних сполук та здійснити дизайн спрямованих суб-бібліотек молекул;
- Синтезувати низку 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів для вивчення їх протилейкемічної активності;
- Отримати гібридні 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксотіазолідин-5-іл)]-1*H*-індол-2- та 3-[(2-аміно-4-оксотіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонові кислоти та карбоксилати для дослідження їх як потенційних протипухлинних агентів;
- Застосувати гібрид-фармакофорний підхід для отримання молекул, що вміщують фрагменти тіазолідину, 4-тіазолідинон-3-карбонових кислот, тіопіранотіазолу та 3,5-діарил-3,4-дигідропіразолу;
- Встановити основні взаємозв'язки структура-активність синтезованих похідних із протитрипаносомною дією із застосуванням *in silico* методів;
- Дослідити гостру токсичність сполук-лідерів в *in vivo* експериментах.
- З метою встановлення клітинних та молекулярних механізмів біологічної дії сполук-лідерів провести їх поглиблене *in vitro* дослідження цитотоксичності щодо псевдонормальних та ряду пухлинних клітин, вивчити їх вплив на ДНК пухлинних клітин, полімеризацію тубуліну. Для дослідження ймовірних шляхів метаболізму, дослідити вплив сполук-лідерів на експресію генів, що кодують синтез білків із родини CYP450.

Об'єкт дослідження – прогнозування поліфармакологічних властивостей; дизайн структури, методи синтезу, хімічні, фізико-хімічні та біологічні властивості, залежність структура-активність; механізми реалізації біологічних ефектів 5-ен-4-тіазолідинонів, 5-ен-2-амінотіазолів-4, тіопіранотіазолів та споріднених гетероциклічних систем.

Предмет дослідження – 5-ен-4-тіазолідинони, 5-ен-2-амінотіазоли-4, тіопіранотіазоли та споріднені гетероциклічні системи як біологічно активні сполуки.

Методи дослідження

Статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442, R Commander v.2.4-4, Microsoft Excel, ANOVA, Multi-Mode Analysis. Для проведення *in silico* досліджень використовували програми Accelerys Draw 4.1, ISIS Base, AutoDock Vina, Biovia Discovery Studio, HyperChem 7.5, Dragon, OpenBabel, MOPAC, RStudio, ACDLabs, Online Chemical Database, GLORY, GLORYx. Для синтезу речовин використовувались загальні методи класичного органічного синтезу та синтезу із застосуванням мікрохвильового опромінення; для доведення хімічної структури, індивідуальності та ступеня чистоти синтезованих сполук застосовані сучасні фізико-хімічні методи (елементний аналіз, ^{1}H-, ^{13}C ЯМР-спектроскопія, мас-, хромато-мас-спектрометрія, рентгеноструктурний аналіз). Фармакологічні дослідження *in vitro* та *in vivo*: визначення протитрипаносомної, протилейшманіозної, протималярійної, протипухлинної, протимікробної активності, цитотоксичності, впливу на ДНК пухлинних клітин (програмне забезпечення Casplab-1.2.3b2), гострої токсичності, дослідження експресії генів методом ПЛР в реальному часі, впливу на полімеризацію тубуліну.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше проведено комплексне дослідження присвячене спрямованому дизайну та синтезу похідних 4-тіазолідинонів із поліфармакологічним профілем, вивчено прикладне значення стратегії перепрофілювання в розробці нових малих

лікоподібних молекул як антипроліферативних агентів із подвійною протипаразитарною та/чи протипухлинною активностями.

Методом множинної регресії вперше розроблено математичну модель для прогнозування протипухлинної дії тіазолідинонів щодо різних ліній раку на основі встановленої їх протитрипаносомної активності та ряду запропонованих і обчислених дескрипторів, виділено 8 ліній ракових клітин, показники інгібування росту яких найкраще корелюють значеннями IC_{50} щодо *Trypanosoma brucei brucei* та розроблено відповідні рівняння регресії.

Розроблено ефективні методи синтезу і одержано 328 нових похідних 4-тіазолідинонів та гетероциклічних систем на їх основі, встановлена будова, вивчені фізико-хімічні параметри та біологічна активність. Розроблено методики отримання та структурної функціоналізації похідних 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонових кислот, що дозволило одержати серії неописаних в науковій літературі різноманітних 5-арил(гетерил)амінометилен похідних, 5-арил(гетерил)іліден- та 5-єнамін-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів, які проявляють суттєву протитрипаносомну, антилейшманіозну і протипухлинну активність з високою селективністю щодо ліній лейкемії DAMI та HL-60. Синтезовано нові похідні 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-арил-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2іліден)ацетамідів та їх ариліден(гетериліден) похідні, для яких встановлено певний рівень протипухлинної дії. В рамках гібрид-фармакофорного підходу, вперше спрямовано одержано групи 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]- та 2-{(6-феніл)-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-тіазолідин-4-онів, 2-{N'-[2-(феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразино}- та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів, для яких встановлено високу протипаразитарну активність (*in vitro)* на субмікромолярному рівні щодо T*rypanosoma brucei brucei* та T*rypanosoma brucei gambiense* на фоні несуттєвої цитотоксичності на людські первинні фібробласти (клітинна лінія AB943) *in vitro* та гострої токсичності *in vivo.* Отримано нові N-заміщені похідні ізотіохроменотіазолів, опрацьовано методи синтезу 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-

азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 та їх *N*-заміщених похідних. Вперше одержано 1-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонові кислоти на основі гідролізу та рециклізації 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот, тетрациклічні 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони, 5-[(1Н-індол-3-іл)метилен]-2-тіоксо-тіа(міда)золідин-4-они та біс-аддукти 2-[1-карбокси-2-(4-карбокси-1Н-3-індоліл)-1-етенілдісульфаніл]-3-(4-карбокси-1Н-3-індоліл)-2-пропенові кислоти.

Проведено спрямований синтез та поглиблене вивчення протиракового потенціалу нових 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів, що дозволило достовірно встановити селективну протилейкемічну активність зазначеного класу гетероциклів. На основі гібрид-фармакофорного підходу запропоновано нові напрямки дизайну тіазолідинон- та топіранотіазол-піразолінових гібридних молекул, що дозволило одержати 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5Н-тіазол-2-он та його 5-іліденпохідні, 5-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-они, 2-[5-[[3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-ацетаміди, 3-піразолілзаміщені хромено[4’,3’:4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазоли, ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-2-они та 3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.02,10.04,8]тетрадецен-4(8)-они.

На основі комплексу досліджень кореляції "структура – біологічна дія", який включав віртуальний, традиційний та високоефективний фармакологічний скринінг, QSAR-аналіз, молекулярне та математичне моделювання, виділено 100 «лікоподібних» молекул з високою протираковою, протитрипаносомною, антилейшманіозною та антимікробною активностями для поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних сірка- та нітрогенвмісних гетероциклів.

На основі системного опрацювання експериментальних даних протитрипаносомної активності більше ніж 200 сполук алгоритмами машинного навчання розроблено дві нові QSAR-моделі, що описують антитрипаносомну активність та володіють хорошою прогностичною здатністю. Поглиблене *in vitro*

вивчення цитотоксичності сполук-хітів 2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-ону **5.27**, 5-метил-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-іл-метилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-ону **5.28**, метилового естеру 5-флуоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-2-карбонової кислоти **6.47**, метил 5-флюоро-3-[(2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1Н-індол-2-карбоксилату **7.32** та 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5Н-тіазол-2-ону **7.40** на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c3T3 у МТТ, довело високу селективність їх дії до пухлинних клітин у субмікромолярних концентраціях та встановило, що дезінтеграція клітинної мембрани ракових клітин є одним із етапів їх цитотоксичної дії. Проведений вестерн-блот аналіз білків, що беруть участь у регуляції процесів ініціювання, здійснення апоптозу, та стадіях клітинного циклу на клітинах HepG2 для метилового естру 5-флуоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-2-карбонової кислоти **6.47** свідчить, що у клітинах HepG2 **6.47** індукував апоптоз через каспаз 3-, PARP1- та Bax-протеїн-залежні шляхи, при цьому не впливав на проходження G1/S фази та ймовірно спричиняв зупинку фази G2/M в пухлинних клітинах. Ще одним ймовірним механізмом реалізації антипроліферативного ефекту **6.47** є пошкодження ДНК у клітинах HepG2 на рівні із препаратом порівняння Доксорубіцином встановлене методом ДНК-комет в лужному середовищі.

Дослідження впливу метил 5-флюоро-3-[(2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1Н-індол-2-карбоксилату **7.32** на експресію та активність *Cyp1a1*, *Cyp1b1*, *Cyp1a2* та *Cyp2b10* генів на лінії клітин 3T3-L1 показали, що він знижує знижує експресію *Cyp1b1* мРНК, таким чином впливаючи на активність протеїнів родини CYP450 та впливаючи на ендогенні метаболічні шляхи, екстрагепатичний метаболізм ксенобіотиків та опосередковано канцерогенез.

Вперше ідентифіковано похідні 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти, 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-сукцинімідів та 5-амінометиліден-2-іліден-3-феніл-4-тіазолідинону як високоактивні протигрибкові

(*Candida albicans*) та протимікробні (*Staphylococcus aureus*) агенти, що обґрунтовує продовження системних досліджень у наведеному напрямку.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджується патентами України корисну модель (№ 98069, 2015; № 98037, 2015; № 142117, 2020).

Практичне значення отриманих результатів

Доведена подвійна протипаразитарна та протипухлинна активності синтезованих сполук є фундаментальною основою для дизайну нових поліфармакологічних молекул або висококселективних агентів на основі біфармакофорних сполук із класу тіазолідинонів. Отримані результати є основою для розробки нових БАР із протипаразитарними, протипухлинними та протимікробними властивостями і є важливими для галузі медичної хімії.

Виконання синтетичної частини дисертаційної роботи забезпечило нові суб-бібліотеки речовин: 5-арил(гетерил)амінометилен похідних, 5-арил(гетерил)іліден- та 5-єнамін-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів, 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-арил-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2іліден)ацетамідів та їх ариліден(гетериліден) похідних, груп 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]- та 2-{(6-феніл)-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-тіазолідин-4-онів, 2-{N'-[2-(феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразино}- та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів, похідних ізотіохроменотіазолів, та 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6, 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонові кислоти, їх поліциклічні похідні, 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони, 5-[(1*H*-індол-3-іл)метилен]-2-тіоксо-тіа(міда)золідин-4-они**,** 2-[1-карбокси-2-(4-карбокси-1Н-3-індоліл)-1-етенілдісульфаніл]-3-(4-карбокси-1Н-3-індоліл)-2-пропенові кислоти, 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-они, тіазолідинон- та топіранотіазол-піразолінових гібридні молекули. Розроблені препаративні методики їх синтезу, встановлені фізико-хімічні та спектральні характеристики новосинтезованих сполук є актуальними для теорії та практики органічного синтезу.

Вперше встановлено, шо результати протилейшманіозної дії тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних гібридних молекул щодо *Leishmania major (штам* Friedlin V1) корелюють із їх протитрипаносомною та протималярійною активностями, що відкриває нові можливості для спрямованого синтезу високоселективних та низькотоксичних протипаразитарних агентів. Доведено подвійну протипаразитарну та протипухлинну активності тіазолідинон-піразолінових гібридних молекул. Для ряду тіопіранотіазолів вперше встановлено протитрипаносомну та протилейшманіозну активність. Встановлено, що наявність 2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліденового залишку в положенні С5 4-тіазолідинонового кільця є важливим фактором досягнення суттєвого рівня протиракового ефекту.

Системне вивчення протипухлинної дії синтезованих тіа(іміда)золідинон-індольних гібридних молекул дозволило встановити ряд нових особливостей кореляції «структура-дія» та виділити високоактивний метиловий естер 5-флуоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-2-карбонової кислоти **6.47,** для якого проведені поглиблені дослідження механізмів реалізації антипроліферативної дії щодо пухлинних клітин.

Шляхом реалізації гібрид-фармакофорного підходу запропоновано нові напрямки дизайну «лікоподібних молекул» із поліфармакологічним профілем. Обчислені QSAR-моделі та виділені прогностичні характеристики активних молекул є підґрунтям для *in silico* прогнозування протитрипаносомної дії та молекулярної оптимізації похідних тіазолу/тіазолідинону.

Одержані в ході роботи результати використовуються в науковому та навчальному процесі кафедр Запорізького державного медичного університету, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Національного університету «Львівська політехніка», Національного фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача

У ході виконання дисертаційної роботи автором разом із науковим консультантом зроблено дизайн дослідження, обрано основні напрямки проведення

синтетичних та біологічних досліджень. Дисертантом самостійно здійснено ґрунтовний огляд сучасної наукової літератури, окреслено стратегії пошуку нових протипаразитарних та/або протипухлинних агентів на основі гетероциклічних сполук, обрано об'єкти досліджень та зроблено дизайн досліджень біологічної активності.

Дисертантом розроблено та апробовано всі препаративні методики одержання цільових сполук та здійснено синтез переважної більшості описаних в експериментальній частині речовин, інтерпретовано спектральні характеристики, вивчено і узагальнено фізико-хімічні дані всіх синтезованих сполук. Дисертантом взято участь у фармакологічних дослідженнях, а також самостійно інтерпретовано, систематизовано і статистично оброблено отримані дані. Дисертантом взято участь у *in silico* дослідженнях (розрахунок молекулярних дескрипторів, розробка QSAR-моделей, моделювання фармакофорів, проведення молекулярних докінгових досліджень, прогнозування параметрів токсичності).

Співавторами наукових публікацій є науковий консультант та науковці, які брали участь у синтетичних, спектральних, фармакологічних, дослідженнях. Співавторами наукових праць дисертанта є автори захищених дисертацій: Лелюх М.І, 2016, Деркач Г.О, 2020. Персональний внесок дисертанта в кожну з опублікованих праць із співавторами вказано у дисертації та авторефераті у списку фахових публікацій.

Усі наукові узагальнення, результати, висновки та рекомендації, наведені у дисертації, опрацьовані та виконані автором особисто.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях (НПК): Bridges in Life Sciences 8th Annual Scientific Conference RECOOP HST (Прага, 2013), X Ювілейна Всеукраїнська навчально-наукова конференція з міжнародною участю (Тернопіль, 2013), «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2013), "XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego" (Białystok, 2013), Bridges in Life Science 10th Annual Scientific Conference (Вроцлав, 2015), Scientific Congress of

the Austrian Pharmaceutical Society (OPhG) (Vienna, 2015), Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles, CNCH-2015 (Харків, 2015), The 6th International Pharmaceutical conference Science and Practice (Kaunas, 2015), Bridges in Life Sciences 11th Annual Scientific Meeting RECOOP HST (Прага, 2016), "From molecular to Cellular Events in Human Pathologies" (Львів, 2016), XXIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego (Kraków, 2017), International Weigl Conference (Львів, 2017), 8th RECOOP Annual Project Review Meeting (Zagreb, 2017), XIII Diagnostic, predictive and experimental oncology days (Olomouc, Chech Republic, 2017), 25th Wilhelm Bernard Workshop on the cell Nucleus (Nizhny Novgorod, 2017), 2-й міжнародний симпозіум Innovation in Medicine Smart Lion (Львів, 2018), 14th RECOOP Bridges in Life Sciences (Bratislava, 2019), «Львівські хімічні читання» (Львів, 2019), "Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку" (Харків, 2019), Bridges in Life Sciences 10th RECOOP Annual Review Meeting (Wroclaw, 2019).

Публікації

Матеріали дисертаційної роботи опубліковано у 54 наукових роботах (6 одноосібних), серед яких 29 статей у наукових фахових виданнях України та інших країн (18 індексуються БД *Scopus)*, в тому числі 3 розділи монографій (1 розділ індексується у БД *Web of Science*), отримано 3 патенти України, 22 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 650 сторінках тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, восьми розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел, який містить 479 найменувань, з них 455 іноземних та 5 додатків (окремою частиною). Обсяг основного тексту становить 290 сторінок. Робота проілюстрована 49 схемами, 69 рисунками та 74 таблицями.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ НАПРЯМКИ ПОШУКУ НОВИХ МАЛИХ МОЛЕКУЛ СЕРЕД ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНОНУ ІЗ ПРОТИПАРАЗИТАРНОЮ ДІЄЮ. МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ «СТРАТЕГІЇ ПЕРЕПРОФІЛЮВАННЯ» В ПОШУКУ АКТИВНИХ ПРОТИПАРАЗИТАРНИХ ТА ПРОТИПУХЛИННИХ АГЕНТІВ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Протягом останніх десятиріч, процес розробки нових лікарських засобів суттєво трансформувався від *in vivo* моделей до таргетних біологічних досліджень [1], що дозволяють пошук ліганду до валідної біо-мішені або такої, що бере участь в патогенезі захворювання [2]. Таким чином використовується закон встановлений П. Ерліхом більш, ніж 100 років назад відповідності «ключ-замок», і береться до уваги тільки один механізм дії потенційної активної молекули [3]. Дана редукціоністська стратегія лежить в основі високоефективного біологічного скринінгу [4–7], що дозволяє вивчення афінності тисяч сполук до визначеної біо-мішені. Незважаючи на успіх останнього в пошуку високоселективних «лікоподібних» молекул [8,9], часто сполуки-хіти знайдені в цьому процесі виявляються неефективними в *in vivo* дослідженнях та/або не враховують біохімічні процеси на інших рівнях складних біологічних систем [10,11]. Альтернативою такому підходу є пошук активної молекули, яка б «включала» різні біо-мішені, відповідальні за визначену біологічну відповідь системи [12]. Таким чином виправданою є концепція т. з. «привілегійованих структур», що характеризуються широким спектром біологічної активності або як їх ще називають «molecular master keys» [13]. Однак, межа між активною молекулою, що діє на декілька мішеней з однієї родини і молекулою, що зв’язується із багатьма різними мішенями, спричиняючи побічні ефекти є дуже тонкою [14].

1.1. Забуті хвороби: трипаносомоз, лейшманіоз, малярія – сучасна терапія та стратегії пошуку нових лікарських засобів

1.1.1. Трипаносомози: характеристика, сучасна фармакотерапія.

Трипаносоми є одноклітинними протозойними паразитами з класу Кінетопластид (родина Трипаносомові) [15]. Різні види роду *Trypanosoma* є збудниками інфекційних хвороб у хребетних, включно з людиною і переносяться різними видами комах. При африканському трипаносомозі переносниками є муха цеце (Glossina palparis morsitans), а при американському трипаносомозі – клопи родини Reduviidae. *Trypanosoma brucei gambiense* (*Tb gambiense*, збудник гамбійського трипаносомозу) та *Trypanosoma brucei rhodesiense* (*Tb rhodesiense*, збудник родезійського трипаносомозу) спричиняють африканський трипаносомоз людини (ЛАТ), відомий як сонна хвороба [16,17]. *Tb gambiense* є збудником хронічної форми сонної хвороби у 36 країнах Західної та Центральної Африки (98% зареєстрованих випадків), а *Tb rhodesiense* – гострої форми в районах Східної та Південної Африки (2% повідомлених випадків та викликає) [18]. Перші ознаки та симптоми спостерігаються через кілька місяців чи тижнів після зараження. Захворювання швидко розвивається і вражає центральну нервову систему (ЦНС) і спричиняє неврологічні ураження та нейропсихічні порушення [16]. При відсутності відповідної терапії, захворювання, викликане одним із двох паразитів, призводить до коми та смерті [19]. Проте, навіть якщо діагностовано вчасно, фармакологічне лікування ЛАТ може бути в деяких випадках неефективним через проблеми з токсичністю, тривалістю лікування та побічними ефектами використовуваних ліків. Безперервні зусилля ВООЗ, урядових та, у більшості випадків, неурядових організацій скеровані на боротьбу з африканським трипаносомозом сприяли суттєвому зменшенню кількості зареєстрованих випадків, що у 2009 році зменшилася до 10000 вперше за 50 років. Цей тренд зберігається до сьогодні і у 2019 році зареєстровано менше, ніж 1000 випадків, хоча встановлена кількість людей, що знаходяться в зоні ризику інфекції становить близько 65 млн [20].

Trypanosoma cruzi (*T cruzi*) є збудником хвороби Шагаса (американський трипаносомоз), на яку страждають від 6 до 7 млн людей. Незважаючи на те, що більшість випадків трапляється в Латинській Америці, ця хвороба сьогодні поширюється і в інших регіонах [21]. Вона передається людині з інфікованими фекаліями блощиці через пошкодження шкіри під час укусу або через слизові оболонки людини. Перенесення шляхом переливання крові, вагітність та пологи є також можливим, але трапляється значно рідше [22–24]. З часу виявлення хвороби Шагаса в 1909 р., проведено численні дослідження з метою вивчення патогенезу гострих і хронічних фаз захворювання, але основні механізми розвитку хвороби все ще обговорюються. Безперечним залишається твердження, що *T cruzi* ділиться у клітинах господаря у формі амастигот, яка диференціюється в інфекційну трипомастиготну форму, що виділяється після розриву клітин-господаря. Остання спричиняє запальні реакції організму, що приводять до розширення стравоходу, мегаколон і порушення серцевої провідності. В одному випадку утворення уражень під час хронічної стадії хвороби Чагаса пов'язане з циркуляцією паразитів в організмі. Другий можливий патогенетичний механізм полягає в імунній реакції організму господаря, який не залежить від наявності паразита [25,26]. Якщо гостра форма часто є асимптоматичною або характеризується неспецифічними симптомами, крім шагоми або симптому Романьї, хронічна фаза може бути поділена на асимптоматичну невизначену фазу та симптоматичну визначену [27]. У 60-70% серологічно позитивних пацієнтів немає жодної маніфестації хвороби; у решти 30-40% спосергіаються кардіологічні та гастроентерологічні ускладнення (симптоматичну фаза) [28]. Раніше, автоімунні реакції вважалися первинними факторами, що спричиняють ураження при хронічній стадії захворювання. Останні дослідження показали, що наявність паразитів в організмі також сприяє розвитку запальних реакцій, що в свою чергу ведуть до ускладнень в серцево-судинній та шлунково-кишковій системах. Таким чином, успіх терапії суттєво залежить від елімінації *T cruzi* з організму [26].

Фармакотерапія африканського трипаносоміазу. На сьогодні для лікування ранньої та пізньої стадій ЛАТ застосовуються чотири основні лікарські засоби:

Сурамін, Пентамідин, Меларсопрол та Ефлорнітин [29,30] (Рис.1.1). Ефективність терапії знижується за рахунок довготривалості лікування, а також серйозних побічних ефектів лікарських засобів. Ще однією проблемою є шлях введення препаратів – тільки довенний та дом'язовий. Беручи до уваги низький рівень життя людей в ендемічних районах, ефективнішими та простішими в застосуванні були би пероральні форми ЛЗ [31,32].

Прогноз терапії та вибір лікарського засобу залежить від стадії хвороби та підвиду збудника. Пентамідин і застосовуються для терапії першої гемолімфатичній стадії ЛАТ *Tb gambiense,* тоді як Сурамін - гемолімфатичній стадії ЛАТ *Tb rhodesiense.* Незважаючи на незначні побічні ефекти д/м або д/в введення Пентамідину, такі, як гіпоглікемія, подовження інтервалу QT на електрокардіограмі, гіпотензія та порушення функції шлунково-кишкового тракту, він загалом добре переноситься у пацієнтів і зазвичай є ефективним і характеризуються меншою токсичністю та простотою введення. Терапія Сураміном (д/в), хоча зазвичай є ефективною, може призвести до таких ускладнень, як ниркова недостатність, ураження шкіри, анафілактичний шок, токсична дія на кістковий мозок і такі неврологічні ускладнення як периферична нейропатія [32–34].

Терапія другої менінгоенцефалітної стадії, що характеризується інвазією ЦНС, потребує лікарських засобів, що проходять через гематоенцефалічний бар'єр; відповідно такі препарати є токсичніші і важчі для введення [31,32]. Важливим поступом в терапії африканського трипаносоміазу була розробка комбінованої терапії Ніфуртімокс-Ефлорнітин (НЕКТ), яка зараз стала стандартною терапією першої лінії для ЦНС-стадії *Tb gambiense* ЛАТ, а довенне застосування Меларсопролу тепер належить до другої лінії [16,19,35]. Зважаючи на високу токсичність і спричинення посттерапевтичної реактивної енцефалопатії у 5–18% пацієнтів, що може бути летальною [36–38], Меларсопрол (тривалентна сполука арсену, що діє на трипанотіон) є препаратом для терапії другої стадії тільки ЛАТ *Tb rhodesiense* [39]. Для лікування ЛАТ *Tb gambiense,* Меларсопрол призначається тільки у випадку рецидиву або неефективності терапії НЕКТ чи монотерапії Ефлорнітином.

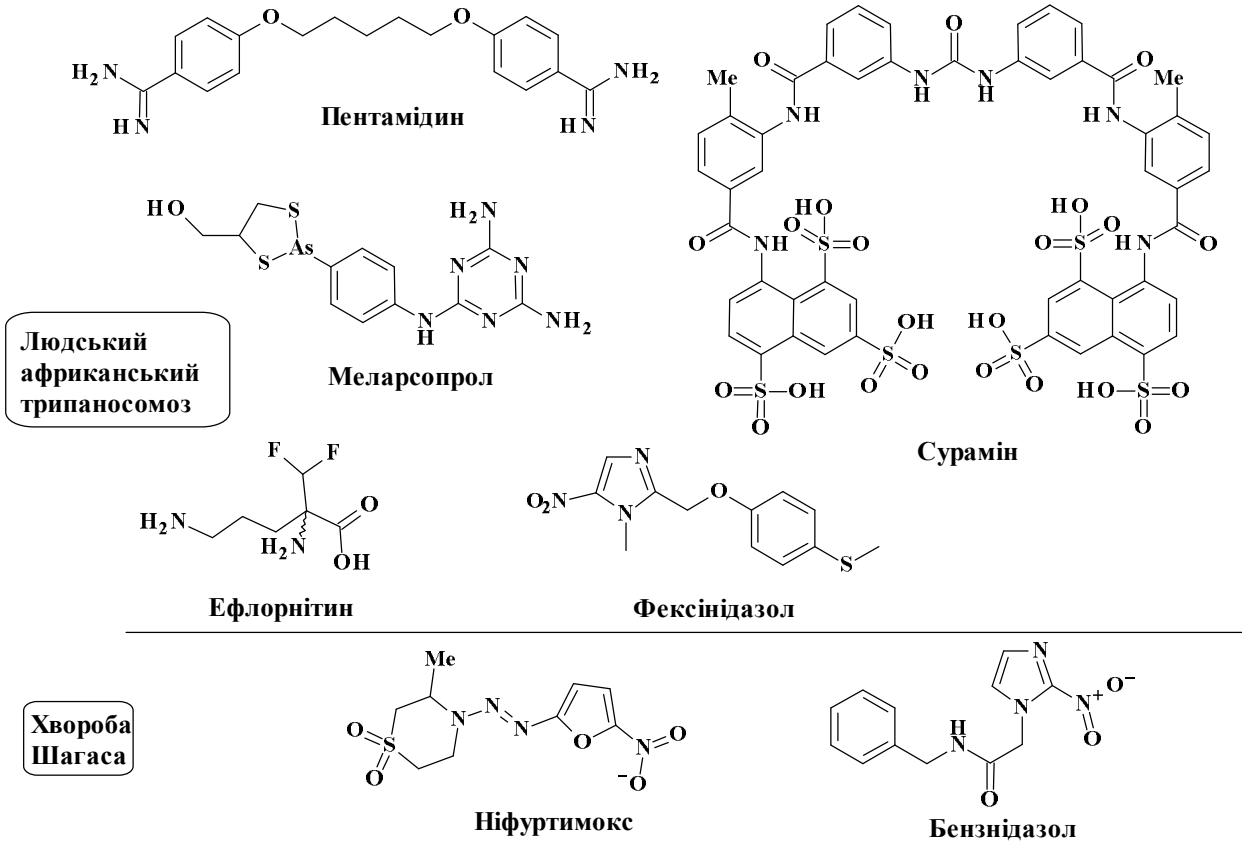


Рис.1.1. Структура протитрипаносомних лікарських засобів.

Новим ефективним пероральним засобом проти ЛАТ є Фексінідазол, затверджений Європейською медичною агенцією для терапії ЛАТ *Tb gambiense* у 2018 [40–42]. Відповідно до нових вказівок ВООЗ, за певних умов Фексінідазол може замінити Пентамідин як препарат вибору для лікування першої стадії ЛАТ *Tb gambiense* та замінити комбіновану терапію Ніфуртимокс-Ефлорнітин при другій стадії ЛАТ *Tb gambiense.* Проте, ці рекомендації не можуть бути застосовані для пацієнтів до 6 років або з вагою менше, ніж 20 кг [40,43]. Ще однією новою сполукою (для перорального застосування) для лікування всіх стадій ЛАТ *Tb gambiense* є Акозіборол, що знаходиться на II/III фазі клінічних випробувань (NCT03087955) [43].

Фармакотерапія хвороби Шагаса. Незважаючи на вражаючий поступ в розумінні біології збудника *T cruzi,* єдиними доступними лікарськими засобами для лікування американського трипаносомозу є Ніфуртимокс та Бензнідазол, ефективні в гострий період хвороби Шагаса (до 80 % ефективності), але обмежено застосовуються в її пізній встановленій формі [44,45]. Бензнідазол є нітроімідазолом

здатним генерувати вільні радикали в аеробних та анаеробних умовах [46] і, внаслідок широкого профілю безпеки та ефективності, є препаратом вибору для монотерапії ХШ. Хоча, при наявних генералізованих побічних реакціях [27] та рідко – випадків стійкості до Безнідазолу, альтернативним препаратом вибору є Ніфуртимокс. Механізм дії ніфуртимоксу полягає в продукції вільних радикалів (в основному супероксид аніонів, гідрогену пероксиду) та електрофільних метаболітів [47]. Обидва засоби мають низку побічних ефектів, особливо в дорослих, на противагу новонародженим та малим дітям, які переносять терапію значно краще [48,49]. На жаль, на даний час, немає ефективної терапії для більшості пацієнтів із хронічною формою хвороби Шагаса. Лікуванні в гострому періоді є ефективним у близько 70% випадків, а у новонароджених та немовлят із вродженою хворобою Шагаса у 98-100%. З одного боку, є свідчення про ефективність Бензнідазолу на ранніх стадіях хронічної форми захворювання [44], але, з іншого, доцільність протитрипаносомної терапії при хронічній формі залишається контроверсійною, зважаючи на значну токсичність такої та недоведену роль у запобіганні розвитку кардіоміопатії [21]. Таким чином, лікування більшості пацієнтів із хронічною стадією ХШ здебільшого не є етіотропним, а отже, розробка нових ефективних лікарських засобів, особливо для лікування хронічної стадії, є актуальним завданням [50].

Дослідження геномів *T brucei* довело, що в певний момент тільки один варіант гену, що кодує поверхневий глікопротеїн є експресований, а експресія цих генів швидко змінюється. Це дозволяє паразиту уникати імунної відповіді господаря за допомогою засобів антигенної варіації. Таким чином, вакцинація проти ЛАТ є неможливою на даний момент [32,33]. Вакцини проти *T cruzi* інфекції також немає, хоча вакцинування повинно бути однією із стратегій контролю та превентивним заходом щодо хвороби Шагаса [51].

1.1.2. Стратегії пошуку нових протипаразитарних агентів

Описані інфекційні тропічні хвороби належать до т. з. світових забутих хвороб, що впливають переважно на бідне населення у сільських районах, і відповідно розробка нових протитрипаносомних лікарських засобів недостатньо інвестувалася урядами та фармацевтичною промисловістю протягом довгого часу [36,44]. Як наслідок, в останні роки крім Спеціальної програми досліджень та тренінгів з тропічних хвороб ВООЗ (Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases of WHO (WHO/TDR), були створені різноманітні мережі, партнерства та консорціуми, як наприклад Європейська комісія (the European Commission) [52] – приклад урядової агенції чи міжнародна Ініціатива Лікарських засобів для Забутих Хвороб (Drugs for Neglected Diseases Initiative, DNDi) [53]. Робота цих організацій має незаперечний позитивний вплив на розвиток нових методів терапії та усунення трипаносомозу в світі.

У загальному, можна виділити три основні підходи розробки нових лікарських засобів, актуальні і для протипаразитарних агентів: і) ліганд-орієнтований підхід, іі) мішень-орієнтований підхід [54] та ііі) фенотиповий скринінг [55]. Пошук нових протитрипаносомних агентів охоплював різноманітні класи сполук, як наприклад, тіосемікарбазони, тіазолідини, тріазоли, похідні фурану, бензофурану, ацил- та арилгідразони, пептидоміметики тощо [56].

І. Ліганд-орієнтований підхід використовує структури синтетичних та природніх сполук із встановленою активністю або впроваджених лікарських засобів як вихідні молекули для розробки нових агентів [57]. Прикладом, може бути аналог пентамідину DB289, що дійшов до фази доклінічних та клінічних досліджень [58]. Іншими прикладами даної стратегії є розширення діапазону призначень відомих лікарських засобів [59].

ІІ. Мішень-орієнтований підхід включає скринінг бібліотек ЛЗ, для яких встановлені біо-мішені, або скринінг бібліотек нових сполук щодо визначеної біо-мішені. Структуру ідентифікованих сполук-лідерів часто оптимізують з метою покращення фармакокінетичних показників, підвищення селективності чи зниження токсичності [60]. Варто відзначити, що «валідність» біо-мішеней, що використовуються для розробки протитрипаносомних агентів не завжди визначено.

Для допомоги науковцям в процесі раціонального дизайну протипаразитарних агентів, була започаткована WHO/TDR Target Prioritization Networ, де було розроблено базу даних мішеней TDR Targets Database. Ця база містить інформацію про валідовані, есенціальні, а також прогнозовані мішені паразитів; вона може також слугувати як інструмент пріоритизації мішеней в цілому геномі [61–63].

Основні мішені, що використовуються в пошуку нових протитрипаносомних агентів коротко представлені на Рис. 1.2.

Пептидази трипаносом. Трипаносоми характеризуються великою кількістю різноманітних внутрішньо та/або зовнішньо клітинних пептидаз, що відіграють важливу роль в різних функціях клітини включно з абсорбцією, пенетрацєю, внутрішньоклітинним виживанням, реплікацією, диференціацією, інфекційністю, уникненням імунної відповіді та живленням. Багато з цих пептидаз є виділено та описано, і вважається привілейованими та «валідованими» мішенями в царині розробки протитрипаносомних агентів. Трипаносмні пептидази належать до ендопептидаз та включають крузипаїн, олігопептидазу B (*T cruzi*), конгопаїн (*T congolense*), родезаїн (*Tb rhodesiense*) та бруціпаїн (*Tb brucei*) [64]. *Крузіпаїн-крузаїн-gp57/51.* Крузипаїн або крузаїн є основною цистеїновою пептидазою і диференційовано експресується на 4-х основних стадіях біологічного циклу *T cruzi.* Одним з його ефектів є властивість індукувати продукцію прозапальниго пептиду - брадикініну, опосередковано через протеоліз кініногену або біоактивації плазматичного пре-калікреїну. Крузипаїн є сульфованим глікопротеїном, досліджений не тільки як біо-мішень для ліків, але й як кандидат для розробки вакцини [65]. Селективні інгібітори цієї пептидази зупиняють метациклогенез та блокують проліферацію позаклітинної епімастиготної та внутрішньоклітинної амастиготної форм [64].

Родезаїн, бруціпаїн та конгопаїн. Ці основні лізосомні цистеїнові пептидази є катепсин-L-подібними ензимами і належать до двох близьких родин *цистеїнових пептидаз* - CP1 and CP2. Структурно ці пептидази є достатньо подібні (90% амінкислотних послідовностей ідентичні), однак відрізняються *N*-термінальними послідовностями [64].

Пептидази серинового типу. Серинові пептидази є найбільшим класом пептидаз, до яких належать родин трипсину та хімотрипсину. Тільки декілька з цього класу є охарактеризовані для трипаносоматид і тільки дві використовуються як мішені для хемотерапії: олігопептидази B та Tc80- представники групи проліл олігопептидаз (*T cruzi*) [64,66]. Олігопептидаза B є цитозольним ферментом, який бере участь в інвазії клітин господаря (людини) трипомастиготами і, відповідно, у встановленні інфекції [67,68]. Олігопептидаза B вивільняється у кровоносне русло із збереженням повної каталітичної активності, навіть за присутності протеазних інгібіторів в крові, і спричиняє аномальну деградацію пептидних гормонів господаря [69]. Протеолітична активність (Tc80), що виявляється на всіх стадіях розвитку *T cruzi,* зумовлена родиною проліл олігопептидаз (prolyl oligopeptidase family (POP)), що секретуються трипомастиготами і також асоціюються із малими везикулами оточуючими джгутикову кишеню цієї форми. Інгібітори POP Tc80 блокують інвазію клітин господаря трипомастиготами; можна сподіватися на селективність інгібіторів до паразитарних та людських пролінових олігопептидаз [70–72].

Нітроредуктаза I типу. Активність нітроредуктази I типу вважається «киснево нечутливою», так як вона не задією кисень в процесі відновлення і відповідно не спричиняє продукцію реактивних форм кисню (РФК), на відміну від «киснево чутливої» нітроредуктази II типу. Зважаючи на те, що екстракти трипаносом після дії ніфуртимоксу містили супероксид аніон та нітро аніон радикали, його основним механізмом дії вважається оксидативний стрес за участі нітроредуктази II типу. Хоча, є докази, що селективна дія ніфуртимоксу на паразитів відбувається за рахунок експресії нітроредуктази I типу та утворенню токсичних нітрозильних продуктів [73].

Доліхолфосфат манозосинтаза належить до манозилтрансфераз критично задіяних у біосинтезі глікоконюгатів у *T brucei*. Паразит покритий так званим „dense cell-surface coat", що складається з мільйонів варіантів змінного поверхневого глікопротеїну (variant surface glycoprotein VSG), які діють як фізичний дифузний бар'єр для компонентів вродженого імунітету. Зазначена глікопротеїнова оболонка

підлягає постійній антигенній варіації, так як паразит переключається між багатьма імунологічно відмінними генами VSG, таким чином залишаючись на крок попереду від імунної системи господаря. Всі варіанти VSG зв'язані із плазматичною мембраною трипаносом за допомогою глікозилфосфатидилінозитольних якорів. Доведено, що біосинтез останніх є ессенціальним для життєздатності кров'яної форми *T brucei,* що валідує їх як біо-мішень для пошуку ЛЗ [74].

Дигідрофолат редуктаза – ключовий ензим у фолатному метаболізмі, докладно вивченому в процесі дизайну ряду протиракових, антибактеріальних, протитрипаносомних та антималярійних агентів [75–78]. Дигідрофолат редуктаза відновлює дигідрофолат до тетрагідрофолату використовуючи кофактор нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ). Детальний структурний аналіз дигідрофолат редуктаз *T brucei* і *T cruzi* показав їх високу структурну подібність та відмінність від людського ферменту, що свідчить про привабливість останніх для спрямованого дизайну ЛЗ. Відомі інгібітори дигідрофолат редуктази, як триметоприм та піриметамін, є слабо активними відносно дигідрофолат редуктаз *T brucei* і *T cruzi*, на відміну від метотрексату, що інгібує даний ензим *T cruzi* в наномолярних концентраціях [79].

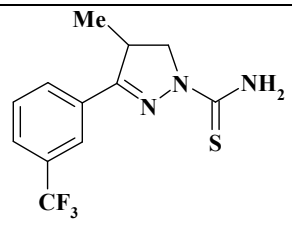
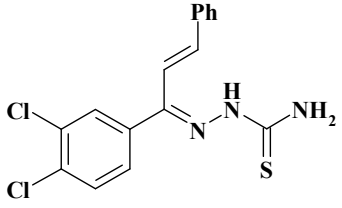
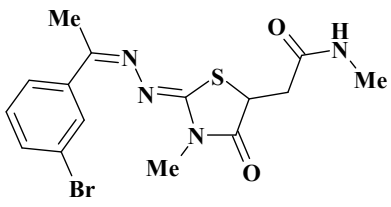
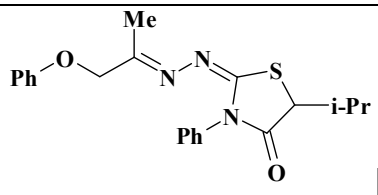
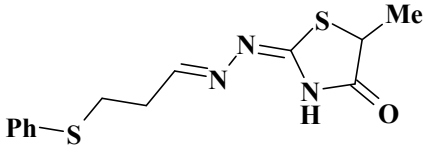
Трипанотіон редуктаза (TryR) належить до ензимів родини НАДФ-залежних флавопротеїнових оксидоредуктаз, яка перетворює трипанотіон дисульфід у фізіологічно відповідний відновлений дитіол. При відсутності каталази та глютатіон пероксидази, трипаносоматиди використовують трипанотіонову систему у відповідь на оксидативний стрес. Трипанотіон дисульфід відіграє до певної міри таку ж роль як глютатіон у клітинах людини. Хоча, людська глютатіон редуктаза є гомологічною до трипанотіон редуктази, все ж є суттєві відмінності в структурі їхніх активних сайтів [80–82].

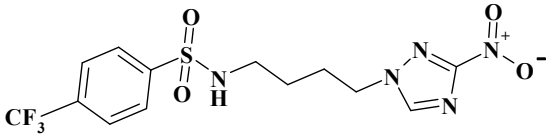
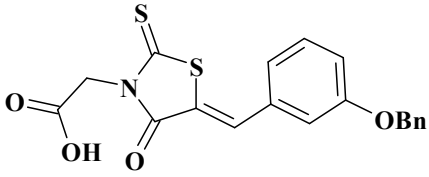
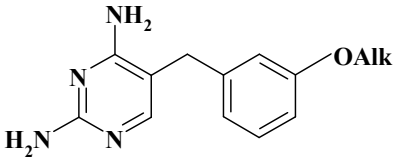
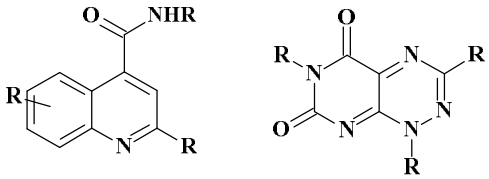
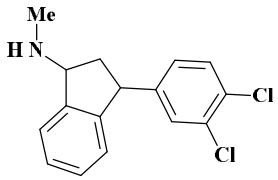
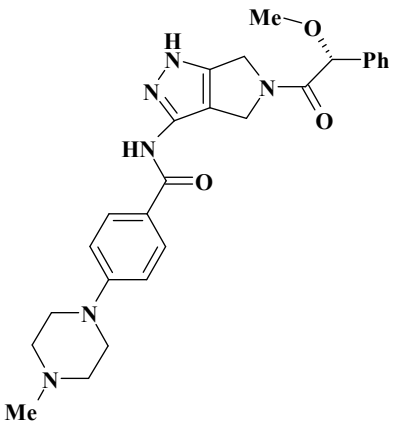
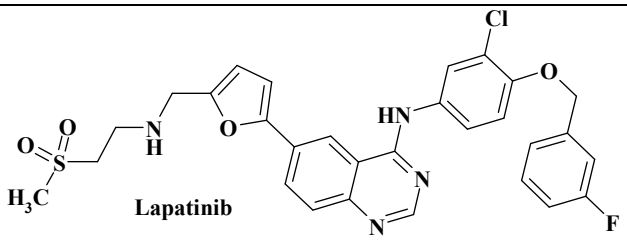
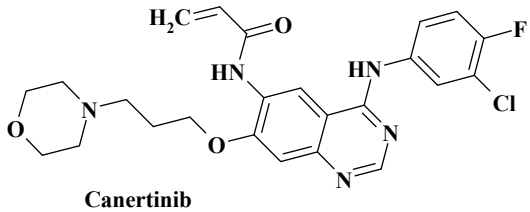
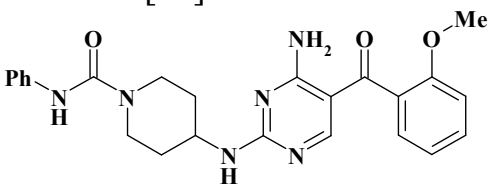
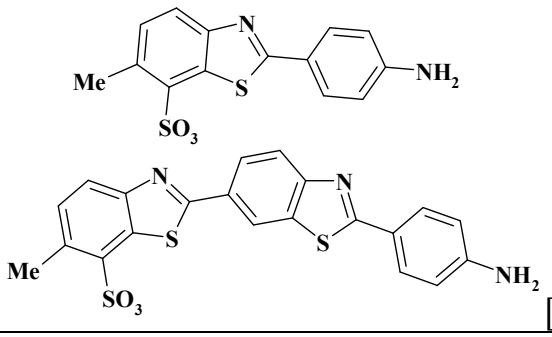
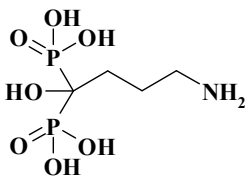
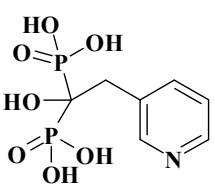
Протеїн *кінази* є ключовими медіаторами сигнальної трансдукції (включно із двома основними супер-родинами протеїн серин/треонін кіназ та протеїн тирозин кіназ). Геномний аналіз *T brucei* та *T cruzi* виявив 156 та 171 еукаріотичну протеїн кіназу в геномах паразитів. Така суттєва кількість протеїнн кіназ вказує на їх важливу роль у життєвому циклі трипаносоматид [83,84]. На можливість

використання цього ферменту у процесі пошуку нових агентів вказує структурна відмінність між протеїн кіназами людини і паразиту, а також дослідження, що підтверджують необхідність останніх для життєздатності паразита [85].

Тріозофосфатізомераза – ензим, що каталізує взаємоперетворення гліцеральдегід-3-фосфату та дигідроксиацетонфосфату у гліколітичному шляху [100–102]. Використання цього ферменту як біо-мішені пов'язане з рядом проблем, однією з яких є наявність його в людини і паразита; ідентичність структур людської та паразитарної тріофосфатізомераз становить близько 68-74% [103]. Аналіз тріофосфатізомераз *T brucei* та *T cruzi* показав їх високу подібність, хоча є структурні відмінності, що впливають на їхню чутливість до сульфгідрильних реагентів ($MeSO_2$-SMe взаємодіє із доступними залишками цистеїну утворюючи метил дисульфіди, що припиняє каталітичну функцію ферменту). Найвищу чутливість показала тріофосфатізомераза *T cruzi*, що може бути відмінною мішенню для розробки селективних агентів для терапії хвороби Шагаса [104].

Фарнезил-дифосфат синтаза каталізує конденсацію ізопентеніл дифосфату і диметилалілдифосфату з утворенням послідовно гераніл дифосфату і фарнезил дифосфату, що є прекурсорами для біосинтезу ізопренових похідних (напр., доліхолів, стеролів) та пренілляції протеїнів. Біфосфонати, такі як алендронат і різедронат вважаються лігандами для фарнезил дифосфат синтетази *T cruzi* [97,105].

Трипаносоматидні пептидази (крузіпаїн, бруціпаїн, родезаїн)
 [86]  [87]  [88]
 [89]  [90]

Нітроредуктаза I типу	Доліхолфосфат маносинтаза
 [91]	 [74]
Дигідрофолат редуктаза	**Трипанотіон редуктаза**
 [79]	 [81]  **Індатралін** [101]
Кінази	
 [93]  **Lapatinib**  **Canertinib** [94]  [95]	
Тріозофосфат ізомераза	**Фарнезил-дифосфат синтаза (*T cruzi*)**
 [96]	 **alendronate**  **risendronate** [97]

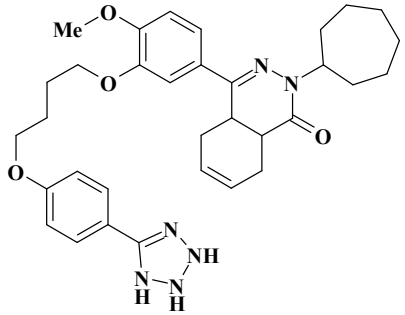
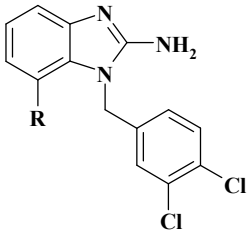
Фосфодіестерази	Птеридин редуктаза 1
 [98]	 [99]

Рис. 1.2. Структури лігандів до біо-мішеней, що часто використовуються в пошуку протитрипаносомних агентів.

Циклічні нуклеотид специфічні *фосфодіестерази* також вважаються перспективними біо-мішенями для протитрипаносомних ліків [98]. Геномом *T brucei* кодується чотири окремих родини фосфодіестераз [106].

III. В еру таргетної терапії, не слід недооцінювати *фенотиповий скринінг*, що полягає у дослідженні бібліотек сполук щодо цілої клітини чи біологічної системи [107–109]. Цей підхід є дуже корисним у розробці трипаноцидних агентів [55,110], оскільки успіх терапії сильно залежить від пенетрації молекул ЛЗ у паразит та від можливості проходження ними гемато-енцефалічного бар'єру. Інколи, високоафінні ліганди до валідних трипаносомних мішеней виявляються неефективними в *in vitro* експериментах на культурі клітин паразитів чи *in vivo* [56]. Встановлення механізмів дії сполук-хітів, ідентифікованих в результаті фенотипового скринінгу також сприяє пошуку нових, ессенціальних для паразита біо-мішеней [55].

1.1.3. Лейшманіоз, малярія.

Протозойні паразити роду *Leishmania* належать до того ж класу *Kinetoplastida*, що й *Trypanosoma*, маючи подібні деякі філогенетичні риси [111]. Однакові структурні та біохімічні ознаки включають специфічні органели – кінетопласт (мітохондрія із кільцевою ДНК), що є задіяна в процесі гліколізу; глікосоми, суб-пелікулярні мікротрубочки та унікальний метаболізм тіолу [112,113]. Таким чином,

сполуки-хіти виявлені в процесі пошуку протитрипаносомних агентів можуть досліджуватися я к потенційні протилейшманіозні агенти і навпаки [11,14,79]. Три форми лейшманіозу – вісцеральний, шкірний та шкірно-слизовоий є серйозними інфекційними захворюваннями тропічних та субтропічних регіонів; щороку виявляють близько 1 млн нових випадків [114]. Передається зараженими самками різних видів москітів (*Phlebotomus* або *Lutzomyia spp.*), тому векторний контроль та рання діагностика є важливими питаннями у запобіганні виникнення захворювання. За відсутності вакцин проти лейшманіозу, хіміотерапія залишається основним інструментом лікування заражених людей. Оскільки існує ряд недоліків антилейшманіальних препаратів, що застосовуються на даний час, як наприклад токсичність (для Пентамідину), виникнення резистентних штамів (до дії антимоніальних препаратів), висока вартість (для високоефективного ЛЗ Амбізому) або тератогенність (для Мілтефозину) [115], необхідною є розробка нових ефективних, доступних, нетоксичних та простих у застосуванні препаратів проти лейшманіозу,які б були активними до резистентних штамів збудника.

Малярія – інфекційне захворювання, спричинене паразитами роду *Plasmodium*, два види яких *Plasmodium falciparum* (*P falciparum*) та *Plasmodium vivax* (*P vivax*) спричиняють понад 95% усіх клінічних випадків та випадків смерті. Хоча останніми роками спостерігається зменшення смертності від малярії зважаючи на ефективність комбінованої терапії на основі Артемізиніну, новою проблемою є виникнення резистентності до останнього [116]. Традиційні напрямки пошуку нових протималярійних засобів зазвичай охоплюють вивчення різних аналогів артемізиніну, а також різних похідних амінохіноліну [117,118]. Незважаючи на те, що комбінована терапія на основі Артемізиніну відіграє ключову роль у програмах боротьби з малярією, розробка нових класів ефективних засобів проти резистентних до артемізиніну штамів *Plasmodium ssp*., а також орієнтація на кілька етапів життєвого циклу паразитів є важливою проблемою.

1.2. Синтетичні гетероциклічні сполуки, що використовуються у пошуку нових протипаразитарних агентів

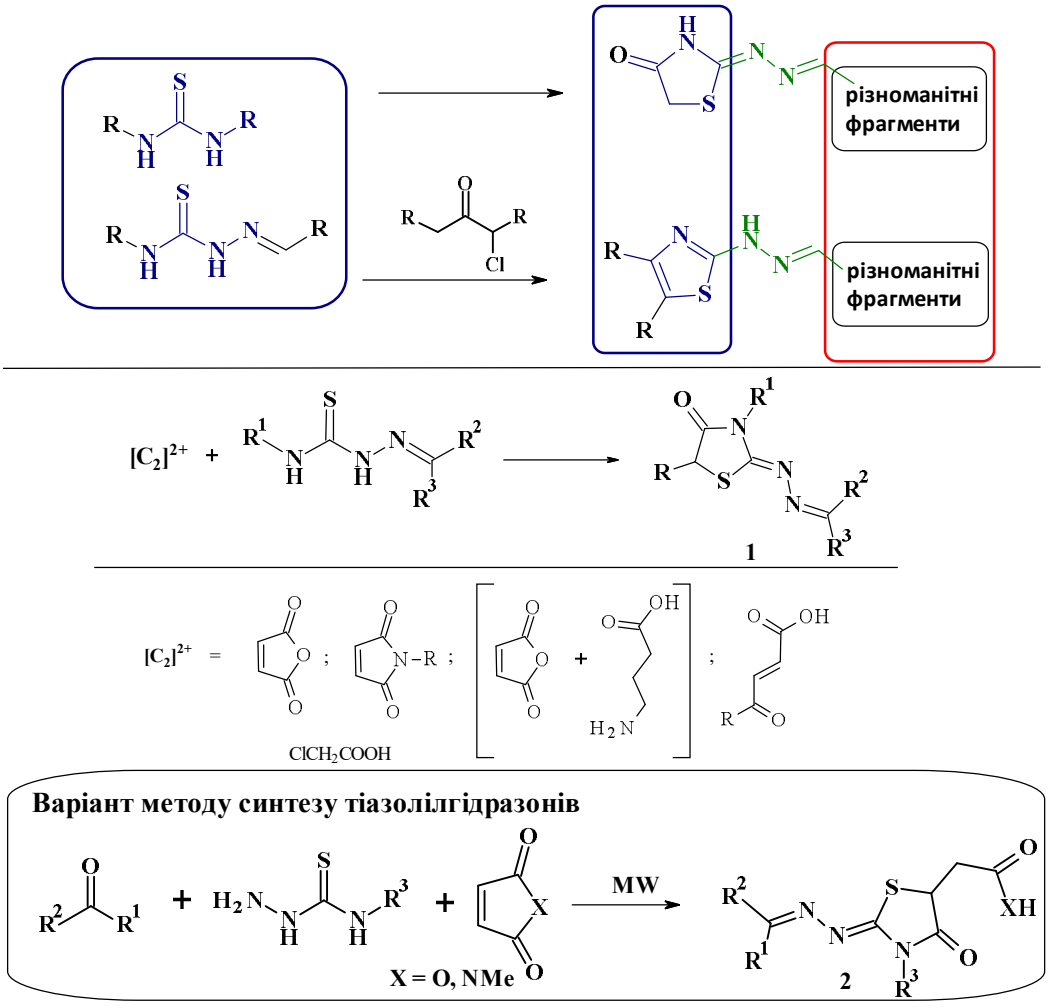
1.2.1. Основні групи гетероциклічних похідних як протитрипаносомні агенти

У пошуку нових протитрипаносомних агентів використовують не тільки нові малі органічні молекули, але й відомі біологічно активні сполуки та лікарські засоби. Класи тіосемікарбазонів, їх нітро-похідних, комплексів тіосемікарбазонів з йонами металів, а також гетероциклічних тіазолідинонів та тріазолів, в основному, є дослідженими як агенти проти хвороби Шагаса. Особливий інтерес представляє дизайн антитрипаносомних агентів на основі тіазолідинонового циклу [119,120]. Одним з аргументів на користь останніх, є твердження, що тіазоли, особливо 4-тіазолідинони можуть розглядатися як циклічні аналоги та біоміметики тіосечовин/тіосемікарбазонів, що є синтезовані в результаті оптимізації останніх [121]. У літературі описано різні (тіо)сечовини/(тіо)семікарбазиди [122–124], а також їх комплекси з металами, що інгібують проліферацію та ріст трипаносом [125–127] та володіють високою афінністю до трипаносомних біо-мішеней: крузаїну та родезаїну [128,129], цистеїнових протеаз [130,131] тощо. Продовження теми досліджень тіосемікарбазонів відображено у вивченні протитрипаносомної дії різноманітних похідних тіазолідину [120,121,132,133]. 4-Тіазолідиноновий цикл (2,4-тіазолідиндіон, роданін (2-тіоксо-4-тіазоілдинон), 2-алкіл(арил)-заміщені та 2-аміно(іміно)-заміщені 4-тіазолідинони) широко використовуються як привілейовані структури та суб-структури для дизайну «лікоподібних» молекул, в тому числі із протипаразитарними властивостями [134,135].

Комбінація тіазольного/тіазолідинонового циклів із гідразонним фрагментом, як лінкерною групою, є одним із шляхів оптимізації потенційних сполук із протитрипаносомною дією [88,122,136–141]. Цільові сполуки з тіазольним кільцем **1** отримуються відомим методом Ганча [142] шляхом взаємодії арил-тіосемікарбазонів із α-галогенкетонами чи α-галогенальдегідами. Відомі також варіації умов даної реакції, як наприклад, синтез під дією ультразвуку при кімнатій температурі [143], що дозволяє скоротити час реакції. Крім того, опрацьовано синтез 2-гідразоліл-4-тіазолідинон-5-карбонових кислот та амідів 2-гідразоліл-4-

тіазолідинонів **2** в мультикомпонентній реакції тіосемікарбазиду, альдегіду та малеїнового ангідриду (чи іміду) під дією мікрохвильового випромінювання [88] (схема 1.1). Гетерополікислоти типу Кегіна у ролі каталізаторів для синтезу 2-((Z)-2-((E)-(3,4-дигідронафтален-1(2H)-іліден)гідразоно)-5-оксо-3-фенілтіазолідин-4-іл)ацетаміду виявилися неактивними, і останній синтезовано в середовищі ацетонітрилу з додаванням каталітичних кількостей сульфатної кислоти із малеїніміду та відповідного тіосемікарбазону [144].

Схема 1.1



Результати *in vitro* (до обох епімастиготної та трипомастиготної форм *T cruzi*) та докінгових досліджень (до крузаїну) арил-4-оксотіазолілгідразонів довели їх протипаразитарний потенціал у концентраціях нижчих, ніж цитотоксичні. Найактивнішим серед цього ряду був *N*-(4-оксо-5-етил-2'-тіазолін-2-іл)-*N*'-фенілтіо-(*Z*)-етиліденгідразон **3** (IC_{50}= 0.3 μM; епімастиготна форма, Y штам). Цікаво відзначити, що подовження лінкера між гетероциклом та ароматичним кільцем

спричинило десятикратне зменшення проліферуючої активності [145]. Найактивнішими інгібіторами крузаїну і трипаноцидними агентами (щодо *T cruzi*, епімастиготна і трипомастиготна ф-ми) серед ряду тіосемікарбазонів та їхніх біоізостерів тіазолілгідразонів **3** були тіазолілгідразони 5-метил-2-[(2-*n*-толілсульфаніл-етиліден)-гідразоно]-тіазолідин-4-он і 5-метил-2-[(3-фенілсульфаніл-пропіліден)-гідразоно]-тіазолідин-4-он (IC_{50} = 20.4 μM та 0.4 μM в експерименті інгібування крузаїну). Активність останнього була співмірною із такою препарату порівняння бензнідазолу. Вартує відзначити, низьку цитотоксичність тіазолілгідразонів (100 мкг $мл^{-1}$) у порівнянні з тіосемікарбазонами і тіоксотіазолілгідразонами токсичними до мишачих спленоцитів в низьких концентраціях (≤1 мкг/мл), що може свідчити про вплив тіокарбонільної групи на неспецифічну цитотоксичність до клітин людини і паразита [90]. В процесі віртуального скринінгу 500000 сполук (база даних ZINC 5), були ідентифіковані тіазолідинони **4**, що інгібували крузіпаїн у мікромолярних концентраціях [146]. Подібні сполуки структури **5** характеризувалися високою антипроліферативною концентрацією щодо епімастиготів *T cruzi,* але були неактивними стосовно крузіпаїну [88]. Аналіз взаємодії структура-активність похідних 2-імінотіазолідин-4-ону з різними замісниками в положеннях N3, C4 та C5 довів доцільність використання 4-тіазолідинонового скафолду. В експерименті на *T cruzi* було ідентифіковано сполуки із величинами IC_{50} співімірними із активними концентраціями бензнідазолу (IC_{50}= 6.2 мкМ та 6.6 мкМ для трипомастиготів і епімастиготів відповідно). Сполуки **6** також інгібували активність крузаїну (IC_{50} ~ 10 мкМ) і не впливали на життєздатність спленоцитів миші (>100 мкг/мл). Дослідження активності їх аналогів - 2-іміно-1,3-тіазолів показало, що ізостерна заміна тіазолідинового циклу на тіазольний веде до втрати інгібуючої активності стосовно крузаїну і суттєвого зниження трипаноцидної активності. Найактивніший інгібітор крузаїну 2-((1-феноксипропан-2-іліден)гідразоно)-3-феніл-5-ізопропілтіазолідин-4-он також порушував внутрішньоклітинний розвиток трипомастиготної форми, покращував інвазію макрофагами «ослаблених» трипомастиготів, хоча й не спричиняв ерадикації паразитів в мишей [89].

Аміноацильні похідні 4-тіазолідинону **7** також володіли трипаноцидними властивостями стосовно епімастиготів і трипомастиготів в концентраціях нетоксичних для нормальних людських клітин. Хоча активність похідного проліну **7** відрізнялася щодо штамів Y і Colombian. Докінгові дослідження до крузаїну підтвердили експериментальні величини IC_{50}, а також висвітлили важливі взаємодії досліджуваних лігандів, що пояснюють їх афінність до крузаїну [147]. Комбінація 4-диалкіламінобіцикло[2.2.2]октанового фрагменту із 5-заміщеним 4-тіазолідиноновим циклом привела до утворення сполук **8**, що характеризувалися слабкою та середньою активністю до *Tb rhodesiense* [148].

«Фіксація» гідразонового фрагменту, наприклад, у піразоліновому кільці розглядається як один з методів оптимізації для отримання гібридних молекул, що вміщують піразолінове кільце у 2 положенні тіазолінового циклу. 2-Піразолінзаміщені 4-тіазолони **9** отримано в реакції 3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-карботіоамідів з монохлорацетатною кислотою або зустрічним методом взаємодії 2-карбетоксиметилтіо-2-тіазол-4(5H)-ону з відповідними піразолінами. Їх 5-іліденпохідні **10** синтезовано в реакції Кньовенагеля або в умовах трикомпонентної однореакторної реакції з монохлороцтовою кислотою та ароматичними альдегідами.

Сполуки **10** володіли помірною трипаноцидною активністю до *Tb brucei*; сполука-хіт **11** ідентифікована, серед піразолін-тіазолідинонових гібридів інгібувала *in vitro* ріст *T. b. rhodesiense* (IC_{50} = 12 мкг/мл), а також була активною щодо *Leishmania donovan*і (IC_{50} > 30 мкг/мл) та *Plasmodium falciparum* (IC_{50} > 5 мкг/мл) із цитотоксичною концентрацією CC_{50} > 90 мкг/мл [149,150].

Використання циклів тіазолу та тіазолідинону в рамках гібрид-фармакофорного підходу має ряд переваг при дизайні активних малих молекул на основі тіазолідинону [151–154] і доводить ефективність такого в розробці потенційних протитрипаносомних агентів [136,155].

Схема 1.2

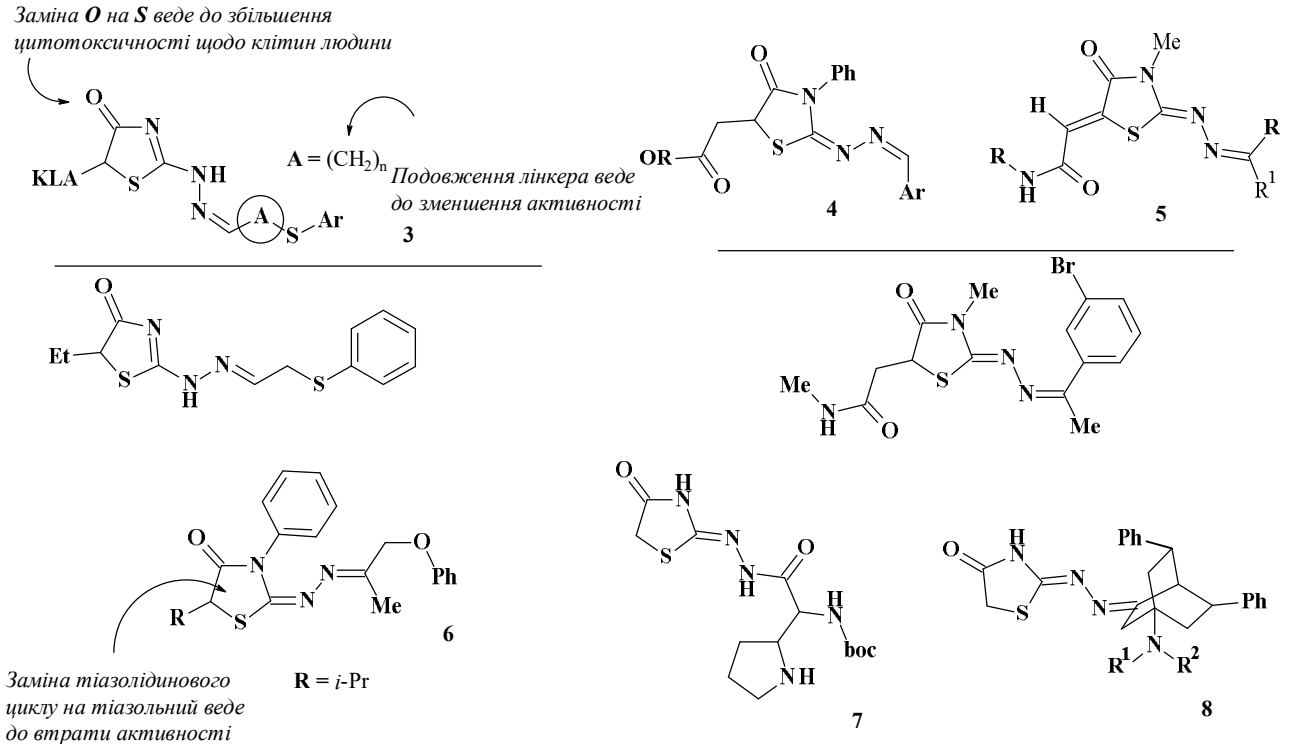
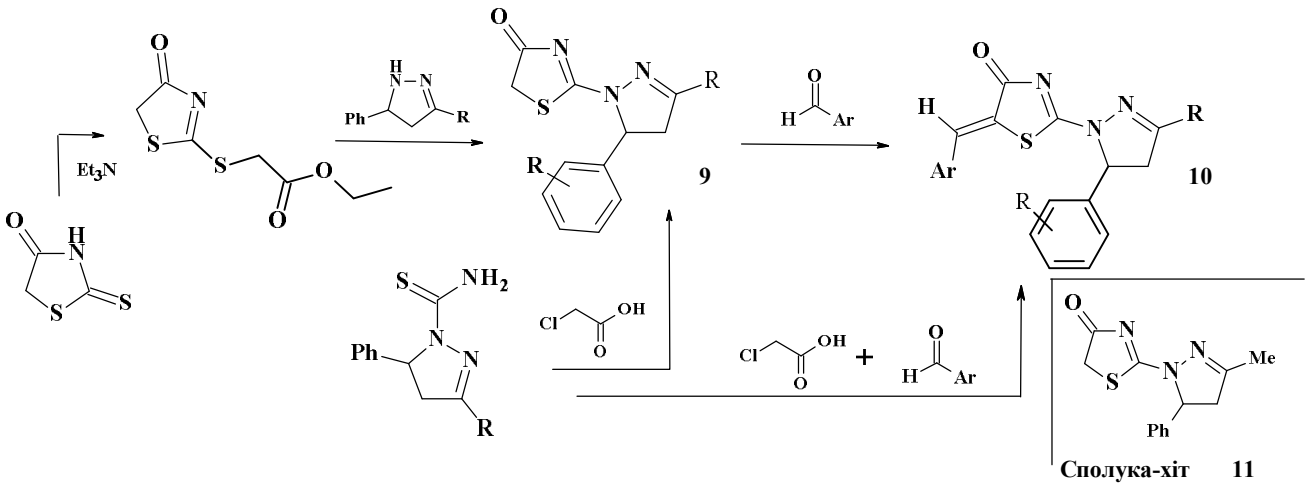


Схема 1.3



Так, наприклад, взаємодією 5-бромотіазолідин-2,4-діонів та тіазолідин-2,4-діон-5-карбонових кислот із 3,5-діарилпіразолінами отримано ряд 4-тіазолідинонів із піразольним фрагментом у 5 положенні (Схема 1.4). Модифікація останніх у N3 положенні дозволила отримати ряд активних трипаноцидних агентів **12-15**, що інгібували ріст *Tb brucei* та *Tb gambiense* у субмікромолярних концентраціях [149,150,155,156] та характеризувалися низькою токсичністю до псевдонормальних клітин.

Схема 1.4

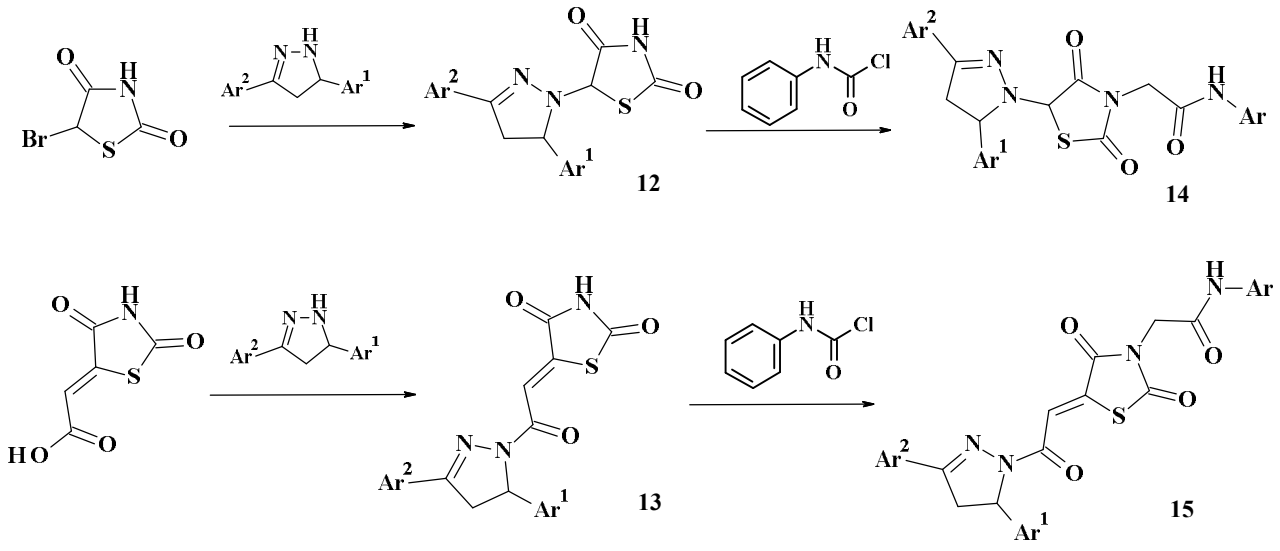
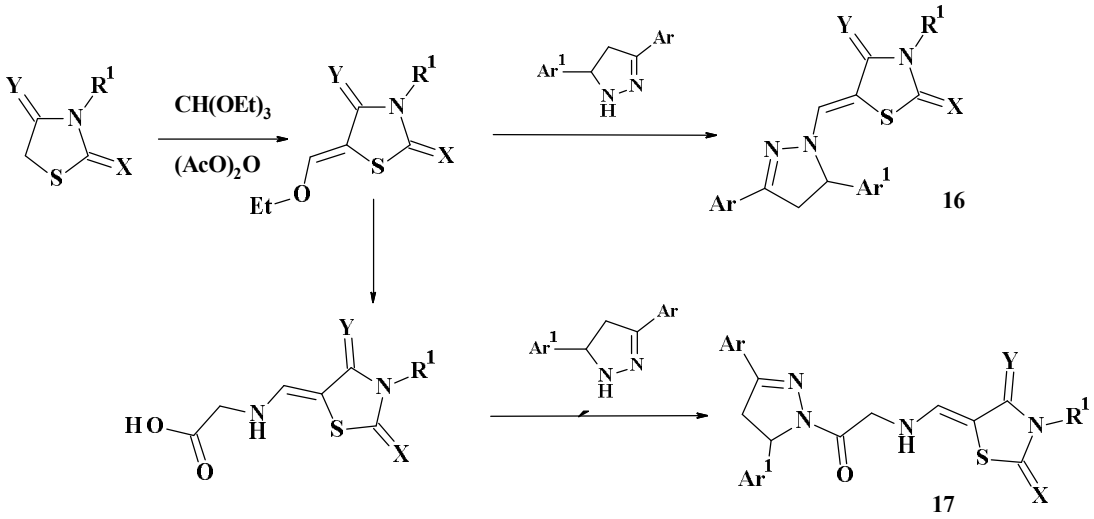


Схема 1.5



Сполуки з єнаміновим лінкером **16, 17** розроблені на основі раніше ідентифікованих сполук-хітів **12, 14** (4-тіазолідиноновий та піразолінивий цикли з'єднані без додаткової зв'язуючої групи), шляхом взаємодії 3,5-діарилпіразолінів з 5-етокситіазолідинонами, отриманих в реакції відповідного тіазолідинону з етилортоформіатом. Активні молекули з цього ряду 5-[5-(4-метоксифеніл)-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-3-метил-2-тіоксотіазолідин-4-он (IC_{50} = 0,6 мкМ) та 5-[5-(2-гідроксифеніл)-3-(4-метоксифеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-3-(3-ацетоксифеніл)-2-тіоксотіазолідин-4-он (IC_{50} = 0,7 мкМ) володіли субмікромолярною активністю та високими індексами селективності [155]. Подовження єнамінової лінкерної групи (сполуки **17**) вело до зменшення активності,

а модифікація положення N3 тіазолідинонового циклу (сполуки **16**) мала вирішальне значення – бажаними є невеликі арильні та метильний фрагменти [150] (схема 1.5).

Подібні 2-тіазолідинон-піразолінові кон'югати **18** було синтезовано на сонові ізороданіну та вивчено їх дію в *in vitro* дослідженнях на *Tb brucei* (Схема 1.6) [149,156].

Схема 1.6

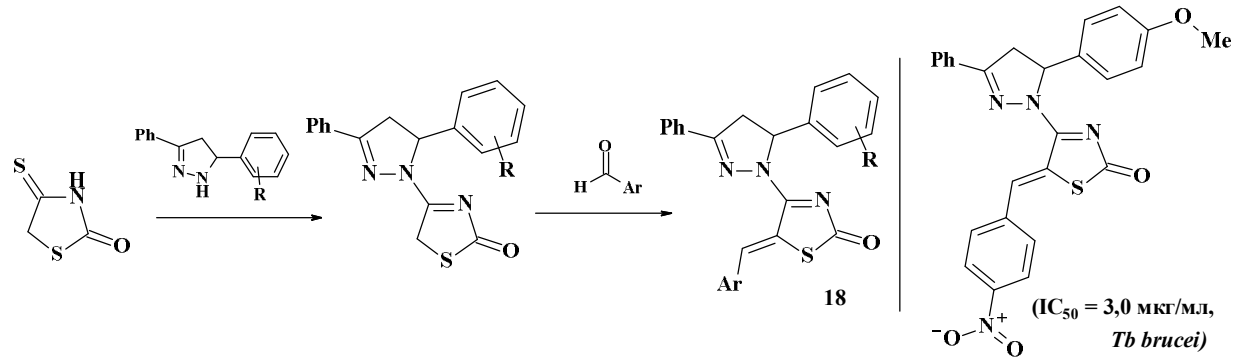
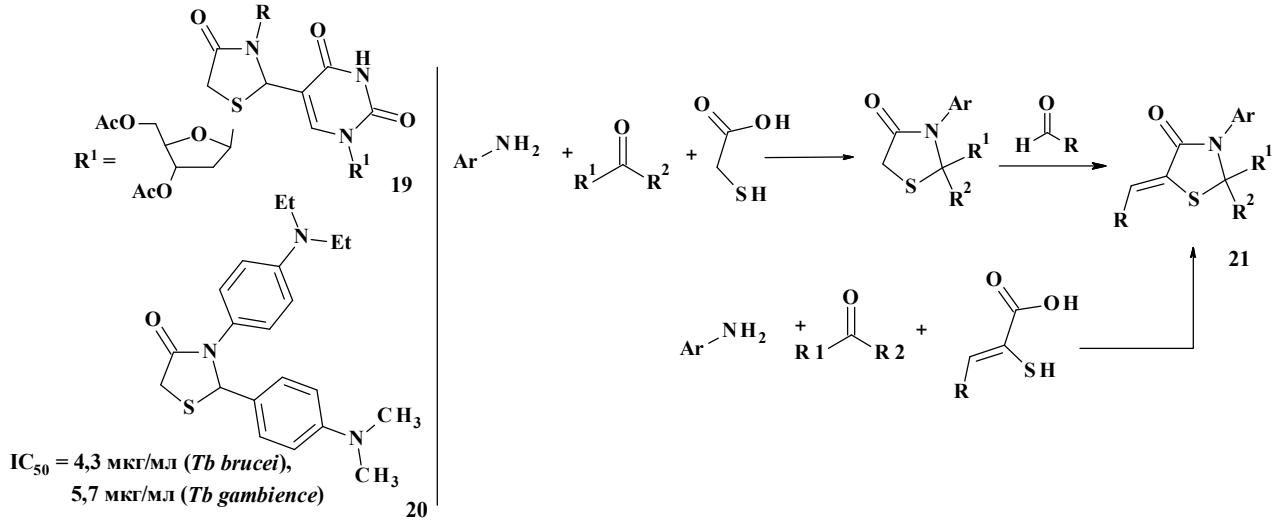


Схема 1.7



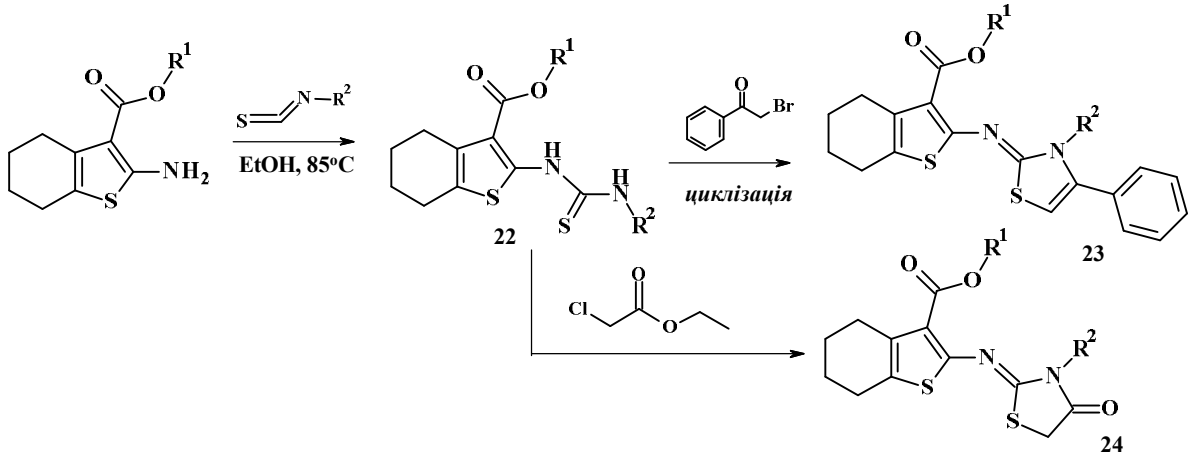
Іншим прикладом синтезу гібридних молекул є комбінація піримидинового циклу із 4-тіазолідиноном, в результаті якої отримано 5-(4-оксотіазолідин-2-іл)-1H-піримідин-2,4-діони **19** із помірною протитрипаносомною активністю щодо кровяних форм *Tb brucei* (IC_{50} = 25-100 мкМ) [157].

Подібні 2,3-заміщені 4-тіазолідинони **20** із простими ароматичними замісниками в положеннях C2 та N3 характеризувалися помірною активністю щодо *Tb brucei* and *Tb gambiense* [158]. Синтетичний метод отримання такого типу сполук **21** базується на одно-реакторній трикомпонентній реакції аміну, оксо-сполуки та

тіогліколевої кислоти чи її похідних (Схема 1.7) [159,160]. Цікаво, що структурно прості 5-ен-2,4-тіазолідинони вважаються перспективними скафодами для дизайну протитрипаносмоних агентів – інгібіторів птеридинредуктази 1 [161].

Прикладами активних трипаноцидних молекулярних гібридів є тіофен-2-імінотіазолідини **23, 24**, отримані внутрішньомолекулярною циклізацією тіофен-2-тіосечовин та діелектрофілів, та їх нециклічні попередники **21**, синтезовані реакцією 2-амінотіофенів із ізотіоціанатами, що інгібували ріст амастиготів в мікромолярних концентраціях, а сполуки **23** ще й були активними щодо крузаїну [121].

Схема 1.8

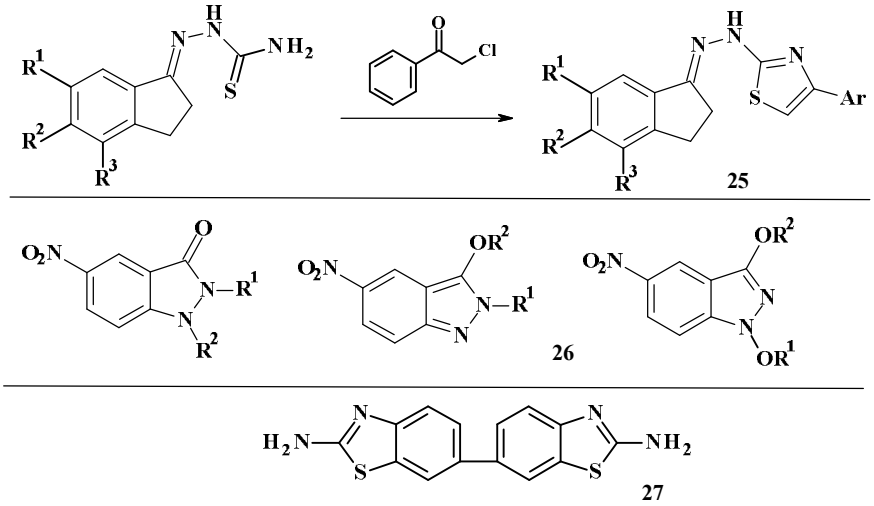


Молекулярна гібридизація комбінуванням тіазольного та піридинового циклів через гідразинний місток, привела до ідентифікації *N*-[3-феніл-3*H*-тіазол-2-іліден]-*N*'-(1-(піридин-2-іл-етиліден)гідразинів, що селективно спричиняли смерть клітин паразитів із задіянням механізмів апоптозу [162]. Такі дані є також підтверджені та доведені методами комп'ютерної хімії [163].

Особливо цікавими є комбінації тіазолу із конденсованими [6+5] або [6+6] циклами, що дозволяє отримання високоактивних та селективних антитрипаносомних агентів. Наприклад, поєднання інданонового та тіазольного фрагментів в одній молекулі забезпечило протитрипаносомну активність похідних 1-інданон-тіазолілгідразонів **25** стосовно *T. cruzi* (штам Tulahuen 2), а саме інгібування росту внутрішньоклітинної амастиготної форми із величинами IC_{50} в межах 0.09-1.35 мкМ і низьку цитотоксичність щодо людських клітин [164]. Іншими прикладами [6+5] циклічних сполук з *in vitro* активністю щодо *T cruzi* є індазоли **26**, а саме похідні 3-алкокси-1-алкіліндазолу, 2-дизаміщені індазолін-3-они із

нітрогрупою в положенні С5 та 2,3-дизаміщені індазол-2-оксиди. Трипаноцидна дія 5-нітроіндазолів відбувається шляхом інгібування трипанотіон редуктази та можливо задіює механізми оксидативного стресу [165,166].

Схема 1.9



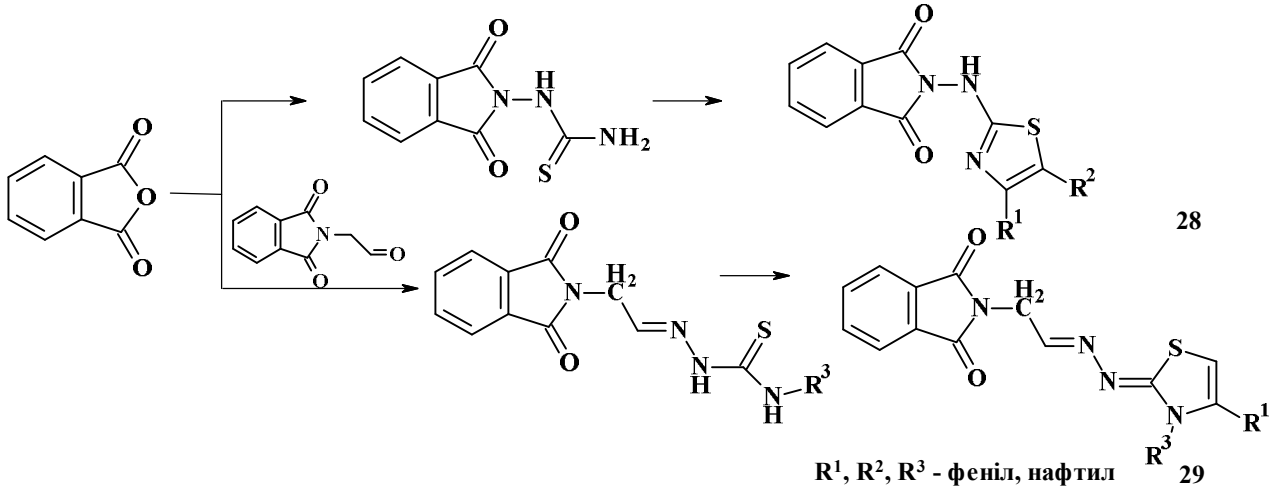
Похідні бензотіазолу можуть незворотньо інгібувати тріозофосфат ізомеразу (ТІМ) *T cruzi.* Біс-бензотіазол похідне інактивувало ТІМи **27** паразитів на більше, ніж 90 % в концентрації 50 мкМ. На жаль, поряд з такими позитивними результатами немає доказів про ефективність бензотіазолів в *in vitro* експерименті інгібування росту паразитів [96,100]. Дуже показовим виявився високоефективний біологічний скринінг великої бібліотеки сполук (більше 300000) в експерименті інгібування орнітин декарбоксилази, що дозволив ідентифікувати чотири класи сполук, серед яких були також похідні бензтіазолу та індолу [167].

Скринінг 42000 сполук із бібліотеки речовин активних щодо кіназ дозволив ідентифікувати сполуки-хіти з протитрипаносомними властивостями на основі 1*H*-індолу та 1*H*-піроло[2,3-*b*]піридину [163]. Подібний скринінг дозволив ідентифікувати ряд перспективних молекул на основі 2,4-діамінотіазолів, що були також активними на культурі клітин *Tb.* Деякі із зазначених сполук володіли протитрипаносомними властивостями у наномолярних концентраціях [136,168].

Молекули із фталімідним фрагментом, що може вважатися біоізостером індолу, також виявляли протипаразитарну активність. Фталімідотіазоли **28, 29** володіли трипаноцидною активністю щодо *T cruzi,* діючи, навіть, селективніше, ніж

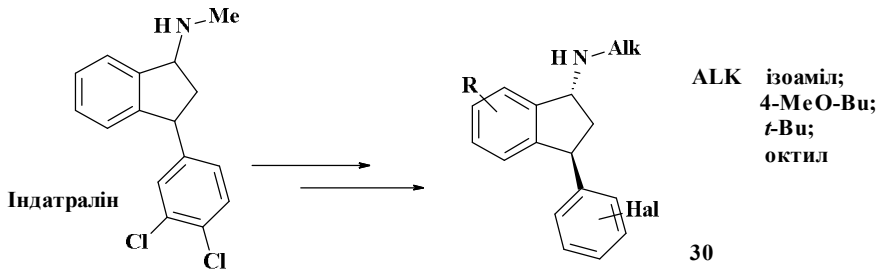
Бензнідазол. Слід відмітити підвищення активності із введенням фенільних та настильних замісників в тіазольне кільце [169].

Схема 1.10



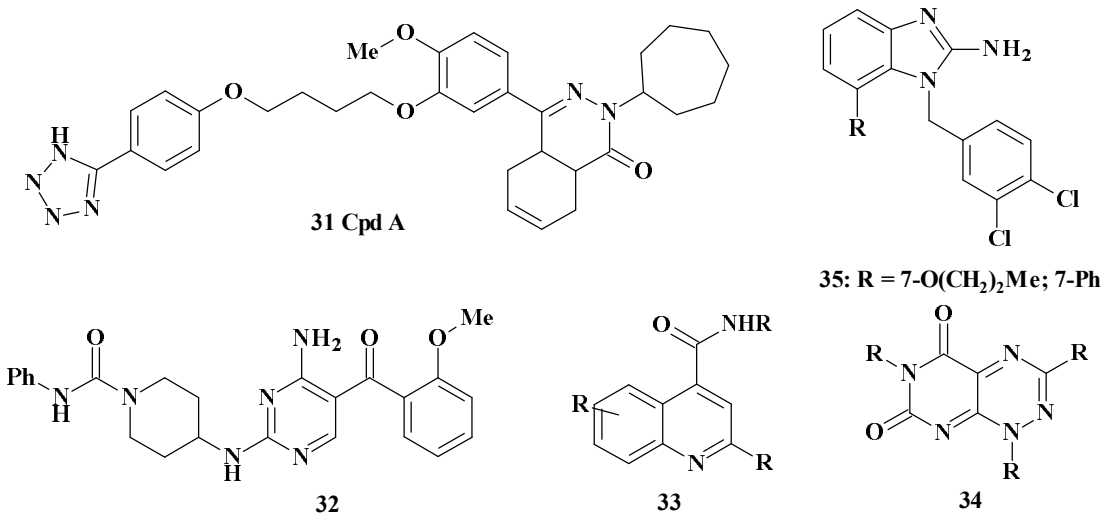
Цікавим підходом сьогодні є дослідження відомих лікарських засобів з метою встановлення їх іншої фармакологічної дії. Так, на приклад, Fairlamb із співавторами, досліджуючи бібліотеки біоактивних сполук до трипанотіон редуктази (TryR) [170], виявили новий клас її інгібіторів **30** на основі Індатраліну – неселективного інгібітора зворотного захоплення моноамінів (Схема 1.11). Найактивніші серед синтезованих аналогів Індатраліну інгібували активність трипанотіон редуктази із значеннями IC_{50} між 2,2 та 4,1 мкМ (при значеннях EC_{50} в межах 1,1 – 2,4 мкМ визначених в *in vitro* експерименті на культурі *T brucei*). Отримані результати (кращі значення EC_{50} порівняно із IC_{50}) можуть свідчити, що такого типу сполуки реалізовують трипаноцидний ефект залученням інших механізмів дії, або селективно концентруються/метаболічно активуються чи через комбінацію цих механізмів [92].

Схема 1.11



Прикладом активних [6+6] гетероциклів є похідні 4-фенілфталазинону, виявлені в результаті високоефективного скринінгу хімічної бібліотеки сполук (400,000 сполук; Nycomed Pharma). Ці сполуки інгібували фосфодіестерази B1 та B2 *T brucei* – переважаючі контролюючі елементи внутрішньоклітинних рівнів цАМФ. Найактивнішою сполукою виявився тетрагідрофталазинон А **31** (Cpd A), що інгібував проліферацію *in vitro* кров'яної форми *T brucei* в концентраціях 30-70 нМ, співмірними із такими для сураміну (Схема 1.12) [98].

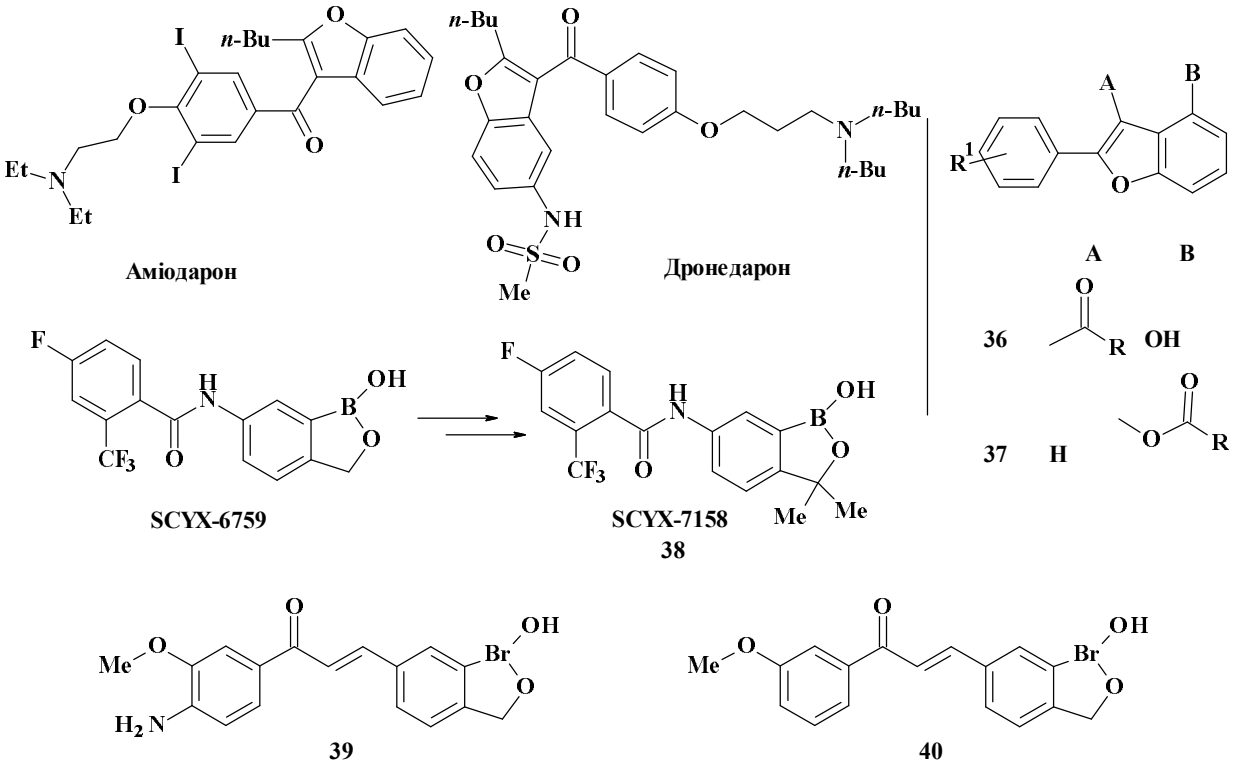
Схема 1.12



2,4-Діамінопіримідини виявилися потенційними протитрипаносомними сполуками-лідерами із достатніми фізико-хімічними властивостями. Феніламід 4-[4-аміно-5-(2-метоксибензоїл)-піримідин-2-іламіно]-піперидин-1-карбонової кислоти **26** показав селективне, дозозалежне і час-залежне інгібування різних морфологічних стадій *T brucei* (IC_{50} = 0.07 мкМ); потенційними мішенями для 2,4-діамінопіримідинів були cdc2-кінази та міоген-активовані протеїнкінази. Більше того, гостра інфекція у мишей спричинена *T brucei* виліковується протягом 4 днів введення сполуки **32** не тільки довенно, але й перорально [95]. Також в результаті високоефективного скринінгу бібліотеки різноманітних класів речовин щодо трипанотіон редуктази, були вивявлені сполуки-хіти на основі хінолінового та піримідопіридазинового циклів **33, 34**. Встановлення селективності цих речовин до трипанотіон редукатзи, порівняно із найближчою гомологічною людською глютатіон редуктазою, сприяло їх *in vivo* дослідженням [81].

На основі структурного дизайну та вивчення кристалографічного комплексу зв'язування ліганду із птеридин редуктазою 1 *T brucei* [171], синтезовано ряд амінобензімідазолів, найактивнішим серед яких виявилася сполука **35** (K_i^{app} = 0,047мкМ та 0,007 мкМ) із селективністю дії до птеридин редуктази 1 порівняно із людською чи трипаносомною дигідрофолат редуктазою. Хоча, ці сполуки характеризувалися досить слабкою інгібуючою активністю *in vitro* на кров'яні форми *T brucei* (EC_{50} ~10 мкМ) [99].

Схема 1.13



Стратегію т.з. перепрофілювання біо-мішеней використано у дослідженні антитрипаносомних властивостей антиаритмічного засобу Дронедарону. Нещодавно, Аміодарон став кандидатом в лікарські засоби для лікування хвороби Шагаса, як для монотерапії, так і в комбінації із Позаконазолом та Ітраконазолом [172]. Хоча, беручи до уваги побічні ефекти Аміодарону, його не рекомендовано призначати для довготривалої терапії хронічної форми американського трипаносомозу. Дослідження антипроліферативної активності Аміодарону та Дронедарону показало, що вони обидва інгібують ріст епімастиготів із значеннями IC_{50} < 8 мкМ; проліферація внутрішньоклітинних амастиготів повністю інгібувалася під дією Дронедарону (IC_{50} = 0,75 мкМ). Механізм дії Дронедарону полягає у

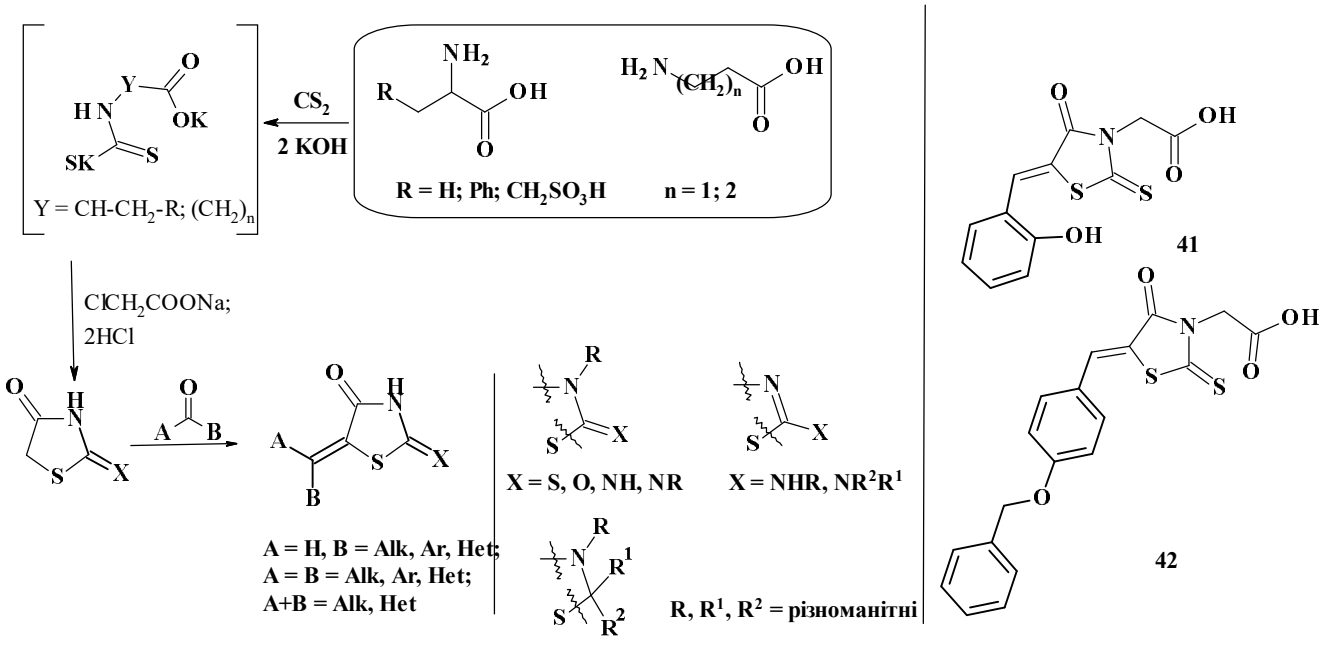
підвищенні концентрації йонів Ca^{2+} всередині клітини та алкалозу ацидокальцисом – есенціальних для *T cruzi* органел [173,174]. Антитрипаносомна дія Аміодарону також вивчалася у комбінації з безнідазолом; при цьому не спостерігалося синергізму, хоча in *vitro* ці ЛЗ були однаково ефективні [175]. На основі Аміодарону синтезовано похідне бензофурану – метил 7-ацетил-5-бромо-6-гідрокси-3-бромометил-2-бензофуранкарбоксилат (схема 1.13). Дана сполука інгібувала ріст епімастиготів, характеризувалася антипроліферативною дією щодо амастиготів *T cruzi* через реалізацію подібних механізмів дії як її прекурсор – порушує гомеостаз $Ca^{2+,}$ відповідно впливаючи на мембранний потенціал мітохондрій паразита та спричиняє алкалоз ацидокальцисом [176].

Бібліотека споріднених полізаміщених бензофуранів досліджувалася *in vitro* на кров'яних формах *Tb gambiense.* Похідне бензофурану із 2-гідроксинафтильним замісником **36** та ряд *n*-заміщених естерів 2-арил-4-гідроксибензофурану **37** інгібували проліферацію *Tb gambiense* в мікромолярних концентраціях (IC_{50} ~ 2 мкМ) [177]. Сполуки, що належать до структурно спорідненого класу 6-карбоксамідів бензоксаборолу показали відмінну трипаноцидну активність *in vitro* на фоні добрих ADME/Tox (абсорбція, дистрибуція, метаболізм, елімінація і токсичність) параметрів. Більше того, оптимізована сполука SCYX-7158 **38** була активною в пероральній формі на мишачій моделі гострої та хронічної стадій африканського трипаносомозу [178–181] і перейшла на II/III фазу клінічних досліджень [182]. Також, як потенційні протитрипаносомні агенти, були досліджені деякі аналоги бензоксаборолу, що інгібували лейцил-тРНК-синтазу у мікромолярних концентраціях [183].

У продовження цієї теми, досліджувався ряд халкон-бензоксаборольних гібридних молекул, що дозволило ідентифікувати сполуку-хіт (*E*)-[1-(1,3-дигідро-1-гідрокси-2,1-бензоксаборол-6-іл)-3-(4-аміно-3-етоксифеніл)]пропенон **39** із значенням IC_{50} 0,01 мкМ/мл в *in vitro* тесті на *Tb brucei* (Схема 1.13). Дослідження *in vivo* на мишачій моделі інфікованій *Tb brucei* виявили активні сполуки **39** та **40**. Застосування похідних **39** та **40** в дозі 50 мг/кг і/п спричинило 100% видужання інфікованих мишей [184].

Прикладом, структурно простих похідних тіазолідинону із трипаноцидними властивостями є бензиліденроданін-3-ацетатні кислоти, що інгібували доліхолфосфат манозосинтази *T brucei* та синтез глікозилфосфатидилінозитольного якоря, а також володіли *in vitro* трипаноцидною активністю щодо кров'яних форм та відсутністю токсичності до HeLa клітин. 3-Бензилокси заміщений аналог **41** та 2-гідрокси регіоізомер **42** показали найкращу трипаноцидну активність (ED_{50} ~ 100 мкМ) [74]. Роданін-3-монокарбонові кислоти синтезуються відомим дитіокарбамінатним методом, що полягає в реакціях відповідних природних амінокислот із CS_2 в лужному середовищі з наступною [2+3]-циклоконденсацією утворених S,N-бінуклеофілів із монохлороцтовою кислотою (Схема 1.14).

Схема 1.14



Цільові сполуки отримуються в конденсації Кньовенагеля – одним із найбільш поширених методів для синтезу 5-ен-4-тіазолідонів шляхом взаємодії тіазолідинону, метиленовий атом якого у С5 положенні володіє нуклеофільними властивостями та оксосполуки (різноманітні альдегіди, кетони та гетероцикли, такі, як ізатини, ангідриди піридин-3,4-дикарбонових кислот та фталевих кислот та ін.) з електрофільними центрами [185–187]. Як реакційне середовище та каталізатори в цій реакції широко використовуються ацетатна кислота та натрію ацетат; етанол та

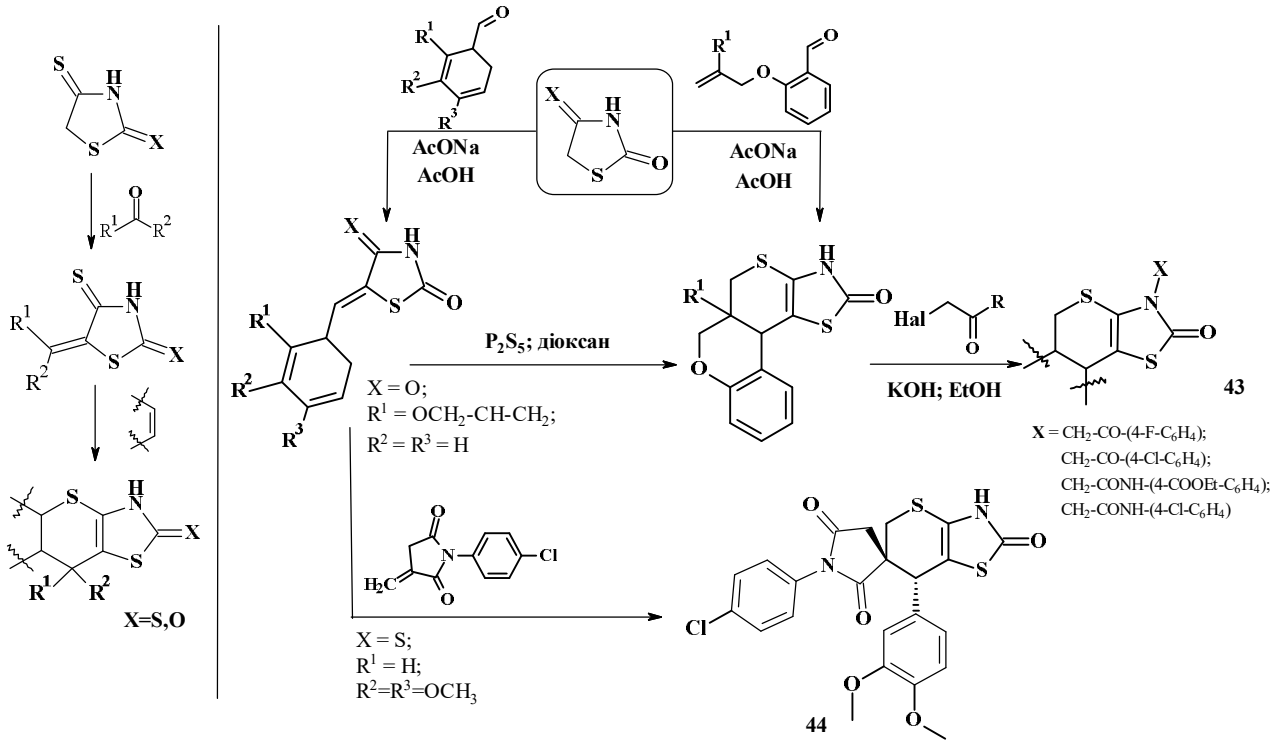
амонію ацетат або піперидин [188]; толуол та амонію ацетат [189]; ізопропанол та калію трет-бутилат [159,190]; толуол та L-пролін [191], поліетиленгліколь [192] тощо.

Також успішно застосовувався мікрохвильвий синтез [193,194], зокрема в середовищі диметилформаміду [195]. Утилізація ароматичних альдегідів забезпечує максимальні виходи цільових сполук, на відміну від аліфатичних альдегідів та, особливо, кетонів [196,197]. Також відрізняється й реактивність 4-тіазолідинонів, що залежить від замісників основного циклу (2,4-тіазоліднідіону, роданіну та ін.): роданіни реагують легше, ніж 2-аміно(іміно)тіазолідинони, 2,4-тіазолідинони та ін.; 2-R-заміщені 4-тіазолідони характеризуються нижчою реакційною здатністю [159,198]. При використанні альдегідів переважним (і у більшості випадків тільки одним) продуктом є Z ізомер, незалежно від типу тіазолідинонового циклу [199,200]. В реакції конденсації Кньовенагеля 4-тіазолідинонів та кетонів в основному утворюється суміш Z- та E-ізомерів.

Цікавим напрямком в дослідженні протитрипаносомних агентів на основі тіазолідинону є вивчення поліциклічних тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазолів, що можуть розглядатися як ізостерні міметики їхніх синтетичних прекурсорів 5-ариліден-4-тіазолідинонів без властивостей акцепторів Міхаеля [134,201]. Цей клас конденсованих похідних тіазолідинону характеризується різноманітною біологічною активністю, хоча найбільш вивченою залишається протипухлинна [202–206]. Нещодавні дослідження довели наявність і протипаразитарної активності останніх [202]. Так, наприклад, ряд N-заміщених тіопірано[2,3-*d*]тіазолів показав високу інгібуючу активність *in vitro* щодо *Tb brucei* (гемолімфатична форма) у концентрації 10 мкг/мл. Найактивнішими сполуками були 3-[2-(4-флюоро(хлоро)феніл)-2-оксоетил]-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4’,3’:4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-2-они та N-(4-хлоро(етилкарбокси)феніл)-2-(2-оксо-5a-метил-(5aRS,11bSR)-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4’,3’:4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-3-іл)-ацетаміди **23**, що інгібували більш, ніж 95% росту паразитів [158]. Поліциклічні похідні синтезуються в «доміно» реакції Кньовенагеля-*гетеро*-Дільса-Альдера ізороданіну з 2-алілоксибензальдегідом у

процесі переважно *екзо*-селективної циклізації (*екзо:ендо* = 5:1) 5-ариліден інтермедіату.

Схема 1.15



Альтернативним методом їх отримання є «доміно» *гетеро*-Дільса-Альдера реакція тіонування 5-(2-алілоксифенілметиліден)-4-тіазолідинонів. Натомість, використання ітаконової кислоти та її імідів як дієнофілів в реакції Дільса-Альдера з 5-ариліден-4-тіоксо-2-тіазолідинонами дозволяє отримати rel-(6'R,7'R)-3',7'-дигідро-2H,2'H,5H-спіро[піролідин-3,6'-тіопірано[2,3-*d*]тіазол]-2,2',5-тріони, прикладом якого є сполука 24, що була найактивнішою серед ряду досліджуваних тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазолів та інгібувала ріст кров'яних форм *Tb brucei* і *Tb gambiense* із значеннями IC_{50} 0,26 та 0,42 мкМ відповідно (Схема 1.15) [207].

1.2.2. Протилейшманіозні агенти

Багато різноманітних класів малих органічних молекул вивчалося як потенційні протилейшманіозні агенти, більшість з яких належить до похідних конденсованих гетероциклічних сполук, таких як індол, бензодіазепін, кумарин,

фуран, піридин, тощо [115]. Тіазольний [122,208–211] скафолд є також перспективним для цього напрямку. Наприклад, похідні 5-ен-2,4-тіазолідинонів запропоновано як перспективні каркаси для дизайну нових інгібіторів птеридин редуктази 1 *Leishmania major* [161].

Високоефективний скринінг 200000 сполук дозволив ідентифікувати амінотіазол, оптимізація якого привела до високоактивних та селективних 2-аміно-5-піридиніл-тіазолів **45** [210] в *in vitro* експерименті на внутрішньоклітинній формі *L donovani.* Тіосемікарбазиди нафталену **46** із різними алкілокси замісниками володіли мікромолярними рівнями EC_{50} у дослідження на внутрішньоклітинних амастиготах *L donovani,* а також, внаслідок слабкої цитотоксичності до людських клітин – високими індексами селективності [212]. Для N^4-заміщених 5-нітроізатин-3-тіосемікарбазонів **47** також виявлено лейшманіцидну активність щодо *Leishmania major,* співмірну із такою для препарату порівняння Пентамідину [213].

Прикладом [6+5]-гетероциклів із протилейшманіозною активністю є ряд *N'*-(арилідeн)-1-метил-1*H*-індол-2-карбогідразиди **48**, що виявили мікромомлярні концентрації інгібування росту промастиготів *L major* (*in vitro*) [214], а також біс-індол похідні з мікромолярними рівнями лейшманіцидної активності [215].

У рамках гібрид-фармакофорного підходу синтезовано ряд тріазино-індол-хінолінових гібридів **49**, що досліджувалися на промастиготах та амастиготах *Leishmania donovani.* Серед останніх виявлено сполуки-хіти із індексами селективності <1000 (щодо амастиготів), що значно перевищують такі для препаратів порівняння [216]. Структурно подібні *N*-заміщені поліциклічні похідні тетрагілдро-β-карболіну **50** із тіофеновим та нафталіновим фрагментами володіли протилейшманіозною активністю щодо промасти готів *Leishmania donovani*, а також інгібували ріст *T brucei* [217]. 1,3-Дизаміщені похідні 2,4-диамінохіназоліну **51** володіли лейшманіцидною активністю щодо *Leishmania donovani* в *in vitro* та *in vivo* дослідженнях [218] (Рис. 1.3).

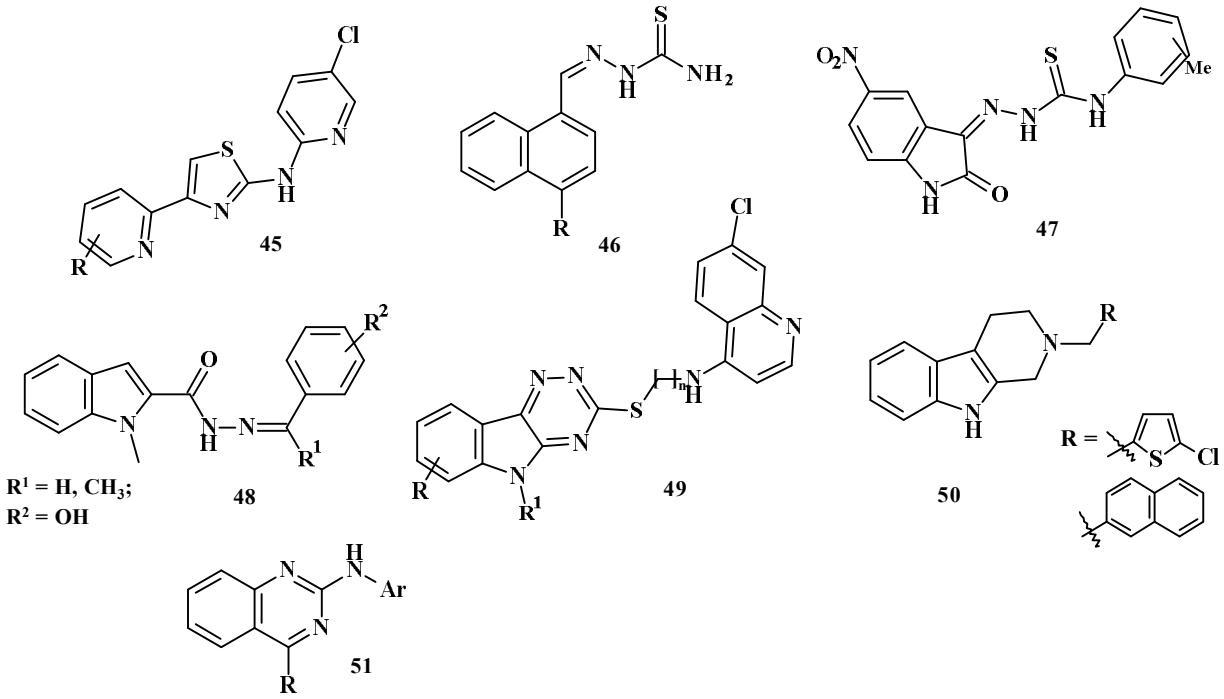


Рис.1.3. Приклади тіазолів, тіосемікарбазонів та конденсованих гетероциклів з лейшманіцидною активністю

1.2.3. Протималярійні агенти

Вивчення молекул на основі тіазолів на предмет протималярійної активності довело, що даний гетероцикл є потужним фармакофором із антиплазмодійною активністю [219]. Наприклад, ряд карбоксамідів амінометилтіазол-піразолу **52** показали добру *in vitro* активність до *P falciparum* та були ефективними при пероральному введенні на мишачій моделі інфікованій *P berghei* [220]. Похідні 2-(2-гідразиніл)тіазолу із фрагментом 2-піридину **53** в *in vitro* дослідженні інгібували ріст кров'яних форм *P falciparum* (NF54) у субмікромолярних концентраціях [221] (Рис. 1.4).

Високоефективний скринінг бібліотеки сполук (AstraZeneca) до безстатевих кровяних форм *P falciparum* дозволив ідентифікувати активний аміноімідазольний скафолд, оптимізація якого привела до сполуки-лідера з пероральною біодоступністю – 2-аміноазабензімідазолу **54** із наномолярною інгібуючою активністю до *P falciparum* та ефективністю в моделі малярії Pf/SCID [222].

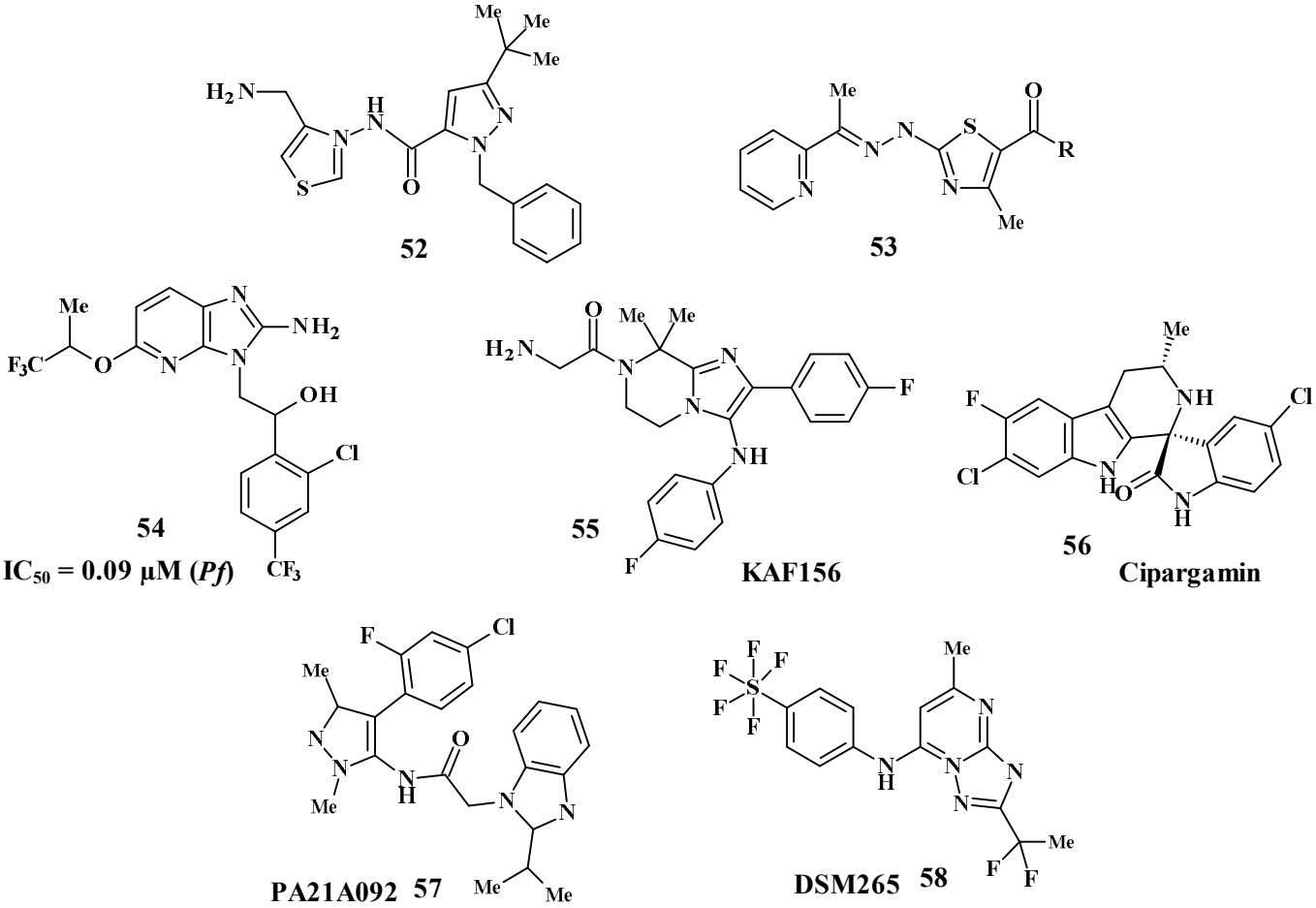


Рис 1.4. Приклади похідних тіазолу та різноманітних [6+5]-гетероциклічних сполук активних щодо *P falciparum.*

Іншими прикладами [6+5]-гетероциклів є імідазолопіперазини, що представляють клас активних протималярійних сполук із клінічним кандидатом – KAF156 **55**. Ганоплацид (KAF156) є ефективним щодо резистентних штамів *P falciparum* у наномолярних концентраціях та впливає на різні етапи розвитку паразита [223–225]. Вивчення інгібуючої активності ряду трипептидів із різними гетероциклами в бічних ланцюгах до фальципаїну-2 та щодо *P falciparum* (культура 3D7) виявили, що найменш токсичні сполуки-хіти активні в обох експериментах містили залишки індолу і різних пятичленних нітроген-вмісних гетероциклів (піролідин, імідазол) [226] (Рис. 1.4).

Одним із підходів до пошуку антималярійних сполук є розробка молекул із відмінними механізмами дії від існуючих протималярійних ЛЗ. Так, на приклад, похідне спіротетаргідро-β-карболіну **56** KAE609 (Ципаргамін) характеризувалося

найшвидшим рівнем кліренсу у пацієнтів порівняно із будь-яким протималярійним преапаратом. Ципаргамін діє на Na+ АТФазу Р типу (PfATP4), впливаючи на натрієвий гомеостаз паразита і в результаті блокуючи розвиток безстатевої кровяної форми та передачу до москітів [227–229]. Подібний ефект на внутрішньоеритроцитарні плазмодії спричиняло похідне піразоламіду **57** PA21A092 [230,231]. Ще одним прикладом імплементації [6+5]-гетероциклів є інгібітор мітохондріальної дигідрооротат дегідрогенази **58** DSM265, що був активним щодо обох печінкової та безстатевої внутрішньоеритроцитарної форм паразита (шизонтів), та ефективним, навіть, при одноразовому введенні в дослідженнях на людині [232] (Рис. 1.4).

1.2.4. Розробка сполук із подвійною протипаразитарною активністю

Розробка нових нетоксичних молекул здатних вбивати паразитів роду *Leishmania* та *Plasmodium ssp.* на різних стадіях розвитку, а також долати резистентність до антилейшманіозних та антималярійних ЛЗ залишається важливим завданням в контролі даних захворювань. Відомі також спроби дизайну подвійних агентів активних щодо обох вищезгаданих паразитів. А саме, в рамках гібрид фармакофорного підходу синтезовано ряд молекул із тіазолідиноновим/тіазольним та піразоліновим циклами **59** (Схема 1.18). Хоча, піразолтіосемікарбазони показали добру протималярійну активність, їх циклізація до тіазолу та тіазолідинону сприяла підвищенню такої і сполука-хіт володіла значною інгібуючою активністю до *P berghei* (> 90%) в *in vivo* дослідженнях, і, навіть, була активнішою, ніж хлорохіну фосфат до хлорохін-резистентного штаму *P falciparum* (RKL9). Похідні тіазолідинону інгібували ріст промасти готів та амастиготів *L aethiopica* із співмірними величинами IC_{50} до препаратів порівняння амфотерицину В та мілтефозину [233].

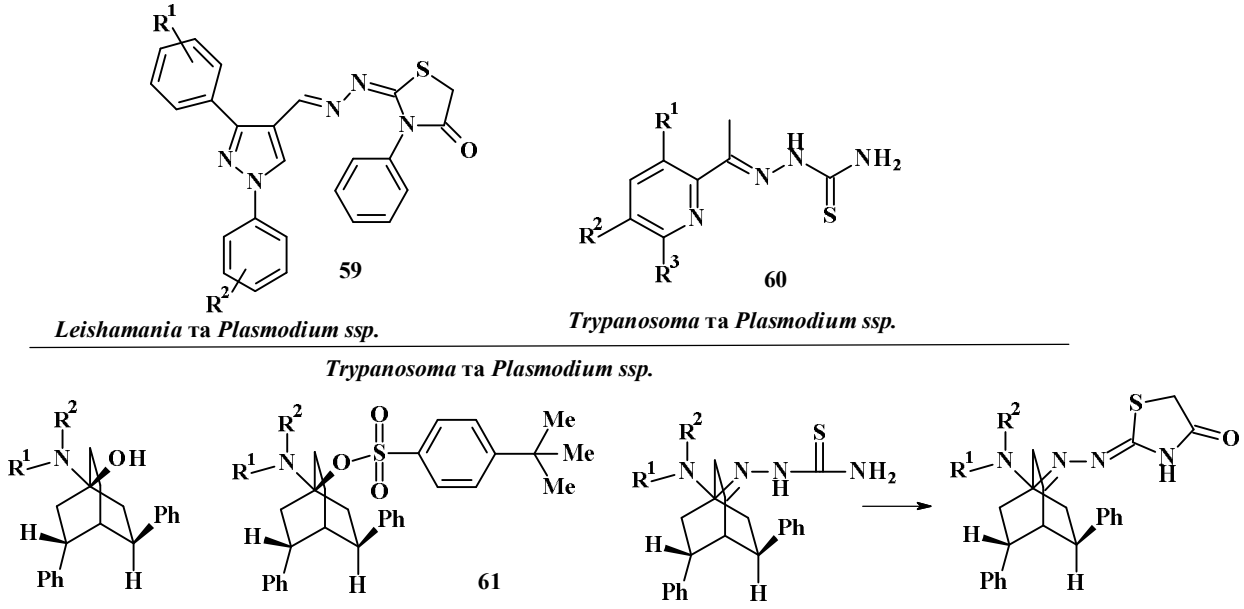


Рис. 1.5. Приклади дизайну гетероциклічних малих молекул із подвійною протипаразитарною дією.

Інгібуюча активність ряду тіосемікарбазонів **60** досліджувалася щодо паразитарних цистеїнових протеаз, а саме родезаїну, крузаїну та фальципаїну,а також в експериментах на відповідних паразитах *Tb rhodesinse*, *T cruzi P falciparum.* При цьому деякі із ідентифікованих сполук-лідерів володіли протипаразитарною активністю, не інгібуючи відповідну протеазу, що доводить актуальність фенотипового скринінгу [130]. Похідні 4-діалкіламінобіцикло[2.2.2]-октану та октанолу **61** вивчалися як протитрипаносомні та протималярійні агенти. Найактивнішими сполуками із протитрипаносмною дією були 4-третбутил-бензенсульфонати 4-діалкіламінобіцикло[2.2.2]октану, 4-піперидино-заміщені біцикло[2.2.2]октан-2-ол та 4-тіосемікарбазон виявляли найвищу протималярійну активність. В даному класі сполук циклізація тіосемікарбазонів до 1,3-тіазолідинонів призводила до зменшення антиплазмодійної активності, при цьому протитрипаносмна до *Tb rhodesiense* залишалася на такому ж рівні [148] (Рис. 1.5).

Цікавим розширенням фармакологічного профілю антиаритмічних препаратів Дронедарону та Аміодарону, які крім того володіють значною трипаноцидною активністю (щодо *T cruzi*) на рівні Безнідазолу є їх вивчення як потенційних лейшманіцидніх преапаратів [234].

1.3. Можливість застосування стратегії перепрофілювання в розробці нових «малих лікоподібних молекул» як антипроліферативних агентів із подвійною протипаразитарною та/чи протипухлинною активностями

Серед основних напрямків пошуку протитрипаносомних сполук, цікавим є вивчення зареєстрованих лікарських засобів з показами для терапіїі інших захворювань, їх аналогів та відомих інгібіторів досліджених біо-мішеней в людини. Одним із лікарських засобів, що застосовуються для терапії ЛАТ є Ефлорнітин [36,235,236], який первинно розроблявся як протипухлинний ЛЗ [237], і на теперішній час досліджуються його протиракові властивості, як наприклад, для терапії гліоми [238,239]. Дифлюорометилорнітин є селективним незворотним інгібітором орнітіндекарбоксилази та першим ензимом в ланцюзі синтезу поліамінів. Завдяки плідним зусиллям та партнерству ВООЗ із фармацевтичними компаніями, внутрішньовенний Ефлорнітин став широко доступним для пацієнтів приблизно з 2001 року [36].

У контексті твердження про «метаболічну подібність» клітин паразита та пухлинних клітин було досліджено комплекси паладію із нітрофурил-тіосемікарбазонами **62** [240], які інгібували ріст епімастиготів *T cruzi* в такому ж діапазоні концентрацій як і ніфуртимокс, деякі були, навіть, активніші (Рис. 1.6).

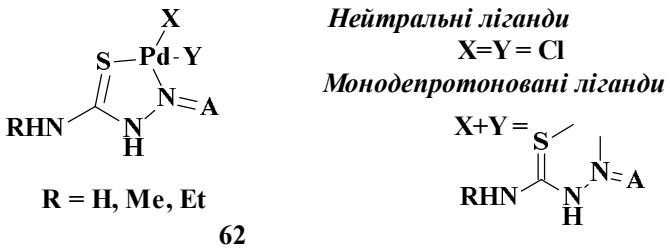


Рис. 1.6. Приклади комплексів органчних сполук з йонами металів, що показали протитрипаносомну активність.

Однак, не спостерігалося ніякої особливої різниці у значеннях IC_{50} досліджених нітрофурилтіосемікарбазонів та їх комплексів з паладієм. Результати вольтметричних досліджень, досліджень електронного парамагнітного резонансу та

захоплення кисню пропонують, що можливим механізмом дії таких комплексів є продукція реактивних форм кисню.

Іншою стратегією розробки лікарських засобів для «забутих» хвороб є підхід т.з. «перепрофілювання мішеней», коли біо-мішені паразита порівнюються із гомологічними людськими з подальшим скринінгом афінних сполук-лідерів [241]. Таким чином були досліджені аналоги Данусертібу – встановлений клас інгібіторів Аврора кіназ [93], що є есенціальними для клітинного циклу ферментами, пов'язаними із розвитком злоякісних захворювань; а також Лапатініб і Канертініб – інгібітори рецептора епідермального фактору росту (EGFR) [94]. Піролопіразольне похідне Данусертібу та його попередник PHA-680632 інгібували активність трипаносомної Аврора кінази 1 в концентрації 500 нМ. Данусертіб також інігбував ріст різних штамів трипаносом, в тому числі *Tb rhodesiense* із значенням EC_{50} – 0,15 мкМ. Лапатініб і Канертініб володіли трипаноцидним ефектом щодо *T brucei* в мікромолярних концентраціях (GI_{50} 1,5-2,0 мкМ. Було синтезовано ряд їх аналогів, аналіз їх взаємодії структура-активність дозволив ідентифікувати потенційний інігібітор росту трипаносом **63** (EC_{50} = 0,042 мкМ) (Рис.1.7) [63,242].

Вищезгадана стратегія перепрофілювання була застосована, наприклад, у вивченні антитрипаносомних властивостей протиракового препарату Бортезомібу, що характеризувався наномолярними концентраціями інгібування росту *T brucei* в *in vitro* дослідженні [243]. Первинний механізм дії Бортезомібу (інгібітора протеасом) пов'язували із інгібуванням із NF-κB шляху, що відіграє критичну роль в патогенезі множинної мієломи; останні дослідження показали, що одним з основних механізмів дії цього препарату є апоптоз спричинений т.з. стресом ендоплазматичного ретикулуму, що в свою чергу є тригером для декількох про-апоптичних факторів та клітинного стресу, як наприклад, накопичення реактивних форм кисню [244].

Іншими прикладами протипухлинних препаратів, що досліджувалися на предмет антитрипаносомної активності є інгібітори ДНК топоізомерази – Акларубіцин, Доксорубіцин та Мітоксантрон, інгібуюча активність яких щодо

кров'яних форм була співмірною із такою для протитрипаносомних лікарських засобів [245]

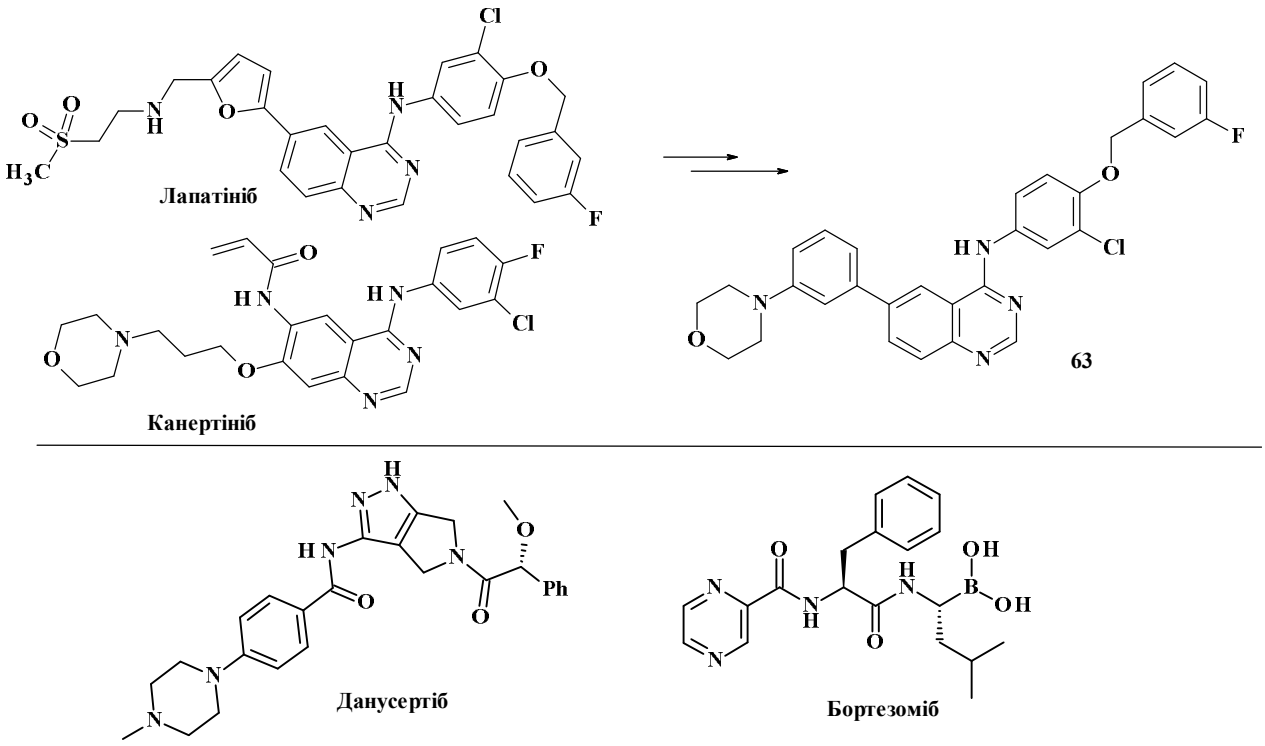


Рис. 1.7. Розробка протитрипаносомних агентів на основі засобів із протипухлинними властивостями..

1.4. Протипухлинна активність похідних тіазолідинону та споріднених гетероциклічних сполук

Різноманітні похідні тіазолу та тіазолідинону характеризуються широким спектром протипухлинної активності [246], яка є однією із найбільш вивчених для цього класу сполук. Молекули, що вміщують неконденсований фрагмент 5-ен-4-тіазолідинону не належать до жодного «класичного» типу протипухлинних препаратів [134,247,248]. Хоча, дані про можливі механізми реалізації протипухлинної активності 5-ен-4-тіазолідинонів є досить обмеженими, значна частина досліджень в цій галузі свідчить про про-апоптичний механізм. Наприклад, аміди 4-тіазолідинон-3-карбонових кислот **64** із фурановим фрагментом володіли

значною цитотоксичністю та селективністю до клітин ліній лейкемії, ймовірно через індукцію апоптозу [249] (Рис. 1.8).

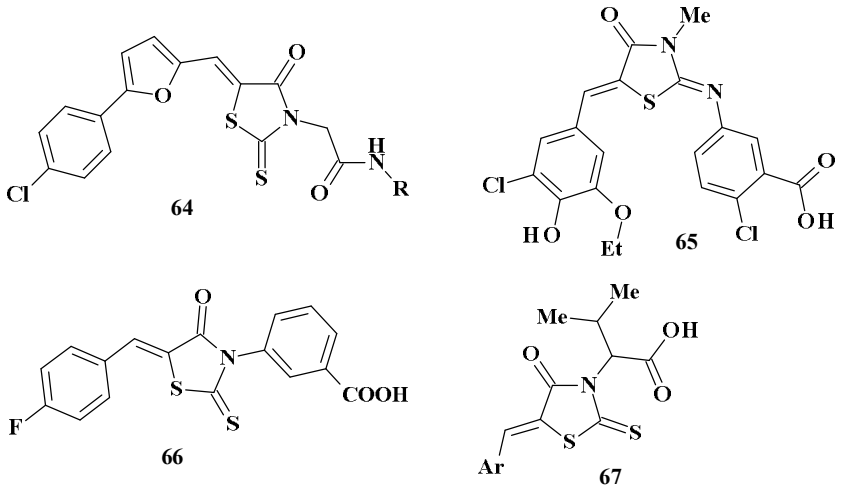


Рис. 1.8. Приклади 5-іліден-4-тіазолідинонів із протипухлинною активністю.

Ще одним ймовірним механізмом дії сполук такого типу є PPAR сигнальний шлях, так як антагоністи до PPARγ складають новий перспективний клас агентів для лікування раку [250–253]. 3-Тіазолідин-модифікована бензойна кислота HL005 **65** є прикладом потенційного специфічного PPARγ-антагоніста, що інгібує проліферацію лінії MCF-7, індукує затримку клітинного циклу у фазі G2/M та перешкоджає адгезії [254]. Ще одним прикладом «малих лікоподібних молекул» з класу 5-ен-роданінів є 3-[5-(4-флюоробензиліден)-роданін-3-іл]-бензойна кислота **66**, що селективно інгібує фосфатазу *JSP-1* [255]. 5-Ен-заміщені роданін-3-карбонові кислоти **67** інгібували протеїн-протеїнову взаємодію анти-апоптичних білків з родини Bcl-2 та Bax та їхнє зв'язування із відповідними доменами рецепторів [256] (Рис. 1.8).

Серед вище описаних тіазолідин-піразолінових гібридних молекул **16** із протитрипаносомною дією є сполуки, що показали високу протилейкемічну активність [150], одним з можливих механізмів якої є мітохохондрія залежний апоптоз та стимуляція продукції вільних радикалів – прооксидантна активність [257].

На відміну, від 5-ен-4-тіазолідонів, механізми протипухлинної дії їх поліциклічних похідних не достатньо вивчені, хоча, часто біофорні фрагменти активних 4-тіазолідинонів зберігають їх фармакологічні властивості, анельованими

у поліциклічні системи. Прикладами таких є похідні тіопіранотіазолу, серед яких – велика кількість сполук із доброю та високою протипухлинною активністю щодо ліній лейкемії, недрібноклітинного раку легень, раку нирок, меланоми, раку яйників, раку молочної залози, простати та ЦНС [202]. Так, N-заміщені хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазоли **43** (Схема 1.15) із естерною групою та трифлюорометилфенільним фрагментом в *in vitro* дослідженнях на панелі клітин різних пухлинних ліній (≈ 60) характеризувалися середніми значеннями $\log GI_{50}$ на рівні −4,49 - −6,22, а хроменотіопіранотіазол **43** із 4-метилфенілацетамідним замісником в N3 положенні селективно інгібувала ріст лейкемічних ліній в субмікромолярних концентраціях [204]. Структурно подібні похідні ізотіохромено[3,4-*d*]тіазолу із 3-трифлюорметилфенілацетамідним та 3-метилфенліацетамідним замісниками також показали високу протипухлинну активність (в такому ж дослідженні) та низьку гостру токсичність [258].

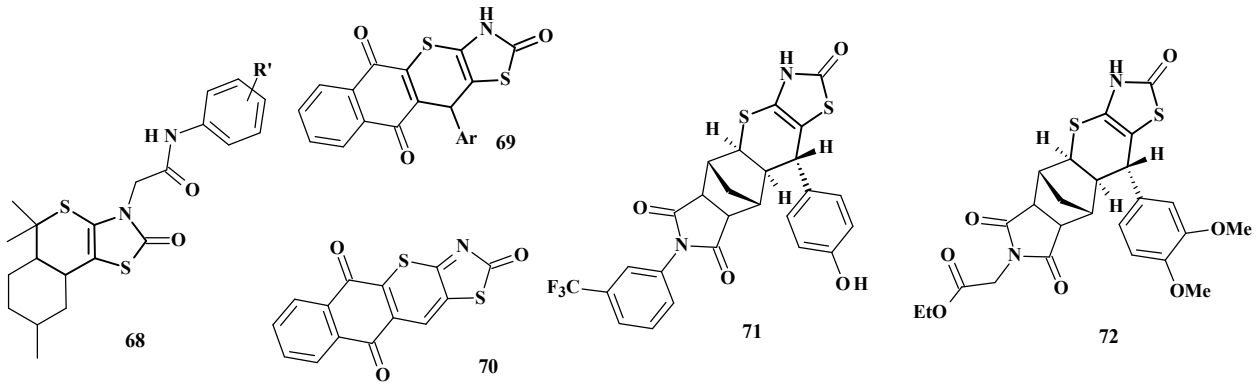


Рис.1.9. Приклади похідних тіопіранотіазолів із протипухлинною активністю.

Однією з модифікацій тіопіранотіазольного скафолду є введення нафтохінонового фрагменту, приклади таких сполук представлено на рис.1.9. Сполука **69** показала високий рівень протипухлинної активності із помірною селективністю до клітин меланоми [205]. Сполука **70** також інгібувала ріст пухлинних клітин в мікромолярних концентраціях, селективно впливаючи на деякі лінії лейкемії, недрібноклітинного раку легень та меланоми та володіла задовільними токсикометричними параметрами [206]. Висока протипухлинна активність була встановлена для ряду 3,7-дитіа-5,14-

діазапентацикло[9.5.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$.$0^{12,16}$]гептадеценів. Найактивнішими були сполуки **71** та **72,** при цьому сполука **71** селективно інгібувала ріст клітин лейкемії: CCRF-CEM (Log GI_{50} = −6.40) та SR (Log GI_{50} = −6.06) [259].

Незважаючи на зростаючий інтерес до розробки нових антитрипаносомних агентів, протягом останніх десятиліть не зареєстровано нових преапаратів, хоча й з'явилися нові протоколи лікування ВООЗ із застосуванням Фексінідазолу та Бензоксаборол знаходиться на стадії клінічних досліджень. Розробка та пошук молекул з трипаноцидними властивостями включає арсенал усіх сучасних підходів до дизайну нових лікарських засобів, включаючи модифікацію відомих препаратів. Серед малих «лікоподібних» молекул, похідні тіосемікарбазону та їх циклічні аналоги – тіазоли і тіазолідинони є перспективними фармакофорами із протипаразитарними властивостями. Поєднання органічного синтезу та фармакологічного скринінгу (в тому числі, в рамках міжнародних програм) дозволили ідентифікувати значну ефективність 5-іліден-4-тіазолідинонів та їх поліциклічних аналогів як потенційних протипухлинних та протипаразитарних агентів. На основі *in silico* підходів (COMPARE-аналіз, QSAR, молекулярний докінг) запропоновано ймовірні механізми реалізації протипухлинної активності високоактивних похідних з тіазолідиновим фрагментом, що є теоретичною основою для експериментальних досліджень механізмів дії. З огляду на все вище сказане розробка нових протипаразитарних та протипухлинних агентів серед похідних 4-тіазолідинону та споріднених конденсованих поліциклічних систем є актуальним та перспективним завданням медичної хімії як етап створення інноваційних вітчизняних лікарських засобів.

Результати досліджень даного розділу наведені в публікаціях: [56, 135, 202]

РОЗДІЛ 2
ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Фізико-хімічні методи дослідження

Спектри ПМР знімались на приладі «Varian Mercury 400» (400 MHz) та «Bruker 170 Avance 500» (500MHz) спектрометрах, розчинники: DMSO-d_6, хлороформ, внутрішній стандарт – тетраметилсилан. Хромато-мас-спектри отримані на Agilent 1100 Series LCMS із застосуванням методу електроспреєвої іонізації (ESI). Елементний аналіз (C, H, N) проводився на аналізаторі Perkin–Elmer 2400 CHN та були в межах ± 0,4% від теоретично розрахованих величин. Перебіг реакції та чистоту синтезованих сполук перевіряли методом тонкошарової хроматографії (алюмінієві пластинки Merck Silica Gel 60 F254). Температури топлення речовин вимірювали відкритим капілярним методом на приладі BUCHI B-545 та є не кориговані.

Кристалографічні дослідження. Визначення кристалічної структури сполук **4.3**, **4.7**, **4.21** та **5.29**. Молекулярні ілюстрації досліджуваних речовин зображувалися за допомогою ORTEP-3 для Windows [260]. Іншим програмним забезпеченням для обробки результатів рентгеноструктурного аналізу були WINGX [260], OLEX [261] та PLATON [262]. Дані кристалографічного аналізу наявні у Кембріджському центрі кристалографічних даних (Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC): номери CCDC 1872547 (**4.7**), CCDC 1872546 (**4.21**), CCDC 1872545 (**4.30**), CCDC 1876806 (**5.29**). Відповідні інтенсивності записувалися на дифрактометрі Rigaku SuperNova Dual Atlas (CrysAlis PRO, version 1.171.39.46; Rigaku Oxford Diffraction: Yarnton, U.K., 2018), використовуючи дзеркальне монохроматичне Cu $K\alpha$ випромінення (λ = 1,54178 Å). Дані коригувалися для ефектів Лоренца, поляризації та абсорбції. Структури встановлені за допомогою алгоритму (SHELXT) та уточнена на основі F^2 для всіх даних (SHELXL-97) [263].

2.2. Дослідження біологічної активності

Дослідження протитрипаносомної активності. Гемолімфатичні форми *Trypanosoma brucei brucei* (штам 90–13) та *Trypanosoma brucei gambiense* (штам Feo) культивувалися в середовищі HMI9 із додаванням 10% фетальної телячої сироватки, при температурі 37 ºС та атмосфері 5% CO_2 [264]. У всіх експериментах, культури паразитів центрифугувалися при 3000 об/хв і відразу по тому використовувалися. Екперимент базувався на перетворенні життєздатними клітинами окисно-відновного барвника (резазурину) на флуоресцентний продукт [265]. Вихідні розчини сполук готувалися у ДМСО. Гемолімфатичі форми *Tb brucei* та *Tb gambiense* (105 клітин/мл) культивували в 96-лункових планшетах при додаванні розчинів досліджуваних речовин у різних концентраціях або за їх відсутності (кінцевий об'єм – 200 мкл). Планшети інкубували при температурі 37ºС в середовищі з підвищеним рівнем вологості та 5% вмістом CO_2. Через 72 год інкубації в кожну лунку додавали розчин резазурину у кінцевій концентрації 45 мкМ та продовжували інкубацію протягом наступних 4 год. Після інкубації вимірювали флюоресценцію при довжині хвилі λ=530 нм (довжина хвилі збудження – 590 нм). Відсоток інгібування росту паразитів розраховували, порівнюючи флуоресценцію лунок, в яких культивували паразитів із додаванням досліджуваних сполук із лунками без досліджуваних речовин. Як контроль використовувався розчин ДМСО. Концентрація інгібування росту 50% паразитів, визначалася із дозозалежних кривих із концентрацією речовин в градієнті від 10 мг/мл до 0,625 мг/мл і є виражена у мкМ. Значення IC_{50} є середніми±стандартне відхилення трьох незалежних експериментів.

Дослідження протилейшманіозної активності. Промастиготи *Leishmania major (штам* Friedlin V1) в експоненціальній фазі росту культури, відбиралися центрифугуванням при 2500g 15 хв та розчинялися у середовищі M199 із додаванням 20% фетальної телячої сироватки до отримання концентрації 2 х 10^5 кл мл-1. У кожну лунку 384-лун. планшетів вносили по 30 мкл культури та по 15 нл досліджуваних сполук у концентрації 10 мкМ (розчинник ДМСО). Виключенням

були лунки із позитивним контролем, куди додавали Амфотерицин В (1мкМ) та негативним контролем, куди вносили тільки 0,5% ДМСО. Пленшети інкубували протягом 72 год при 25 °С. Після інкубації, додавали реагент Alamar blue до кінцевої концентрації 10% в кожній лунці. Планшети інкубували протягом наступних 24 год при 25 °С, після чого вимірювали інтенсивність флуоресценції за допомогою EnSpire Multimode Plate Reader (PerkinElmer). Інгібування росту визначали порівнюючи інтенсивність флуоресценції між лунками із клітинами із доданими досліджуваними сполуками та лунками із негативним контролем. Індивідуальні Z-фактори визначали на основі величин негативного та позитивного контролю як описано раніше [266], дані із лунок використовували тільки, якщо Z-фактори були вищими, ніж 0,5. Первинні хіти визначали як сполуки, що показували > 50% інгібування росту. Експерименти повторювали двічі із трьома повторами для кожної із сполук. Активність сполук-хітів тестувалася у градієнті концентрацій 0,01-50,0 мкМ. Як препарати порівняння використовували Амфотерицин В та Мілтефозин. Всі експерименти повторювали тричі із двома повторами реакцій для кожної концентрації досліджуваних сполук та контролю. Величини IC_{50} визначали методом лінійного регресійного аналізу із використанням програмного забезпечення Studies software (Dotmatics Knowledege Solutions).

Дослідження протималярійної активності. Дослідження протималярійної дії проводилося на *Plasmodium falciparum (штам* FcB1/colombia*)* в культурі на людських еритроцитах як описано раніше [267]. Антиплазмодійна активність визначалася за допомогою модифікації напівавтоматизованої техніки мікророзведення [268]. Хлорохін дифосфат використовували як препарат порівняння. Розчини хлорохіну дифосфату та досліджуваних речовин готувалися у стерильній дистильованій воді та ДМСО відповідно. Розчини досліджуваних сполук серійно розводили середовищем та додавали до культури паразитів (1% паразитемія і 1% кінцевий гематокрит) у 96-лункові мікропланшети та інкубували протягом 24 год при 37ºС, після чого додавали 0,5 ACi [3H]гіпоксантину (Amersham, Les Ulis, France)/лунку та інкубували ще протягом 24 год. Інгібування росту для кожної

концентрації визначали шляхом порівняння радіоактивності клітин оброблених досліджуваними сполуками із клітинами в контрольній групі (без додавання речовин). Концентрація, що інгібувала 50% росту (IC_{50}) отримували із концентрацієзалежної кривої для кожної сполуки та виражали як середнє стандартних відхилень отриманих із декількох незалежних експериментів. Концентрація ДМСО ніколи не перевищувала 0,1% та не пригнічувала ріст паразитів.

Дослідження протипухлинної активності in vitro у Національному інституті раку (Бетесда, Меріленд, США). *Первинний скринінг* протиракової активності проводили на панелі близько шістдесяти ліній людських пухлинних клітин, що представляють дев'ять неопластичних захворювань, відповідно до Drug Evaluation Branch, Національного Інституту Раку [269–272]. Досліджувані сполуки додають в одній концентрації (10^{-5} М) до культур клітин та інкубують протягом 48 год. Визначення кінцевої точки проводять за допомогою барвника, що зв'язується з протеїнами – сульфородаміну Б. Результати для кожної сполуки виражені як відсоток росту (Growth percent, GP%) клітин з додаванням речовини відносно росту контрольних клітин без досліджуваних зразків.

Інтерпретація даних скринінгу в одній дозі. Дані протоколу подають як середній відсоток росту досліджуваних клітин і є аналогічним до середнього графіку із дослідження у 5-ти концентраціях. Кінцевим значенням в протоколі є ріст клітин відносно контрольної групи клітин (без досліджуваної речовини) та відносно нульової точки кількості клітин. Це дозволяє визначення обох значень інгібування (значень між 0 та 100) та значень летальності. Наприклад, значення «100» означає відсутність інгібування. Значення «40» означає 60% інгібування росту клітин. Значення 0 – відсутність росту протягом експерименту. Значення «-40» означає 40% летальності. Значення «-100» означає загибель всіх клітин.

Інтерпретація даних скринінгу у градієнті концентрацій. Сполуки, що виявили значне інгібування росту пухлинних клітин в експерименті в одній концентрації, досліджувалися на 60 лініях в п'яти концентраціях. Людські пухлинні клітини із скринінгової панелі вирощують в середовищі RPMI 1640, що містить 5%

фетальної бичачої сироватки та 2 мМ L-глютаміну. Для типового експерименту, клітини інокуюють у 96-лункові планшети у 100 мкл при густині в діапазоні від 5000 до 40000 клітин/лунку залежно від часу подвоєння індивідуальної клітинної лінії. Після інокуляції клітин, мікротитрові планшети інкубують при 37°C, 5% CO_2, 95% повітря та 100% вологості протягом 24 год перед додаванням досліджуваних речовин.

По проходженню 24 год, два планшети кожної лінії клітин фіксують *in situ* трихлорацетатною кислотою (TCA) для вимірювання клітинної популяції для кожної клітинної лінії в момент додавання досліджуваної речовини (Tz). Досліджувані сполуки розчиняють в диметилсульфоксиді у 400 кратному розведенні відносно цільової кінцевої максимальної тестованої концентрації та зберігають замороженими перед застосуванням. На момент додавання речовини, аліквоту замороженого концентрату розморожують та розводять до двічі більшої необхідної кінцевої максимальної тестової концентрації середовищем, що містить 50 мкг/мл гентаміцину. Додатково проводять чотири 10-кратних серійних розведень для отримання п’яти концентрацій плюс контроль. Аліквоти по 100 мкл цих розведень додають до відповідних лунок, що вже містять 100 мкл середовища, що дозволяє отримати необхідні кінцеві концентрації.

Після додавання досліджуваних речовин, планшети інкубують протягом 48 год при 37°C, 5% CO_2, 95% повітря та 100% відносної вологості. Для адгерентних клітин, дослід закінчується додаванням 50 мкл холодної TCA. Клітини фіксуються *in situ* обережним додаванням 50 мкл 50% холодної TCA (кінцева концентрація становить 10%) та інкубують протягом 60 хв при 4°C. Супернатант відкидають і планшети миють 5 разів водою та висушуються на повітрі. 0,4 % Розчин сульфородаміну B (SRB) (100 мкл) в 1% ацетатній кислоті додають до кожної лунки і планшети інкубують протягом 10 хв при кімнатній температурі. Після фарбування, незв’язаний барвник видаляють 5-кратним промиванням 1% розчином ацетатної кислоти, пластинки висушують на повітрі. Плями із зв’язаним барвником солюбілізують 10 мМ основою Тризма і детектують на автоматизованому читачі планшетів при довжині хвилі 515 нм. Для суспендованих клітин у суспензії,

методологія не відрізняється за винятком закінчення досліду фіксуванням клітин, що осіли на дно лунок, додаванням 50 мкл 80% ТСА (кінцева концентрація становить 16%). Відсоток росту клітин для кожної концентрації обчислюється на основі семи вимірювань абсорбції: нульовий час (Tz), ріст в контрольній пробі (C) та ріст в присутності досліджуваних речовин в п'яти концентраціях (Ti). Відсоток інгібування росту обчислюється за формулами:

$$[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100 \text{ для концентрацій, для яких } Ti \geq Tz$$

$$[(Ti-Tz)/Tz] \times 100 \text{ для концентрацій, для яких } Ti < Tz.$$

Три дозозалежні параметри розраховують для кожної тестованої речовини. Інгібування росту 50% (GI_{50}) розраховують із $[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100 = 50$, що є концентрацією речовини, що спричиняє 50% зниження рівня нативного білка (виміряного SRB-методом) в контрольних клітинах протягом інкубації. Концентрація речовини, що спричиняє тотальне інгібування росту (TGI) клітин обчислюється із $Ti = Tz$. LC_{50} (концентрація речовини, що спричиняє 50% зменшення вимірюваного протеїну в кінці інкубації порівняно із початком) вказує чисту втрату (чисте зменшення кількості) клітин в кінці досліду та обчислюється за формулою $[(Ti-Tz)/Tz] \times 100 = -50$. Значення кожного з цих параметрів обчислюються якщо досягнуто рівня активності. Хоча, якщо ефекту не досягнуто або перевищено, значення параметрів виражають як менше або більше максимальної чи мінімальної досліджуваної концентрації [273].

Скринінг протилейкемічної дії. Дослідження протилейкемічної дії проводилося *in vitro* на клітинах 4 лейкемічних ліній: Dami, HL-60, Jurkat та K562 у МТТ тесті. Пухлинні клітини сіяли у 96-лункові планшети у концентрації 2000 кл/лунку або у вигляді суспензії 10000 клітин (100мкл/лунку) та інкубували протягом 24 год. Після чого додавали досліджувані речовини та інкубували протягом 72 год. (3-(4,5-Диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифеніл тетразоліум бромід (МТТ), що трансформується до темно синього водо нерозчинного формазану мітохондріальними дегідрогеназами використовувався для визначення живих клітин відповідно до протоколу [274].

Дослідження цитотоксичності щодо нормальних та псевдонормальних клітин. Цитотоксичність досліджувалася на клітинній лінії L-6 міобластів щурів. Дослід проводили у 96-лунковому планшеті у середовищі RPMI, що містило 25 мМ HEPES, pH 7,3, із додаванням 10% фетальної телячої сироватки, в атмосфері 5% CO_2, при температурі 37°C. Після обробки трипсином, клітини L-6 були посіяні по 5000 на лунку у 100 мкл. Після інкубації протягом 24 год, клітини промивалися і додавали двократне розведення досліджуваних речовин (200 мкл/лунку). Вихідні розчини сполук готувалися у ДМСО. Кінцева концентрація ДМСО в культурі була нижчою 1%. Контрольні культури складалися із клітин оброблених чистим ДМСО без досліджуваних речовин. Дослідження цитотоксичності базувалося на зміні життєздатними клітинами окисно-відновного барвника (резазурину) на флуоресцентний продукт [275]. Після інкубації протягом 5 днів, розчин резазурину додавався в кожну лунку в кінцевій концентрації 45 мкМ. Флуоресценція вимірювалася при збудженні довжиною хвилі 530 нм та емісії при довжині хвилі 590 нм після наступної інкубації протягом 4 год. Відсоток інгібування росту клітин обчислювався, порівнюючи флуоресценцію клітин у присутності досліджуваних речовин до клітин без додавання речовин. Значення IC_{50} визначені із дозо-залежних кривих із концентрацією досліджуваних речовин в градієнті від 10мг/мл до 10нг/мл. Значення IC_{50} є середніми±стандартне відхилення трьох незалежних експериментів.

Цитотоксичність на лініях фібробластів BJ та MRC5 та клітинах THP-1 досліджувалася у MTS експерименті із тетразолієм як описано раніше [276].

Дослідження цитотоксичності (на лінії первинних фібробластів AB943 людини). Цитотоксичність досліджувалася на клітинній лінії первинних фібробластів AB943 людини. Дослід проводили у 96-лунковому планшеті у середовищі RPMI, що містило 25 мМ HEPES, pH 7,3, із додаванням 10% фетальної телячої сироватки, в атмосфері 5% CO_2, при температурі 37°C. Після обробки трипсином, клітини лінії AB943 були посіяні по 5000 на лунку у 100 мкл. Після інкубації протягом 24 год, клітини промивалися і додавали двократне розведення досліджуваних речовин (200 мкл/лунку). Вихідні розчини сполук готувалися у ДМСО. Кінцева концентрація ДМСО в культурі була нижчою 1%. Контрольні

культури складалися із клітин оброблених чистим ДМСО без досліджуваних речовин. Дослідження цитотоксичності базувалося на зміні життєздатними клітинами окисно-відновного барвника (резазурину) на флуоресцентний продукт [275]. Після інкубації протягом 5 днів, розчин резазурину додавався в кожну лунку в кінцевій концентрації 45 мкМ. Флуоресценція вимірювалася при збудженні довжиною хвилі 530 нм та емісії при довжині хвилі 590 нм після наступної інкубації протягом 4 год. Відсоток інгібування росту клітин обчислювався, порівнюючи флуоресценцію клітин в присутності досліджуваних речовин до клітин без додавання речовин. Значення IC_{50} визначені із дозо-залежних кривих із концентрацією досліджуваних речовин в градієнті від 10мг/мл до 10нг/мл. Значення IC_{50} є середніми±стандартне відхилення трьох незалежних експериментів.

Дослідження впливу на полімеризацію тубуліну. Вплив сполук на полімеризацію тубуліну досліджували турбідиметричним методом на основі адаптованого оригінального методу Шеланскі, Лі та ін. Із використанням набіру для аналізу полімеризації тубуліну (Cytoskeleton); максимальну швидкість значень полімеризації розра7.2ховано (Vmax) на основі кривих полімеризаці тубуліну. Тубулін свинячого головного мозку (чистий, >99%) у буфері полімеризації тубуліну (тубулін 3 мг/мл , 80 мМ PIPES pH 6,9, 2мМ $MgCl_2$, 0, 5 мМ EGTA, 1мМ GTP, 10,2% гліцерину) змішували з 10 мкл робочих розчинів (100 мкМ) у 96-лункових мікропланшетах (Corning). Абсорбцію вимірювали кожні 60 с при 340 нм, за допомогою EnSpire Plate Reader (PerkinElmer) при 37°C [277].

Дослідження цитотоксичності на мишачих ембріональних фібробластах (лінія 3T3-L1). Мишачі ембріональні фібробласти клітинної лінії 3T3-L1 отримані з Американської колекції типових культур (ATCC; дистриб'ютор: LGC Standards, Łomianki, Польща (ATCC, distributor: LGC Standards, Łomianki, Poland). Лінія 3T3-L1 зберігалася у середовищі DMEM без фенолового червоного із додаванням 10% фетальної телячої сироватки, 100 О/мл пеніциліну, 0,10 мг/мл стрептоміцину та 250 нг/мл амфотерицину В, при температурі 37 °C, у підвищеній вологості із 5% CO_2. Клітини сіяли у 96-лункові мікропланшети при густині 6×10^3 (для 24-год

експозиції) та 5 × 10^3 (для 48-год експозиції) на лунку та початково культивували протягом 24 год перед експериментом. Послідовно, середовище замінювали свіжим, підвищуючи концентрації досліджуваних речовин (100 нМ та 1, 10 мкМ) для вивчення відновлення резазурину і активності каспази-3.

Тест відновлення резазурину. Тест відновлення резазурину базується на здатності метаболічно активних клітин перетворювати синій резазурин (не флуоресцентну форму) на червоний резоруфін (флуоресцентну форму). З метою визначення життєздатності клітин, їх сіяли у 96-лунковий мікропланшет та інкубували із досліджуваними речовинами (100 нМ, 1 та 10 мкМ) протягом 24 та 48 год при 37 ˚С. Після чого розчини досліджуваних сполук видаляли і додавали середовище DMEM, що містить 1% фетальної телячої сироватки і 10% резазурину. Після 30 і 60 хв інкубації, вимірювали флуоресценцію на зчитувачі мікропланшетів (FilterMax F5). Максимальний спектр збудження становив 530 нм, емісії – 590 нм. Дані аналізувалися за допомогою програмного забезпечення Multi-Mode Analysis та були нормалізовані відповідно до контрольних клітин оброблених тільки середовищем (% від контролю).

Визначення активності каспази-3. Визначення активності каспази-3 як маркера клітинного апоптозу проводилося відповідно методу Nicholson та спів. [278]. Клітини сіяли у 96-лунковий мікропланшет та додавали досліджувані речовини. Після танення (-80ºС), клітини лізували, додаванням буферного розчину (50 мМ HEPES, pH 7,4, 100 мМ NaCl, 0,1 % CHAPS, 1 мМ ЕДТА, 10 % гліцерину та 10 мМ DTT) при 10°С протягом 10 хв. Лізати інкубували у субстраті каспази-3 Ac-DEVD-pNA при 37°С. Клітини, що піддавалися дії 1 мкМ стауроспорину, використовувалися к позитивний контроль. Після 30 хв, на зчитувачі мікропланшетів (FilterMax F5).вимірювали абсорбцію лізатів при 405 нм. Кількість колориметричного продукту постійно контролювалася протягом 120 хв. Дані аналізувалися за допомогою програмного забезпечення Multi-Mode Analysis та були

нормалізовані відповідно до контрольних клітин оброблених тільки середовищем (% від контролю).

ПЛР у реальному часі мРНК специфічної для генів, що кодують арил-гідрокарбонові рецептори (AhR), Cyp1a1, Cyp1b1, Cyp1a2 та Cyp2b10. Для процедури ПЛР в реальному часі, 3T3-L1 клітини сіяли у 12-лункові планшети та культивували протягом 24 год відповідно до описаної раніше процедури [279]. Після 6-годинної експозиції із 1 мкМ βNF (β-нафтофлавоном) та досліджуваними речовинами, зразки збирали і із 3T3-L1 клітин екстрагували РНК за допомогою набору для ізоляції РНК (RNA isolation kit, EURx, Гданськ, Польща) відповідно до інструкції виробника. Якість та кількість РНК визначали спектрофотометрично при 260 та 280 нм, відповідно (ND/1000 UV/Vis; Thermo Fisher NanoDrop, США). Двоетапна зворотна транскрипція в реальному часі ПЛР проводилася методом ПЛР в реальному часі (RT) та кількісною ПЛР (qPCR) на CFX Real Time System (BioRad, США). ПЛР в реальному часі проводилася у кінцевому об’ємі 20 мкл із 800 нг РНК, використовуючи набір для зворотної транскрипції кДНК відповідно до інструкцій виробника. Продукти із реакції в реальному часі були ампліфіковані за допомогою набору майстер-мікс для кількісної ПЛР (EURx) із TaqMan зондами для специфічного кодування генів *Actb, Ahr*, *Cyp1a1*, *Cyp1b1*, *Cyp1a2* та *Cyp2b10.* Ампліфікація проводилася в об’ємі 20 мкл, що містили 1× кПЛР майстер-мікс (EURs) та 1,0 мкл продукту реакції (RT), що використовувався як зразок для ПЛР. Стандартні процедури кПЛР проводилися наступним чином: 2 хв при 50°C та 10 хв при 95°C, із наступними 45 циклами по 15 с при 95°C та 1 хв при 60°C. Порогове значення (Ct) для кожного зразка було встановлено під час експоненціальної фази, а для аналізу даних був використаний метод ΔΔCt. *Actb* використано як ген порівняння.

Дослідження активностей CYP450 (ЕРОД, МРОД та ПРОД експерименти). Активність Cyp1a1/Cyp1b1, Cyp1a2 та Cyp2b1 ензимів досліджувалася за допомогою флуориметиричних субстратів: етоксирезоруфін-О-деетилази (ЕРОД), 7-

метоксирезоруфін-О-деметилази (МРОД) та пентоксирезоруфін О-деалкілази (ПРОД) відповідно за методиками описаними Kennedy та спів. [280]. 3T3-L1 Клітини сіяли у 12-лункові планшети та культивували протягом 24 год. Вимірювання активності ЕРОД, МРОД та ПРОД проводилося після 24 або 48 год експозиції 1мкМ βNF чи досліджуваних сполук. Для експерименту лізовані клітини переносили до мультилункового планшету, де флуоресценцію продукту резоруфіну детектували за допомогою флуоресцентного зчитувача мікропланшетів (FilterMax F5) при довжині хвилі збудження 530 нм та емісії – 590 нм. Концентрацію протеїну визначали спектрофотометрично в трьох повтореннях для кожного зразка при 280 нм, із застосуванням приладу ND/1000 UV/Vis (Thermo Fisher NanoDrop). Дані представлені як середнє значення ± СВ трьох незалежних експериментів. Кожен замір повторювали шість разів (n=6) та вимірювали тричі. Дані аналізували за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) із наступною процедурою багаторазового порівняння Тукі ***p<0, 001, **p<0, 01 та *p<0,05 відносно контролю.

Дослідження цитотоксичності на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2 людини та нормальних фібробластах миші Balb/c 3T3. Культури клітин. Клітини гепатоцелюлярної гепатоми людини (HepG2) з Американської колекції типових культур (ATCC HB-8065) культивувалися в середовищі MEME (Minimum Essential Medium Eagle). Лінія фібробластів миші (Balb/c 3T3 клон A31) належала відділенню хвороб свиней Національного ветеринарного дослідного інституту у м. Пулави (Польща) та культивувалася в середовищі DMEM (Dulbecco`s Modified Eagle`s Medium). До середовища додавали 10% BCS (Balb/c 3T3), 10% FBS (HepG2), 1% L-глютамін, 1% розчин антибіотику. Середовище оновлювали кожних 2-3 дні, клітини трипсинували 0,25% трипсином - 0,02% ЕДТА після досягнення їх 70-80% скупчення. Суспензію клітин готували у концентрації $2x10^5$ кл/мл (HepG2) та $1x10^5$ кл/мл для 24 год і 48 год експозиції чи $5x10^4$ кл/мл для 72 год експозиції (Balb/c 3T3). Суспензію клітин переносили у 96-лунковий планшет (100 мкд/лунку) та інкубували протягом 24 год перед експозицією досліджуваних сполук. Розчин

тестованих речовин готували у ДМСО із додаванням культурного середовища до отримання концентрації в межах 10^{-5} – 10^{2} мкМ. Фінальна концентрація ДМСО становила 0,1% у середовищі та не впливала на ріст клітин. Середовище, що використовували для досліджуваних речовин та контролю не містило сироватки та антибіотиків. Як негативний контроль, клітини вирощували у відсутності досліджуваних речовин. Цисплатин застосовували як препарат порівняння. Кожна концентрація тестувалася 6 разів у трьох незалежних експериментах. Цитотоксичність вимірювалася на 24, 48 та 72 год експозиції клітин до тестованих сполук. Середовище не змінювалося протягом часу інкубації.

МТТ експеримент **(**метил тетразоліум тест**).** Метаболічну активність живих клітин оцінювали вимірюванням активності дегідрогеназ [274]. Після інкубації клітин із досліджуваними речовинами, 10 мкл розчину МТТ (5 мг/мл) додавали у кожну лунку планшету та інкубували. Через 3 год, розчин МТТ видаляли, а внутрішньоклітинні кристали формазану розчиняли у 100 мкл ДМСО. Мікропланшет струшували протягом 15 хв при кімнатній температурі та вимірювали абсорбцію при 570 нм на зчитувачі мікропланшетів Synergy HTX multi-mode reader (BioTek® Instruments Inc., USA). Цитотоксичність виражена як відсоток від негативного контролю (0,1% ДМСО) [281].

Тест з нейтральним червоним (Neutral red uptake test NRU). Метод базується на забарвленні живих клітин нейтральним червоним, що дифундує через плазматичну мембрану та акумулюється в лізосомах [282]. Після інкубації, середовище із досліджуваними речовинами видаляли, а клітини промивали фосфатним буферним розчином (PBS). Після чого додавали 100 мкл/лунку НЧ (нейтрального червоного) у концентрації 50 мкг/мл на 3 год і промивали фосфатним буферним розчином. Із життєздатних клітин барвник екстрагували сумішшю ацетатної кислоти:етанолу:води = 1:50:49 (v:v:v). Після 10 хв струшування, абсорбцію розчиненого НЧ вимірювали на зчитувачі мікропланшетів Synergy HTX multi-mode reader (BioTek® Instruments Inc., USA) при 540 нм. Цитотоксичність виражена як відсоток від негативного контролю (0,1% ДМСО) [281].

Дослідження загального білку клітини TCP (total cell protein). Експеримент базується на забарвленні всіх білків клітини [283]. Після інкубації, середовище, що містило досліджувані речовини видаляли і в кожну лунку додавали 100 мкл кумассі діамантового синього R-250. Мікропланшет струшували протягом 10 хв. Тоді барвник видаляли, клітини промивали двічі по 100 мкл розчином ацетатної кислоти:етанолу:води = 5:10:85 (v:v:v). Після чого, додавали 100 мкл десорбуючого розчину (1М калію ацетату) і мікропланшети струшували ще 10 хв. Абсорбція вимірювалася при 595 нм на зчитувачі мікропланшетів Synergy HTX multi-mode reader (BioTek® Instruments Inc., USA). Цитотоксичність виражена як відсоток від негативного контролю (0,1% ДМСО) [281].

Дослідження виходу лактатдегідрогенази (ЛДГ тест). Цілісність плазматичної мембрани тестувалася в експерименті оцінки виходу лактатдегідрогенази [284] із використанням комерційно доступного ЛДГ-тесту (Roche Diagnostics, Poland). Середовище (100 мкл/лунку) без клітин переносили у 96-лунковий плоскодонний мікропланшет із наступним додаванням 100 мкл реакційної суміші в кожну лунку. Мікропланшети інкубували протягом 3 хв при кімнатній температурі у темному місці. Після чого додавали розчин 1М HCl (50мкл/лунку) для зупинки реакції. Абсорбцію вимірювали при 492 нм на зчитувачі мікропланшетів Synergy HTX multi-mode reader (BioTek® Instruments Inc., USA) [281].

Обчислення індексу селективності

Індекс селективності обчислено за рівнянням

$$IC = CC_{50}^{\text{без ракових клітин}}/CC_{50}^{\text{ракових клітин}},$$

Якщо IC ≥3, сполука розглядається як селективна [285]. IC>3,0 вказує на сполуку, що ефективно інгібує ріст ракових клітин, при цьому володіє нижчою токсичністю щодо нормальних клітин. Для обчислення значень IC, значення CC_{50} вищі, ніж 100 мкМ брали рівними 100 мкМ. Рівень цитотоксичності обчислено як середнє арифметичне значення трьох незалежних експериментів. Відсоток інгібування життєздатності клітин обчислено відносно контрольних клітин без додавання досліджуваних речовин. Цитотоксичні концентрації (CC_{20}, CC_{50}, CC_{80}) є

концентраціями досліджуваних речовин, що інгібують життєздатності клітин на 20%, 50% та 80% відповідно і були обчислені за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism 5 (San Diego, CA, USA) із використанням методу нелінійної регресії.

Вестерн-блот аналіз клітинних протеїнів. Клітини гепатокарциноми HepG2 інкубувалися із досліджуваною сполукою **6.47** протягом 24 год у визначеній концентрації IC_{50} 45,0 мкМ та доксорубіцину у концентрації 1,6 мкМ. Клітинні протеїни ізолювали при дії лікуючого буферу (10 мМ Tris–HCl, pH 7,5; 150 мМ NaCl; 50 мМ NaF; 5 мМ EDTA; 1% Nonidet P-40, Complete protease inhibitor cocktail (Roche Applied Science, Mannheim, Germany)), розділяли за допомогою SDS/PAGE та переносилися на полівініліден дифлюоридну (PVDF) мембрану (Millipore Corporation, USA) як описано у методиці [286], при використанні систем електрофорезу (Bio-Rad Electrophoresis). Антитіла для розщеплення каспази 3 (Asp175), розщеплення PARP1 (полі[АДФ-рибозо]полімерази 1) (Asp214), анти-фосфо-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204), анти-циклін-залежної кінази 2 (Cdk2) (Cell Signaling, Austria), анти-фосфо чек-поінт кінази 2 (phChk2), анти-Bax (BCL2-асоційованого X протеїну), анти-фосфо-ретинобластомного супресорного протеїну (phRb) (E-10) (Santa Cruz Biotechnology, USA), та мишачі анти-β-актин (AC-15) моноклональні антитіла (Sigma-Aldrich, USA) використано у розведенні 1:1000. Вторинні пероксидаз-марковані антитіла (Cell Signaling, Austria) застосовували у розведенні 1:5000. Для денситометричного аналізу кількості протеїнів, використано програмне забезпечення ImageJ.

Аналіз ДНК комет. Клітини гепатокарциноми HepG2 інкубувалися із досліджуваними сполуками протягом 24 год у концентрації 45,0 мкМ та доксорубіцину у концентрації 1,6 мкМ. Аналіз ДНК комет проводили у лужному середовищі як описано раніше [287]. Заморожені мікроскопічні пластинки покривали 1% розчином агарози (LACHEMA, Czech Republic). 10-15 мкл Клітин (50000) у розчині фосфатного буферу змішували з 250 мкл 0,5 % низько плавкої

агарози (Promega, USA). Суспензію клітин (100 мкл) переносили на мікроскопічні пластинки та лізувала протягом 4-6 год при 4 ºС в розчині лізату (2,5 М NaCl; 100 мМ EDTA; 10 мМ Tris, pH 10,0; 10% ДМСО, 1% Triton X-100). Електрофорез проводили при 25 В протягом 25 хв у свіжому розчині для електрофорезу (1 мМ EDTA; 300 мМ NaOH, pH 13,0) при 4 ºС [288], після чого пластинки обробляли Етидію бромідом (10 мкг/мл, Sigma Aldrich, USA) та аналізували під флуорисцентним мікроскопом (Zeiss, камера AxioImager A1) із використанням програмного забезпечення Imaging Associates Ltd. Для обчислення моменту оливкового хвоста (olive tail moment, OTL) та відсотку хвоста ДНК як маркера пошкодження ДНК використано програмного забезпечення Casplab-1.2.3b2 (CASPLab, Wroclaw, Poland). Момент оливкового хвоста обчислено як добуток ДНК, що може детектуватися у хвості комети (%) та відстані між центрами голови та хвоста комети [289] за формулою:

$$OTL = (Tail\ mean - Head\ mean) \times \%\ of\ tail\ DNA$$

Результати аналізували та представляли із використанням програмного забезпечення GraphPad Prism 5 (або 6). Експерименти повторювали тричі, дані представлено як середнє значення ± стандартне відхилення (СВ) або середнє значення ± стандартна похибка. Статистичний аналіз проведено із використанням одностороннього або двостороннього тесту ANOVA з тестом множинного порівняння Даннета. $P < 0,05$ розглядалася як статистично значуща.

Методика дослідження інтеркаляції речовин у ДНК (із використанням метилового зеленого). Метод базується на здатності метилового зеленого утворювати стійкий комплекс з ДНК при pH 7,5. Інтеркалюючі ліганди витісняють метиловий зелений з його комплексу з ДНК. У буфері з лужним pH метиловий зелений знебарвлюється. Розчин ДНК лосося (10 мг/мл, Sigma-Aldrich, США), доводили до концентрації 30-50 мкг/мл фосфатним буфером. До розчину додавали метиловий зелений з розрахунку 15 мкг на 1мл ДНК (робочий розчин концентрацією 30 мкг ДНК). У пробірки вносили досліджувані речовини у концентрації 1 і 10 мкМ. Як позитивний контроль використовували доксорубіцин та

Етидій Бромід (1 і 10 мкМ). Проби інкубували дві години при температурі 37 °С [290]. Заміряли показники оптичної густини розчинів при 630 нм (Absorbance Reader BioTek ELx800 (BioTek Instruments, Inc., США).

Дослідження протимікробної активності. Протимікробну та протигрибкову дію визначали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») та методом серійних розведень (розщеплення резазурину в бульйоні) [291] на референс-культурах та клінічних ізолятах мікроорганізмів, виділених від пацієнтів. Референс-культури: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (F-51), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 26923 (F-49), *Candida albicans* ATCC 885/653, *Aspergillus neger* муз. №162; клінічні ізоляти: *Pseudomonas aeruginosa* №7, *Escherichia coli* №5, *Raoultella terrigena* №1, *Staphylococcus lentus* №21, *Staphylococcus lugnuniensis* №142, *Staphylococcus simulans* №151, *Candida albicans* №60, *Candida dubliniensis* №67, *Candida membranifaciens* №117. Клінічні та рідкісні клінічні штами – резистентні до дії більшості лікарських засобів [292] та ізольовані від пацієнтів із інфекціями пов'язаними з наданням медичної допомоги. Досліджувані сполуки (у концентрації 1мМ) інокували у лунки діаметром 5,5±0,5 мм (50 мкл/лунку), що містили суспензію культури мікроорганізмів (McFarland 2.0) на пластинці агару (м'ясо-пептонний агар або середовище Сабуро для грибів). ДМСО використовували як контроль. Сполука, що спричиняла діаметр інгібування росту мікроорганізмів, більше, ніж на 10 мм, вважалася активною [291]. Метод серійних розведень [293,294] (Resazurin Reduction-Based Assay) передбачав внесення в 96-лункову планшетку 50 мкл поживного середовища (бульйон Мюллера-Хінтона), 100 мкл досліджуваної речовини та 50 мл суспензії мікрооранізмів (McFarland 2.0), з додаванням 15 мкл 0,02% резазурину в кожну лунку.

2.3. Дослідження гострої токсичності *in vivo*

Експерименти проводились на лабораторних білих безпородних мишах, самцях (вагою 20-25 г). Сполуки розчиняли у фізіологічному розчині (0,9% NaCl) із

1-2 краплями Полісорбату 80 (Твін-80). Після розчинення їх вводили мишам інтраперитонеально у разовій дозі (час спостереження 14 днів). LD_{50} оцінювали для 4 або 5 різних доз (100, 200, 400, 600, 800 мг/кг) на 4-6 тварин і розраховували методом Літчфілда-Вілкоксона [295,296].

2.4. *In silico* дослідження

Статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 [297] та R Commander v.2.4-4 [298].

QSAR-Аналіз проводився за допомогою он-лайн платформи Online Chemical Database [299].

Проведення процедури COMPARE аналізу. Інформація для кожної досліджуваної сполуки про інгібування росту пухлинних клітин у вище зазначених експериментах дозволяє проведення COMPARE аналізу. На сьогоднішній день DTP протестував понад 88 000 чистих сполук і понад 34 000 сирих екстрактів на панелі клітинних ліній пухлин людини. Отримані дані аналізують за допомогою програми під назвою COMPARE. Досліджувана сполука може бути вказана за допомогою номер доступу NCI (номер NSC). Наступним кроком алгоритму COMPARE є ранжування всієї бази даних тестованих сполук у порядку схожості результатів, виражених як середні значення т.з. відбитків пальців "fingerprints" або патернів клітинних ліній сполук у базі даних до результатів досліджень інгібування росту клітинних ліній власне досліджуваної сполуки. Подібність "fingerprints" клітинних ліній до таких досліджуваної сполуки кількісно виражена у вигляді коефіцієнту кореляції Пірсона. Результати, отримані у COMPARE аналізі, вказують на те, що сполуки, які знаходяться високо у цьому рейтингу можуть мати механізм дії подібний до механізму дії досліджуваної сполуки [300–302]. Даний алгоритм дозволяє прогнозувати біохімічні механізми дії нових сполук на основі порівняння профілів їх *in vitro* активності до таких стандартних протипухлинних агентів.

Прогнозування метаболітів здійснювалося за допомогою програмного забезпечення GLORY. Методи GLORY, і GLORYx використовують набори правил

реакцій для створення структур передбачуваних метаболітів у поєднанні з передбаченими ділянками метаболізму (SoMs) для оцінки та ранжування передбачуваних метаболітів. Сайти метаболізму (SoM) передбачаються за допомогою FAME 3. FAME 3 є набором моделей машинного навчання для прогнозування I і II фаз метаболізму (SoMs). SoMs - це атоми, де починається метаболічна реакція, що є відправною точкою для визначення метаболічного шляху ксенобіотиків. Метод GLORY дозволяє передбачати метаболіти, що утворюватимуться при метаболізмі за участі цитохрому P450 тільки. Метод GLORYx охоплює I і II стадії метаболізму [303,304].

РОЗДІЛ 3
ФОРМУВАННЯ СФОКУСОВАНИХ БІБЛІОТЕК СПОЛУК ДЛЯ СИНТЕТИЧНИХ І БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Пошук похідних тіазолідинону із подвійною протипаразитарною і протипухлинною активностями. Побудова математичної моделі для прогнозування активності різних ліній раку на їх основі

Проведений аналіз суб-бібліотек сполук на основі різноманітних тіазолідинонів наявної «in-house» бібліотеки кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії дозволив виділити серію речовин із встановленою подвійною протипаразитарною активністю щодо *Trypanosoma brucei brucei* (*Tb brucei*) (*in vitro* дослідження) та протипухлинною активністю, дослідженою на панелі із 50-58 ліній ракових клітин згідно з протоколом NCI (рис.3.1) [305]. Залежними параметрами активності було обрано напівмаксимальну інгібуючу концентрацію (IC_{50}) обчислену в експерименті на *Tb brucei* та концентрації інгібування росту 50% клітин різних ракових ліній (GI_{50}), обидві виражені у мкМ (додаток А.1). Вказані сполуки синтезовано за відомими методами описаними раніше: 5-[(4-диметиламінофеніл)метилен]-2-тіазол-2-іліміно-тіазолідин-4-он **III.1** [306], 3-(4-гідроксифеніл)-5-[(4-метоксифеніл)метилен]-2-[(4-метоксифеніл)метиленгідразоно]тіазолідин-4-он **III.2** та 2-[3-(4-гідроксифеніл)-4-оксо-2-[(2-оксоіндолін-3-іліден)гідразоно]тіазолідин-5-іл]-N-(*п*-толіл)ацетамід **III.4** [307], 5-(1H-індол-3-ілметилен)-2-тіазол-2-іліміно-тіазолідин-4-он **III.3,** 2-[4-бромо-2-[[2-(4-гідрокси-N-мктил-аніліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]фенокси]ацетатна кислота **III.5** та 4-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5-[(4-нітрофеніл)метилен]тіазол-2-он **III.6** (із «in-house» бібліотеки кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії), 5-бромо-1-[2-[3-(4-хлорофеніл)-5-(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етилl]індолін-2,3-діон **III.7** [308], 5-[(4-гідрокси-3,5-диметокси-феніл)метилен]-2-[3-(2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]тіазол-4-он **III.8** [309], N-(*м*-толіл)-2-(5,5,8-триметил-2-оксо-

5a,6,7,8,9,9a-гексагідроізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-3-іл)ацетамід **III.9** [310], 9-(4-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6 **III.10** і 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-4-метоксифеніл-ацетамід **III.11** [311].

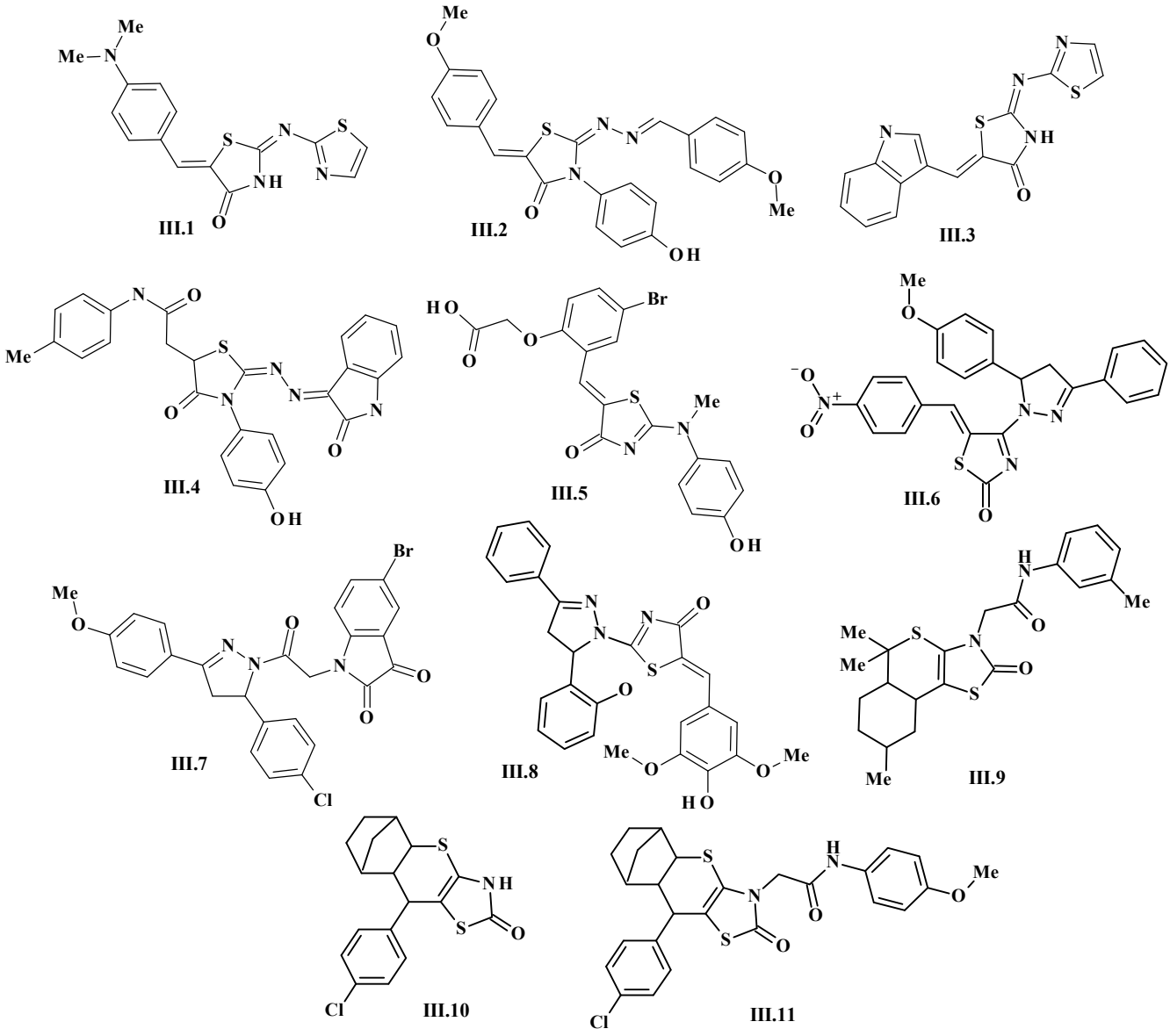


Рис. 3.1. Структури сполук – похідних 4-тіазолідинону та тіопіранотіазолу із подвійною протипаразитарною і протипухлинною активностями.

Таблиця 3.1

Обчислені значення деяких молекулярних дескрипторів для сполук III.1-III.11 із подвійною протипаразитарною та протипухлинною дією

Сполука	Значення молекулярних дескрипторів												
	AlogPS_logP	Sv	Se	Sp	cRo5	DLS_01	DLS_02	DLS_03	DLS_04	DLS_05	DLS_06	DLS_07	DLS_cons
III.1	2,97	24,8	36,3	26,6	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6	0,0	1,0	1,0	0,8
III.2	4,85	36,9	54,6	38,3	1,0	1,0	0,83	1,0	0,6	0,0	1,0	1,0	0,78
III.3	3,05	23,8	32,5	25,1	1,0	1,0	1,0	1,0	0,4	0,0	1,0	1,0	0,77
III.4	3,63	39,4	58,0	40,6	1,0	1,0	0,67	1,0	0,4	0,0	0,83	1,0	0,7
III.5	3,94	30,5	44,3	31,6	1,0	1,0	0,83	1,0	0,4	0,0	1,0	1,0	0,75
III.6	4,8	38,3	55,9	39,6	1,0	0,75	0,67	0,83	0,3	0,0	0,83	1,0	0,63
III.7	3,96	38,5	55,1	39,9	1,0	0,75	0,83	0,83	0,3	0,5	0,83	1,0	0,72
III.8	4,52	40,1	59,9	41,6	1,0	0,75	0,83	0,83	0,5	0,0	0,83	1,0	0,68
III.9	5,32	34,7	55,5	38,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
III.10	4,02	26,2	38,0	28,7	1,0	0,75	1,0	1,0	0,8	0,5	1,0	1,0	0,86
III.11	5,34	39,7	59,3	42,7	0,0	0,5	0,67	0,83	0,7	0,5	0,83	1,0	0,72

Продовж. табл. 3.1

Сполу-ка	Молекулярні дескриптори									
	LLS_01	LLS_02	RBN	SCBO	nCsp3	nCsp2	nCsp	Pol	SPH	AROM
III.1	0,5	1,0	3,0	32,5	2,0	13,0	0,0	28,0	0,976	0,689
III.2	0,17	1,0	6,0	49,0	2,0	23,0	0,0	50,0	0,931	0,984
III.3	0,5	1,0	2,0	35,5	0,0	15,0	0,0	29,0	0,985	0,725
III.4	0,33	0,62	5,0	54,0	3,0	23,0	0,0	57,0	0,909	0,989
III.5	0,33	0,88	6,0	40,0	2,0	17,0	0,0	41,0	0,931	0,985
III.6	0,17	0,62	6,0	54,0	3,0	23,0	0,0	55,0	0,774	0,985
III.7	0,17	0,75	5,0	52,0	4,0	22,0	0,0	60,0	0,812	0,985
III.8	0,17	0,75	6,0	53,0	4,0	23,0	0,0	60,0	0,887	0,985
III.9	0,33	1,0	3,0	37,0	12,0	10,0	0,0	48,0	0,771	0,993
III.10	0,5	0,75	1,0	31,0	8,0	9,0	0,0	36,0	0,604	0,998
III.11	0,17	0,62	5,0	48,0	10,0	16,0	0,0	57,0	0,779	0,994

Продовж. табл. 3.1

Сполука	Молекулярні дескриптори									
	nCar	nCbH	nCb-	nCp	nR=Cs	nRCONR2	nArC=N	nArNR2	NRS	RCI
III.1	9,0	4,0	2,0	0,0	2,0	0,0	0,0	1,0	3,0	1,0
III.2	18,0	12,0	6,0	0,0	2,0	1,0	1,0	0,0	4,0	1,0
III.3	11,0	4,0	2,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	3,0	1,11
III.4	18,0	12,0	6,0	1,0	0,0	1,0	1,0	0,0	4,0	1,08
III.5	12,0	7,0	5,0	0,0	2,0	0,0	0,0	1,0	3,0	1,0
III.6	18,0	13,0	5,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	5,0	1,0
III.7	18,0	11,0	7,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	4,0	1,08
III.8	18,0	11,0	7,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	5,0	1,0
III.9	6,0	4,0	2,0	4,0	1,0	0,0	0,0	0,0	2,0	1,21
III.10	6,0	4,0	2,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	2,0	1,35
III.11	12,0	8,0	4,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	3,0	1,27

На основі літературних даних та проведених *in silico* досліджень ряду похідних тіазолідинонів [312,313] з метою встановлення кількісних взаємозв'язків структура-активність, для відібраних сполук із подвійною дією обчислено значення 30-ти молекулярних дескрипторів (табл. 3.1). Серед них 9 індексів лікоподібності: cRo5 – комплементарний індекс Ліпінського; DLS_01 – скорингова функція на основі 4-х правил Ліпінського [314]; DLS_02 – скорингова функція на основі 6-ти правил Опри [315]; DLS_03 – скорингова функція на основі 6-ти правил Вальтера та співавт. [316]; DLS_04 – скорингова функція на основі 7-ми правил Чена та співавт. [317]; DLS_05 – скорингова функція на основі 2-х правил запропонованих Женгом та співавт. [318]; DLS_06 – скорингова функція на основі правил запропонованих Рішгоном [319]; DLS_07 – скорингова функція на основі 2-х правил запропованих Вебером та співавт. [320] та DLS_cons – DRAGON консенсусна функція лікоподібності, розрахованна як середнє значення описаних семи скорингових функцій DLS_01–DLS_07 (DRAGON Professional version 6.0.30) [321]. Крім того, обчислено 2 молекулярні дескриптори, значення яких характеризують сполуку-лідера LLS_01 – скорингова функція сполук-лідерів отримана із правил, запропонованих Конгревом та співавт. (i) донори H-зв. ≤ 3; ii) акцептори H-зв. ≤ 3; iii) молекулярна вага ≤ 300; iv) logP Морігучі (MLogP) ≤ 3; v) кількість зв'язків, що обертаються ≤ 3; vi) площа полярної поверхні TPSA(tot) ≤ 60) [322] та LLS_02 - скорингова функція отримана із правил, запропонованих Монге та співавт. (i) донори H-зв. ≤ 5; ii) акцептори H-зв. ≤ 9; iii) молекулярна вага ≤ 460; iv) logP Морігучі (MLogP) -4,0-4,2; v) кількість зв'язків, що обертаються ≤ 10; vi) кількість циклів ≤ 4; vii) кількість атомів галогену ≤ 7; viii) загальна кількість атомів N + O ≥ 1) [323]. Розраховано низку конституційних дескрипторів: Sv – сума атомних об'ємів Ван дер Ваальса; Se – сума атомних електронегативностей Сандерсона; Sp – сума атомної поляризації; RBN - кількість зв'язків, що обертаються; SCBO – сума порядків звичайних зв'язків; nCsp3 – кількість sp^3 гібридизованих атомів карбону; nCsp2 -– кількість sp^2 гібридизованих атомів карбону; nCsp – кількість sp гібридизованих атомів карбону; геометричних дескрипторів: SPH – сферичність; AROM – індекс ароматичності; дескрипторів, що описують функціональні групи:

nCar – кількість ароматичних атомів C(sp2); nCbH – кількість незаміщених атомів C(sp2) у бензені; nCb- – кількість заміщених атомів C(sp2) у бензені; nCp – кількість термінальних первинних атомів C(sp3); nR=Cs – кількість аліфатичних вторинних атомів C(sp2); nRCONR2 – кількість третинних амідів (аліфатичних); nArC=N – кількість імінів (ароматичних); nArNR2 – кількість третинних амінів (ароматичних); NRS – кількість циклів у молекулі; RCI – індекс складності кілець; а також загальновідомий індекс ліпофільності ALogPS_logP.

Для побудови математичної моделі щодо прогнозування активності різних ліній раку на основі протипаразитарної активності застосовано метод множинної регресії. Цей метод дозволяє виявити залежність ознаки, що досліджується (значення активності певної лінії раку) одночасно від декількох інших ознак, а саме: протипаразитарної активності та дескрипторів, які описують молекулу.

Статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 [297] та R Commander v.2.4-4 [298]. На першому етапі було проведено розрахунок парних коефіцієнтів кореляції за методом Пірсона. Показники, з якими встановлено сильної або середньої сили кореляцію були відібрані для проведення регресійного аналізу (табл. 3.2). Визначення чинників проведено шляхом покрокового включення показників. Достовірність їхніх коефіцієнтів перевірено за допомогою методу Вальда; достовірність цілої моделі – за допомогою методу Фішера. Оптимальною вважалась та модель, яка мала найменшу суму залишків. Також для кожної моделі здійснено розрахунок коефіцієнта детермінації R^2, значення якого вказує ту частку дисперсії досліджуваної ознаки, яку можна пояснити за допомогою включених у модель чинників.

Для 8 ліній ракових клітин, показники інгібування росту яких найкраще корелюють із показниками IC_{50} на *Tb brucei* розроблено рівняння регресії, в кожному з яких виокремлено певну кількість ознак (одна обов'язкова - IC_{50}, мкМ, *Tbb*), що мають вплив на значення GI_{50} для кожної з ліній. Значення коефіцієнтів регресії розрахованих відповідно до кожної ракової лінії наведено у табл. 3.3-3.10.

Таблиця 3.3

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення GI_{50} на лінії лейкемії HL-60(TB), обчислених методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	0,268
ALogPS_logP	22,413
DLS_04	23,978
DLS_cons	146,755
Константа	-198,831

Лінійне рівняння для лінії лейкемії HL-60(TB) на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.3):

$$HL\text{-}60(TB),GI_{50},10^{-6} = Var.2*IC_{50} + Var.3*ALogPS_logP + Var.4*DLS_04 + Var.6*DLS_cons - 198,831 \quad (3.1)$$

Таблиця 3.4

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення GI_{50} на лінії раку прямої кишки HCT-116, обчислених методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	1,045
ALogPS_logP	13,985
DLS_04	-103,560
DLS_05	-67,035
DLS_cons	290,220
nCsp3	6,603
nCsp2	-19,986
nCar	20,264
nCp	6,887
RCI	-24,249
Константа	-123,826

Лінійне рівняння для лінії раку прямої кишки HCT-116 на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.4):

$$HCT\text{-}116,GI_{50},10^{-6} = Var.2*IC_{50} + Var.3*ALogPS_logP + Var.4*DLS_04 + Var.5*DLS_05 + Var.6*DLS_cons + Var.7*nCsp3 + Var.8*nCsp2 + Var.9*nCar + Var.10*nCp - 24,249*RCI - 123,826 \quad (3.2)$$

Таблиця 3.5

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення GI_{50} на лінії раку прямої кишки HT29, обчислених методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	1,477
ALogPS_logP	10,151
DLS_04	27,041
DLS_05	26,502
DLS_cons	-130,675
nCsp3	0,972
SPH	1,148
nCb-	-1,305
nCp	-1,687
NRS	-18,590
Константа	113,818

Лінійне рівняння для лінії раку прямої кишки HT29 на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.5):

$$HT29,GI_{50},10^{-6} = Var.2*IC_{50} + Var.3*ALogPS_logP + Var.4*DLS_04 + Var.5*DLS_05 – Var.6*DLS_cons + Var.7*nCsp3 + Var.9*SPH – 1,305*nCb- – 1,687*nCp – 18,590*NRS + 113,818 \quad (3.3)$$

Таблиця 3.6

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення GI_{50} на лінії раку ЦНС SNB-75, обчислених методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	0,278
ALogPS_logP	15,747
DLS_04	24,648
nCsp3	-0,797
nCsp2	-1,169
nCar	-1,357
nCb-	-0,070
NRS	0,528
RCI	208,595
Константа	-240,478

Лінійне рівняння для лінії раку ЦНС SNB-75, на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.6):

SNB-75,GI_{50},10^{-6} = Var.2*IC_{50} + Var.3*ALogPS_logP + Var.5*DLS_04 – Var.8* nCsp3 – Var.9* nCsp2 – 1,357*nCar – 0,07*nCb- + 0,528* NRS + 208,595* RCI – 240,478 (3.4)

Таблиця 3.7

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення GI_{50} на лінії меланоми LOX IMVI, обчислених методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	1,0201
ALogPS_logP	10,5247
cRo5	-85,0549
DLS_04	12,0843
DLS_05	22,8703
DLS_cons	21,2492
nCsp3	-2,6779
nCsp2	-5,5406
nCar	4,5820
nCp	9,4821
Константа	65,0702

Лінійне рівняння для лінії меланоми LOX IMVI, на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.7):

LOX IMVI,GI_{50},10^{-6} = Var.2*IC_{50} + Var.3*ALogPS_logP – Var.4*cRo5 + Var.5* DLS_04 + Var.6*DLS_05 + Var.7*DLS_cons – Var.8*nCsp – Var.9*nCsp2 + Var.10*nCar + 9,4821*nCp + 65,0702 (3.5)

Таблиця 3.8

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення GI_{50} на лінії раку яйників NCI/ADR-RES, обчислених методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	1,5474
nCsp3	3,4450
SPH	-82,0887
Константа	74,6448

Лінійне рівняння для лінії раку яйників NCI/ADR-RES, на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.8):

$$NCI/ADR\text{-}RES,GI_{50},10^{-6} = Var.2*IC_{50} + Var.7*nCsp3 – Var.9*SPH + 74,6448 \quad (3.6)$$

Таблиця 3.9

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення GI_{50} на лінії раку яйників OVCAR-4, обчислених методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	0,926
ALogPS_logP	-1,667
DLS_04	97,149
DLS_05	11,362
nCsp3	-7,165
nCsp2	13,950
SPH	-320,766
nCar	-16,272
RCI	124,332
Константа	114,201

Лінійне рівняння для лінії раку яйників OVCAR-4, на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.9):

$$OVCAR\text{-}4,GI_{50},10^{-6} = Var.2*IC_{50} – Var.3*ALogPS_logP + Var.4* DLS_04 + Var.5* DLS_05 – Var.7* nCsp3 + Var.8*nCsp2 – Var.9* SPH – Var.10*nCar + 124.332* RCI + 114,201 \quad (3.7)$$

Лінія раку молочної залози BrC/MDA-MB-231/ATCC характеризувалася високою чутливістю до дії виокремлених речовин, що представляють різні класи похідних тіазолідинону (рис. 3.1). Було виокремлено 4 ознаки, які при поєднаній дії мають достовірний вплив на значення BrC/MDA-MB-231/ATCC, GI_{50}: одна стосується протипаразитарної активності та три дескриптори, які описують молекулу. Значення їх коефіцієнтів регресії наведено у табл. 3.10.

Таблиця 3.10

Значення коефіцієнтів регресії щодо значення BrC/MDA-MB-231/ATCC, GI_{50}, 10^{-6} за методом множинної регресії

Фактори	Значення коефіцієнта регресії
IC_{50}, мкМ, *Tbb*	1,9623
DLS_05	34,4984

DLS_cons	45,9267
nCp	-0,6702
Константа	-36,9764

Значення множинного коефіцієнта детермінації, яке становить 0,955 вказує, що наша модель на 95,5% дозволяє прогнозувати значення BrC/MDA-MB-231/ATCC, $GI_{50},10^{-6}$ в залежності від включених чотирьох чинників. Інші 4,5% впливу обумовлено іншими параметрами, які не включались у регресійну модель.

Достовірність моделі перевірено за допомогою критерія Фішера, значення якого 31,547 вказує на те, що модель є достовірною з вірогідністю помилки менше 0,1% ($p<0,001$). Сума залишків (різниця між фактичними і прогнозованими значеннями) становить 0,0.

Для прикладного розуміння отриманого рівняння можна навести наступний приклад на молекулі **III.7**. Відомо, що її показники є наступними: IC_{50} (*Tbb*) = 0,76 мкМ; DLS_05 = 0,5; DLS_cons = 0,72; nCp = 0.

Тоді, підставивши у лінійне рівняння:

BrC/MDA-MB-231/ATCC,$GI_{50},10^{-6}$ =Var.2*IC_{50} + Var.5* DLS_05+ Var.6* DLS_cons – Var.10* nCp - 36,9764 (3.8)

на основі встановлених коефіцієнтів регресії (табл. 3.11) та фактичних даних, отримуємо:

очікуване значення BrC/MDA-MB-231/ATCC,$GI_{50},10^{-6}$ =

=1,9623*0,76 + 34,4984*0,5 + 45,9267*0,72 - 0,6702*0 - 36,9764 = 14,83

Порівнявши отриманий результат з відомим значенням інгібування росту лінії раку молочної залози BrC/MDA-MB-231/ATCC, яке для цієї молекули становить 14,6 мкМ бачимо, що різниця поміж прогнозованим та фактичним значенням становить 0,23.

3.2. Побудова моделей на основі QSAR-аналізу бібліотек тіазолідинон-піразолінових гібридів, ізотікумаринів та тіопіранотіазолів для прогнозування протитрипаносомних властивостей похідних тіазолідинону

Аналіз кількісного взаємозв'язку структура-активність проводився декількома методами, зокрема із застосуванням математичної моделі асоціативних нейронних мереж (ASNN: Associative Neural Networks) та методу регресії *Random Forest* (RFR: Random Forest regression and classification) [299]. Метод множинної лінійної регресії (MLR: Multiple Linear Regression) та метод часткових найменших квадратів (PLS: Partial Least Squares) не дозволили отримання моделей із задовільною чи високою прогнозуючою здатністю (дані не включені у роботу).

Валідація всіх моделей здійснювалася методом N-кратної крос-валідації (5 тестувань). Ступінь неузгодженості між моделлю та експериментальними даними навчального набору визначали шляхом обчислення кореня з середньоквадратичної похибки (RMSE, Root Mean Squared Error) та середньої абсолютної похибки (MAE, Mean Absolute Error). Попередня обробка молекул здійснювалася за допомогою стандартних процедур Chemaxon. Залежно від моделі, як дескриптори, обчислювалися індекси атомів та зв'язків, ALogPS, а також деякі 3D дескриптори: конституційні, топологічні та індекси лікоподібності, вирахувані за допомогою програми DRAGON v.7. Для відсіювання дескрипторів застосовувалися наступні умови: i) видалення дескрипторів із менше, ніж двома унікальними значеннями; ii) видалення дескрипторі, що мають абсолютні значення більше, ніж 999999; iii) видалення дескрипторі, що мають розбіжність меншу, ніж 0,01; iv) групування дескрипторів, що мають попарні коефіцієнти кореляції Пірсона *R*, більші за 0,95.

Для моделі *асоціативних нейронних мереж* (ASNN) застосовано тренувальний метод SuperSAB, кількість нейронів у прихованому шарі – 3, кількість ітерацій навчання – 1000, кількість ансамблів нейронів – 64. Додатковими параметрами були розподіл = 3 та селекція = 2. Для методу регресії *Random Forest* (RFR), кількість дерев (ntrees) становила 512.

Для побудови вищеописаних математичних моделей відібрано сполуки різних груп конденсованих та неконденсованих похідних тіазолу/тіазолідинону, а також ряд ізотіокумаринів із встановленою протитрипаносомною дією на *Tb brucei* та *Tb gambiense*. Інгібуюча активність ряду ізотіокумарин-3-карбонових кислот **III.12-III.26** [133], N-функціоналізованих (5a*R*,11b*R*)-3,5a,6,11b-тетрагідро-2*H*,5*H*-

хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-онів **III.27-III.35** [158,324], та низки 6,6,7-тризаміщених тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазолів **III.36-III.46** [207] щодо *Tb brucei* виражена у відсотках при дії досліджуваних сполук у концентрації 10мг/мл (додаток А.2). Перша вибірка (№1) включає 24 сполуки (**III.12-III.35**), друга (№2) – 35 сполук (**III.12-III.46**) (додаток А.2), які розділені на навчальні та тренувальні набори у співвідношенні 80:20.

Обчислені дані для математичних моделей асоціативних нейронних мереж (ASNN) та методу регресії *Random Forest* (RFR) для вибірок №1 та №2 представлено у табл. 3.11 . Відібрані дескриптори та їх значення наведено у додатках А.3-А.6.

Таблиця 3.11

Параметри прогнозуючої здатності QSAR-моделей для наборів похідних ізотіокумарин-3-кумаринових кислот і тіопіранотіазолів (виб. №1), розширеної виб. №2; кількість відібраних дескрипторів для кожної із моделей

№ п/п	Мо-дель	ID	Вибірка	К-сть відібр. дескр-рів	R^2	Q^2	RMSE	MAE
			№1					
1.	*ASNN*	1393396	Train. set	19	0,7±0,1	0,7±0,1	21±3	17±3
			Test set		0,5±0,3	0,3±0,4	30±10	20±10
2.	*RFR*	37554932	Train. set	38	0,7±0,1	0,6±0,1	23±3	20±3
			Test set		0,9±0,2	0,8±0,3	16±2	15±2
			№2					
3.	*ASNN*	13154285	Train. set	24	0,5±0,2	0,5±0,2	27±6	18±4
			Test set		0,5±0,3	0,4±0,3	30±7	22±8
4.	*RFR*	20346437	Train. set	59	0,5±0,2	0,5±0,2	27±5	20±4
			Test set		0,6±0,3	0,5±0,4	26±7	21±6

Краща прогнозуюча здатність для набору сполук, що вміщує похідні ізотіокумарин-3-карбонових кислот **III.12-III.26** [133] та N-заміщені тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-они **III.27-III.35** обчислена за допомогою алгоритму *Random Forest,* що підтверджено значеннями R^2 та Q^2. Параметри прогнозуючої здатності моделі *асоціативних нейронних мереж* є нижчими для цих моделей.

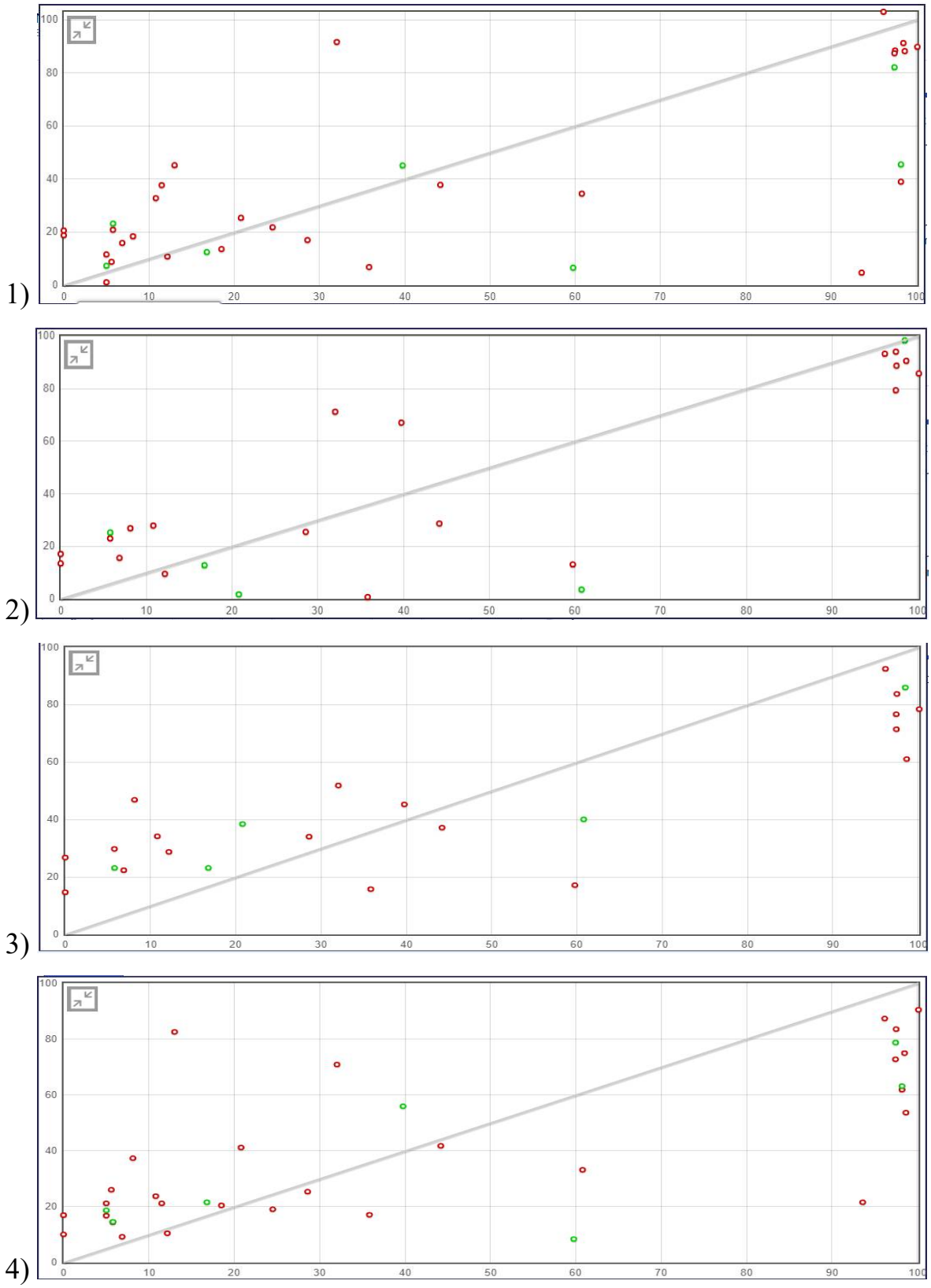


Рис.3.2. Графіки 1) моделі асоціативних нейронних мереж (ASNN) для виб. №1; 2) моделі на основі методу регресії *Random Forest* для виб. №1; 3) моделі асоціативних нейронних мереж (ASNN) для виб. №2; 4) моделі на основі методу регресії *Random Forest* для виб. №2.

Загалом, прогнозуюча здатність моделей *ASNN* та *RFR* для набору сполук №2, що вміщує ряд 6,6,7-тризаміщених тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазолів **III.12-III.46** була суттєво нижчою, ніж для моделей обчислених на основі показників активності та значень дескрипторів сполук із вибірки №1.

Іншими класами сполук, на основі яких проводився аналіз взаємозв'язку структура-активність та побудова QSAR-моделей, були імідазотіадіазоли **III.47-III.71** [325] та ряд піразоло-тіазол/тіазолідинонових гібридних молекул **III.72-III.93** [155], **III.94-III.121** [326,327], інгібуюча дія яких вивчалася на *Tb gambiense*, величина IC_{50} виражена у мкМ.

Група імідазотіадіазолів (вибірка №3) включає 25 сполук (**III.47- III.71**), (додаток А.7), піразоло-тіазол/тіазолідинони (вибірка №4) включають 50 сполук (**III.72-III.121)** (додаток А.8), які розділені на навчальні та тренувальні набори у співвідношенні 80:20.

Статистичні характеристики обчислених математичних моделей *асоціативних нейронних мереж* (ASNN) та методу регресії *Random Forest* (RFR) для вибірок №3 та №4 наведено у табл. 3.12. Відібрані дескриптори та їх значення представлено у відповідних Таблицях (додатки А.9-А.10). Генерацію 3D структури молекул для обчислення 3D дескрипторів, включених у модель розроблену методом регресії *Random Forest* проводили за допомогою програмного пакету Corina.

Таблиця 3.12

Параметри прогнозуючої здатності QSAR-моделей для наборів похідних імідазотіадіазолів (виб. №3) та піразоло-тіазол/тіазолідинонів (виб. №4); кількість відібраних дескрипторів для кожної із моделей

№ п/п	Модель	ID	Вибірка	К-сть відібр. дескрів	R^2	Q^2	RMSE	MAE
			№3					
5.	*RFR*	19966817	Train. set	31	0,02±0,07	0±0	0,48±0,04	0,42±0,05
			Test set		0,96±0,03	0,6±0,3	0,3±0,05	0,26±0,06

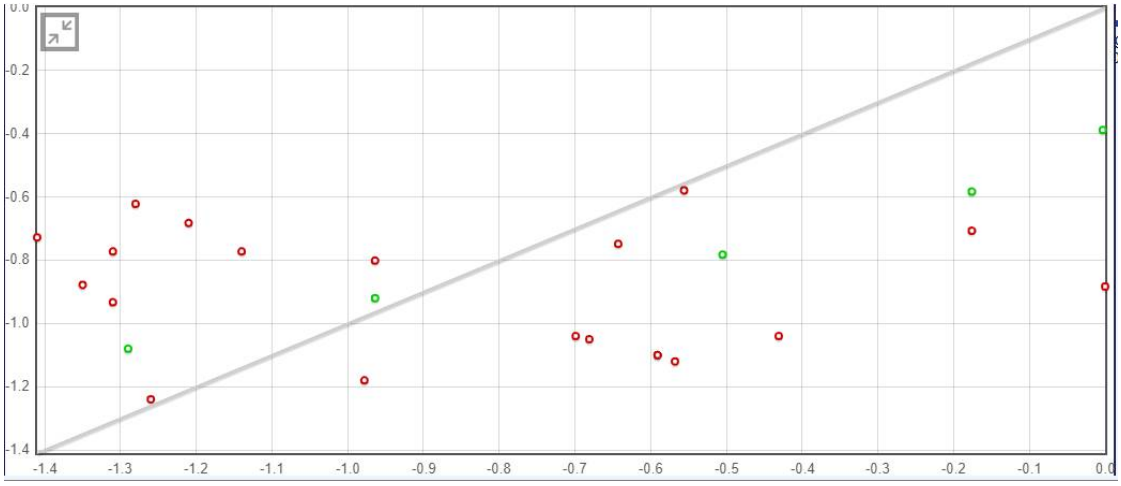
			№4					
6.	*ASNN*	14820590	Train. set	62	0,4±0,1	0,4±0,2	0,62±0,07	0,52±0,06
			Test set		0,4±0,3	0,4±0,3	0,56±0,1	0,5±0,1
7.	*RFR*	38687746	Train. set	62	0,3±0,1	0,3±0,2	0,66±0,06	0,57±0,05
			Test set		0,4±0,3	0,4±0,3	0,56±0,06	0,52±0,07

Модель обчислена на основі алгоритму *Random Forest* для групи імідазотіадіазолів володіє прогнозуючою здатністю із значенням R^2 = 0,96. Достатньо низькими значеннями R^2 та Q^2 характеризуються розроблені моделі на основі алгоритмів *Random Forest* та *асоціативних нейронних мереж* для вибірки піразоло-тіазол/тіазолідинонів **(III.72-III.121).**

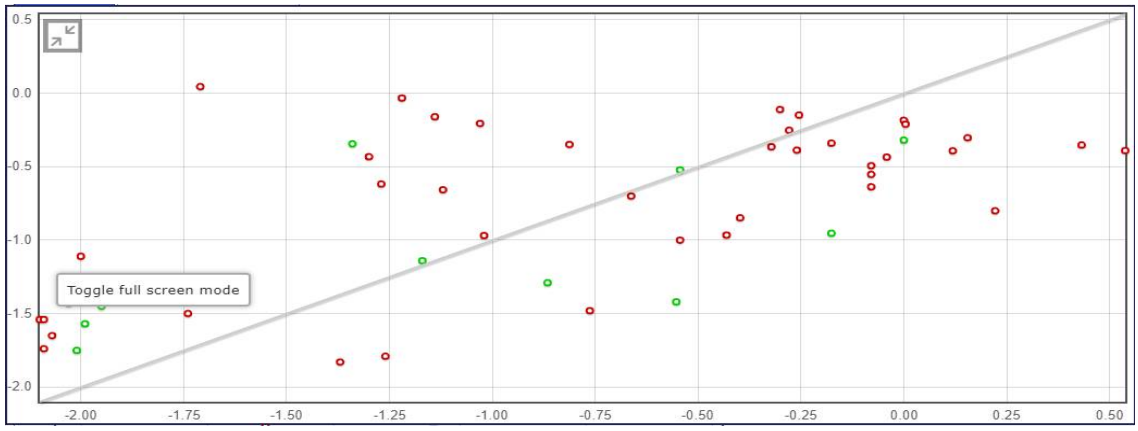
На основі отриманих даних статистичної оцінки подвійної протипухлинної та протипаразитарної активності ряду похідних тіазолідинону, а також розроблених QSAR-моделей [328,329] на основі різноманітних тіазолідинон-піразолінових гібридів, ізотікумаринів та тіопіранотіазолів методами *асоціативних нейронних мереж* (ASNN) та регресії *Random Forest*, окреслено оптимальні напрямки дизайну нових біологічно активних молекул (рис. 3.4).

Розроблено дизайн дослідження (рис. 3.5) похідних 4-тіазолідинону як протипаразитарних та/або протипухлинних засобів, що включає: встановлення кореляції протипаразитарна-протипухлинна активність тіазолідинонів із подвійною дією, формування сфокусованих бібліотек, застосування гібрид-фармакофорного підходу для дизайну та синтезу нових сполук і вивчення їх протитрипаносомної, протилейшманіозної та протипухлинної активності, формування нових гібридних молекул на основі фармакофорних елементів та груп, виділених в результаті біологічних досліджень, проведення поглиблених біологічних досліджень, встановлення механізмів дії сполук-лідерів.

1)



2)



3)

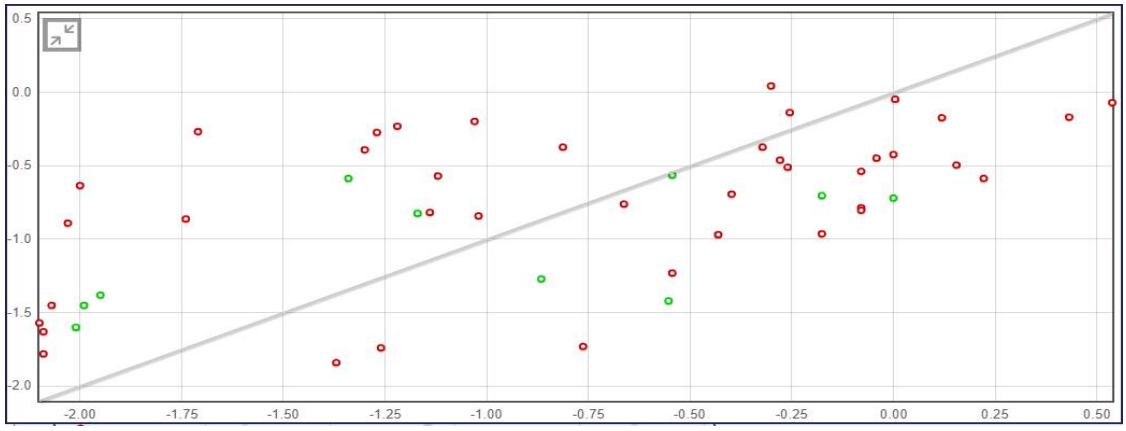


Рис.3.3. Графіки: 1) моделі на основі методу регресії *Random Forest* для виб. №3; 2) моделі асоціативних нейронних мереж (ASNN) для виб. №4; 3) моделі на основі методу регресії *Random Forest* для виб. №4.

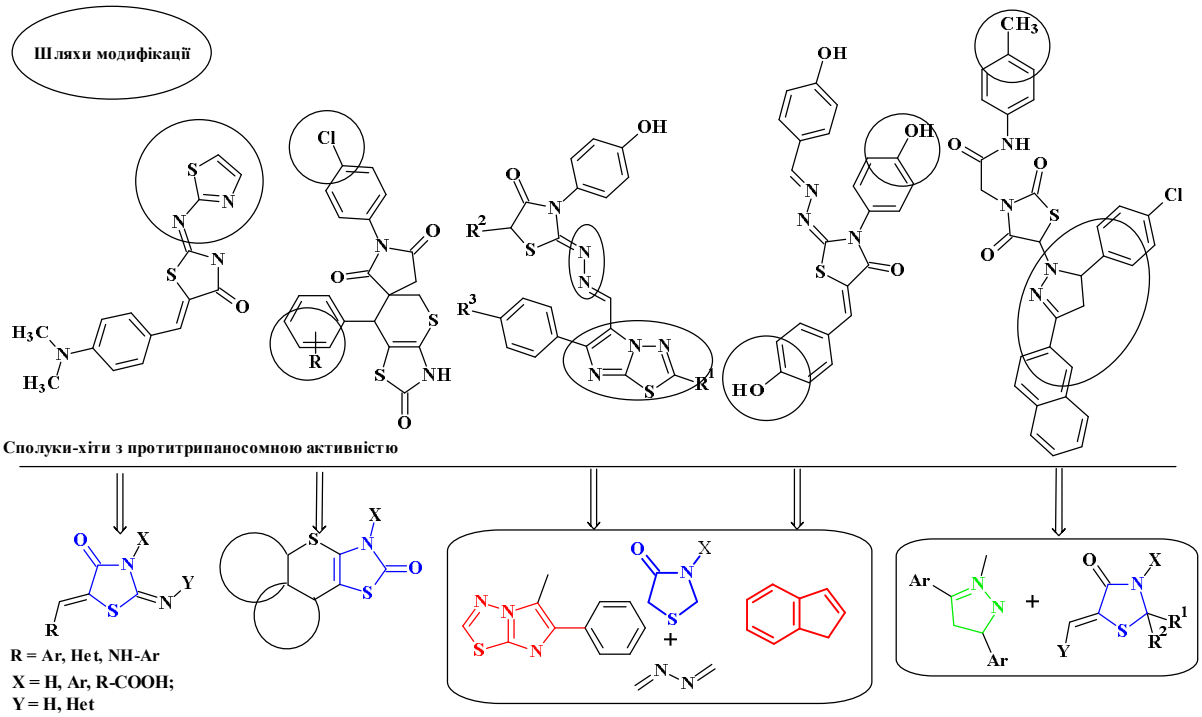


Рис. 3.4. Дизайн сфокусованих суб-бібліотек сполук на основі тіазолідинону як потенційних протипухлинних та протипаразитарних агентів.

Рис.3.5. Дизайн дисертаційного дослідження

ВИСНОВКИ

1. Методом множинної регресії вперше розроблено математичну модель для прогнозування протипухлинної дії тіазолідинонів щодо різних ліній раку на основі їх протитрипаносомної активності та ряду обчислених дескрипторів. Виділено 8 ліній ракових клітин, показники інгібування росту яких найкраще корелюють із показниками IC_{50} на *Trypanosoma brucei brucei* та розроблено рівняння регресії, в кожному з яких виокремлено певну кількість ознак (одна обов'язкова - IC_{50}, мкМ, *Tb brucei*), що мають вплив на значення GI_{50} для кожної з них. Окреслені ракові клітинні лінії ймовірно характеризуватимуться максимальним рівнем чутливості до цільових сполук, що може бути використано для подальших експериментальних досліджень різноманітних похідних тіазолідинонів.

2. Проведено аналіз кількісного взаємозв'язку структура-активність різних груп конденсованих та неконденсованих похідних тіазолу/тіазолідинону, зокрема ізотіокумаринів, різноманітних тіопіранотіазолів, імідазотіадіазолів та піразоло-тіазол/тіазолідинонів із протитрипаносомною дією на *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei gambiense*, методами *асоціативних нейронних мереж* (ASNN) та регресії *Random Forest* (RFR). Найкращою прогнозуючою здатністю характеризувалися математичні моделі, розроблені на основі похідних ізотіокумарин-3-карбонових кислот **III.12-III.26** та тіопірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-онів **III.27-III.35** обчислених за допомогою алгоритму *Random Forest,* що підтверджено значеннями R^2 та Q^2.

3. Виділені молекулярні дескриптори в процесі розробки математичних моделей методами множинної регресії та QSAR-аналізу свідчать про параметри структури різних класів сполук на основі тіазолу/тіазолідинону, які критично впливають на реалізацію протипухлинної та/або протитрипаносомної активності даних похідних, що є використано для дизайну цільових суб-бібліотек сполук для подальших синтетичних і біологічних досліджень.

Результати дослідження даного розділу наведено в публікаціях: [*305, 310, 311, 313, 324, 325, 328, 329*].

РОЗДІЛ 4
ДИЗАЙН ТА СИНТЕЗ ПРОТИПАРАЗИТАРНИХ І ПРОТИПУХЛИННИХ АГЕНТІВ НА ОСНОВІ 5-ЄНАМІН-4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ ТА 5-ІЛІДЕН-4-ТІАЗОЛІДИНОН-3-АЛКАНКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

4.1. Розробка та оптимізація методів синтезу 5-іліден(ариліден) похідних 4-тіазолідинону та введення єнамінового угрупування в положення С5 базового гетероциклу

Численні біологічні дослідження різноманітних 4-тіазолідинонів та їх похідних довели важливий вплив наявності та природи іліденового/ариліденового замісника у С5 положенні базових циклів на виявлення біологічної активності [135,330,331]. Введення етоксильної групи в С5 положення 4-тіазолідинон-5-алканкарбонових кислот робить можливим модифікацію/оптимізацію базового тіазолідинонового циклу, шляхом синтезу його різноманітних 5-єнамін похідних. Дослідження біологічної активності різноманітних 5-ен-4-тіазолідинонів проведені на кафедрі фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії довели критичний вплив структури замісників у С5 положенні основного циклу на реалізацію фармакологічних ефектів даних похідних [134,332,333]. У свою чергу, функціоналізація карбонові групи в замісниках у N3 положенні, сприяє модифікації базової тіазолідинонової матриці з метою оптимізації фармакологічного та токсикологічного профілю сполук із встановленою біологічною активністю. Таким чином, метою дослідження був синтез похідних 4-тіазолідинон-3-алканмонокарбонових кислот як «малих» лікоподібних молекул із протипаразитарною та протипухлинною активностями. Іншим напрямком модифікації роданін-3-алканкарбонових кислот була розробка нового методу синтезу 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-сукцинімідів та їх наступна функціоналізація за С5 положенням базового ядра. Модифікація за цим же ж положенням 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл(*о*-толіл)-

ацетамідів дозволила отримати ряд нових 5-іліден(ариліден)– та 5-єнамін похідних 4-оксо-3-феніл-4-тіазолідинонів.

Модифікація тіазолідинонового циклу проводилася за положенням N3: синтез вихідних 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-алканмоно- та дикарбонових кислот, відповідних сукцинімідів, 3-фенілпохідних; а також за положенням С5 – отримання 5-іліден(єнамін)-похідних та за положенням С2 [334] (рис. 4.1).

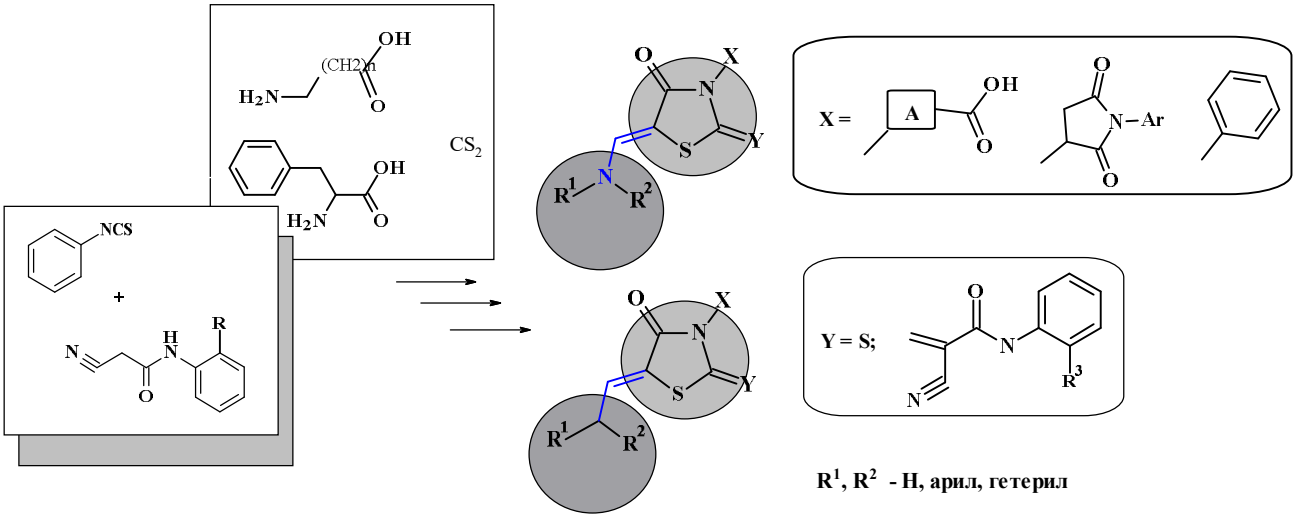


Рис. 4.1. Дизайн 5-іліден(єнамін)-4-тіазолідинонів, функціоналізованих по 2 та 3 положеннях базового гетероциклу.

4.1.1. Отримання 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-монокарбонових кислот та їх 5-етоксиметиліден похідних

Вихідні роданін-3-монокарбонові кислоти синтезовано за відомим дитіокарбамінатним методом. Дитіокарбамінати синтезовані в реакціях відповідних природних амінокислот, таких як гліцин, таурин, β-аланін, γ-амінобутиратна кислота та DL-фенілаланін із CS_2 в лужному середовищі. [2+3]-Циклоконденсація останніх (що виступають S,N-бінуклеофілами) із монохлороцтовою кислотою (еквіваленту діелектрофільного синтону $[C_2]^{2+}$) забезпечує утворення з високими виходами вихідних 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-алканмонокарбонових кислот [335,336].

Отримані 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-алканмонокарбонові кислоти **4.1-4.5** та 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)бутандикарбонова кислота **4.6** – кристалічні

порошки бежевого, жовтого, оранжевого кольорів, розчинні у воді (при нагріванні), етанолі, ізопропанолі, ДМФА, діоксані, ацетатній кислоті. Фізико-хімічні характеристики сполук **4.1-4.5** відповідають даним літератури.

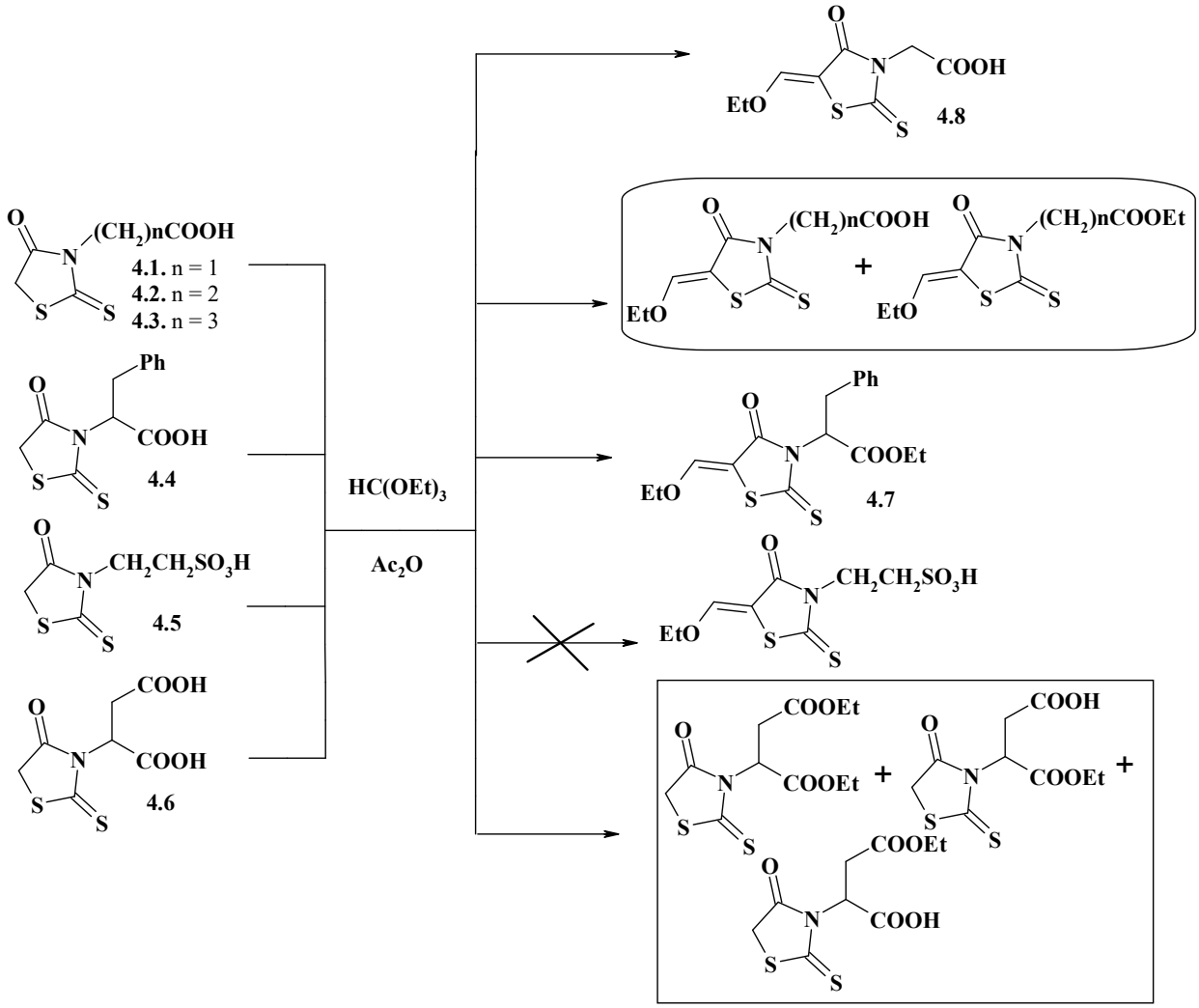
Наступним етапом стало отримання 5-етоксиметиліденпохідних роданін-3-карбонових кислот, що відбувається при їх взаємодії із триетилортоформіатом в середовищі ацетангідриду. Цікаво, що у випадку роданін-3-фенілпропіонової кислоти, паралельно з утворенням 5-етоксиметиліден похідного відбувається естерифікація карбонової групи з утворенням відповідного етилового естеру 2-(5-етоксиметиліден-2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **4.7**. Проте у випадку реакцій із 2-(роданін-3-іл)-ацетатною, 3-(роданін-3-іл)-пропіоновою та 4-(роданін-3-іл)-бутановою кислотами утворюється суміш відповідних 5-етоксиметиліденроданін-3-карбонових кислот та їх естерів, що є підтверджено хромато-мас-спектрами. У випадку 4-(роданін-3-іл)-бутандіової кислоти утворюється суміш моно- та діетилового естерів.

5-Етоксиметиліден-роданін-3-карбонову кислоту **4.9** вдалося виділити шляхом повторної перекристалізації технічного продукту із суміші толуол/петролейний ефір. Реакція 2-(роданін-3-іл)-ацетатної кислоти із триетилортоформіатом за відомою методикою дозволяє отримати відповідну 5-етоксиметиліденроданін-3-ацетатну кислоту **4.8** [337].

У таких самих умовах 3-(2-метилсульфонілетил)-роданін **4.5** не реагує з триетилортоформіатом, внаслідок вкрай низької розчинності в безводних розчинниках. Цю ж реакцію апробовано в севредовищі толуолу, б/в діоксану, а також в умовах мікрохвильового опромінення (середовище ацетангідриду), однак цільовий продукт не вдалося отримати (схема 4.1).

Також опрацьовано альтернативні методи синтезу цільових 5-етоксиметиліденроданін-3-карбонових кислот, а саме гідроліз домішки естерів в технічному продукті, а також введення в реакцію з триетилортоформіатом метилових та етилових естерів роданін-3-карбонових кислот (попередньо отриманих в реакції естерифікації) (схема 4.2).

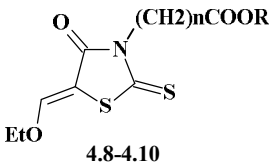
Схема 4.1



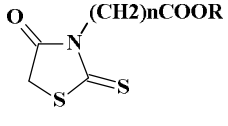
Метилові та етилові естери роданін-3-ацетатної, роданін-3-пропіонової та роданін-3-сукцинатної кислот є в'язкими рідинами жовтого та бурого кольорів, легко розчинні в етанолі, метанолі, ізопропанолі, діоксані, ДМФА, етилацетаті, нерозчинні у воді, хлороформі, гексані. Метиловий естер 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-бутанової кислоти – кристалічний порошок темно-бордового кольору, кристалізує із етилацетату чи ацетатної кислоти; всі інші естери застосовувалися у наступних перетвореннях без попередньої очистки. Фізико-хімічні характеристики роданін-3-алканкарбонових кислот та їх відповідних 5-етоксиметиліденових похідних наведено у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

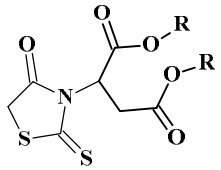
Фізико-хімічні характеристики 2-(5-R-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-карбонових кислот та їх естрів



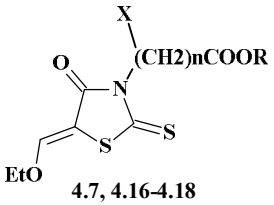
4.8-4.10



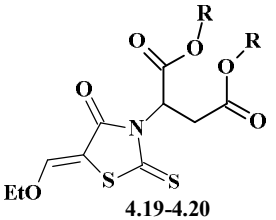
4.11-4.13



4.14-4.15



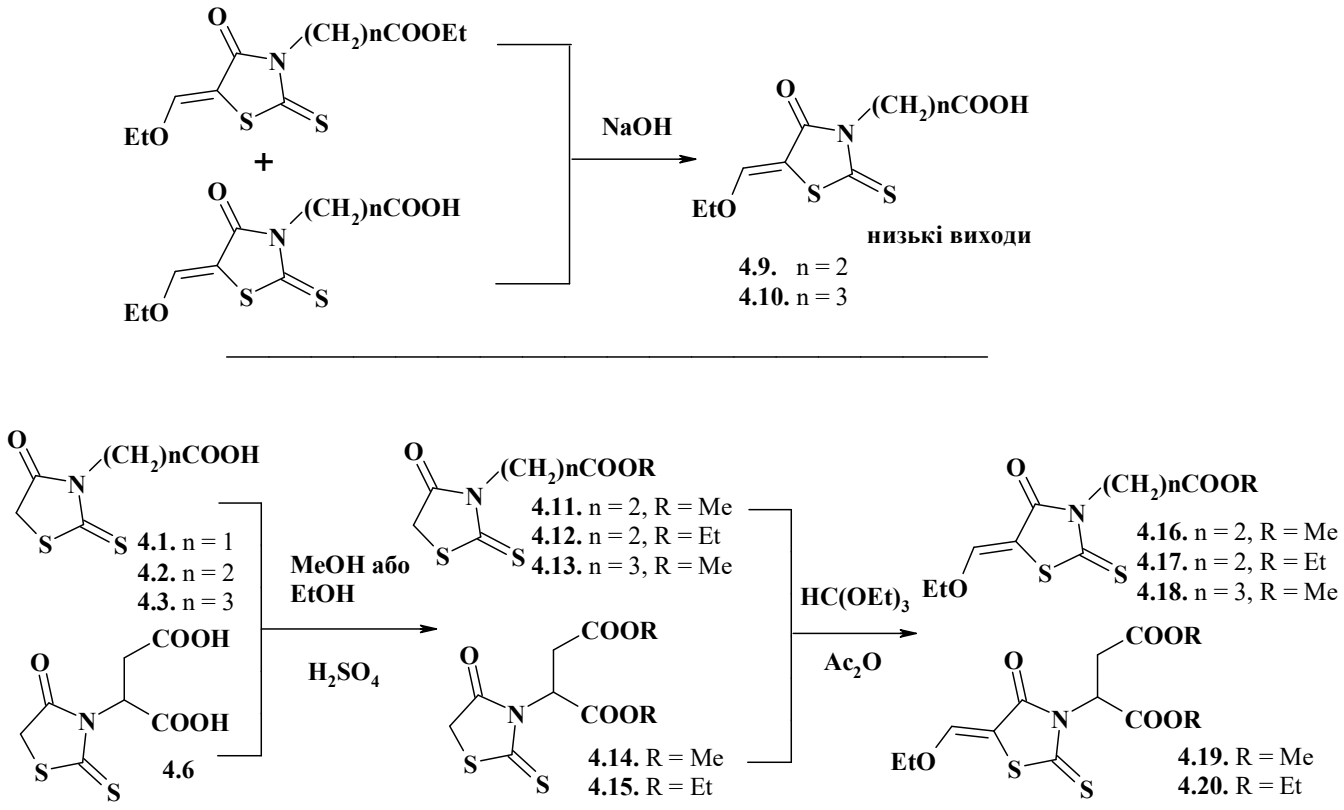
4.7, 4.16-4.18



4.19-4.20

Спо-лука	n	R	X	Вихід, %	Т.пл., °С	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
							C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
4.7	1	Et	CH_2-Ph	72	109-111	$C_{17}H_{19}NO_4S_2$	55,87	5,24	3,83	56,60	5,29	3,92
4.8	1	H	-	61	190-192 (літ. 188-189)	$C_8H_9NO_4S_2$	38,86	3,67	5,66	39,35	3,74	5,61
4.9	2	H	-	85	113-115	$C_9H_{19}NO_4S_2$	41,37	4,24	5,36	41,25	4,24	5,34
4.10	3	H	-	50	75-77	$C_{10}H_{13}NO_4S_2$	43,62	4,76	5,09	43,50	4,78	5,12
4.11	2	Me	-	75	рідина	$C_7H_9NO_3S_2$	38,34	4,14	6,39	38,65	4,12	6,42
4.12	2	Et	-	40	рідина	$C_8H_{11}NO_3S_2$	41,18	4,75	6,00	41,30	4,80	6,02
4.13	3	Me	-	78	130-132	$C_8H_{11}NO_3S_2$	41,18	4,75	6,00	41,35	4,77	6,00
4.14	-	Me	-	83	рідина	$C_9H_{11}NO_5S_2$	38,98	4,00	5,05	40,03	4,01	5,01
4.15	-	Et	-	72	рідина	$C_{11}H_{15}NO_5S_2$	43,26	21,00	4,59	43,21	21,06	4,64
4.16	2	Me	-	75	рідина	$C_{10}H_{13}NO_4S_2$	43,62	4,76	5,09	43,73	4,79	5,11
4.17	2	Et	-	87	111-113	$C_{11}H_{15}NO_4S_2$	45,66	5,22	4,84	45,71	5,19	4,89
4.18	3	Me	-	73	82-84	$C_{11}H_{15}NO_4S_2$	45,66	5,22	4,84	45,70	5,20	4,87
4.19	-	Me	-	42	рідина	$C_{12}H_{15}NO_6S_2$	43,23	19,24	4,20	4308	19,30	4,15
4.20	-	Et	-	60	92-94	$C_{14}H_{19}NO_6S_2$	46,52	17,74	3,88	46,71	17,69	3,86

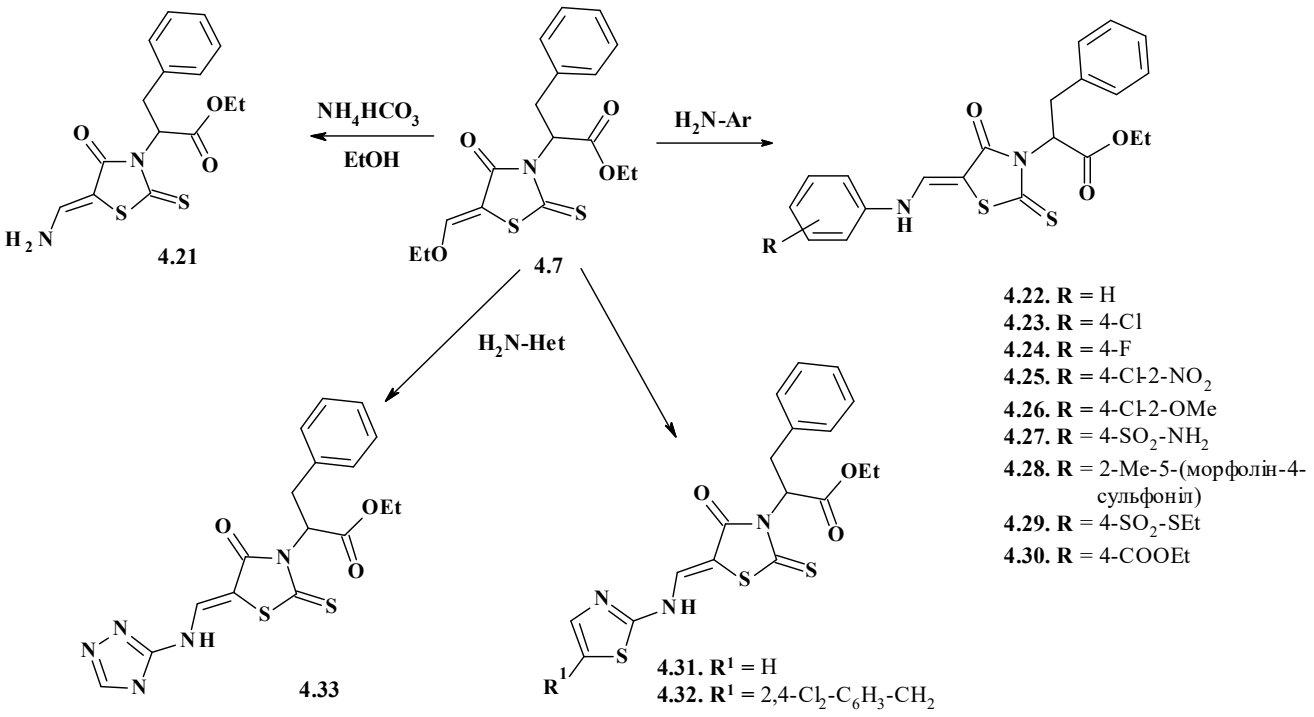
Схема 4.2



4.1.2. Синтез та перетворення 5-амінометиліден-4-тіазолідинонів із фрагментом алканкарбонових кислот у N3-положенні базового гетероциклу

Етоксильна група 5-етоксироданін-3-алканкарбонових кислот легко вступає в реакцію з активними *N*-нуклеофільними реагентами, такими, як наприклад, первинні та вторинні аміни. В реакції етилового естеру 2-(5-етоксиметиліден-2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **4.7** із амонію гідрокарбонатом отримано етиловий естер 2-(5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропанової кислоти **4.21**. Відповідні єнаміни **4.22 – 4.33** із ариліденовими та гетероліденовими фрагментами синтезовано у реакціях 5-етоксиметиліден-4-тіазолідинону **4.7** із різноманітними первинними ароматичними та гетероциклічними амінами в середовищі етанолу [338].

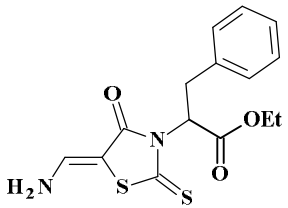
Схема 4.3



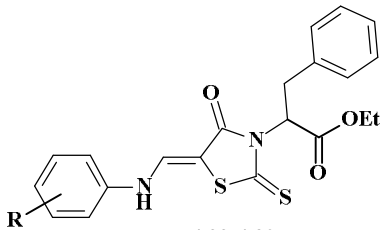
Синтезовані сполуки **4.21-4.33** – кристалічні порошки коричневого, червоного, цегляного кольорів, розчинні в етанолі, ізопропанолі, ацетатній кислоті, ДМФА, діоксані, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики сполук наведено у табл. 4.2. Спектральні характеристики похідних етилового естру 2-(5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **4.21-4.33** наведено нижче у підрозділі 4.4.

Таблиця 4.2

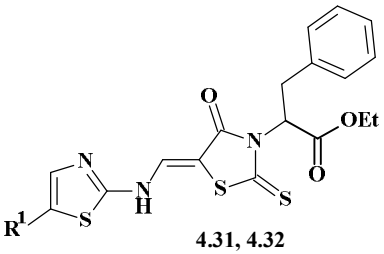
Фізико-хімічні характеристики синтезованих етилових естрів 2-(5-R-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти



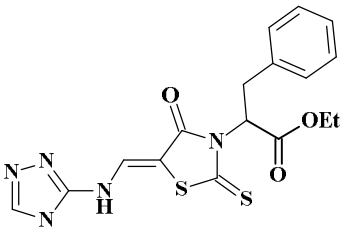
4.21



4.22-4.30



4.31, 4.32

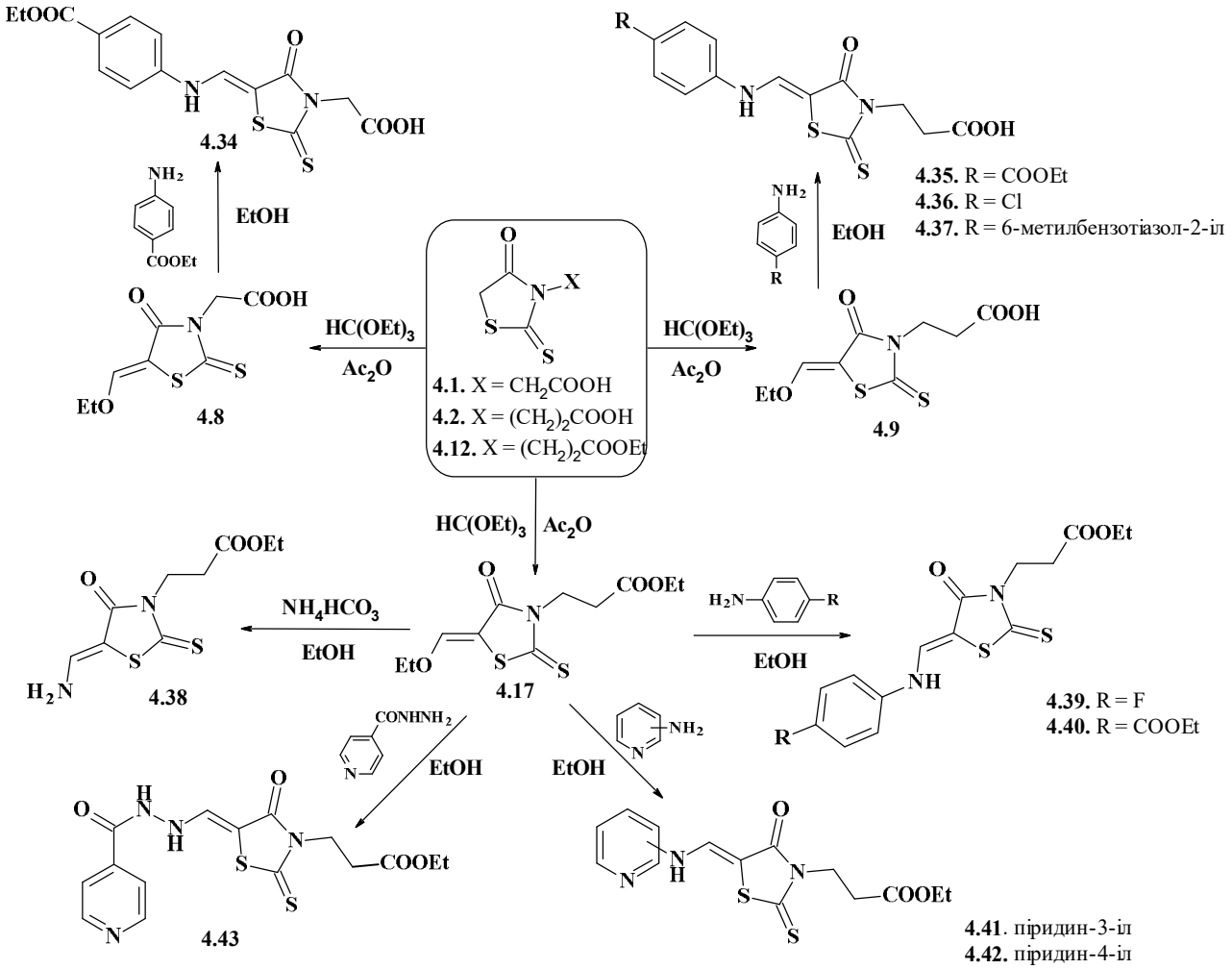


4.33

Спо-лука	R	R^1	Ви-хід, %	Т.пл., °С	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
						C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
4.21	-	-	54	102-104	$C_{15}H_{16}N_2O_3S_2$	53,55	4,79	8,33	53,70	4,75	8,40
4.22	H	-	56	182–184	$C_{21}H_{20}N_2O_3S_2$	61,14	4,89	6,79	61,30	4,84	6,70
4.23	4-Cl	-	68	202-204	$C_{21}H_{19}ClN_2O_3S_2$	56,43	4,28	6,27	56,40	4,30	6,30
4.24	4-F	-	61	189–191	$C_{21}H_{19}FN_2O_3S_2$	58,59	4,45	6,51	58,70	4,48	6,58
4.25	4-Cl-2-NO_2	-	62	240–242	$C_{21}H_{18}ClN_3O_5S_2$	51,27	3,69	8,54	51,20	3,63	8,60
4.26	5-Cl-2-MeO	-	60	210–213	$C_{22}H_{21}ClN_2O_4S_2$	55,40	4,44	5,87	55,50	4,40	5,90
4.27	4-SO_2-NH_2	-	53	231–234	$C_{21}H_{21}N_3O_5S_3$	51,31	4,31	8,55	51,40	4,36	8,50
4.28	2-Me-5-(морфолін-4-сульфоніл)	-	64	208–210	$C_{26}H_{29}N_3O_6S_3$	54,24	5,08	7,30	54,30	5,00	7,40
4.29	4-SO_2-SEt	-	60	236–238	$C_{23}H_{24}N_2O_5S_4$	51,47	4,51	5,22	51,40	4,60	5,30
4.30	4-COOEt	-	71	196–198	$C_{24}H_{24}N_2O_5S_2$	59,49	4,99	5,78	59,40	4,80	5,80
4.31	-	H	64	218–220	$C_{18}H_{17}N_3O_3S_3$	51,53	4,08	10,02	51,60	4,00	10,10
4.32	-	2,4-Cl_2-C_6H_3-CH_2	63	226–228	$C_{25}H_{21}Cl_2N_3O_3S_3$	51,90	3,66	7,26	51,80	3,70	7,15
4.33	-	-	54	198–200	$C_{17}H_{17}N_5O_3S_2$	50,61	4,25	17,36	50,60	4,30	17,40

З метою розширення бібліотеки похідних 5-єнамінроданін-3-монокарбонових кислот синтезовано 2-[(5-[(4-етоксикарбоніланіліно)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]ацетатну кислоту **4.34** та ряд похідних 5-єнамінроданін-3-пропіонової кислоти **4.35-4.37**, а також етилових естерів 5-єнамін-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-пропіонової кислоти **4.38-4.43** (схема 4.4). Фрагмент піридину в С5 положення базового гетероциклу введено у реакціях етилових естерів 5-етокси-роданін-3-пропіонової кислоти із амінопіридинами та гідразидом 4-піридинкарбонової кислоти в середовищі етанолу [339].

Схема 4.4



Синтезовані заміщені 5-амінометилен-4-тіазолідинони **4.34-4.43** – дрібнокристалічні порошки коричневого **4.34**, оранжевого **4.35**, **4.36**, зелено-сірого **4.37**, жовтого, рожевого кольорів, розчинні при нагріванні в ДМФА, ацетатній кислоті, спиртах, нерозчинні у воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук наведені у табл. 4.3.

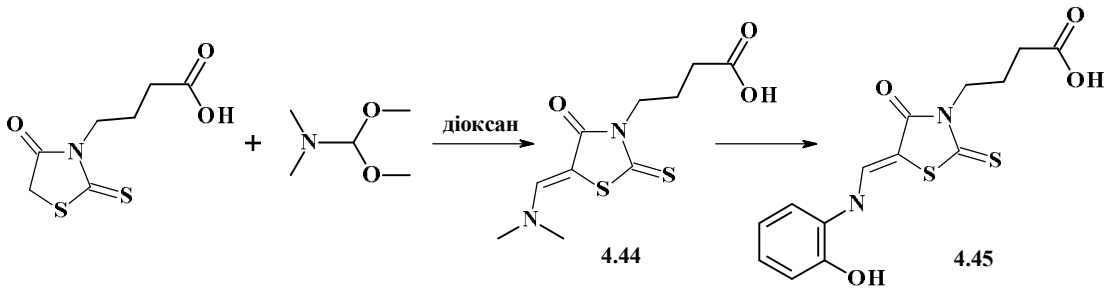
Таблиця 4.3

Фізико-хімічні характеристики синтезованих етилових естерів 2-(5-R-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-пропіонової кислоти

Сполука	Вихід, %	Т.пл., °С	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
				C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4.34	55	160-162	$C_{15}H_{14}N_2O_5S_2$	49,17	3,85	7,65	49,87	3,87	7,62
4.35	57	192-193	$C_{16}H_{16}N_2O_5S_2$	50,51	4,24	7,36	51,00	4,19	7,39
4.36	84	208-210	$C_{13}H_{11}ClN_2O_3S_2$	45,55	3,23	8,17	45,83	3,28	8,09
4.37	85	229-230	$C_{21}H_{17}N_3O_3S_3$	55,36	3,76	9,22	55,69	3,81	9,15
4.38	65	113-115	$C_9H_{12}N_2O_3S_2$	41,52	4,65	10,76	41,74	4,72	10,85
4.39	45	164-165	$C_{15}H_{15}FN_2O_3S_2$	50,83	4,27	7,90	51,05	4,35	7,94
4.40	33	160-162	$C_{18}H_{20}N_2O_5S_2$	52,92	4,93	6,86	52,63	4,96	6,89
4.41	69	192-194	$C_{14}H_{15}N_3O_3S_2$	49,83	4,48	12,45	50,02	4,42	12,35
4.42	37	182-184	$C_{14}H_{15}N_3O_3S_2$	49,83	4,48	12,45	49,80	4,46	12,38
4.43	73	235-237	$C_{15}H_{16}N_4O_4S_2$	47,36	4,24	14,73	47,56	4,26	14,77
4.44	70	206-208	$C_{10}H_{14}N_2O_3S_2$	43,78	5,14	10,21	43,96	5,12	10,31
4.45	30	188-190	$C_{14}H_{14}N_2O_4S_2$	49,69	4,17	8,28	50,01	4,14	8,23

Як альтернативний метод синтезу 5-єнамінпохідних роданіну опрацьовано реакцію 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-бутанової кислоти **4.3** із диметилформамід-диметилацетатом ДМФА-ДМА, що проходить при нагріванні в середовищі діоксану з утворенням 4-[5-(диметиламінометилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]бутанової кислоти **4.44**, яку потім можна утилізувати в реакціях з ароматичними амінами як і 5-етоксироданін-3-карбонові кислоти. Однак, такий підхід не є вигідним через низький вихід цільового 5-єнамін-похідного **4.45**, та важко препаративний, оскільки 4-[5-(диметиламінометилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]карбонова кислота відразу після екстракції хлороформом є маслянистою рідиною, кристалічний порошок отримують шляхом висушування хлороформної витяжки після вакуумного упарювання протягом 10-14 днів.

Схема 4.5



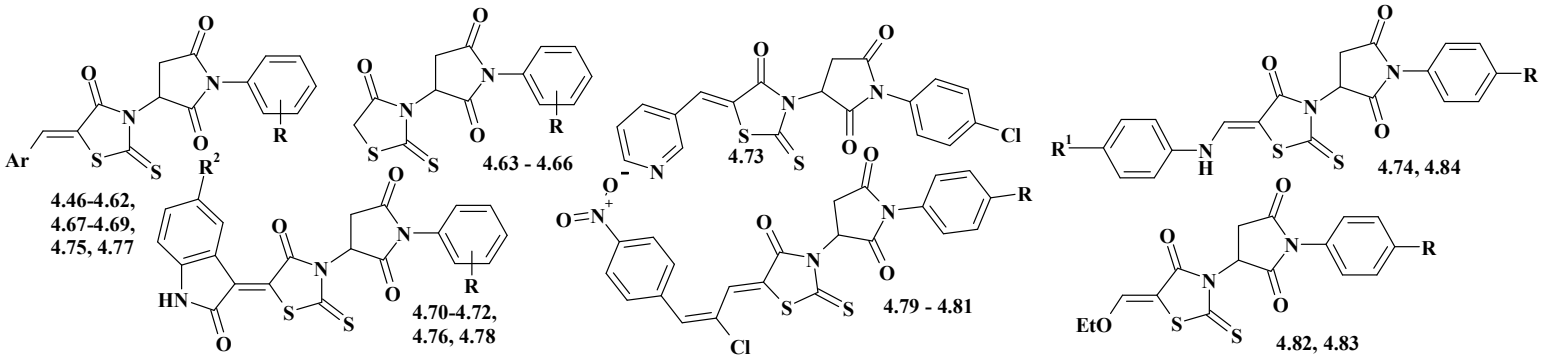
4.2. Синтез та перетворення 5-іліден-роданін-3-дикарбонових кислот

Цільові 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданіни синтезовано за відомими методиками [258,340], що залежать від природи основного гетероциклу. Синтез похідних роданіну базувався на модифікації роданін-3-сукцинатної кислоти і включав декілька стадій: синтез 5-ілідènроданін-3-сукцинатних кислот, з яких одержано цільові іміди через стадію утворення циклічного ангідриду (схема 4.5). Проте, для уникнення цієї стадії, було розроблено альтернативний підхід до отримання 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-роданінів **4.46-4.62**, а саме довготривале кип'ятіння (18-22 год) 5-іліден-роданін-3-сукцинатних кислот з ароматичними амінами (1:1) в середовищі ацетатної кислоти. Оминаючи стадію отримання відповідних ангідридів, метод забезпечує достатні виходи цільових сполук, економлячи реагенти та час [341].

Синтезовані 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданіни **4.46-4.62** – кристалічні порошки білого, жовтого, оранжевого кольорів, розчинні в етанолі, ізопропанолі, ацетатній кислоті, ДМФА, діоксані, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики сполук наведено у табл. 4.4.

Таблиця 4.4

Фізико-хімічні характеристики синтезованих похідних 3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-тіоксо-4-тіазолідинонів



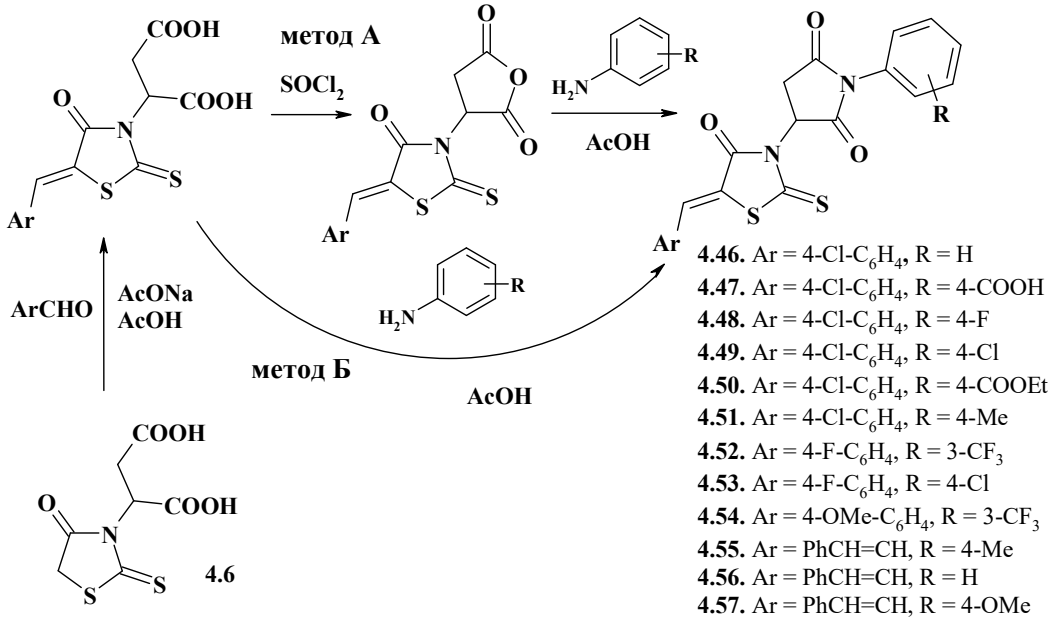
Спо-лука	R^1	Ar	R^1 або R^2	Вихід, %*		Т.пл., °С	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				А	Б			C	H	N	C	H	N
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
4.46	H	4-Cl-C_6H_4	-	72	65	197-199	$C_{20}H_{13}ClN_2O_3S_2$	56,01	3,06	6,53	56,30	2,80	6,70
4.47	4-COOH	4-Cl-C_6H_4	-	77	55	256-258	$C_{21}H_{13}ClN_2O_5S_2$	53,33	2,77	5,92	53,50	2,83	5,75
4.48	4-F	4-Cl-C_6H_4	-	66	55	226-228	$C_{20}H_{12}ClFN_2O_3S_2$	53,75	2,71	6,27	53,60	2,69	6,38
4.49	4-Cl	4-Cl-C_6H_4	-	72	55	255-256	$C_{20}H_{12}Cl_2N_2O_3S_2$	51,84	2,61	6,05	52,00	2,63	5,98
4.50	4-COOEt	4-Cl-C_6H_4	-	72	51	239-240	$C_{23}H_{17}ClN_2O_5S_2$	55,14	3,42	5,59	55,40	3,48	5,55
4.51	4-Me	4-Cl-C_6H_4	-	70	58	206-208	$C_{21}H_{15}ClN_2O_3S_2$	56,94	3,41	6,32	57,00	3,43	6,36
4.52	3-CF_3	4-F-C_6H_4	-	81	74	157-158	$C_{21}H_{12}F_4N_2O_3S_2$	52,50	2,52	5,83	52,30	2,48	5,90
4.53	4-Cl	4-F-C_6H_4	-	75	53	206-207	$C_{20}H_{12}ClFN_2O_3S_2$	53,75	2,71	6,27	53,90	2,72	6,30
4.54	3-CF_3	4-MeO-C_6H_4	-	70	62	> 230	$C_{22}H_{15}F_3N_2O_4S_2$	53,65	3,07	5,69	53,50	3,10	5,73
4.55	3-Me	PhCH=CH	-	81	75	188-189	$C_{23}H_{18}N_2O_3S_2$	63,57	4,18	6,45	63,40	4,21	6,47
4.56	H	PhCH=CH	-	67	56	225-227	$C_{22}H_{16}N_2O_3S$	62,84	3,84	6,66	63,00	3,85	6,70
4.57	4-OMe	PhCH=CH	-	81	75	211-212	$C_{23}H_{18}N_2O_4S_2$	61,32	4,03	6,22	62,00	4,10	6,30
4.58	4-OEt	PhCH=CH	-	69	70	206-208	$C_{24}H_{20}N_2O_4S_2$	62,05	4,34	6,03	62,20	4,40	5,95
4.59	2-CF_3	PhCH=CH	-	82	63	160-162	$C_{23}H_{15}F_3N_2O_3S_2$	56,55	3,10	5,73	56,70	3,15	5,68

Продовж. табл. 4.4.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
4.60	3-CF_3	PhCH=CH	-	67	62	175-177	$C_{23}H_{15}F_3N_2O_3S_2$	56,55	3,10	5,73	56.40	3,06	5,69
4.61	4-Cl	PhCH=CH	-	68	65	225-226	$C_{22}H_{15}ClN_2O_3S_2$	58,08	3,32	6,16	58,25	3,30	6,14
4.62	4-Br	PhCH=CH	-	65	52	217-218	$C_{22}H_{15}BrN_2O_3S_2$	52,90	3,00	5,60	53,10	3,04	5,70
4.63	4-Cl	-	-	-	65	210-212	$C_{13}H_9ClN_2O_3S_2$	45,81	2,66	8,22	45,90	2,63	8,19
4.64	4-Br	-	-	-	63	217-219	$C_{13}H_9BrN_2O_3S_2$	40,53	2,35	7,27	40,63	2,38	7,31
4.65	4-OH	-	-	-	70	235-237	$C_{13}H_{10}N_2O_4S_2$	48,44	3,13	8,69	48,54	3,15	8,70
4.66	2-CF_3	-	-	-	68	158-159	$C_{14}H_9F_3N_2O_3S_2$	44,92	2,42	7,48	45,00	2,40	7,54
4.67	4-Cl	2-AllO	-	-	98	161-163	$C_{23}H_{17}ClN_2O_4S_2$	56,96	3,53	5,78	57,15	3,55	5,71
4.68	4-Cl	3-AllO	-	-	90	169-170	$C_{23}H_{17}ClN_2O_4S_2$	56,96	3,53	5,78	57,10	3,52	5,75
4.69	4-Cl	4-NEt_2	-	-	73	195-196	$C_{24}H_{22}ClN_3O_3S_2$	57,65	4,43	8,40	57,89	4,40	8,35
4.70	4-Cl	-	H	-	61	>260	$C_{21}H_{12}ClN_3O_4S_2$	53,67	2,57	8,94	53,85	2,59	8,85
4.71	4-Cl	-	Cl	-	77	>260	$C_{21}H_{11}Cl_2N_3O_4S_2$	50,01	2,20	8,33	49,85	2,20	8,38
4.72	4-Cl	-	Br	-	89	>260	$C_{21}H_{11}BrClN_3O_4S_2$	45,96	2,02	7,66	46,05	20,01	7,70
4.73	-	-	-	-	78	>260	$C_{19}H_{12}ClN_3O_3S_2$	53,08	2,81	9,77	53,19	2,82	9,71
4.74	4-Br	-	OH	-	75	220-222	$C_{20}H_{14}BrN_3O_4S_2$	47,63	2,80	8,33	47,90	2,90	8,36
4.75	4-Br	3-AllO	-	-	73	139-140	$C_{23}H_{17}BrN_2O_4S_2$	52,18	3,24	5,29	52,30	3,21	5,25
4.76	4-Br	-	H	-	77	>260	$C_{21}H_{12}BrN_3O_4S_2$	49,04	2,35	8,17	49,45	2,32	8,15
4.77	2-CF_3	2-AllO	-	-	83	170-172	$C_{24}H_{17}F_3N_2O_4S_2$	55,59	3,30	5,40	55,40	3,26	5,35
4.78	2-CF_3	-	H	-	75	164-166	$C_{22}H_{12}F_3N_3O_4S_2$	52,48	2,40	8,35	52,56	2,42	8,29
4.79	4-Cl	-	-	-	74	218-221	$C_{22}H_{13}Cl_2N_3O_5S_2$	49,45	2,45	7,86	49,36	2,48	7,92
4.80	4-Br	-	-	-	87	227-229	$C_{22}H_{13}BrClN_3O_5S_2$	45,65	2,26	7,26	45,95	2,25	7,25
4.81	4-OH	-	-	-	80	239-242	$C_{22}H_{14}ClN_3O_6S_2$	51,21	2,74	8,14	51,46	2,74	8,16
4.82	4-Cl	-	-	-	80	106-108	$C_{16}H_{13}ClN_2O_4S_2$	48,42	3,30	7,06	48,55	3,31	7,13
4.83	4-Br	-	-	-	82	110-112	$C_{16}H_{13}BrN_2O_4S_2$	43,54	2,97	6,35	43,66	3,00	6,39
4.84	4-Cl	-	COOEt	-	55	180-182	$C_{23}H_{18}ClN_3O_5S_2$	53,54	3,52	8,14	53,68	3,55	8,15

* Наведено виходи реакцій для методів синтезу А та Б.

Схема 4.5



Ряд похідних 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-сукцинімідів **4.67-4.81** отримано у реакціях Кньовенагеля із відповідних 3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-роданінів **4.63-4.66,** синтезованих у свою чергу вищеописаним методом Б (схема 4.5). Як оксосполуки в реакціях Кньовенагеля використано різноманітні ароматичні альдегіди, ізатин та його 5-заміщені похідні, циміналь. На основі 1-(4-феніл)-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)піролідин-2,5-діонів **4.63, 4.64** синтезовано 5-єнамінпохідні **4.74** та **4.84** через стадію утворення відповідних 5-етоксиметиліден-роданін-3-піролідин-2,5-діонів **4.82, 4.83** (схема 4.6).

Синтезовані 3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданіни **4.63-4.66 –** кристалічні порошки сірого та світло-бузкового кольорів, розчинні в ацетатній кислоті, ДМФА, толуолі, діоксані, важкорозчинні в етанолі, ізопропанолі, нерозчинні у діетиловому етері та воді. Синтезовані 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-сукциніміди **4.67-4.81, 4.84** – дрібнокристалічні порошки жовтого, оранжевого, коричневого, гірчичного (**4.74**), темно-червоного (**4.69**, **4.70-4.72**, **4.76**, **4.78**) кольорів; розчинні у ДМФА, діоксані, важкорозчинні в ацетатній кислоті, нерозчинні в етанолі, ізопропанолі, діетиловому етері та воді. 5-Етоксиметиліден-роданін-3-піролідин-2,5-

діони **4.82, 4.83** – порошки червоного кольору, розчинні в етанолі, етилацетаті, ацетатній кислоті. Фізико-хімічні характеристики сполук наведено у табл. 4.4.

Схема 4.6

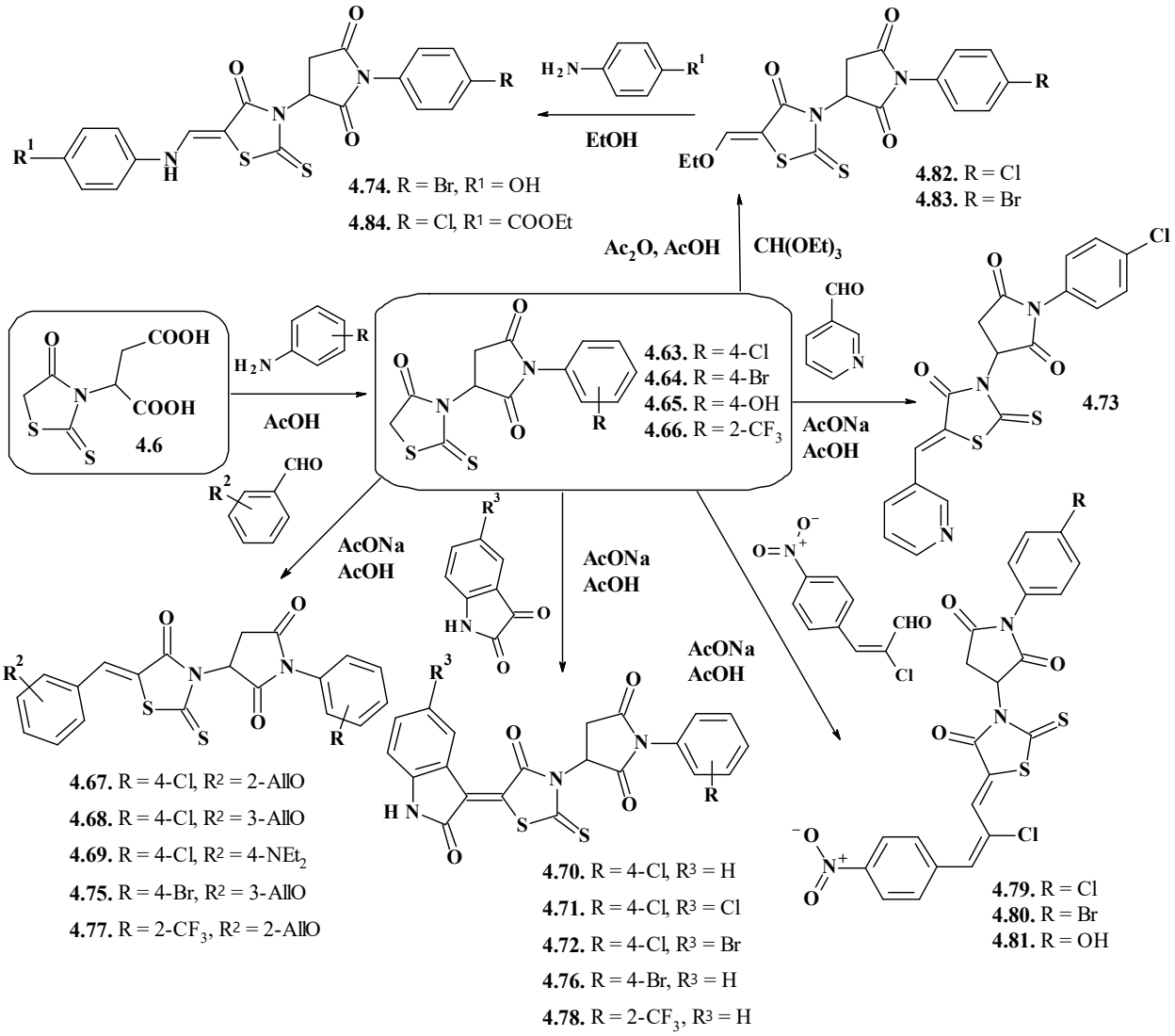
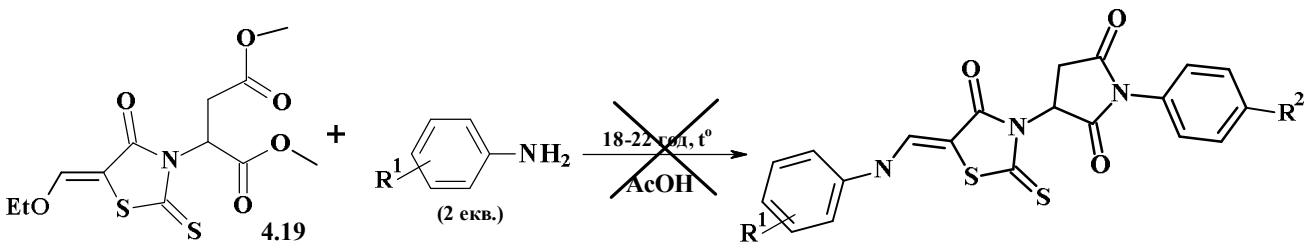


Схема 4.7



Апробовано метод синтезу 2-{5-[феніламінометилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-піролідин-2,5-діонів в реакції диметилового естру 2-[5-(етоксиметиліден)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-бутандіової кислоти **4.19** із

двома еквівалентами різноманітних анілінів в середовищі ацетатної кислоти, при тривалому нагріванні. Однак, дана реакція не забезпечує отримання цільових продуктів, що підтверджено методом ТШХ в системі бензол-ацетон-NH_4OH (50:50:1) та LCMS (схема 4.7).

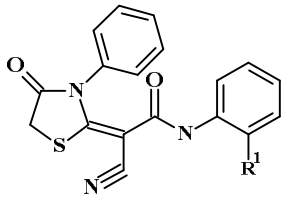
4.3. Синтез та перетворення комбінаторної бібліотеки сполук на основі 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-фенілацетамідів

Ще одними об'єктами дослідження стали 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл- та 2-ціано-*N*-(*o*-толіл)-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-ацетаміди **4.85, 4.86** [342]. Реакційно здатна метиленова група у С5 положенні тіазолідинону останніх дозволяє отримання 5-етоксиметиліден- **4.87**, **4.88** в умовах вище описаної реакції з триетилортоформіатом. На основі похідних **4.87**, **4.88** одержано низку різноманітних 2-[5-[(аніліно)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-2-ціано-*N*-феніл(*o*-толіл)-ацетамідів **4.90-4.109**. 4-Тіазолідоновий цикл вихідних сполук **4.85-4.86** утворюється при взаємодії тіоамідів з монохлорацетатною кислотою у присутності еквівалентної кількості ізопропілату натрію. В свою чергу, взаємодією ізотіоціанатів з амідами ціаноацетатної кислоти синтезувалися відповідні 3-аніліно-2-ціано-*N*-феніл-3-тіоксо-пропанаміди, які у вищеописану реакцію вводилися *in situ* без виділення і додаткової очистки (схема 4.8).

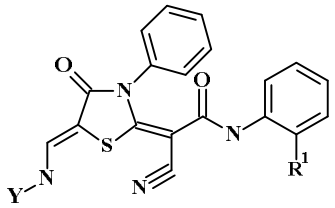
Синтезовані 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-фенілацетамід **4.85** та 2-ціано-N-(*o*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетамід **4.86** – аморфні порошки білого кольору, розчинні в ДМФА, діоксані на холодно, погано розчинні в етанолі, ізопропанолі, при нагріванні розчинні в ацетонітрилі і оцтовій кислоті, нерозчинні у воді. 5-Етоксиметиліден похідні **4.87**, **4.88** – кристалічні порошки бузкового кольору, легкорозчинні у ДМФА та діоксані, погано розчинні в етанолі, ізопропанолі, не розчинні у воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук наведено у табл. 4.5.

Таблиця 4.5

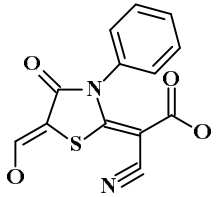
Фізико-хімічні характеристики ряду похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл-ацетаміду та 2-ціано-N-(*о*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетаміду



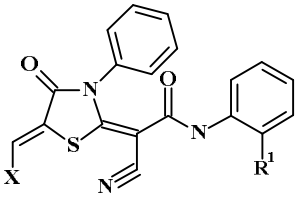
4.85, 4.86



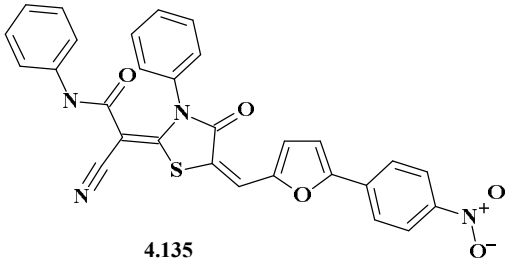
4.87, 4.88, 4.90-4.109



4.89



4.110-4. 134



4.135

Спо-лука	R^1	X, Y	Ви-хід, %	Т.пл., °С	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
						С, %	Н, %	N, %	С, %	Н, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
4.85	H	-	85	210-212	$C_{18}H_{13}N_3O_2S$	64,46	3,91	12,53	64,93	3,95	12,64
4.86	CH_3	-	87	203-204	$C_{19}H_{15}N_3O_2S$	65,31	4,33	12,03	65,63	4,35	12,15
4.87	H	O-Et	58	>220	$C_{21}H_{17}N_3O_3S$	64,43	4,38	10,73	64,70	4,40	10,69
4.88	CH_3	O-Et	62	210-212	$C_{22}H_{19}N_3O_3S$	65,17	4,72	10,36	65,60	4,75	10,42
4.89	-	-	90	178-180	$C_{13}H_8N_2O_4S$	54,16	2,80	9,72	54,50	2,80	9,75
4.90	H	4-Cl-C_6H_4	68	156-158	$C_{25}H_{17}ClN_4O_2S$	63,49	3,62	11,85	63,05	3,65	11,90
4.91	H	4-F-C_6H_4	83	144-146	$C_{25}H_{17}FN_4O_2S$	65,78	3,75	12,27	65,93	3,78	12,35
4.92	H	4-Br-C_6H_4	75	149-150	$C_{25}H_{17}BrN_4O_2S$	58,03	3,31	10,83	57,86	3,30	10,85
4.93	H	4-SO_2NH_2-C_6H_4	35	174-176	$C_{25}H_{19}N_5O_4S_2$	58,01	3,70	13,53	57,96	3,68	13,59
4.94	H	4-COOEt-C_6H_4	83	139-140	$C_{28}H_{22}N_4O_4S$	65,87	4,34	10,97	66,25	4,30	10,92
4.95	H	2-CF_3-C_6H_4	55	220-222	$C_{26}H_{17}F_3N_4O_2S$	61,65	3,38	11,06	61,05	3,32	10,98
4.96	H	2-F-C_6H_4	68	276-278	$C_{25}H_{17}FN_4O_2S$	65,78	3,75	12,27	65,90	3,72	12,32
4.97	H	2-OH-C_6H_4	84	208-210	$C_{25}H_{18}N_4O_3S$	66,07	3,99	12,33	65,85	4,02	12,36
4.98	H	2,4-Cl_2-C_6H_3	53	235-237	$C_{25}H_{16}Cl_2N_4O_2S$	59,18	3,18	11,04	59,93	3,16	11,10
4.99	H	2-CH_3-5-F-C_6H_3	76	230-232	$C_{26}H_{19}FN_4O_2S$	66,37	4,07	11,91	65,96	4,05	11,84

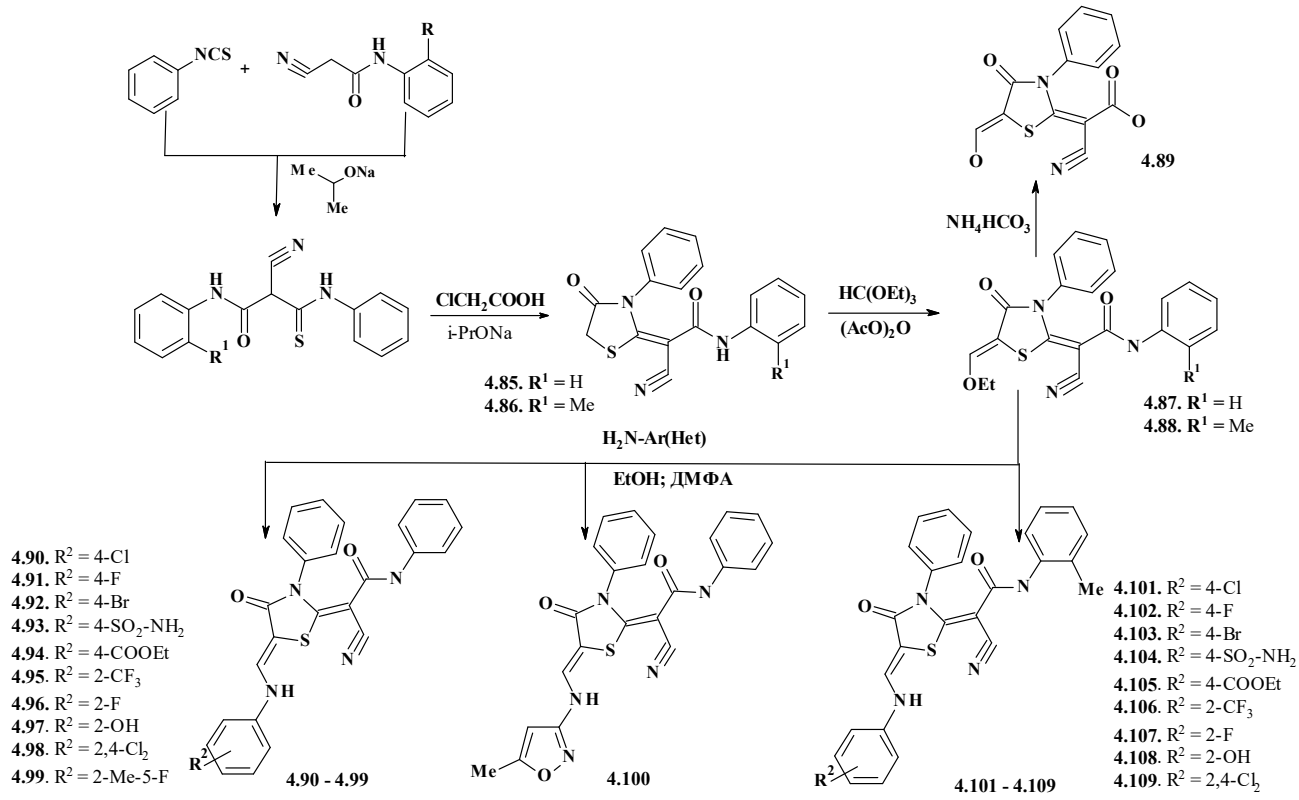
Продовж. табл. 4.5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
4.100	H	5-CH_3-ізоксазол-3-іл	59	195-197	$C_{23}H_{17}N_5O_3S$	62,29	3,86	15,79	62,90	4,10	15,60
4.101	CH_3	4-Cl-C_6H_4	65	197-200	$C_{26}H_{19}ClN_4O_2S$	64,13	3,93	11,51	63,83	3,90	11,45
4.102	CH_3	4-F-C_6H_4	82	207-209	$C_{26}H_{19}FN_4O_2S$	66,37	4,07	11,91	66,87	4,03	11,88
4.103	CH_3	4-Br-C_6H_4	90	210-212	$C_{26}H_{19}BrN_4O_2S$	58,76	3,60	10,54	58,89	3,61	10,60
4.104	CH_3	4-SO_2NH_2-C_6H_4	44	164-165	$C_{26}H_{21}N_5O_4S_2$	58,74	3,98	13,17	59,01	3,86	13,25
4.105	CH_3	4-COOEt-C_6H_4	62	135-136	$C_{29}H_{24}N_4O_4S$	66,40	4,61	10,68	66,10	4,63	10,72
4.106	CH_3	2-CF_3-C_6H_4	71	210-212	$C_{27}H_{19}F_3N_4O_2S$	62,30	3,68	10,76	62,49	3,70	10,51
4.107	CH_3	2-F-C_6H_4	70	250-251	$C_{26}H_{19}FN_4O_2S$	66,37	4,07	11,91	66,13	4,05	11,83
4.108	CH_3	2-OH-C_6H_4	85	211-213	$C_{26}H_{20}N_4O_3S$	66,65	4,30	11,96	66,10	4,35	12,05
4.109	CH_3	2,4-Cl_2-C_6H_3	68	228-230	$C_{26}H_{18}Cl_2N_4O_2S$	59,89	3,48	10,75	60,08	3,50	10,67
4.110	H	4-COOMe-C_6H_4	75	>290	$C_{27}H_{19}N_3O_4S$	67,35	3,98	8,73	67,54	4,00	8,65
4.111	H	4-OMe-C_6H_4	76	>250	$C_{26}H_{19}N_3O_3S$	68,86	4,22	9,27	68,65	4,20	9,50
4.112	H	2-OMe-C_6H_4	80	>250	$C_{26}H_{19}N_3O_3S$	68,86	4,22	9,27	69,05	4,22	9,35
4.113	H	3,4-$(OMe)_2$-C_6H_3	82	>250	$C_{27}H_{21}N_3O_4S$	67,07	4,38	8,69	67,31	4,40	8,66
4.114	H	3,4,5-$(OMe)_3$-C_6H_2	76	>250	$C_{28}H_{23}N_3O_5S$	65,48	4,51	8,18	65,52	4,52	8,23
4.115	H	2-OEt-C_6H_4	78	>250	$C_{27}H_{21}N_3O_3S$	69,36	4,53	8,99	69,60	4,52	9,05
4.116	H	4-OEt-C_6H_4	78	>250	$C_{27}H_{21}N_3O_3S$	69,36	4,53	8,99	69,06	4,55	8,95
4.117	H	2-OEt-5-Br-C_6H_3	65	250-252	$C_{27}H_{20}BrN_3O_3S$	59,35	3,69	7,69	59,60	3,75	7,74
4.118	H	4-F-C_6H_4	67	>250	$C_{25}H_{16}FN_3O_2S$	68,01	3,65	9,52	67,78	3,62	9,56
4.119	H	4-NO_2-C_6H_4	71	>250	$C_{25}H_{16}N_4O_4S$	64,09	3,44	11,96	63,85	3,46	12,06
4.120	H	3-NO_2-C_6H_4	70	>250	$C_{25}H_{16}N_4O_4S$	64,09	3,44	11,96	64,16	3,45	11,90
4.121	H	4-Cl-C_6H_4	74	>250	$C_{25}H_{16}ClN_3O_2S$	65,57	3,52	9,18	65,82	3,53	9,22
4.122	H	2-Cl-C_6H_4	81	>250	$C_{25}H_{16}ClN_3O_2S$	65,57	3,52	9,18	65,60	3,50	9,15
4.123	CH_3	C_6H_5	82	182-184	$C_{26}H_{19}N_3O_2S$	71,38	4,38	9,60	71,80	4,38	9,71
4.124	CH_3	2-OMe-C_6H_4	85	204-205	$C_{27}H_{21}N_3O_3S$	69,36	4,53	8,99	69,93	4,55	9,09
4.125	CH_3	3,4-$(OMe)_2$-C_6H_3	87	205-206	$C_{28}H_{23}N_3O_4S$	67,59	4,66	8,45	67,19	4,63	8,40
4.126	CH_3	4-OMe-C_6H_4	84	238-239	$C_{27}H_{21}N_3O_3S$	69,36	4,53	8,99	69,90	4,53	8,95

Продовж. табл. 4.5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
4.127	CH_3	2-OEt-5-Br-C_6H_3	80	>220	$C_{28}H_{22}BrN_3O_3S$	60,00	3,96	7,50	60,33	3,98	7,56
4.128	CH_3	2-OEt-C_6H_4	78	>220	$C_{28}H_{23}N_3O_3S$	69,83	4,81	8,73	70,03	4,82	8,70
4.129	CH_3	2-Cl-C_6H_4	73	221-223	$C_{26}H_{18}ClN_3O_2S$	66,17	3,84	8,90	65,80	3,84	8,95
4.130	CH_3	4-NO_2-C_6H_4	63	>230	$C_{26}H_{18}N_4O_4S$	64,72	3,76	11,61	65,03	3,78	11,70
4.131	CH_3	3-NO_2-C_6H_4	60	>220	$C_{26}H_{18}N_4O_4S$	64,72	3,76	11,61	64,85	3,75	11,65
4.132	CH_3	4-F-C_6H_4	74	227-230	$C_{26}H_{18}FN_3O_2S$	68,56	3,98	9,22	68,82	3,99	9,28
4.133	CH_3	4-COOMe-C_6H_4	75	181-183	$C_{28}H_{21}N_3O_4S$	67,86	4,27	8,48	67,99	4,25	8,50
4.134	CH_3	3-Br-C_6H_4	76	179-181	$C_{26}H_{18}BrN_3O_2S$	60,47	3,51	8,14	60,15	3,53	8,22
4.135	-	-	65	238-240	$C_{29}H_{18}N_4O_5S$	65,16	3,39	10,48	65,50	3,39	10,52

Схема 4.8



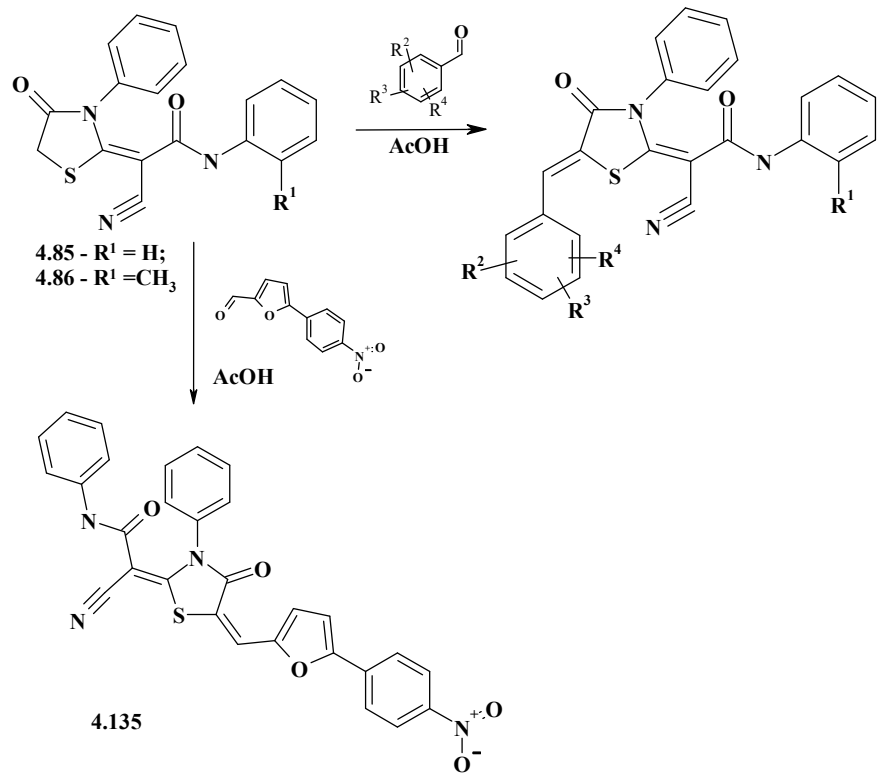
Синтезована 2-ціано-2-[5-(гідроксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]ацетатно кислота **4.89** – дрібнокристалічний порошок темно-фіолетового кольору, розчинний в ДМФА, ацетатній кислоті, хлороформі, етанолі, ізопропанолі, бутанолі, ацетонітрилі, діетиловому етері, не розчинний в толуолі, гексані, воді. Одержані 5-єнамінопохідні **4.90-4.109 –** кристалічні порошки жовтого, оранжевого кольорів, розчинні в ДМФА, ДМСО та діоксані, погано розчинні в етанолі, ізопропанолі, ацетатній кислоті, при нагріванні розчинні в ацетонітрилі, не розчинні у воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук наведено у табл. 4.5.

Цікаво, що реакція 2-(5-етоксиметиліден-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-2-ціаноацетамідів **4.87**, **4.88** із гідрокарбонатом амонію при нагріванні протягом 30 хв в середовищі етанолу не проходить як у випадку етилового естеру 2-(5-етоксиметиліден-2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **4.7** із утворенням 5-єнамінпохідного **4.21.** Натомість, відбувається гідроліз естерної та амідної груп з утворенням 2-ціано-2-[5-(гідроксиметилен)-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]ацетатної кислоти **4.89**.

З метою розширення комбінаторної бібліотеки похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-арилацетамідів та встановлення закономірностей взаємозв'язку структура-активність, зокрема вивчення впливу 5-єнамінового та 5-іліденового фрагментів на біологічну активність цього класу сполук, в умовах реакції Кньовенагеля синтезовано ряд 2-(5-бензиліден(гетериліден)-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-2-ціано-*N*-фенілацетамідів **4.100-4.125** [342].

Синтезовані 5-бензиліден(гетериліден) похідні 2-ціано-2-(4-оксо-3-(ариліден)-тіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл-ацетамідів **4.100-4.125 –** кристалічні порошки різних відтінків жовтого, цегляного кольору, легкорозчинні в ДМФА, ДМСО, при нагріванні розчинні в ацетонітрилі (велика кількість), нерозчинні в етанолі, ізопропанолі, воді, гексані, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук наведено у табл. 4.5.

Схема 4.9



R^1 = H	R^2	R^3	R^4
4.110	4-COOMe	H	H
4.111	4-OMe	H	H
4.112	2-OMe	H	H
4.113	3-OMe	4-OMe	H
4.114	3-OMe	4-OMe	5-OMe
4.115	2-OEt	H	H
4.116	4-OEt	H	H
4.117	2-OEt	5-Br	H
4.118	4-F	H	H
4.119	4-NO_2	H	H
4.120	3-NO_2	H	H
4.121	4-Cl	H	H
4.122	2-Cl	H	H

R^2 = CH_3	R^2	R^3	R^4
4.123	H	H	H
4.124	2-OMe	H	H
4.125	3-OMe	4-OMe	H
4.126	4-OMe	H	H
4.127	2-OEt	5-Br	H
4.128	2-OEt	H	H
4.129	2-Cl	H	H
4.130	4-NO_2	H	H
4.131	3-NO_2	H	H
4.132	4-F	H	H
4.133	4-COOMe	H	H
4.134	3-Br	H	H

4.4. Спектральні характеристики одержаних сполук

Структура синтезованих речовин підтверджена елементним аналізом, а також методами спектроскопії ^{1}H і ^{13}C ЯМР та рентгеноструктурного аналізу. Відомо, що первинні і вторинні єнаміни характеризуються єнамін-імінною таутомерією [343]. ^{1}H Спектр етилового естеру 2-(5-етоксиметиліден-2-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-3-феніл-пропіонової кислоти **4.7** характеризується двопротонним дублетом при 3,5 м.ч та однопротонним триплетом при 5,70 м.ч. для аліфатичних протонів фенілаланінового залишку (Табл. 4.6). Ароматичні протони проявляються у вигляді мультиплету при 7,0-7,25 м.ч. Відповідно, спектроскопічні дослідження виявили характеристичне подвоєння сигналів в ^{1}H та ^{13}C ЯМР спектрах деяких із досліджених сполук або утворення мультиплетів внаслідок накладання сигналів, що ймовірно пов'язане із наявністю двох таутомерних форм. На основі спектрів ^{1}H ЯМР та LC-MS, співвідношення таутомерів є від 1:1 для етилових естерів 2-{5-[(феніламіно)-метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-3-фенілпропіонової кислоти із метоксифеніламіно- та орто-метильними групами (**4.26**, **4.28**) до 9:1 для інших речовин. В спектрах ^{1}H ЯМР амінометиленова група (NH=CH) у сполуках **4.22-4.33** дає два дублети (J ~ 12.0 Hz) або широкі синглети при δ ~ 7,91-8,65 δ ~ 10,20-12,20 м.ч. Зміщення сигналу іліденового протону в слабке поле свідчить про утворення *Z*-ізомерів. Зміщення сигналу протону – NH-групи залежить від електронних ефектів замісників при даній групі.

Спектри ^{1}H та ^{13}C 2-(5-R-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-карбонових кислот та їх естерів **4.7-4.20.**

4.7. *Етиловий естер 2-(5-етоксиметиліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропанової кислоти*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,10 (т, 3H, CH_3), 1,30 (т, 3H, CH_3), 3,50 (д, 2H, CH_2), 4,10 (кв, 2H, CH_2), 4,30 (кв, 2H, CH_2), 5,70 (т, 1H, CH), 7,00–7,25 (м, 5H, C_6H_5), 7,90 (с, 1H, –CH=). LCMS (ESI+) m/z 366 $(M+H)^+$.

4.8. *2-[5-(Етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]ацетатна кислота*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,25 (т, 3H, CH_3), 4,18 (кв, 2H, CH), 4,41 (с, 2H, CH_2COO), 7,58 (с, 1H, -CH=).

4.9. *3-[5-(Етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропанова кислота*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,28 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$ J = 7,0 Гц), 2,81 (м, 2H, CH_2), 4,82 (м, 2H, CH_2), 4,36 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 7,99 (с, 2H, CH=), 12,01 (с, 1H, COOH). LCMS (ESI+) m/z 262 $(M+H)^+$.

4.10. *4-[5-(Етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутанова кислота.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,27 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$, J = 7,0 Гц), 1,78-1,83 (м, 2H, CH_2), 2,28 (т, 2H, CH_2, J = 7,2 Гц), 3,96 (т, 2H, CH_2), 4,36 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 7,98 (с, 2H, CH=).

4.11. *Метиловий естер 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,65 (т, 2H, CH_2, J = 6,7 Гц), 3,59 (с, 3H, CH_3), 3,84 (д, 2H, тіазол.), 3,93 (т, 2H, CH_2).

4.12. E*тиловий естер* 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)пропанової *кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,15 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$,), 2,63-2,67 (м, 2H, CH_2), 3,80 (д, 2H, тіазол.), 3,97 (т, 2H, CH_2), 4,10 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$).

4.13. *Метиловий естер 4-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)бутанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,91 (т, 2H, CH_2, J = 6,8 Гц), 2,40 (т, 2H, CH_2 J = 6,4 Гц), 3,28-3,31 (м, 2H, CH_2), 3,57 (с, 3H, CH_3), 4,02-4,09 (м, 2H, тіазол.).

4.16. *Метиловий естер 3-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,26 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$, J = 7,0 Гц), 2,60 (т, 2H, CH_2), 3,57 (с, 3H, CH_3), 4,10 (т, 2H, CH_2), 4,21 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 7,97 (с, 2H, CH=).

4.17. *Етиловий естер 3-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,15 (т, 3H, CH_3, J = 7,1 Гц), 1,28 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$, J = 7,0 Гц), 2,64-2,66 (м, 2H, CH_2), 4,03 (т, 2H, CH_2, J = 6,7 Гц), 4,19 (т, 2H, CH_2), 4,30 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$, J = 7,0 Гц), 7,98 (с, 2H, CH=).

4.18. *Метиловий естер* 4-*[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]бутанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,29 (т, 3H, CH_3), 1,86 (т, 2H,

CH_2, *J* = 7,0 Гц), 2,34 (т, 2H, CH_2, *J* = 7,2 Гц), 3,57 (с, 3H, OCH_3), 3,98 (т, 2H, CH_2, *J* = 6,8 Гц), 4,37 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 8,02 (с, 2H, CH=). LCMS (ESI+) *m*/*z* 290 $(M+H)^+$.

4.19. *Диметиловий естер 2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазоїлдин-3-іл]бутандіової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,26 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$, *J* = 7,0 Гц), 3,10-3,13 (м, 2H, CH_2), 3,64 (с, 3H, CH_3), 3,67 (с, 3H, CH_3), 4,26 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$, *J* = 7,0 Гц), 5,56 (т, 1H, CH, *J* = 6,1 Гц), 7,96 (с, 2H, CH=).

4.20. *Диетиловий естер 2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазоїлдин-3-іл]бутандіової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,21 (т, 3H, CH_3), 1,27 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$, *J* = 7,1 Гц), 1,54 (т, 3H, CH_3), 3,10 (д, 2H, CH_2, *J* = 6,0 Гц), 4,11-4,15 (м, 4H, 2* CH_2), 4,24 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$, *J* = 7,1 Гц), 5,54 (т, 1H, CH), 7,97 (с, 2H, CH=).

Спектри ^{1}H та ^{13}C етилових естерів 2-(5-амінометилен-2-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-3-феніл-пропіонової кислоти **4.21-4.33**.

4.21. *Етиловий естер 2-(5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,10 (т, 3H, CH_3), 3,40 (д, 2H, CH_2), 4,20 (кв, 2H, CH_2), 5,70 (т, 1H, CH), 7,00–7,25 (м, 5H, C_6H_5), 7,60 (т, 1H, –CH=), 8,0 (шс, 2H, NH_2). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,6 (CH_2), 57,7 (CH), 61,6 (OCH_2), 124,6 (5-C тіаз.), 127,0, 128,6, 129,6, 137,2 (CH=), 144,4, 166,5 (C=O), 168,5 (COO), 171,7 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 337 $(M+H)^+$.

4.22. *Етиловий естер 2-(4-оксо-5-феніламінометилен-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,17 (т, 3H, CH_3, *J* = 6,4 Гц), 3,48 (м, 2H, CH_2), 4,15 (кв, 2H, CH_2, *J* = 6,4 Гц,), 5,84 (шс, 1H, CH), 7,12–7,21 (м, 6H, аром.), 7,30–7,36 (м, 4H, аром.), 8,04 (д, 1H, CH, *J* = 12,0 Гц), 10,35 (д, 1H, NH, *J* = 12,0 Гц). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,6 (CH_2), 58,0 (CH), 61,8 (OCH_2), 117,3, 124,6 (5-C тіаз.), 124,7, 127,1, 128,6, 129,6, 130,1, 136,5, 137,0, 140,3, 166,8 (CO), 168,3 (CO), 191,4 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 413 $(M+H)^+$.

4.23. *Етиловий естер 2-{5-[(4-хлорофеніламіно)-метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,10 (т, 3H, CH_3), 3,50 (д, 2H, CH_2), 4,10 (кв, 2H, CH_2), 5,80 (т, 1H, CH), 7,00–7,20 (м, 5H, C_6H_5), 7,30–7,50 (м, 4H, C_6H_4), 8,00 (д, 1H, CH), 10,40 (д, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100

МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,4 (CH_2), 58,0 (CH), 61,8 (OCH_2), 119,0, 127,1 (5-С тіаз.), 128,3, 128,6, 129,6, 129,9, 136,2, 137,0 (CH=), 139,4, 166,7, 168,2 (CO), 187,5 (CO), 191,4 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 447/449 $(M+H)^+$.

4.24. *Етиловий естер 2-{5-[(4-флюорофеніламіно)-метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,15 (т, 3H, CH_3, *J* = 6,8 Гц), 3,47 (м, 2H, CH_2), 4,14 (кв, 2H, CH_2, *J* = 6,8 Гц), 5,80 (шс, 1H, CH), 7,16–7,20 (м, 5H, аром.), 7,20–7,40 (м, 4H, аром.), 8,02 (д, 1H, CH, *J*=12,1 Гц), 10,36 (д, 1H, NH, *J* = 12,1 Гц). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,6 (CH_2), 58,0 (CH), 61,8 (OCH_2), 116,6, 116,8, 127,1 (5-С тіаз.), 128,6, 129,6, 137,0 (CH=), 159,3 (д, *J*=240,0 Гц), 166,7, 168,3 (C=O), 180,6, 187,6 (COO), 191,3, 194,0 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 431 $(M+H)^+$.

4.25. *Етиловий естер 2-{5-[(4-хлоро-2-нітрофеніламіно)-метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,18 (т, 3H, CH_3, *J* = 6,8 Гц), 3,53 (м, 2H, CH_2), 4,17 (кв, 2H, CH_2, *J* = 6,8 Гц,), 5,92 (м, 1H, CH), 7,17–7,19 (м, 3H, аром.), 7,21 (д, 2H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,78 (д, 1H, *J* = 9,0 Гц, аром.), 7,92 (д, 1H, *J* = 9,0 Гц, аром.), 8,26 (с, 1H, аром.), 8,51 (д, 1H, CH, *J* = 12,1 Гц), 12,20 (д, 1H, *J* = 12,1 Гц, NH). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,4 (CH_2), 57,9 (CH), 62,0 (OCH_2), 98.5, 119,3, 126,1, 127,2 (5-С тіаз.), 128,7, 129,6, 135,1, 136,4, 136,5, 136,8, 137,4 (CH=), 166,7, 168,0 (C=O), 171,8 (COO), 187,5 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 492/494 $(M+H)^+$.

4.26. *Етиловий естер 2-{5-[(5-хлоро-2-метоксифеніламіно)-метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,17 (т, 3H, CH_3, *J* = 6,0 Гц), 3,47–3,51 (м, 2H, CH_2), 3,85, 3,92 (2*с, 3H, CH_3), 4,15 (м, 2H, CH_2), 5,82, 5,89 (2*шс, 1H, CH), 7,10–7,21 (м, 7H, аром.), 7,40, 7,52 (2*с, 1H, аром.), 7,91, 8,43 (шс, д, *J* = 12,6 Гц; 1H, CH), 9,99, 10,53 (шс, д, *J* = 12,6 Гц, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,7 (CH_2), 56,7 (OCH_3), 57,1, 57,9 (CH), 61,8, 61,9 (OCH_2) 113,7, 114,1, 114,3, 124,3, 125,2, 125,7, 127,1, 127,2 (5-С тіаз.), 128,6, 128,7, 129,6, 136,9, 137,0 (CH=), 139,0, 146,8, 166,9, 167,0, 168,1 (C=O), 168,3 (COO), 191,9 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 477/479 $(M+H)^+$.

4.27. *Етиловий естер 2-{4-оксо-5-[(4-сульфамоїлфеніламіно)-метилен]-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,16 (т, 3H, CH_3, J = 6,4 Гц), 3,48 (шс, 2H, CH_2), 4,15 (кв, 2H, CH_2, J = 6,4 Гц), 5,85 (шс, 1H, CH), 7,16–7,19 (м, 3H, аром.), 7,21 (д, 2H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,29 (шс, 2H, NH_2), 7,47 (д, 2H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,77 (д, 2H, J = 7,5 Гц, аром.), 8,11 (шс, 1H, CH), 10,53 (шс, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,6 (CH_2), 58,1 (CH), 61,8 (OCH_2), 117,0, 127,1 (5-C тіаз.), 127,7, 127,9, 128,7, 129,6, 135,6, 136,9 (CH=), 139,3, 143,1, 166,8 (C=O), 168,2 (COO), 191,6 (C=S). LCMS (ESI+) m/z 492 $(M+H)^+$.

4.28. *Етиловий естер 2-(5-{[2-метил-5-(морфолін-4-сульфоніл)феніламіно]-метилен}-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,17 (шс, 3H, CH_3), 2,36, 2,40 (2*с, 3H, CH_3), 3,40–3,65 (м, 10*H*, CH_2, морфолін), 4,15 (шс, 2H, CH_2), 5,83 (м, 1H, CH), 7,19–7,90 (м, 8H, аром.), 8,56 (шс, 1H, CH), 9,97, 10,20 (2*шс, 1H, NH). LCMS (ESI+) m/z 576 $(M+H)^+$.

4.29. *Етиловий естер 2-{5-[(4-етилсульфанілтіосульфонфеніламіно)-метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,12–1,21 (м, 6H, $2CH_3$), 3,0 (кв, 2H, CH2, J = 6,8 Гц), 3,42 (м, 2H, CH_2), 4,13 (кв, 2H, CH_2, J =7,0 Гц,), 5,82 (м, 1H, CH), 7,05–7,20 (м, 5H, аром.), 7,51 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 7,55 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 8,20 (м, 1H, CH), 10,40 (шс, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 14,8 (CH_3CH_2S), 30,8 (CH_2S), 33,6 (CH_2), 58,1 (CH), 61,9 (OCH_2), 117,3, 127,2 (5-C тіаз.), 128,7, 129,2, 129,6, 134,9, 136,9 (CH=), 138,6, 138,8, 145,2, 166,9 (C=O), 168,1 (COO), 191,6 (C=S). LCMS (ESI+) m/z 537 $(M+H)^+$.

4.30. *Етиловий естер 4-{[3-(1-етоксикарбоніл-2-фенілетил)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил]-аміно}-бензойної кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,17 (шс, 3H, CH_3), 1,31 (шс, 3H, CH_3), 3,48 (шс, 2H, CH_2), 4,15 (шс, 2H, CH_2), 4,28 (шс, 2H, CH_2), 5,85 (шс, 1H, CH), 7,16–7,21 (м, 5H, аром.), 7,43 (д, 2H, J = 7,7 Гц, аром.), 7,92 (д, 2H, J = 7,7 Гц, аром.), 8,11 (шс, 1H, CH), 10,54 (шс, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 14,7 (CH_3), 33,6 (CH_2), 58,1 (CH), 61,0 (OCH_2), 61,8 (OCH_2), 95,8, 116,7, 125,1, 127,1 (5-C тіаз.), 128,7, 129,6, 131,4, 135,3,

136,9 (CH=), 144,4, 165,6, 166,8 (C=O), 168,2 (COO), 191,6 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 485 $(M+H)^+$.

4.31. *Етиловий естер 2-[4-оксо-5-(тіазол-2-іламінометилен)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,10 (т, 3H, CH_3), 3,60 (д, 2H, CH_2), 4,10 (кв, 2H, CH_2), 5,90 (т, 1H, CH), 7,10–7,50 (м, 5H, C_6H_5), 7,60 (д, 2H, тіазол), 7,90 (д, 2H, тіазол), 8,00 (с, 1H, CH), 10,00 (с, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,5 (CH_2), 58,1 (CH), 61,9 (OCH_2), 107,0 (5-C тіазол), 127,2 (5-C тіазол), 128,7, 129,6, 134,8 (4-C тіазол), 136,8, 146,2 (CH=), 148,3, 157,9 (C=O), 167,1 (2-C тіазол), 168,1 (COO), 192,0 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 420 $(M+H)^+$.

4.32. *Етиловий естер 2-(5-{[5-(2,4-Дихлоробензил)-тіазол-2-іламіно]-метилен}-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,10 (т, 3H, CH_3), 3,60 (д, 2H, CH_2), 4,00–4,10 (м, 4H, 2*CH_2), 5,90 (т, 1H, CH), 7,00–7,40 (м, 9H, C_6H_3, C_6H_5, тіазол), 7,90 (д, 1H, CH), 11,30 (с, 1H, NH). LCMS (ESI+) *m*/*z* 578/580 $(M+H)^+$.

4.33. *Етиловий естер 2-{4-оксо-2-тіоксо-5-[(4H-[1,2,4]тріазол-3-іламіно)метилен]-тіазолідин-3-іл}-3-фенілпропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,10 (т, 3H, CH_3), 3,40 (д, 2H, CH_2), 4,10 (кв, 2H, CH_2), 5,80 (т, 1H, CH), 7,10–7,30 (м, 5H, C_6H_5), 8,10 (д, 1H, CH), 8,50 (с, 1H, CH, тріазол), 11,30 (д, 1H, NH), 13,90 (с, 1H, NH, тріазол). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 14,5 (CH_3), 33,4 (CH_2), 58,1 (CH), 61,8 (OCH_2), 121,0, 127,1 (5-C тіазол.), 128,6, 129,6, 140,7 (5-C тріазол), 143,9 (CH=), 145,0, 151,1, 167,3 (C=O), 168,2 (3-C тріазол), 178,9 (COO), 195,5 (C=S). LCMS (ESI+) *m*/*z* 404 $(M+H)^+$.

Структурні особливості етилового естру 2-(5-етоксиметиліден-2-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-3-феніл-пропіонової кислоти **4.7**, а також цільових похідних 5-єнаміну **4.21** та **4.30** були підтверджені рентгеноструктурним аналізом. Структура сполуки **4.7** є представлена на рис. 4.1. Результати дослідження свідчать, що етоксиметиленова та етоксикарбонільна групи в кристалі є невпорядкованими. Перша може бути орієнтована в просторі у двох варіантах (орієнтації А та В).

Знайдене значення торсійних кутів C5–C21–O22–C23 {із атомами O22A, C23A: -176.6(2)°; із атомами O22B, C23B: -167.8(11)°} та C21–O22–C23–C24 {з атомами O22A, C23A, C24A: 94.4(3)°; з атомами O22B, C23B, C24B: -161.8(17)°} показують, що зв'язки C5–C21 та O22A(B)–C23A(B) приймають антиперипланарну конформацію, тоді як зв'язки C21–O22A(B) та C23A(B)–C24A(B) – проміжну конформацію між синклінальною і антиклінальною та антиперипаланарною відповідно. Атоми O22, C23 та C24 в локації A мають чинник просторової частотності – 0,8495, тоді як в локації B – 0,1505. Ця група має різне просторове розташування в кристалі, що є визначене торсійними кутами C7–C8–O10–C11 та C8–O10–C11–C12. В атомах C8, O10, C11, C12 в орієнтації A, кути дорівнюють -178,6(3) та 176,8(5)° відповідно. Це означає, що зв'язки C7–C8A та O10A–C11A, так як і C8A–O10A and C11A–C12A займають антиперипланарну конформацію. У випадку цих атомів в орієнтаціях B та C, торсійні кути становлять -175,7(7) і 98,2(11)° та -176,3(9) і -83,6(13)° відповідно. Це означає, що зв'язки в парах C7–C8 / O10–C11 та C8–O10 / C11–12 в етоксикарбонільній групі в орієнтаціях B та C займають антиперипланарну конформацію та проміжну конформацію між сиклінальною та антиклінальною (+sc/+ac; –sc/–ac). Різні знаки +/– означають, що атом C12 відхиляється в протилежні напрямки від плоскої системи інших атомів у групі. Чинник просторової частотності для групи атомів C8, O10, C11, C12 в локації A є 0,5357, в локації B – 0,2348, в локації C – 0,2303. Наявна в молекулі фенільна система, що є частиною залишку 1-етокси-1-оксо-3-фенілпропан-2-ілу, утворює дигедральний кут 50,91(6)° із тіазолідонової системою. Просторова орієнтація фенільної системи в молекулі також визначається торсійними кутами C2–N3–C7–C13 та N3–C7–C13–C14, що становлять 72,5(2) і -58,4(2)° відповідно.

Виходячи із результатів рентегноструктурного аналізу сполука 3 кристалізує у центросиметричну просторову групу $P2_1/c$ із двома незалежними молекулами A та B в асиметричній комірці, що є енантіомерами *R* та *S* (Рис. 4.2). Хіральний центр в молекулах є у позиції C7. Незалежні молекули A та B є дзеркальними одна до одної. В молекулі B абсолютної конфігурації *R,* просторова орієнтація етоксикарбонільної групи (частини залишку 1-етокси-1-оксо-3-фенілпропан-2-ілу) є визначена

торсійними кутами C2B–N3B–C7B–C8B [118.0(3)°], N3B–C7B–C8B–O9B [152.1(3)°] та C8B–O10B–C11B–C12B [-83.2(5)°].

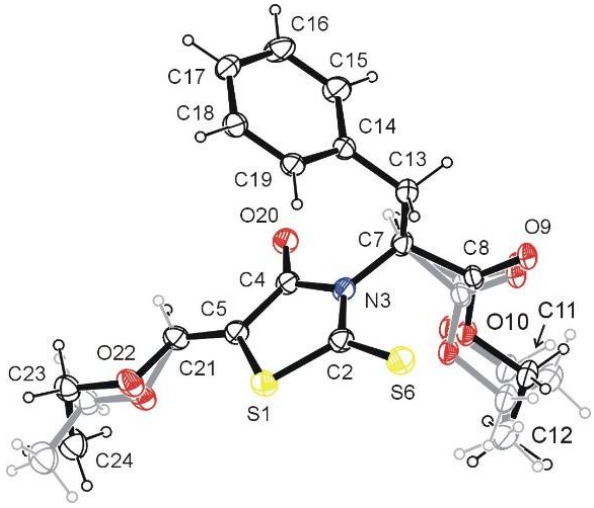


Рис. 4.2. ORTEP вигляд етилового естру 2-(5-амінометилен-4оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **4.7**. Неводневі атоми зображено еліпсоїдами з 30-відсотковим відхиленням від рівноважного положення, в той час як водневі атоми – сфери довільного радіусу. Невпорядковані частини молекули зображені сірим кольором, відмінно від основних частин молекули, які зображено чорним.

Відповідно до їхніх величин, зв’язки C2B–N3B та C7B–C8B знаходяться у проміжній конформації між антиклінальною та антиперипланарною, тоді як зв’язки C8B–O10B та C11B–C12B – у проміжній конформації між синклінальною та антиклінальною. Просторова орієнтація фенільної групи в даному молекулярному фрагменті визначена торсійними кутами C2B–N3B–C7B–C13B [-115.3(3)°] та N3B–C7B–C13B–C14B [50,1(3)°] та дигедральним кутом між 2-сульфаніліден-4-тіазолідиноновою та фенільною групами. Відповідно до величин торсійних кутів, зв’язки C2B–N3B та C7B–C13B займають антиклінальну конформацію відносно один одного, тоді як зв’язки N3B–C7B та C13B–C14B – синклінальну. Дигедральний кут між плоскими системами кілець складає 52,43(8)°.

Порівнявши геометрію молекул сполуки **4.21** (молекула А) та вищеописаної сполуки **4.7**, які обидві мають абсолютну конфігурацію *S,* встановлено, що в молекулах цих сполук етоксикарбонільний та бензильний замісники змінюють місця

в результаті ротації залишку 1-етокси-1-оксо-3-фенілпропан-2-ілу навколо зв'язку N3–C7 на 180°, що було доведено величинами торсійних кутів C2–N3–C7–H7(A/B/C) (сполука **4.7**: -169/-178/-170°, сполука **4.21**, молекула A: -2°). Три різних величини зазначених торсійних кутів для молекули 2 є пов'язані із невпорядкованістю етоксикарбонільної групи в кристалі. Визначені міжатомні C5–C21 відстані в молекулах A та B {1.363(4) та1.361(4) Å, відповідно} підтверджують наявність подвійного зв'язку між цими атомами (рис. 4.3).

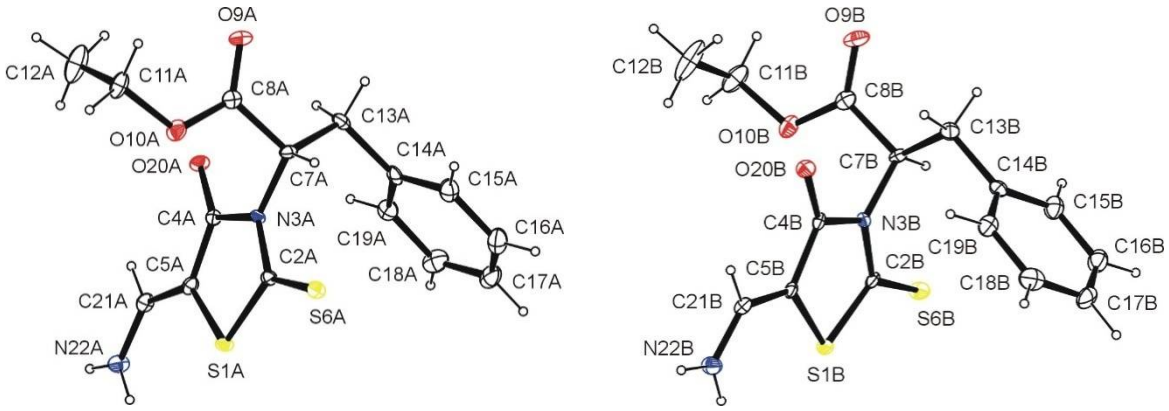


Рис. 4.3. Вигляд ORTEP симетрично-незалежних молекул (A та B) сполуки **4.21.** Не-гідрогенні атоми зображені у вигляді еліпсоїдів із 30-відсотковим відхиленням від рівноважного положення. Атоми водню показано як сфери довільного радіусу.

Етиловий естер 4-{[3-(1-етоксикарбоніл-2-фенілетил)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил]-аміно}-бензойної кислоти **4.30** відповідно до результатів рентгеноструктурного аналізу є *Z* стереоізомером (Рис. 4.4). Встановлений торсійний кут S1–C5–C21–N22 складає -0,5(4)°. Фенільна система (C9 – C14), що є частиною 1-етокси-1-оксо-3-фенілпропан-2-ілу утворює із гетероциклічною системою 2-сульфаніліден-4-тіазолідинону двогранний кут, що становить 54.80(8)°. Просторове розміщення фенільного кільця молекули також визначається торсійними кутами C2–N3–C7–C8 та N3–C7–C8–C9 по 110.8(2) та -48,7(3)°, відповідно. Тоді як геометрія етоксикарбонільної групи (C15,O16,O17,C18,C19) залишку 1-етокси-1-оксо-3-фенілпропан-2-ілу визначається

торсійними кутами C2–N3–C7–C15, N3–C7–C15–C17 та C15–O17–C18–C19, що становлять -120,3(2), -155,8(2) та 92.0(3)° відповідно. Величина торсійного кута свідчить про відхилення атома C19 від плоскої системи (r.m.s. (середньоквадратичне відхилення) = 0,0119 Å) утвореної іншими атомами цієї групи на 1.404(5) Å. Важливо, що просторова конфігурація залишку 1-етокси-1-оксо-3-фенілпропан-2-ілу у молекули 3x.10 із абсолютною конфігурацією *S* є аналогічною до просторової орієнтації цієї ж групи сполуки **4.21** (єнамін) при конфігурації молекули *S*. Торсійний кут C2–N3–C7–H7 становить -5°.

Інший фрагмент молекули, що містить залишок 5-{[(4-етоксикарбонілфеніл)-аміно]-метилен}-2-тіоксо-4-тіазолідинону є майже пласким. Це означає, що етоксикарбонільна група (C29,O30,O31,C32,C33) – частина цього фрагменту є приблизно пласкою (r.m.s. = 0.0141 Å), на відміну від етоксикарбонільної групи 1-етокси-1-оксо-3-фенілпропан-2-ілу.

Відповідно до результатів дослідження атом нітрогену N22 має характеристики аміну, а не іміну. Локація атому гідрогену була визначена на основі карт Фур'є і була вільно встановленою. Підтвердженням його наявності в положенні N22 є водневі зв'язки N22–H22···O30^{i} {N22–H22 0,85(3) Å, H22···O30 2,00(3) Å, N22···O30 2,840(3) Å, N22–H22···O30^{i}: 166 (3) °; (i) *x*,0,5–*y*,0,5+*z*}, із аміно групою (N22–H22) – донором та атомом оксисену O30 (карбонільної групи) – акцептором протону (рис. 4.4).

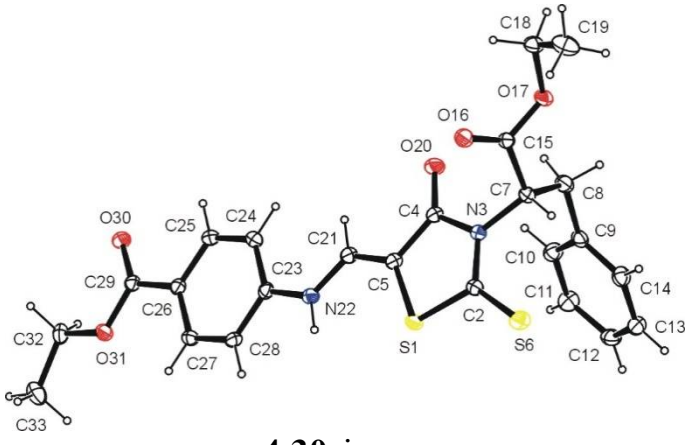


Рис. 4.4. ORTEP вигляд сполуки **4.30** із зазначеними атомами молекули. Не-гідрогенні атоми зображені у вигляді еліпсоїдів із 30-відсотковим відхиленням від рівноважного положення. Атоми водню показано як сфери довільного радіусу.

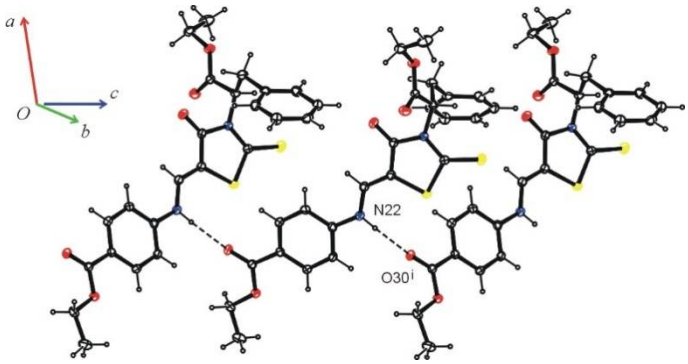


Рис. 4.5. Частина кристалічної структури **4.30**, що показує утворення ланцюга водневих зв'язків вздовж осі *c*.

Спектральні характеристики 5-заміщених похідних 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-ацетатної та пропанової кислоти **4.34-4.43.**

4.34. *2-[5-[(4-Етоксикарбоніланіліно)метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]ацетатна кислота.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,28 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$, J = 6,9 Гц), 4,25 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 4,63 (с, 2H, CH_2), 7,39 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 7,91 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 8,36 (д, 1H, CH=), 10,57 (д, 1H). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 191,9, 168,1, 166,7, 165,6, 144,4, 135,1, 131,4, 131,3, 125,0, 116,6, 113,0, 96,7, 60,9, 45,2, 14,6. LCMS (ESI+) *m/z* 367,0 (98.2 %, $[M+H]^+$).

4.35. 3-*[5-[(4-Етоксикарбоніланіліно)метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропанова кислота.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,30 (шс, 3H, CH_2CH_3), 2,67 (т, 2H, CH_2), 4,05-4,18 (м, 2H, CH_2), 4,26 (кв, 2H, CH_2CH_3), 7,48 (м, 2H, аром.), 7,92 (м, 2H, аром.), 8,15 (с, 1H, CH=). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 191,2, 170,8, 165,7, 162,6, 141,9, 136,4, 131,4 (2H, аром.), 124,7, 117,0 (2H, аром.), 98,1, 61,0, 50,6, 31,6, 14,7.

4.36. *3-[5-[(4-Хлорофеніламіно)метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропанова кислота.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,48-2,54 (м, 2H, CH_2), 4,02-4,13 (м, 2H, CH_2), 7,28-7,31 (м, 4H, аром.), 7,98 (с, 1H, CH=). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 191,4, 172,3, 166,9, 139,6, 135,9, 135,9, 129,9, 128,2, 118,9, 118,9, 97,6, 95,3, 31,5. LCMS (ESI+): *m/z* 343,0/345,0 (96.6 %, $[M+H]^+$).

4.37. *3-[5-[[4-(6-Метил-1,3-бензотіазол-2-іл)аніліно]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанова кислота.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,44 (с,

3H, CH_3), 2,58 (т, 2H, CH_2), 4,18 (т, 2H, CH_2), 7,33 (д, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,45 (д, 2H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,84-7,90 (м, 2H, аром.), 8,01 (д, 2H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 8,13 (с, 1H, =CH), 10,52 (шс, 1H, NH), 12,52 (шс, 1H, COOH). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 191,6, 172,3, 167,0, 165,9, 152,3, 142,9, 135,6, 134,8, 134,9, 129,0, 128,6, 128,5, 122,7, 122,2, 117,4 (2H, аром.), 101,2, 96,5, 49,7, 31,5, 21,6. LCMS (ESI+): LCMS (ESI+): *m/z* 456,0 (98,1 %, $[M+H]^+$).

4.38. *Етиловий естер 3-[5-(амінометилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,15 (т, 3H, CH_3, *J* = 7,1 Гц), 2,67 (т, 2H, CH_2, *J* = 7,1 Гц), 4,08 (кв, 2H, CH_2), 4,17 (м, 2H, CH_2), 8,14 (с, 1H, CH=). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 191,9, 172,3, 165,2, 132,4, 129,1, 60,9, 50,3, 32,6, 14,1.

4.39. *Етиловий естер 3-[5-[(4-(флюорофеніламіно)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,16-1,18 (м, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$), 2,63-2,66 (м, 2H, CH_2), 4,04(кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 4,21 (т, 2H, CH_2, *J* = 7,2 Гц), 7,19-7,22 (м, 2H, аром.), 7,33-7,37 (м, 2H, аром.), 8,06 (шс, 2H, CH=).^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6): 192,0, 168,1, 166,7, 165,7, 144,5, 135,3, 131,4 (2H, аром.), 125,1, 116,7 (2H, аром.), 96,7, 61,0, 45,3, 14,7. LCMS (ESI+): *m/z* 355,0 (99,6 %, $[M+H]^+$).

4.40. *Етиловий естер 3-{5-[(Z)-1-(4-етилоксикарбонілфеніламіно)-метиліден]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,16 (шс, 3H, CH_2CH_3), 1,30 (шс, 3H, CH_2CH_3), 2,64 (т, 2H, CH_2), 4,05 (т, 2H, CH_2), 4,18 (кв, 2H, CH_2CH_3), 4,28 (кв, 2H, CH_2CH_3), 7,38 (м, 2H, аром.), 7,91 (м, 2H, аром.), 8,16 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 191,7, 171,5, 165,7, 163,6, 141,9, 136,1 131,4 (2H, аром.), 129,0, 124,7, 116,9 (2H, arom.), 61,1, 60,8, 50,3, 32,1, 14,7, 14,1. LCMS (ESI+): *m/z* 409,0 (98,6 %, $[M+H]^+$).

4.41. *Етиловий естер 3-[4-оксо-5-[(3-піридиламіно)метилен]-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,55 (т, 3H, *J* =6,8 Гц, CH_3), 3,01 (кв, 2H, *J* =6,8 Гц, OCH_2), 3,75 (т, 2H, CH2, *J* =6,9 Гц), 5,50 (кв, 2H, CH2, *J* =6.9 Гц), 7,34 (шс,1H, пірид.), 7,66 (д, 1H, *J*= 7,9 Гц, пірид.), 7,73 (с, 1H, пірид.), 7,80 (д, 1H, *J* = 7,3 Гц, пірид.), 7,83 (шс, 1H, CH=), 10,42 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,7, 172,1, 167,2, 145,8, 144,7, 139,6, 133,1, 129,3, 123,7, 114,5, 60,7, 49,8, 32,2, 14,1.

4.42. *Етиловий естер 3-[4-оксо-5-[(4-піридиламіно)метилен]-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,16 (т, 3H, CH_3, J = 7,0 Гц), 2,60 (кв, 2H, OCH_2, J = 7,0 Гц), 4,00 (т, 2H, CH_2, J = 7,3 Гц), 4,19 (т, 2H, CH_2, J = 7,3 Гц), 6,71 (д, 2H, J = 6,9 Гц, пірид.), 7,57 (с, 1H, CH=), 8,07 (д, 2H, J = 6,9 Гц, пірид.), 10,41 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 192,6, 171,6, 166,5, 149,8 (2H, аром.), 140,1, 132,8, 129,1, 118,1 (2H, аром.), 60,9, 49,5, 32,3, 14,1.

4.43. *Етиловий естер 3-[(4-оксо-5-[[2-(пиридин-4-карбоніл)гідразино]метилен]-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропанової кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,15 (т, 3H, CH_3, J = 7,1 Гц), 2,60 (т, 2H, CH_2, J = 7,1 Гц), 4,02 (кв, 2H, CH_2, J = 7,1 Гц), 4,16 (т, 2H, CH_2, J = 7,1 Гц), 7,85 (м, 3H, CH=, пірид.), 8,84 (шс, 2H, пірид.), 10,27 (шс, 1H, NH), 11,40 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 192,3, 172,2, 170,7, 167,1, 164,8, 150,8 (2H, аром.), 139,6, 131,2, 121,8 (2H, аром.), 89,8, 60,7, 31,5, 14,4.

4.44. *4-[5-(Диметиламінометилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутанова кислота*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,80 (т, 2H, CH_2, J = 7,1 Гц), 2,18 (т, 2H, CH_2, J = 7,3 Гц), 3,15 (шс, 6H, $N(CH_3)_2$), 3,96 (т, 2H, CH_2, J = 6,8 Гц), 7,67 (с, 1H, CH=), 12,06 (шс, 1H, COOH).

4.45. 4-*[5-[(2-Гідроксианіліно)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутанова кислота.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,91 (т, 2H, J = 7,2 Гц), 2,24 (т, 2H, J = 7,4 Гц), 3,58 (т, 2H, J = 7,4 Гц), 6,72 (д, 1H, аром.), 7,04 (д, 1H, аром.), 7,15 (т, 1H, аром.), 7,60 (т, 1H, аром.), 8.10 (с, 1H, CH=), 10,40 (шс, 1H, NH), 12,13 (шс, 1H, COOH).

Спектральні характеристики 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-тіоксо-4-тіазолідинонів **4.46-4.62.**

Використання D,L-аспарагінової кислоти для синтезу вихідних 3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-тіоксо-4-тіазолідинонів зумовлює наявність хірального атома карбону в 2 положенні піроліндіонового циклу і як наслідок суміш енантіомерів цільових 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-тіоксо-4-тіазолідинонів, що підтверджено спектроскопією ЯМР (табл. 4.8). Відповідно, у

спектрі ^{1}H ЯМР спостерігається накладання субспектрів двох ізомерів і хоча, протони фрагменту CH_2CH арилімідів утворюють характерну систему ABX, тільки в деяких спектрах спостерігається лише дублет дублетів одного енантіомеру, а найчастіше дані сигнали, накладаючись, утворюють мультиплети в області ~3.00-3.37 м.ч. Характеристичними є мультиплети аліфатичної групи CH двох енантіомерів при 5.83-5,99 і 6,25-6,29 м.ч. Ароматичні протони синтезованих сполук утворюють, як правило, мультиплети в області 7,14-7,89 м.ч., через накладання сигналів енантіомерів. Для екзоциклічної групи =CH характерним є сигнал у вигляді пари синглетів при 7,80 і 7,96 м.ч., що відповідає транс-розташуванню ариліденового фрагменту та просторовій структурі Z-ізомерів [344]. Приклад ^{1}H ЯМР спектру для сполуки **4.70** наведено на рис. 4.6.

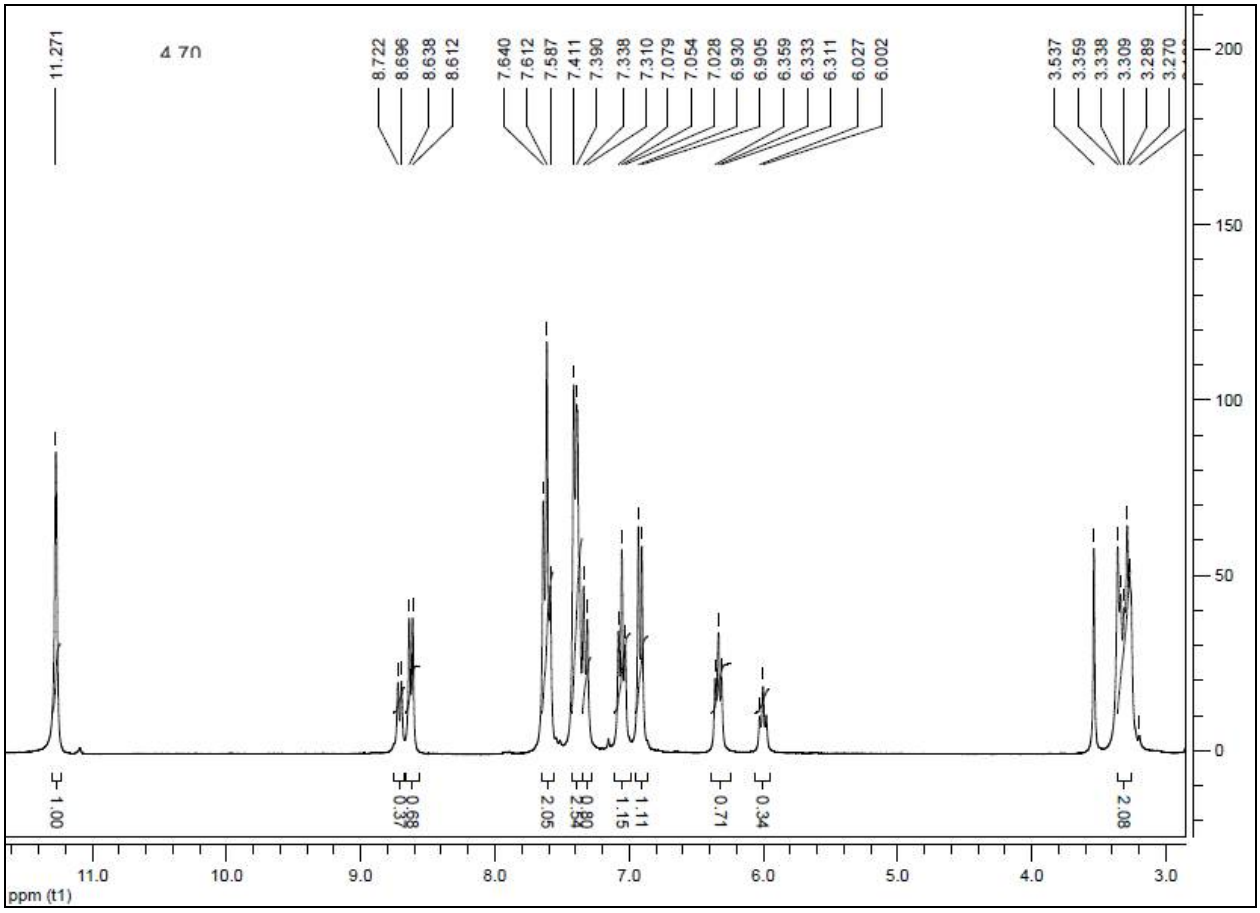


Рис. 4.6. Спектр ^{1}H ЯМР 1-(4-хлорофеніл)-3-[4-оксо-5-(2-оксоіндолін-3-іліден)-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діону **4.70**.

4.46. *3-[5-(4-Хлоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-феніл-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,21-3,29 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,98,

6,27 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,26-7,31 (м, 2H, аром.), 7,47 (т, 1H, *J* = 6,8 Гц, аром.), 7,53-7,56 (м, 2H, аром.), 7,64 (д, 2H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,68-7,72 (м, 2H, аром.), 7,89, 7,96 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,6, 174,3, 172,8, 166,7, 136,5, 133,9, 132,8, 132,1, 130,2, 129,6, 129,2, 127,3, 127,1, 122,1, 53,1, 33,0.

4.47. *4-{3-[5-(4-Хлоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-2,5-діоксо-піролідин-1-іл}-бензойна кислота.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,24-3,28 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,99 (дд, *J* = 6,6 Гц, 9,5 Гц), 6,26-6,29 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,44 (д, 2H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,62 (д, 2H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 7,67 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,11 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,89, 7,96 (с, 1H, CH=), 12,85 (шс, 1H, COOH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,6, 174,0, 172,6, 167,1, 166,8, 136,6, 136,4, 133,4, 132,9, 132,1, 131,4, 130,7, 130,2, 127,3, 122,1, 53,1, 33,1.

4.48. *3-[5-(4-Хлоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-флюоро-феніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,24-3,34 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,91-5,94, 6,25 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,32-7,38 (м, 2H, аром.), 7,40 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,64 (д, 2H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,69 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,89, 7,97 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,1, 173,8, 172,2, 163,4 (д, *J* = 273 Гц), 161,8, 134,2, 133,7, 133,2, 131,0, 129,6, 129,0, 120,1, 117,2 (д, *J* = 24 Гц), 53,2, 33,1.

4.49. *3-[5-(4-Хлоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-хлоро-феніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,18-3,30 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,83, 6,16 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,56 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 7,63 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 7,66 (д, 4H, аром.), 7,79, 7,90 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,5, 173,6, 171,9, 162,0, 134,4, 133,7, 133,6, 133,2, 132,4 131,0, 129,4, 128,7, 123,0, 116,4, 53,4, 32,9.

4.50. *Етиловий естер 4-{3-[5-(4-хлоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-2,5-діоксо-піролідин-1-іл}-бензойної кислоти.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,33 (т, 3H, *J* = 7,0 Гц, $CH_2\underline{CH_3}$), 3,23-3,31 (м, 2H, $CHCH_2$), 4,28-4,30 (м, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 5,75, 6,20 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,52 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 7,63 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,78 (д, 2H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,82 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 7,90, 8,12 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,6, 173,9, 172,6, 166,8, 165,5, 136,5, 134,0, 133,4, 132,9, 132,8, 132,1, 130,5, 130,2, 127,4, 122,1, 61,5, 53,1, 33,0, 14,6.

4.51. *3-[5-(4-Хлоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-п-толіл-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,40 (с, 3H, $\underline{CH_3}$-C_6H_4), 3,05 (дд, J = 18,5 Гц, J = 5,9 Гц), 3,16-3,35 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,95, 6,25 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,16 (д, 1H, J = 8,1 Гц, аром.), 7,20 (д, 1H, J = 8,2 Гц, аром.), 7,25-7,31 (м, 2H, аром.), 7,50-7,54 (м, 2H, аром.), 7,58-7,54 (м, 2H, аром.), 7,80, 7,89 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 192,6, 174,1, 173,1, 166,6, 136,4, 133,9, 132,9, 132,0, 130,4, 129,6, 129,2, 128,1, 127,4, 120,9, 53,1, 33,0, 21,4.

4.52. *3-[5-(4-Флюоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(3-трифлюорометил-феніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,28-3,31 (м, 1H, $CHCH_2$), 3,43 (дд, 1H, J = 5,1 Гц, 18,1 Гц, $CHCH_2$), 5,99 (дд, J = 5,1 Гц, 8,8 Hz), 6,28 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,42 (м, 2H, аром.), 7,64 (шс, 2H, аром.), 7,72-7,76 (м, 2H, аром.), 7,83-7,87 (м, 1H, аром.), 7,92, 7,96 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,7, 174,0, 166,9, 165,9 (д, J = 294 Гц), 163,0, 134,4, 133,9, 133,3, 131,5, 131,2, 130,0 (кв), 130,0, 125,6 (кв), 125,2, 123,7 (д, J = 20 Гц), 121,1, 117,3 (д, J = 22 Гц), 53,1, 33,0.

4.53. *3-[5-(4-Флюоробензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-хлоро-феніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,24-3,37 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,97 (дд, J = 5,5, 9,5 Hz), 6,26 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,31-7,37 (м, 2H, аром.), 7,42 (т, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,60-7,64 (м, 2H, аром.), 7,72-7,76 (м, 2H, аром.), 7,89, 7,98 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,7, 174,1, 172,7, 163,9 (д, J = 252 Гц), 162,9, 134,3, 133,9, 133,8, 133,7, 131,4, 129,8, 129,0, 121,1, 117,3 (д, J = 22 Гц), 53,1, 33,0.

4.54. *3-[5-(4-Метоксибензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(3-трифлюорометилфеніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,26-3,31 (м, 2H, $CHCH_2$), 3,85 (с, 3H, OCH_3), 5,96, 6,26-2,69 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,14 (д, 2H, J = 8,1 Гц, аром.), 7,62-7,67 (шс, 4H, аром.), 7,81-7,87 (м, 2H, аром.), 7,85, 7,93 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 184,1, 174,1, 172,8, 162,5, 135,8, 135,2, 133,7, 133,3, 131,6 (кв, J = 32 Гц), 131,3, 130,4, 127, 2 (кв, J = 286 Гц), 126,1, 125,8, 123,8, 117,9, 115,8, 56,2, 53,1, 33,1.

4.55. *3-[4-Оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-м-толіл-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,37 (с, 3H, $\underline{CH_3}$-C_6H_4), 3,18-3,26

(м, 2H, $CHCH_2$), 5,93 (дд, J = 5,5 Гц, J = 9,5 Гц), 6,23-6,26 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,06-7,09 (м, 2H, аром.), 7,16-7,18 (м, 1H), 7,26-7,29 (м, 1H), 7,38-7,47 (м, 5H), 7,57-7,65 (м, 1H), 7,73 (д, 2H, J = 6,9 Гц). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,5, 174,3, 173,0, 166,1, 146,8, 139,1, 135,9, 135,3, 132,6, 130,9, 129,8, 129,5, 129,4, 128,8, 127,7, 124,4, 124,0, 122,6, 53,1, 33,1, 21,3.

4.56. *3-[4-Оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-феніл-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,08-3,35 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,94, 6,25 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,06-7,14 (м, 1H, CH=CH-CH=), 7,27 (д, 2H, J = 7,8 Гц), 7,30 (д, 2H, J = 7,9 Гц), 7,46-7,48 (м, 4H) 7,49-7,59 (м, 2H), 7,60-7,70 (м, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 179,6, 174,4, 173,0, 166,5, 146,9, 135,9, 135,3, 130,9, 129,7, 129,5, 129,2, 128,9, 127,3, 127,2, 124,1, 122,6, 53,1, 33,1.

4.57. *1-(4-Метоксифеніл)-3-[4-оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,05 (дд, 1H, J = 17,0, J = 5,7 Гц, $CHCH_2$), 3,14-3,35 (м, 1H, $CHCH_2$), 3,83 (с, 3H, OCH_3), 5,88, 6,20 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,00-7,22 (м, 3H), 7,36-7,44 (м, 4H), 7,56 (д, 2H, J = 8,4 Гц), 7,64-7,70 (м, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 194,1, 175,1, 173,7, 166,7, 160,2, 147,4, 136,4, 131,4, 130,0, 129,3, 129,0, 128,8, 125,7, 124,5, 123,1, 115,4, 56,4, 53,5, 33,2.

4.58. *1-(4-Етоксифеніл)-3-[4-оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,33-1,36 (м, 3H, CH_3), 3,15-3,19 (м, 1H, $CHCH_2$), 3,28-3,33 (м, 1H, $CHCH_2$), 4,07 (кв, 2H, J = 6,7 Гц, CH_2CH_3), 5,90 (дд, J = 5,5 Гц, 9,5 Гц), 6,22 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,04-7,09 (м, 2H), 7,12-7,19 (м, 3H), 7,42-7,47 (м, 4H), 7,57-7,66 (м, 1H), 7,72-7,74 (м, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,5, 174,5, 173,1, 166,1, 158,9, 146,8, 135,9, 135,2, 130,8, 129,5, 128,8, 128,5, 128,3, 125,0, 124,0, 115,3, 63,9, 53,0, 33,0, 15,1.

4.59. *3-[4-Оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(2-трифлюоро-метилфеніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,00-3,35 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,94, 6,15 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,00-7,10 (м, 1H, CH=CH-CH=), 7,34-7,46 (м, 3H), 7,54 (м, 3H), 7,60-7,72 (м, 5H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 179,4, 174,2, 173,0, 166,6, 146,8, 135,8, 135,4, 130,6, 129,8 (кв, J = 30 Гц), 129,4, 129,1, 128,9, 127,4 (кв, J = 270 Гц), 127,0, 126,8, 124,0, 122,1, 53,2, 33,1.

4.60. *3-[4-Оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(3-трифлюорометил-феніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,24-3,28 (м, 1H, $CHCH_2$), 3,38-3,43 (м, 1H, $CHCH_2$), 5,92, 6,26 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,14-7,19 (м, 1H), 7,41-7,49 (м, 4H), 7,59-7,65 (м, 3H), 7,71-7,75 (м, 2H), 7,80-7,89 (м, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,5, 174,0, 172,7, 166,2, 147,0, 135,9, 135,4, 133,3, 131,5, 131,2, 130,9, 129,5, 129,1 (кв, J = 31 Гц), 128,8, 124,1 (кв, J = 272 Гц), 124,0, 122,5, 53,0, 52,6, 33,0, 32,8.

4.61. *3-[4-Оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-хлорофеніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,10-3,28 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,90, 6,20-6,24 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,07-7,11 (м, 2H, аром.), 7,16-7,19 (м, 1H), 7,25-7,29 (м, 1H), 7,37-7,51 (м, 5H), 7,56 (д, 1H), 7,73 (д, 2H, J = 6,9 Гц).

4.62. *3-[4-Оксо-5-(3-фенілаліліден)-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-бромофеніл)-піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,14-3,28 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,91, 6,25 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,05-7,14 (м, 1H, CH=CH-CH=), 7,12-7,19 (м, 1H), 7,20-7,25 (м, 1H), 7,30 (д, 2H, J = 7,9 Гц), 7,34 (т, 1H), 7,45-7,48 (м, 3H), 7,65 (д, 1H), 7,73 (м, 2H).

Спектральні характеристики 5-іліден(фенамін)-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів **4.63-4.81**.

4.63. *1-(4-Хлорофеніл)-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,05-3,28 (м, 2H, $CHCH_2$), 4,17д (J = 18,6 Гц), 4,59д (J = 18,6 Гц) (1H, тіазол.), 4,34 (д, 1H, J = 18,2 Гц, тіазол.), 5,72-5,77м, 6,08-6,13м (1H, $CHCH_2$), 7,29 (д, 2H, J = 8,1 Гц, аром.), 7,6 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.).

4.64. *1-(4-Бромофеніл)-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ.

4.65. *1-(4-Гідроксифеніл)-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,01-3,15 (м, 2H, $CHCH_2$), 4,16д (J = 18,6 Гц), 4,58д (J = 18,7 Гц) (1H, тіазол.), 4,38 (д, 1H, J = 18,4 Гц, тіазол.), 5,67-5,70м, 6,03-6,08м (1H, $CHCH_2$), 6,85 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,01 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 9,77 (с, 1H, OH).

4.66. *3-(4-Оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-1-[2-(трифлюорометил)феніл]-піролідин-2,5-діон*.

4.67. *3-[5-[(2-Алілоксифеніл)метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-хлорофеніл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,21-3,29 (м, 2H, $CHCH_2$), 4,73 (шс, 2H, $\underline{CH_2}$-CH=CH_2), 5,3 (д, 1H, CH_2-CH=$\underline{CH_2}$, J = 10,43 Гц), 5,4 (м, 1H, CH_2-CH=$\underline{CH_2}$), 6,03-6,12 (м, 1H, CH_2-$\underline{CH}$=CH_2), 6,25 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,33 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,62 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,12-7,18 (м, 2H, аром.), 7,45-7,51 (м, 2H, аром.), 7,98 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 193,7, 173,5, 172,2, 166,4, 157,3, 133,5, 133,2, 132,9, 130,9, 130,1, 129,3, 128,5, 128,4, 121,5, 121,3, 120,8, 118,3, 113,3, 69,0, 52,5, 32,5.

4.68. *3-[5-[(3-Алілоксифеніл)метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-хлорофеніл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,28-3,48 (м, 2H, $CHCH_2$), 4,58 (шс, 2H, $\underline{CH_2}$-CH=CH_2), 5,34 (м, 1H, CH_2-CH=$\underline{CH_2}$), 5,45 (д, 1H, CH_2-CH=$\underline{CH_2}$, J = 17,0 Гц), 5,81-6,25 (м, 2H, CH_2-CH=CH_2, $CHCH_2$), 7,00-7,06 (м, 3H, аром.), 7,32-7,45 (м, 5H, аром.), 7,72 (д, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 187,7, 167,5, 166,4, 161,9, 154,4, 130,9, 130,2, 129,3, 127,8, 125,8, 125,3, 124,8, 123,1, 122,9, 118,9, 116,5, 113,5, 111,4, 72,3, 47,3, 28,5.

4.69. *1-(4-Хлорофеніл)-3-[5-[[4-(діетиламіно)феніл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,12 (т, 6H, J = 6,8 Гц, $(CH_2\underline{CH_3})_2$), 3,18-3,25 (м, 2H, $CHCH_2$), 3,44 (кв, 4H, $(\underline{CH_2}CH_3)_2$), 5,92-5,97 м, 6,18-6,25 м (1H, $CHCH_2$), 6,82 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,3 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,46 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,62 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,67, 7,79 (с, 1H, CH=).

4.70. *1-(4-Хлорофеніл)-3-[5-4-оксо-5-(2-оксоіндолін-3-іліден)-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,27-3,36 (м, 2H, $CHCH_2$), 6,00 т, 6,33 т (1H, $CHCH_2$), 6,92 (д,1H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,05 (т, 1H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,32 (д, 1H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,40 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,59-7,64 (м, 2H, аром.), 8,62 д (J = 7,9 Гц, аром.), 8,71 д (1H, J= 7,9 Гц, аром.), 11,27 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 198,1, 173,9, 172,6, 168,2, 166,5, 145,5, 134,1, 133,7, 131,3, 129,7, 129,0, 128,8, 128,5, 126,9, 122,9, 120,1, 111,3, 53,0, 32,8.

4.71. *3-[(5Z)-5-(5-Хлоро-2-оксоіндолін-3-іліден)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-хлрофеніл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,32 (м, 2H, $CHCH_2$), 6,01 т, 6,33 т (1H, $CHCH_2$), 6,91 (д,1H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,35 (д,1H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,4 (м, 2H, аром.), 7,62 (м, 2H, аром.), 7,93 (с, 1H, аром.), 11,4 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 197,7, 173,9, 168,0, 166,6, 162,7, 144,1, 133,7, 133,2, 131,3, 131,1, 129,8, 128,8, 127,5, 126,6, 125,5, 121,3, 112,7, 53,0, 36,2.

4.72. *3-[5-(5-Бромо-2-оксо-індолін-3-іліден)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-хлрофеніл)піролідин-2,5-діон.*

4.73. *1-(4-Хлорофеніл)-3-[(5Z)-4-оксо-5-(3-піридилметилен)-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діон.*

4.74. *1-(4-Бромофеніл)-3-[5-[(4-гідроксианіліно)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діон*.

4.75. *3-[5-[(3-Алілоксифеніл)метилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(4-бромофеніл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,23-3,25м, 3,32м (2H, $CHCH_2$), 4,62 (шс, 2H, $\underline{CH_2}$-CH=CH_2); 5,27 (д, 1H, CH_2-CH=$\underline{CH_2}$, J = 10,5 Гц), 5,41 (д, 1H, CH_2-CH=$\underline{CH_2}$, J = 17,3 Гц), 5,94-6,11 (м, 1H, CH_2-$\underline{CH}$=CH_2), 6,26 (т, 1H, $CHCH_2$, J = 7,2 Гц), 7,13 (д, 1H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,20-7,27 (м, 4H, аром.), 7,47 (т, 1H, J = 8,1 Гц, аром.), 7,75 (т, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,83с, 7,91 (с, 1H, CH=).

4.76. *1-(4-Бромофеніл)-3-[(5Z)-4-оксо-5-(2-оксоіндолін-3-іліден)-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діон.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,25-3,36м (2H, $CH\underline{CH_2}$), 6,02, 6,34 (т, 1H, $CHCH_2$, J = 7,2 Гц), 7,17 (д, 1H, J = 7,7 Гц), 7,09 (т, 1H, J = 7,6 Гц), 7,27, 7.34 (д, 2H, J = 8,4 Гц), 7,42 (т, 1H, J = 7,6 Гц), 7,73-7,78 (м, 2H), 8,66, 8,74 (д, J = 7,8 Гц, 1H), 11,31 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 198,1, 173,9, 172,6, 168,3, 166,5, 162,7, 145,5, 134,1, 132,7, 131,8, 129,3, 129,1, 126,9, 122,9, 122,2, 120,1, 111,4, 53,0, 36,2.

4.77. *3-[5-[(2-Алілоксифеніл)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-[2-(трифлюорометил)феніл]піролідин-2,5-діон*.

4.78. *3-[(5Z)-4-Оксо-5-(2-оксоіндолін-3-іліден)-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-[2-(трифлюорометил)феніл]піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,11-3,20м, 3,38-3,42м, 3,55-3,64 м (2H, $CHCH_2$), 6,13-6,16м, 6,4-6,47м (1H, $CHCH_2$), 6,97

(д, 1H, *J* = 7,8 Гц), 7,04-7,15 (м, 1H), 7,46 (м, 1H), 7,55д, 7,63д (1H), 7,74-7,8 (м, 1H), 7,85-7,9 (м, 1H), 7,92-7,97 (м, 2H), 8,72 (д, *J* = 7,9 Гц), 8,78 (д, *J* = 7,9 Гц) (1H), 11,33 (с, 1H, NH).

4.79. *3-[(5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-хлорофеніл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,21-3,25 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,91-5,94 м, 6,19-6,24 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,31 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц), 7,61-7,64 (д, 2H, *J* = 8,7 Гц), 7,78, 7,83 (2*с, 2H, CH=C-Cl-CH), 7,98-8,03 (м, 2H), 8,3 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц).

4.80. *3-[(5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-бромофеніл)піролідин-2,5-діон*.

4.81. *3-[(5-[(Z)-2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-гідроксифеніл)піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,15-3,23 (м, 2H, $CHCH_2$), 5,89-5,93 м, 6,17-6,21 (м, 1H, $CHCH_2$), 6,87 (д, 2H, *J* = 7,4 Гц), 7,04 (д, 2H, *J* = 7,7 Гц), 7,75 с, 7,82 с (2H, CH=CCl-CH), 7,98-8,03 (м, 2H), 8,3 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц), 9,82 (с, 1H, OH).

4.82. (*1-(4-Хлорофеніл)-3-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,28, 1.29 (2*т, 3H, *J* = 6,9 Гц, $CH_2\underline{CH_3}$), 3,00-3,30 (м, 2H, $CH\underline{CH_2}$), 4,38 (кв, 2H, OCH_2), 5,85-6,17 (м, 1H, $\underline{CH}CH_2$), 7,27 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц аром.), 7,56-7,64 (м, 2H, аром.), 8,07, 8,17 (2*с, 1H, CH=).

4.83. *1-(4-Бромофеніл)-3-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]піролідин-2,5-діон*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,28 (т, 3H, *J* = 7,0 Гц), 3,15-3,22 (м, 2H, $CHCH_2$), 4,36 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 5,91-5,96 м, 6,18-6,22 м (1H, $CHCH_2$), 7,44-7,47 (д, 2H, аром.), 7,6 (м, 2H, аром.), 8,07 (с, 1H, CH=).

4.84. *Етил 4-[[[3-[1-(4-хлорофеніл)-2,5-діоксо-піролідин-3-іл]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліден]метил]аміно]бкензоат*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,28 (шс, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$), 3,12-3,25 (м, 2H, $CHCH_2$), 4,14-4,35 (м, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 5,66-6,22 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,3-7,32 (м, 2H), 7,45 (м, 2H), 7,56-7,62 (шс, 4H, аром.), 7,93 (шс, 1H, CH=), 10,75 (шс, 1H, NH).

Спектральні характеристики 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл- та 2-ціано-N-(*о*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетамідів **4.85-4.109.**

4.85. *2-Ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-N-арилацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4,52 (д, 2H, *J* = 17,8 Гц, тіазол.), 7,05 (т, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,15 (м, 2H, аром.), 7,24-7,27 (м, 2H, аром.), 7,47-7,50 (м, 2H, аром.), 7,61-7,65 (м, 3H, аром.).

4.86. *2-Ціано-N-(о-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетакмід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,15 (с, 3H, CH_3), 4,48 (д, 2H, *J* = 17,9 Гц, тіазол.), 7,08 (т, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,17 (м, 2H, аром.), 7,21-7,27 (м, 2H, аром.), 7,48-7,58 (м, 5H, аром.).

4.87. *2-Ціано-2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,43 (с, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$), 4,36 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 6,95-7,05 (м, 1H), 7,2-7,35 (м, 4H), 7,54 (м, 5H), 7,95 (шс, 1H, CH=), 8,71 (шс, 1H, NH-CO), 10,42 (д, 1H, NH). LCMS (ESI+): *m*/*z* 392 (M+H)+ (18%/80%).

4.88. *2-Ціано-2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-(о-толіл)ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,03 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$), 2,11 (с, 3H, CH_3), 4,36 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 7,09-7,13 (м, 1H, аром.), 7,16-7,22 (м, 2H, аром.), 7,29д, 7,37д (1H, аром.), 7,50-7,57 (м, 5H, аром.), 8,06 с, 8,10 д (1H, CH=), 8,71, 8,9 (с*2, 1H, NH-CO), 10,42 (д, 1H, NH). LCMS (ESI+): *m*/*z* 406 $(M+H)^+$.

4.89. *2-Ціано-2-[5-(гідроксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-ацетатна кислота*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 6,99-7,04 (м, 1H), 7,23-7,27 (м, 2H), 7,39 (м, 2H), 7,64-7,68 (м, 1H), 7,52 (м, 4H). LCMS (ESI+): *m*/*z* 289 $(M+H)^+$.

4.90. *2-[5-[(4-Хлороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,07 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,29 (т, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,34 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 7,39 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 7.45 (д, 2H, *J* = 7.4 Гц, аром.), 7,50-7,60 (м, 5H, аром.), 8,10 (д, 1H, *J* = 9.5 Гц, CH=), 9,16 (с, 1H, NH-CO), 10,39 (д, 1H, *J* = 9,5 Гц, NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 75,2 ($\underline{C}$=CN), 94,0 (CN), 114,6 (5-C), 118,5, 121,1, 124,1, 127,6, 128,9,

129,6, 129,8, 130,0, 130,6, 136,1, 136,5, 138,9, 139,9, 163,2 (CO), 163,9 (CO), 166,6 (2-C). LCMS (ESI+): *m/z* 473/475 (M+H)+ (12/86%).

4.91. *2-[5-[(4-Флюороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,00 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,19 (т, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,29 (д, 2H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,35 (дд, 2H, *J* = 3,8, 7,6 Гц, аром.), 7,46 (д, 2H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,50-7,60 (м, 5H, аром.), 8,09 (д, 1H, *J* = 11,9 Гц, =CH), 9,23 (с, 1H, CO-NH), 10,41 (д, 1H, *J* = 11,9 Гц, NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 74,9 (C=CN), 93,1 (CN), 114,7 (5-C), 116,6 (д, *J*CF = 22,8 Гц), 118,7 (д, *J*CF = 7,5 Гц), 121,0, 124,1, 128,9, 129,6, 130,0, 130,6, 136,1, 137,4 (д, *J*CF = 23,9 Гц), 138,9, 158,2, 159,0 (д, *J*CF = 240,4 Гц), 163,2 (CO), 163,9 (CO), 166,7 (2-C). LCMS (ESI): *m/z* 457 (80,7/15,2%, [M+H]+).

4.92. *2-[5-[(4-Бромоаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,05 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,17 (т, 1H, аром.), 7,24-7,27 (м, 2H, аром.), 7,37 (д, 2H, аром.), 7,44-7,48 (м, 4H, аром.), 7,63-7,65 (м, 4H, аром.), 8,06 (шс, 1H, CH=), 8,92 (с, 1H, NH-CO), 10,41 (д, 1H, NH).

4.93. *2-Ціано-2-[4-оксо-3-феніл-5-[(4-сульфамоїланіліно)метилен]-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,03 (т, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,24-7,27 (м, 3H, аром.), 7,44 (д, 4H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,50-7,55 (м, 3H, аром.), 7,73 (д, 2H, аром.), 7,91 шс, 8,15 (д, *J* = 13,0 Гц, 1H, CH=), 9,25 (шс, 1H, NH-CO), 10,57 (д, *J* = 13,0 Гц, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 166,7, 163,8, 163,2, 162,7, 143,7, 138,8, 138,6, 136,0, 135,6, 130,7, 130,0, 129,7, 128,9, 127,9, 124,2, 121,4, 121,1, 116,4, 114,5, 95,6, 75,6, 36,2, 31,2. LCMS (ESI+): *m/z* 518 (M+H)+ (18%/80%).

4.94. *Етил 4-[[[-2-(2-аніліно-1-ціано-2-оксо-етиліден)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-5-іліден]метил]аміно]бензоат*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,31 (т, 3H, *J* = 6,8 Гц, CH_3), 4,29 (кв, 2H, *J* = 6,8 Гц, OCH_2), 7,07 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,30 (т, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,42 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,47 (д, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,50-7,60 (м, 5H, аром.), 7,92 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,17 (д, 1H, *J* = 11,7 Гц, =CH), 9,19 (с, 1H, CONH), 10,57 (д, 1H, *J* = 11,7 Гц, NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-

d_6): 14,6 (CH_3), 60,9 (OCH_2), 75,7 (C=CN), 95,9 (CN), 114,5 (5-C), 116,2, 118,5, 121,1, 124,2, 124,4, 128,9, 129,7, 130,0, 130,7, 131,4, 135,4, 136,0, 138,8, 143,8, 143,9, 144,0, 144,1, 145,0, 163,2 (CO), 163,8 (CO), 165,7 (CO), 166,7 (2-C). LCMS (ESI): *m/z* 511 (91,1/7,9 %, [M+H]+).

4.95. *2-Ціано-2-[4-оксо-3-феніл-5-[[2-(трифлюорометил)-аніліно]-метилен]тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*.

4.96. *2-Ціано-2-[5-[(2-флюороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,02 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,10-7,19 (м, 2H, аром.), 7,21-7,30 (м, 3H, аром.), 7,38, 7,42 (2*д, 2H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,46-7,58 (м, 6H, аром.), 7,96, 8,50 (2*д, 1H, *J* = 11,3 Гц, CH=), 9,17, 9,21 (2*с, 1H, NH-CO), 10,32, 10,47 (2*д, 1H, *J* = 11,3 Гц, NH). LCMS (ESI+): *m/z* 457(M+H)+ (37%/63%).

4.97. *2-Ціано-2-[5-[(2-гідроксианіліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 6,77-6,89 (м, 3H, аром.), 7,02 (т, 1H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,16 (д, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,24 (т, 2H, *J* = 7,6 Гц), 7,37-7,41 (м, 2H, аром.), 7,47-7,53 (м, 6H, аром.), 8,2 д, 8,50 с (1H, CH=), 9,11 (д, 1H, NH-CO), 9,87д, 10,06 шс, 10,28с (1H, NH), 10,62 (д, 1H, OH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 166,5, 164,6, 163,6, 146,1, 139,5, 138,9, 135,6, 130,7, 130,0, 129,6, 128,9, 127,7, 124,5, 124,0, 121,3, 121,0, 120,3, 116,9, 115,8, 115,0, 113,9, 92,8, 74,0. LCMS (ESI+): *m/z* 455 (M+H)+ (30%/67%).

4.98. *2-Ціано-2-[5-[(2,4-дихлороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,07 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7.29 (т, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,43-7,65 (м, 10H, аром.), 8,57 (д, 1H, *J* = 12,2 Гц, =CH), 9,24 (с, 1H, CO-NH), 10,77 (д, 1H, *J* = 12,2 Гц, NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 72,6 (C=CN), 96,4 (CN), 114,5 (5-C), 116,5, 121,2, 121,5, 121,6 (д), 122,0, 124,5, 129,0, 129,8, 135,4, 135,5, 135,6, 138,6, 138,7, 138,8, 157,1, 163,6 (CO), 164,2 (CO), 166,3. LCMS (ESI+): *m/z* 507/509/511 (73.0/27.0 %) (M+H)+.

4.99. *2-Ціано-2-[5-[(5-флюоро-2-метил-аніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазоілдин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,91 (с, 3H, CH_3), 6,83, 6,95 (2*т, 1H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,07 (м, 1H, аром.), 7,16, 7,23-7,32 (д, м,

3H, аром.), 7,37, 7,43 (2*д, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,50-7,60 (м, 6H, аром.), 7,86, 8,55 (шс, д, *J* = 12,3 Гц, 1H, =CH), 9,19 (с, 1H, CO-NH), 9,78, 10,47 (шс, д, *J* = 12,3 Гц, 1H, NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 21,5 (CH_3), 76,0 (C=CN), 93,0 (CN), 94,8 (CN), 114,6 (5-C), 121,1, 121,4, 124,1 (д, J_{CF} = 12,0 Гц), 128,9, 129,7 (д, J_{CF} = 11,2 Гц), 130,6, 130,9, 132,6, 135,4, 136,1, 138,8, 138,9, 140,0, 161,4 (д, J_{CF} = 241,1 Гц), 163,5 (CO), 163,9 (CO), 164,2 (CO), 167,0 (2-C), 167,1 (2-C). LCMS (ESI): *m/z* 471 [M+H]+ (61,5/36,7 %).

4.100. *2-Ціано-2-[5-[[(5-метилізоксазол-3-іл)аміно]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*.

4.101. *2-[5-[(4-Хлороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феінл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-(о-толіл)ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 2,10 (с, 3H, CH_3), δ 7,07 (т, 1H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,18 (т, 1H, аром.), 7,25-7,29 (м, 2H, аром.), 7,36 (д, 2H, *J* = 8,7 Гц, аром.), 7,41-7,47 (м, 4H, аром.), 7,61-7,66 (м, 3H, аром.), 8,09 (шс, 1H, CH=), 9,11 (с, 1H, NH-CO), 10,40 (д, 1H, *J* = 9,5 Гц, NH).

4.102. *2-[5-[(4-Флюороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феінл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-(о-толіл)ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 2,19 (с, 3H, CH_3), 7,08 (т, 1H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,17 (т, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,26 (д, 1H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,41-7,44 (м, 4H, аром.), 7,65-7,68 (м, 5H, аром.), 8,41 (шс, 1H, =CH), 9,18 (с, 1H, CO-NH), 10,41 (д, 1H, NH).

4.103. *2-[5-[(4-Бромоаніліно)метилен]-4-оксо-3-феінл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-(о-толіл)ацетамід.*

4.104. *2-Ціано-N-(о-толіл)-2-[(4-оксо-3-феніл-5-[(4-сульфамоїланіліно)-метилен]тіазолідин-2-іліден]ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 2,21 (с, 3H, CH_3), 6,97-7,10 (м, 2H, аром.), 7,18 (т, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,26 (д, 1H, аром.), 7,45 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,65 (м, 4H, аром.), 7,94 (д, 2H, аром.), 8,16 (д, 1H, CH=), 9,27 (шс, 1H, NH-CO), 10,52 (д, 1H, NH).

4.105. *Етил 4-[[[2-[1-ціано-2-(2-метиланіліно)-2-оксо-етиліден]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-5-іліден]метил]аміно]бензоат.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 1,30 (т, 3H, *J* = 6,9 Гц, CH_3), 2,19 (с, 3H, CH_3), 4,29 (кв, 2H, *J* = 6,9 Гц, OCH_2), 7,08 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,18 (т, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,29-7,35 (м, 3H, аром.), 7,45 (д, 2H,

J = 8,3 Гц, аром.), 7,47 (д, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,65 (м, 2H, аром.), 7,86 (м, 1H, аром.), 8,42 (шс 1H, =CH), 9,23 (с, 1H, CONH), 10,55 (д, 1H, NH).

4.106. *2-Ціано-N-(о-толіл)-2-[4-оксо-3-феніл-5-[[2-(трифлюорометил)-аніліно]метилен]тіазолідин-2-іліден]ацетамід*.

4.107. *2-Ціано-2-[5-[(2-флюороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-(о-толіл)ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 2,21 (с, 3H, CH_3), 6,91 (д, 2H, аром.), 7,02-7,08 (м, 3H, аром.), 7,11-7,19 (м, 2H, аром.), 7,24 (д, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,44 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,65 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц аром.), 8,48 (шс, 1H, CH=), 9,21 (с, 1H, NH-CO), 10,47 (д, 1H, *J* = 11,3 Гц, NH).

4.108. *2-Ціано-2-[5-[(4-гідроксианіліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-(о-толіл)ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,13с (с, 3H, CH_3), 6,82-6,87 (м, 1H), 6,91 (д, 3H, *J* = 7,8 Гц), 6,97-7,0 (м, 1H), 7,09 (т, 2H, *J* = 6,0 Гц), 7,15-7,21 (м, 6H), 7,42 (д, 1H, *J* = 7,9Гц), 7,46 (м, 2H), 7,53-7,57 (м, 10H), 8,21шс, 8,52д (1H, =CH) 8,52-8,64 (м, 1H, =CH), 9,9 (шс, 1H, CO-NH) 10,09 (шс, 1H, CO-NH), 10,32 (шс, 1H, NH), 10,64 (д, 1H, *J* = 13,0 Гц, NH). LCMS (ESI): *m/z* 469 (M+H)+ (31/67%).

4.109. *2-Ціано-2-[5-[(2,4-дихлороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-(о-толіл)-ацетамід*.

4.110. *Метил 4-[2-(2-аніліно-1-ціано-2-оксоетиліден)-4-оксо-3-фенілтіазолідин-5-іліден]метил]бензоат*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,87 (с, 3H, CH_3O), 7,12 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,32 (т, 2H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,55 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 7,56-7,62 (м, 5H, аром.), 7,83 (с, 1H, =CH), 7,84 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,11 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 9,65 (с, 1H, CO-NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 52,9 (CH_3), 80,2 (C=CN), 113,2 (CN), 121,9, 124,5, 124,9, 129,0, 129,8, 130,0, 130,5, 130,9, 131,2, 132,0, 135,4, 138,1, 138,3, 161,9 (CO), 162,9 (CO), 166,0 (CO), 166,3 (2-C). LCMS (ESI): *m/z* 482 (M+H)+ (100 %).

4.111. *2-Ціано-2-[5-[(4-метоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-N-фенілацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,89 (с, 3H, OCH_3), 6,99-7,09 (м, 2H, аром.), 7,24 (м, 3H, аром.), 7,52-7,61 (м, 6H, аром.), 7,68 (д, 2H, аром.), 7,74 (с, 1H, CH=), 9,06 шс (1H, CO-NH). LCMS (ESI): *m/z* 454 (M+H)+ (100 %).

4.112. *2-Ціано-2-[5-[(2-метоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-феінл-тіазолідин-2-іліден]-N-(о-толіл)ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6):

4.113. *2-Ціано-2-[5-[(3,4-диметоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 3,75 (с, 3H, OCH_3), 3,90 (с, 3H, OCH_3), 7,08 (т, 1H, аром.), 7,17 (т, 1H, аром.), 7,27 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 7,38 (с, 1H, аром.), 7,45-7,48 (м, 5H, аром.), 7,57-7,65 (м, 3H, аром.), 7,95 (с, 1H, CH=), 9,02 шс (1H, CO-NH).

4.114. *2-Ціано-2-[4-оксо-3-феніл-5-[(3,4,5-триметоксифеніл)метилен]-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 3,78 (шс, 6H, 2*OCH_3), 3,89 (с, 3H, OCH_3), 7,05-7,09 (м, 3H, аром.), 7,17 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,24 (д, 2H, аром.), 7,43-7,47 (м, 4H, аром.), 7,66 (д, 2H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,87 (с, 1H, CH=), 9,11 шс (1H, CO-NH).

4.115. *2-Ціано-2-[5-[(2-етоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазоілдин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*.

4.116. *2-Ціано-2-[5-[(4-етоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 1,29 (т, 3H, $CH_2\underline{CH_3}$), 4,20 (кв, 2H, $\underline{CH_2}CH_3$), 7,06 (т, 1H, аром.), 7,16 (т, 1H, аром.), 7,23-7,27 (м, 4H, аром.), 7,45-7,48 (т, 4H, аром.), 7,66 (д, 2H, аром.), 7,72 (д, 2H, аром.), 7,86 (шс, 1H, CH=), 9,60 (с, 1H, CO-NH).

4.117. *2-[5-[(5-Бромо-2-етоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-фенілацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,37 (т, 3H, J = 6,9 Гц, CH_3), 4,16 (кв, 2H, J = 6,9 Гц, OCH_2), 7,06-7,16 (м, 2H, аром.), 7,30 (т, 2H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,51-7,67 (м, 9H, аром.), 7,86 (с, 1H, CH=), 9,62 (с, 1H, CO-NH). ^{13}C ЯМР (100 MHz, DMSO-d_6): 14,8 (CH_3), 65,1 (CH_2), 79,9 ($\underline{C}$=CN), 112,5, 113,4 (CN), 115,6, 121,9, 123,2, 124,6, 124,8, 127,0, 129,0, 129,8, 130,0, 131,1, 131,6, 135,1, 135,4, 138,1, 157,0 ($\underline{C}OCH_2CH_3$), 162,1 (CO), 162,9 (CO), 166,3 (2-C). LCMS (ESI): *m/z* 546/548 (M+H)+ (100 %).

4.118. *2-Ціано-2-[5-[(4-флюорофеніл)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): 7,07 (т, 1H, J = 7,8 Гц,

аром.), 7,17-7,28 (м, 4H, аром.), 7,43-7,47 (м, 4H, аром.), 7,65 (д, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,83 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,89 (с, 1H, CH=), 9,10 (шс, 1H, CO-NH).

4.119. *2-Ціано-2-[5-[(4-нітрофеніл)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*.

4.120. *2-Ціано-2-[5-[(3-нітрофеніл)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*

4.121. *2-[5-[(4-Хлорофеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-фенілацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,07 (т, 1H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 7,17 (т, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,27 (м, 2H, аром.), 7,45-7,48 (м, 4H, аром.), 7,54-7,68 (м, 6H, аром.), 7,92 (с, 1H, CH=), 9,12 (шс, 1H, CO-NH).

4.122. *2-[5-[(2-Хлорофеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-фенілацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,05 (т, 1H, аром.), 7,26 (т, 3H, аром.), 7,43-7,50 (м, 4H, аром.), 7,52-7,63 (м, 6H, аром.), 7,82д, 7,98 (шс, 1H, CH=), 9,60 (шс, 1H, CO-NH).

4.129. *2-[5-[(2-Хлорофеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-(о-толіл)ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,25 (с, 3H, CH_3), 7,03 (т, 1H, аром.), 7,17-7,31 (м, 3H, аром.), 7,67-7,79 (м, 3H, аром.), 7,5-7.87 (м, 6H, аром.), 7,93 шс, 8,03 д (1H, CH=), 8,62 (с, 1H, NH-CO).

4.130. *2-Ціано-2-[5-[(4-нітроаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-(о-толіл)ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,25 (с, 3H, CH_3), 7,03 (т, 1H, аром.), 7,10-7,19 (м, 2H, аром.), 7,36, 7,44 (2*д, 4H, аром.), 7,54-7,68 (м, 6H, аром.), 7,85с, 7,96д (1H, CH=), 8,37 (д, 1H, NH-CO). LCMS (ESI): *m/z* 483 (M+H)+.

4.133. *Метил 4-[[2-[1-ціано-2-(2-метиланіліно)-2-оксо-етиліден]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-5-іліден]метил]бензоат*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,21 (с, 3H, CH_3), 3,86 (с, 3H, CH_3O), 7,03 (м, 1H, аром.), 7,15-7,19 (м, 2H, аром.), 7,24-7,28 (м, 1H, аром.), 7,47 (дд, 4H, аром.), 7,63-7,67 (м, 3H, аром.), 8,04 (м, 2H, аром.), 8,36 (д, 1H, =CH), 9,89 (шс, 1H, CO-NH).

4.134. *2-[5-[(3-Бромофеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-(о-толіл)ацетамід.* ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,11 (с, 3H, CH_3), 7,10-

7,21 (м, 4H, аром.), 7,36-7,45 (м, 4H, аром.), 7,52-7,58 (м, 4H, аром.), 7,7 (м, 1H, аром.), 7,8, 7,93 (2*шс, 1H, CH=), 8,90 (с, 1H, NH-CO).

4.135. *2-Ціано-2-[5-[[5-(4-нітрофеніл)-2-фурил]метилен]-4-оксо-3-феніл-тфазоілдин-2-іліден]-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H ЯМР (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,13 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц), 7,2 (м, 1H), 7,33 (т, 2H), 7,4-7,44 (м, 2H), 7,53-7,64 (м, 10H, аром.), 7,93 д (*J* = 8,1 Гц), 8,11д (*J* = 8,1 Гц), 8,03д (*J* = 8,5 Гц), 8,25д (*J* = 8,5 Гц), 9,36 шс, 9,67 с (1H, CH=).

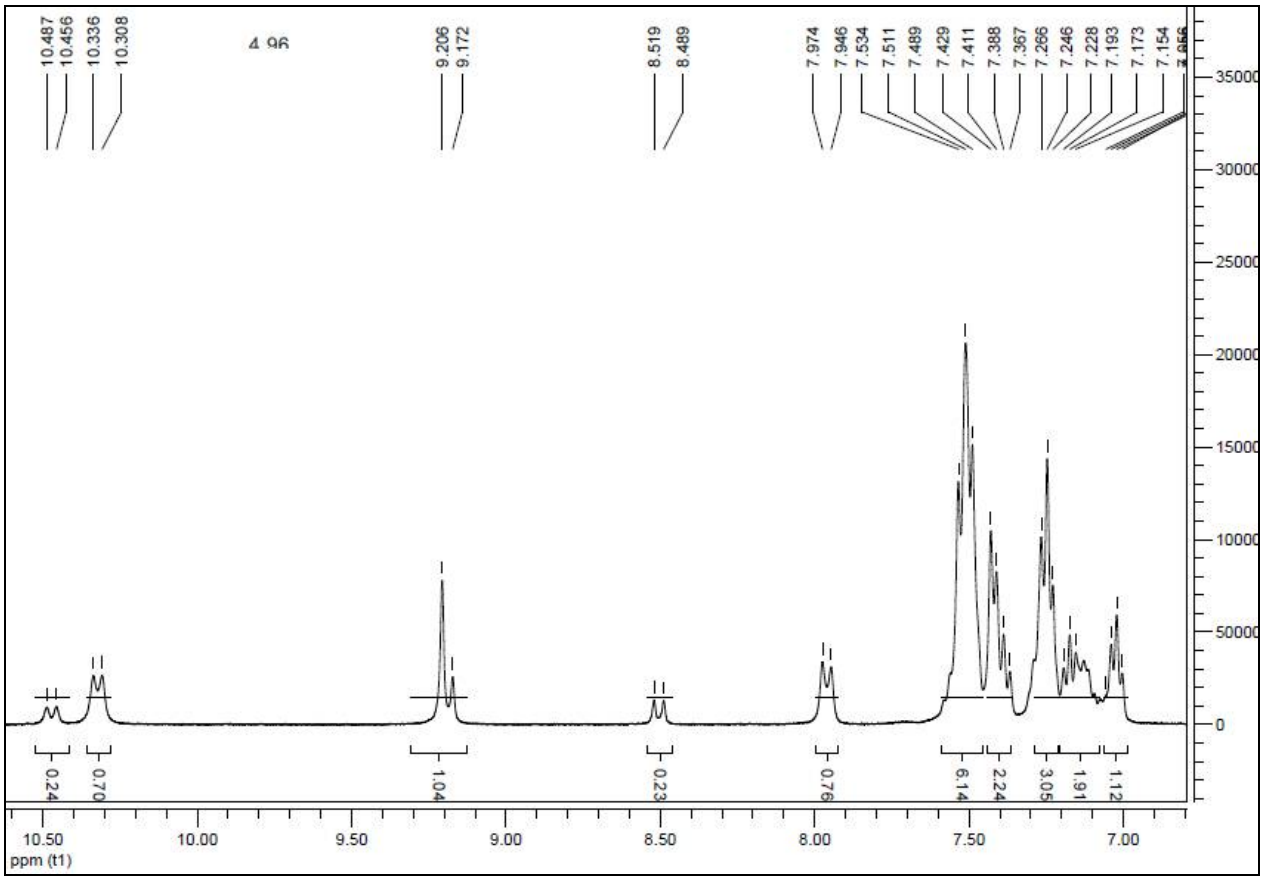


Рис. 4.7. Спектр ^{1}H ЯМР 2-ціано-2-[5-[(2-флюороаніліно)метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-*N*-фенілацетаміду **4.96**

Утворення 5-амінометиліденпохідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл- та 2-ціано-N-(*о*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетамідів **4.87-4.109,** а також ряду похідних 2-(5-бензиліден-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-2-ціано-N-фенілацетамідів **4.110-4.134** та 2-ціано-2-{5-[5-(4-нітрофеніл)-фуран-2-ілметилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден}-N-

фенілацетаміду **4.135** підтверджено спектрами ^{1}H та ^{13}C ЯМР. Сигнали ароматичних протонів вище зазначених сполук, як правило, накладаються і спостерігаються в області від 6,82-7,07 до 7,50-7,95 м.ч. Сигнал амідного протону проявляється у вигляді синглету/ів при ~9,11-9,65 м.ч.; у випадку 5-етоксипохідних **4.87**, **4.88** спостерігається широкий синглет при 8,71 м.ч. Сигнал метиліденової групи більшості 5-ариліденпохідних **4.110-4.134** характерний синглетом у ділянці 7,86–7,90 м.ч., що свідчить про *Z*-конфігурацію ариліденового фрагменту [134,335].

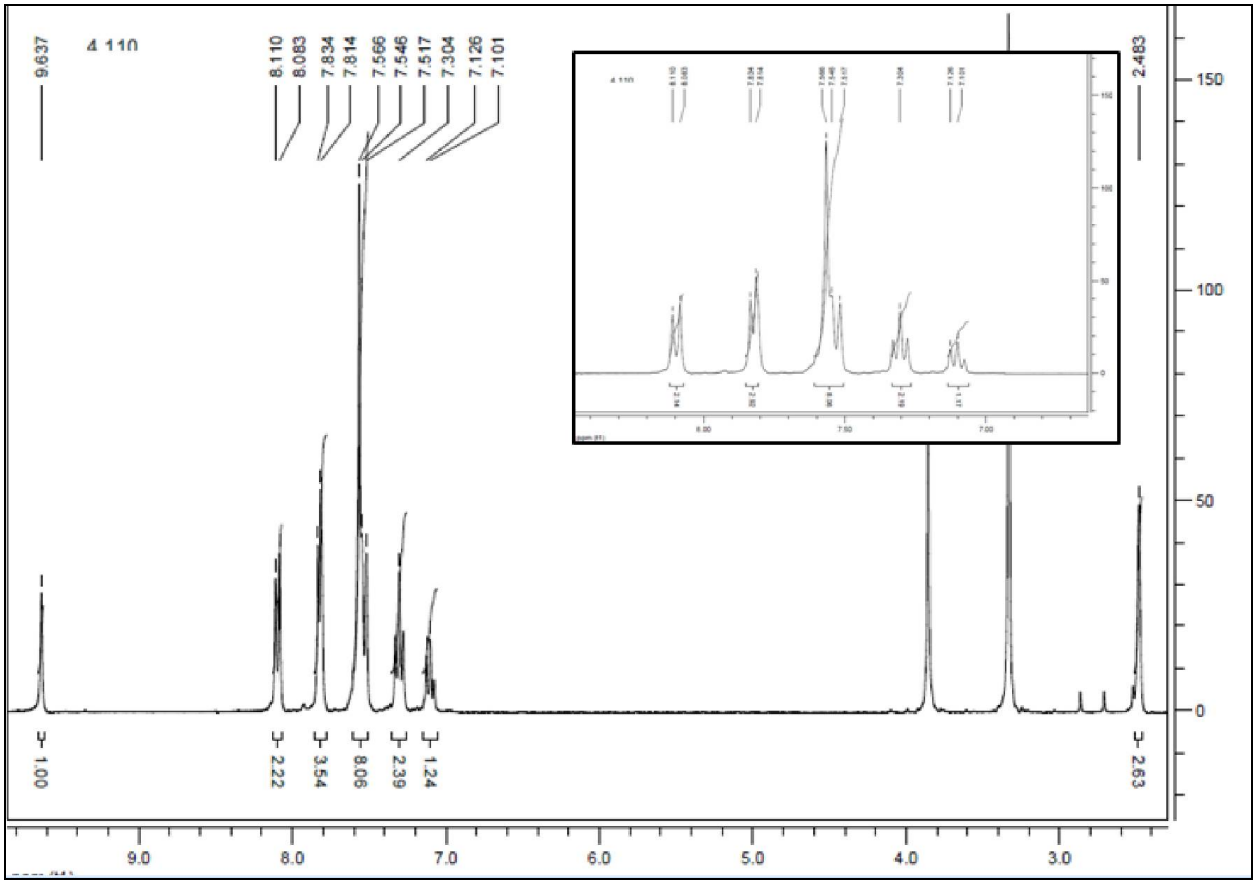


Рис. 4.8. Спектр ^{1}H ЯМР метил-4-[2-(2-аніліно-1-ціано-2-оксо-етиліден)-4-оксо-3-феніл-тфазолідин-5-іліден]метил]бензоату **4.110.**

Для амінометиленпохідних **4.90-4.109** та деяких 2-(5-бензиліден-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-2-ціано-N-фенілацетамідів поряд з *Z*-ізомером є незначна кількість *E*-ізомеру, що підтверджено наявністю дублетів групи =CH при 8,03–8,57 м.ч. та групи NH при 9,75–10,77 із константами спін-спінової взаємодії 9,5–12,3 Гц для основного ізомера та 2 подібних мінорних сигналів, які часто трансформовані у

широкі синглети, для *E*-ізомера. На основі даних хромато-мас-спектрометрії співвідношення ізомерів становить від 11:1 до 5:1. Виняток – сполука **4.99** в якої *E*-ізомера є достатня кількість (1,7:1,0), що можна пояснити наявністю *о*-замісника в арильному залишку. Ряд спектрів наведено на рис. 4.7 та 4.8.

4.5. Дослідження протипаразитарної та протипухлинної активності отриманих N3-заміщених похідних 5-амінометиліден-4-тіазолідинонів

4.5.1. Дослідження протитрипаносомної активності

Зважаючи на літературні дані, що свідчать про перспективність похідних тіазолідинону як нових протипаразитарних агентів, 5-амінометиліден-4-тіазолідинони було обрано об’єктами дослідження на протитрипаносомну активність. Так, наприклад, похідні 5-бензиліденроданін-3-ацетатної кислоти інгібували синтез глікозилфосфатидилінозитольних якорів та активність доліхолфосфат манозосинтази у *T brucei* [74]. Трипаноцидну активність також було встановлено для деяких 5-(3-нафтален-2-іл-5-арил-4,5-дигідропіразол-1-іл)-тіазолідин-2,4-діонів [156] та піразолін-тіазолідинонових кон’югатів [155]. Хоча, останнім часом в процедурах високоефективного біологічного скринінгу, 5-ен-тіазолідинони відносять до так званих PAINS (pan assay interference compounds) – сполук, що створюють перешкоди при інтерпретації результатів біологічних досліджень [345] або можливих акцепторів Міхаеля, такий підхід часто є невиправданим в *in vitro* дослідженнях на культурах клітин чи паразитах [331]. Застосований метод молекулярної гібридизації для спрямованого синтезу ряду 5-амінометилен-4-тіазолідинонів дозволив отримати молекули із різноманітними ариліденовими та гетериліденовими замісниками в С5 положенні [120,338,346].

Протитрипаносомна активність синтезованих сполук **4.21-4.33** досліджувалася в *in vitro* експерименті щодо *Tb brucei* та *Tb gambiense.* Величини напівмаксимальних інгібуючих концентрацій IC_{50} обчислювалися виходячи із трьох незалежних експериментів. Також, було досліджено цитотоксичність

вищенаведених речовин щодо лінії міобластів (L-6) та відповідно було обчислено індекси селективності як відношення величин цитотоксичності CC_{50} до величин IC_{50}.

У загальному, етилові естери 2-(5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти інгібували ріст паразитів у мікро- та субмікромолярних концентраціях (табл. 4.6). Аналіз взаємозв'язку структура-активність дозволив дослідити вплив арильних/гетерильних замісників у С5 положенні тіазолідинонового циклу та доцільність молекулярної модифікації арилідених фрагментів. Введення тіазольного та тріазольного циклів (**4.31-4.33**) не сприяє підвищенню трипаноцидної активності та погіршує токсикологічний профіль. З іншого боку, величини IC_{50} етилових естерів 2-(5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти з різними фенільними фрагментами (**4.22-4.28, 4.30**) знаходилися в межах 0,091-3,916 мкМ для *Tb brucei* та 0,027-1,936 мкМ для *Tb gambiense* і були суттєво меншими, ніж для незаміщеного етилового естру 5-амінометилен-роданін-3-фенілпропіонової кислоти **4.21** (IC_{50} 37,551 мкМ для *Tb brucei* та 11,592 мкМ для *Tb gambiense*). Беручи до уваги досліджену цитотоксичність та активність щодо *Tb gambiense,* найвищими індексами селективності в межах 158-1396,2 характеризувалися похідні **4.26, 4.28** та **4.30,** що є співмірними із такими для Пентамідину (5396,9) та суттєво вищими порівняно із Ніфуртимоксом (14,0). Подібне співвідношення спостерігалося й для активних сполук щодо *Tb brucei* IC - в межах 108-409,4, тоді як для препаратів порівняння 27,2 та 5793,9 для Ніфуртимоксу та Пентамідину відповідно. Сполукою-хітом з дослідженого ряду похідних 5-ен-роданіну виявився етиловий естер 4-{[3-(1-етоксикарбоніл-2-фенілетил)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил]-аміно}-бензойної кислоти **4.30**, що характеризувався найвищою трипаноцидною активністю із IC_{50} = 0,091 мкМ (*Tb brucei*) та 0,027 мкМ (*Tb gambiense*). Крім найнижчих інгібуючих концентрацій, дана сполука володіла низькою токсичністю щодо лінії міобластів із індексами селективності у 15- (*Tb brucei*) та 100 разів (*Tb gambiense*) вищими, ніж для препарату порівняння Ніфуртимоксу [338].

Аналіз взаємозв'язку структура-активність доводить, що комбінація тіазолідинонового циклу із ариламінометиленовим фрагментом у С5 положенні та

фенілпропіоновою групою у N3 положенні суттєво впливає на виявлення протипаразитпрних властивостей таких малих молекул. Ессенціальним виявилася наявність залишку етилового естру фенілпропіонової кислоти, так як N-незаміщені аналоги 5-феніламінометилен-роданіну володіли вищими напівмаксимальними концентраціями [347]. Дослідження протитрипаносомної активності дозволили встановити закономірність впливу різноманітних замісників в ариламінометиленовій групі, а саме активність підвищувалася в ряді: 4-SO_2SEt < 4-SO_2NH_2 < H < 2-MeO-5-Cl < 4-F < 2-NO_2-4-Cl < 4-Cl or 2-Me-5-(морфолін-4-сульфоніл) < 4-COOEt.

Порівняно із сполуками **4.21-4.33**, похідні 5-піридиніл-амінометилен-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-пропіонової кислоти **4.41-4.43** характеризувалися нижчою цитотоксичністю, як до трипаносом, так і до міобластів (табл. 4.6). Найактивнішим був етил 3-[(5Z)-4-оксо-5-[(3-піридиламіно)метилен]-2-тіоксотіазолідин-3-іл]пропеноат **4.41**. Наявність гідразидної групи негативно впливає на протитрипаносомну активність даного класу сполук, що видно на прикладі сполуки **4.43**.

Таблиця 4.6

Антитрипаносомна активність та цитотоксичність етилових естрів 2-(5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти 4.21-4.33 та 5-енамін-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-пропіонової кислоти 4.41-4.43

Сполука	*Tb brucei* IC_{50}, мкМ	*CB*	*Tb gambiense* IC_{50}, мкМ	*CB*	Цитотоксичність щодо міобластів (лінія L-6) CC_{50}, мкМ	SI / *Tbb*	SI / *Tbg*
1	2	3	4	5	6	7	8
4.21	37,551	15,874	11,592	2,102	175,67±2,10	4,7	15,2
4.22	2,693	1,687	0,816	0,046	19,94±5,59	7,4	24,4
4.23	0,513	0,095	0,268	0,082	10,96±0,65	21,4	40,8
4.24	1,038	0,088	0,447	0,088	11,10±1,76	10,7	24,9
4.25	0,970	0,187	0,417	0,075	13,46±3,51	13,9	32,3
4.26	1,931	0,067	1,325	0,217	>209	>108	>158
4.27	3,916	0,803	1,936	0,036	28,80±4,06	7,4	14,9
4.28	0,679	0,288	0,200	0,010	>173	>255	>870
4.29	10,62	1,46	12,63	0,95	15,43±1,27	1,5	1,2
4.30	0,091	0,039	0,027	0,006	3745±20,21	409,4	1396,2
4.31	9,653	0,741	13,395	4,178	62,88±16,06	6,5	4,7
4.32	2,362	0,499	1,851	0,222	8,54±0,39	3,6	4,6
4.33	23,710	2,356	17,101	4,378	93,62±8,03	3,9	5,5
4.41	19,190	6,330	5,034	1,850	182,41±12,36	9,5	36,2
4.42	154,999	29,328	>148	-	21,042±0,42	<1	7,4
4.43	>262	-	>131	-	71,89±19,52	1,0	>3,6
Пентамідин, нМ	1,364	0,464	1,464	0,645	7900,00±282,84	5793,9	5396,9
Ніфуртимокс	2,389	0,608	4,641	0,725	65,09±2,95	27,2	14,0

4.5.2. Дослідження протипухлинної активності

Зважаючи на раніше встановлений значний потенціал похідних 4-тіазолідинону у пошуку протипухлинних агентів [348,349], а також в рамках концепції «мультифункціональних лікарських засобів» [14] для деяких із синтезованих 5-єнамін-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонових кислот досліджувалася протипухлинна активність [338]. Для сполук **4.21, 4.22, 4.24, 4.26, 4.29, 4.32** та **4.33** було проведено первинний скринінг у Національному Інституті раку (NCI, Бетесда,США) у рамках Developmental Therapeutic Porgram (DTP) в одній концентрації (10^{-5} М) на панелі близько 60 ліній ракових клітин (табл. 4.7, додатки Б.1-Б.7). Діапазон росту показує найнижчий та найвищий відсоток росту встановлений для різних клітинних ліній. Відповідно до експерименту, найвищий рівень інгібування росту ракових клітин спостерігався для сполуки **4.32**, тоді як наявність не заміщеної аміно групи у **4.21**, як і анілінових фрагментів у **4.22, 4.24, 4.26, 4.29** чи тріазолу у **4.33** не підвищувала антипроліферативну активність.

Таблиця 4.7

Відсоток росту ракових клітин різних ліній при дії досліджуваних етилових естерів 5-єнамін-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-карбонових кислот у концентрації 10 мкМ

Сп-ка	Дослідження на 60 лініях ракових клітин у концентрації 10 мкМ				
	Середній % росту,	Діапазон росту, %	Найчутлив. лінія	Позит. цитостатич. еф.	Позит. цтотоксин. еф.[a b]
1	2	3	4	5	6
4.21	88,62	48,01 - 115,75	*T-47D* (рак нирок)	1/59	0/59
4.22	87,71	58,28 - 107,96	*NCI-H522* (недрібноклітин. рак легень)	0/58	0/58
4.24	82,64	61,45 - 107,11	*UACC-62* (меланома)	0/58	0/58
4.26	90,74	56,77 - 108,81	*NCI-H522* (недрібноклітин. рак легень)	0/58	0/58
4.29	100,19	77,21- 120,59	*MOLT-4* (лейкемія)	0/58	0/58
4.32	3,78	-89,96- 38,93	*Colo 205* (рак прямої кишки)	40/59	19/59

4.33	92,43	64,20 – 114,25	*NCI-H522* (недрібноклітин. рак легень)	0/59	0/59

[a]Відношення кількості клітинних ліній із відсотком росту від 0 до 50 до загальної кількості ракових клітинних ліній.

[b]Відношення кількості клітинних ліній із відсотком росту <0 до загальної кількості клітинних ліній.

Етиловий естер 2-(5-{[5-(2,4-дихлоробензил)-тіазол-2-іламіно]-метилен}-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **4.32** досліджувався у градієнті концентрацій на 59 клітинних лініях згідно протоколу NCI.

Таблиця 4.8

Чутливість окремих ліній пухлинних клітин до дії 4.32

Захворюння	Клітинна лінія	GI_{50}, мкМ	IC (GI_{50})	TGI, мкМ	IC (TGI)	LC_{50}, мкМ	IC (LC_{50})
1	2	3	4	5	6	7	8
Лейкемія	*CCRF-CEM*	1,87	1,37	>100,0	-	>100,0	
	HL-60(TB)	2,29	1,12	7,06	6,70	>100,0	
	K-562	2,03	1,27	>100,0	-	>100,0	
	MOLT-4	3,29	0,78	>100,0	-	>100,0	
	RPMI-8226	2,12	1,21	>100,0	-	>100,0	
	SR	3,98	0,78	>100,0	-	>100,0	
	MG_MID	2,60	0,99	84,51	0,56	>100	-
Недрібноклітин. рак легень	*A549/ATCC*	3,86	0,67	>100,0	-	>100,0	-
	EKVX	2,07	1,24	>100,0	-	>100,0	-
	HOP-62	2,96	0,87	8,12	5,82	>100,0	-
	HOP-92	1,65	1,56	6,22	7,60	>100,0	-
	NCI-H266	3,29	0,78	>100,0	-	>100,0	-
	NCI-H23	1,90	1,35	12,4	3,81	>100,0	-
	NCI-H322M	3,38	0,76	37,2	1,27	>100,0	-
	NCI-H460	2,09	1,23	12,4	3,81	>100,0	-
	NCI-H522	1,31	1,96	5,70	8,29	>100,0	-
	MG_MID	2,50	1,03	42,45	1,11	>100	-
Рак прямої кишки	*COLO 205*	1,66	1,55	3,34	14,1	6,72	14,09
	HCC-2998	2,54	1,01	42,3	5	>100,0	-
	HCT-116	2,03	1,27	11,5	1,12	>100,0	-
	HCT-15	0,55	4,69	>100,0	4,11	>100,0	-
	HT29	2,24	1,15	7,70	-	>100,0	-
	KM12	1,84	1,40	11,6	6,14	>100,0	-
	SW-620	3,45	0,74	>100,0	4,08	>100,0	-
					-		
	MG_MID	2,04	1,26	39,49	1,20	86,87	1,09
Рак ЦНС	*SF-268*	2,42	1,06	64,8	0,73	>100,0	-
	SF-295	2,31	1,11	6,84	6,91	>100,0	-
	SF-539	2,58	1,00	6,95	6,90	44.3	2,14

1	2	3	4	5	6	7	8
	SNB-19	5,05	0,51	>100,0	-	>100,0	-
	SNB-75	2,81	0,91	21,4	2,21	>100,0	-
	U251	2,51	1,02	15,0	3,15	>100,0	-
	MG_MID	2,95	0,87	35,83	1,32	90,55	1,05
Меланома	*LOX IMVI*	3,44	0,74	16,5	2,86	>100,0	-
	MALME-3M	2,77	0,93	9,25	5,11	>100,0	-
	M14	3,02	0,85	16,7	2,83	>100,0	-
	MDA-MB-435	3,38	0,76	>100,0	-	>100,0	-
	SK-MEL-2	1,31	1,96	5,68	8,32	>100,0	-
	SK-MEL-28	2,61	0,98	26,4	1,79	>100,0	-
	SK-MEL-5	1,52	1,69	4,13	10,9	17,0	5,57
	UACC-257	2,72	0,94	8,57	9	>100,0	-
	UACC-62	1,63	1,58	6,36	5,52 7,50	>100,0	-
	MG_MID	2,49	1,03	21,51	2,20	90,78	1,04
Рак яйників	*IGROV1*	3,73	0,69	71,5	0,66	>100,0	-
	OVCAR-3	2,84	0,90	9,96	4,75	>100,0	-
	OVCAR-4	3,22	0,80	>100,0	-	>100,0	-
	OVCAR-5	4,20	0,61	>100,0	-	>100,0	-
	OVCAR-8	2,07	1,24	>100,0	-	>100,0	-
	NCI/ADR-RES	2,56	1,00	15,1	3,13	>100,0	-
	SK-OV-3	2,38	1,08	11,8	4,01	>100,0	-
	MG_MID	3,00	0,86	55,34	0,85	>100	-
Рак нирок	*786-0*	3,15	0,82	>100,0	-	>100,0	-
	A498	1,58	1,63	7,64	6,19	>100,0	-
	ACHN	2,92	0,88	>100,0	-	>100,0	-
	CAKI-1	1,71	1,50	>100,0	-	>100,0	-
	RXF 393	2,56	1,00	6,70	7,06	>100,0	-
	SN12C	1,59	1,62	>100,0	-	>100,0	-
	UO-31	1,97	1,30	5,31	8,90	20,6	4,60
	MG_MID	2,21	1,16	59,95	0,79	88,66	1,07
Рак простати	*PC-3*	2,08	1,24	>100,0	-	>100,0	-
	DU-145	3,90	0,66	>100,0	-	>100,0	-
	MG_MID	2,99	0,86	>100	-	>100	-
Рак молочної залози	*MCF7*	2,36	1,09	>100,0	-	>100,0	-
	MDA-MB-231/ATCC	3,88	0,66	21,4	2,21	>100,0	-
	HS 578T	3,62	0,71	41,1	1,15	>100,0	-
	BT-549	2,37	1,08	8,23	5,74	>100,0	-
	T-47D	2,16	1,19	8,73	5,41	>100,0	-
	MDA-MB-468	2,48	1,03	7,35	6,43	>100,0	-
	MG_MID	2,81	0,91	31,14	1,52	>100	-
MG_MID		2,57		47,27		94,71	

Сполука-хіт **4.32** інгібувала ріст всіх ліній ракових клітин – значення інгібуючої активності GI_{50} щодо 59 людських ракових клітинних ліній були нижчими за 10 мкМ із середніми значеннями GI_{50}/TGI/LC_{50} – 2,57/47,27/94,71 мкМ.

Ще одним параметром селективності є індекс селективності IC, обчислений як відношення MG-MID (мкМ) до індивідуального MG-MID для кожної субпанелі (мкМ) (табл. 4.9). Значення IC між 3 і 6 свідчать про помірну селективність, вищі, ніж 6 – висока селективність, і відповідно менше, ніж 3 – неселективна дія [350]. Відповідно до цієї класифікації, досліджувана сполука **4.32** неселективно інгібувала ріст клітинних ліній. Хоча, для параметру TGI для деяких ліній ракових клітин **4.32** характеризувалася вищими показниками IC в межах 6,14-14,15, а саме, HL(60)-TB (лейкемія), HOP-92 та NCI-H522 (недрібноклітин. рак легень), COLO 205 та HT29 (рак прямої 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 лінія MDA-MB-468 (рак молочної залози). Для етилового естру 2-{4-оксо-2-тіоксо-5-[(4*H*-[1,2,4]тріазол-3-іламіно)метилен]-тіазолідин-3-іл}-3-фенілпропіонової кислоти **4.32** також було проведено COMPARE аналіз, що дозволяє спрогнозувати біохімічні механізми дії досліджуваних речовин на основі їхніх профілів *in vitro* активності, порівнюючи їх із такими для стандартних засобів. Таким чином, COMPARE аналіз проводився на базі «стандартних агентів» NCI для параметру TGI (табл. 4.9). На жаль, обчислені коефіцієнти кореляції Пірсона (ККП) були нижчими, ніж 0,6, що не дозволяє означити механізми дії для сполуки **4.32** із високою ймовірністю. Найвищі значення ККП (0,539-0,592) отримані для інгібітора транскрипції актиноміцину D, антиметаболіту морфоліно-ADR та інгібітора полімеризації тубуліну ризоксину.

Таблиця 4.9

Результати COMPARE аналізу проведеного для сполуки 4.32 (параметр TGI)

Ранжу-вання	ККП[a]	Мішень	Вектор мішені NSC	Механізм дії мішені [b]
1	2	3	4	5
1	0,592	актиноміцин D	S3053	інгібітор транскрипції
2	0,545	морфоліно-ADR	S354646	антиметаболіт

3	0,539	ризоксин	S332598	інгібітор полімеризації тубуліну
4	0,512	мітраміцин	S24559	інгібітор синтезу РНК
5	0,512	дихлороаліл лоусон	S126771	інгібітор біосинтезу піримідину
6	0,503	талікарпін	S68075	інгібітор р-глікопротеїну

[a]Кореляція із ККП ≥ 0,50 обиралася як значуща.
[b]Доведений механізм дії визначено за допомогою літературних джерел.

Дослідження протиракової активності численних 5-ен-4-тіазолідинонів свідчать про переважання протилейкемічної дії цього класу сполук [248,340,348]. Ряд 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-тіоксо-4-тіазолідинонів **4.46-4.60** тестувався на протиракову активність на 4 лініях лейкемічних клітин, а саме Dami, HL-60, Jurkat та K562, у концентрації 10 мкМ (табл. 4.10) [341]. Лінії K-562 [351] і Dami [352] належать до еритроцитарно-мегакаріоцитарних клітинних ліній – групи ліній клітин, що можуть розвинутися на основі гематопоетичних клітин-попередників обох видів, які вважаються близькими і характеризуються деякими спільними рисами, як наприклад, специфічні фактори транскрипції, включаючи GATA-1 та NF-E2 [353]. Лінія HL-60 представляє клітини промієлоцитарної лейкемії [354], а Т-клітинна лінія Jurkat репрезентує одну з найкраще вивчених сигнальних систем Т-клітинних рецепторів [355].

Таблиця 4.10

Відсоток росту лейкемічних клітин при дії 5-ариліден-3-(1-фенілпіролідин-2,5-діон)-роданінів у концентрації 10 мкМ

Сполука	% росту клітин				LD_{50}, мг/кг
	Dami	HL-60	Jurkat	K562	
1	2	3	4	5	6
4.46	44,75	40,30	71,98	95,12	460±65,0
4.55	48,42	183,52	104,26	115,24	260±31,0
4.47	43,49	58,18	95,41	110,18	570±48,0
4.52	35,10	84,57	80,71	98,17	280±30,0
4.54	69,87	166,96	103,53	100,35	нд
4.53	81,77	100,74	103,28	105,26	нд
4.48	75,86	136,69	94,84	89,52	нд
4.49	138,55	284,34	112,80	107,19	нд

1	2	3	4	5	6
4.50	125,87	68,54	97,068	107,45	нд
4.51	101,73	109,97	105,85	113,54	нд
4.56	109,25	174,88	98,73	105,39	нд
4.57	117,90	167,15	107,44	105,55	нд
4.58	87,93	119,30	99,61	100,59	нд
4.59	109,57	175,74	100,94	106,05	нд
4.60	77,16	198,52	103,22	106,52	нд

Найчутливішою лінією до дії 5-ариліден-3-(1-фенілпіролідин-2,5-діон)-роданінів була лінія DAMI – 5 сполук інгібували її ріст більше, ніж на 50%. Серед тестованих речовин можна виділити одну сполуку-хіт **4.46**, що була активною на обох лініях DAMI та HL-60. Цікавою виявилася протилейкемічна активність етилового естру 5-амінометиліден-роданін-3-фенілпропіонової кислоти **4.21** щодо лінії Dami – ріст 40,45 %, при цьому на ріст інших ліній **4.21** майже не впливав (HL-60 - 70,35%, Jurkat - 94,13% та K562- 94,50% відповідно), що узгоджується із даними вищеописаного дослідження протипухлинної активності в Національному інституті раку (США).

Для 4 сполук-хітів досліджувалася гостра токсичність на мишах (LD_{50}). Різні дози досліджуваних речовин в порядку зростання (100-1000 мг/кг), вводилися інтраперитонеально і показник LD_{50} обчислювався відповідно до методики Лічфільда та Вілкоксона. Досліджувані сполуки були відносно низько-токсичними, середні дози LD_{50} представлені у табл. 4.10; їх введення добре переносилося експериментальними тваринами.

Лейкемічні клітини лінії *Jurkat* були найчутливішими й до дії серії 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів **4.63**, **4.65**, **4.67**, **4.68**, **4.70**, **4.71**, **4.76**, **4.79** та **4.81** в *in vitro* дослідженнях. Крім лейкемічних, наведені сполуки тестувалися на лініях карциноми легень *A549*, раку яйників *Skov3*, раку товстої кишки *HCT116* та *HCT116 p53-/-*, раку молочної залози *MDA231* та *MCF-7*, гліобластоми *U251*, раку шийки матки *HeLa* та лінії нормальних кератиноцитів людини *HaCaT* (табл. 4.11). Найактивнішими сполуками із антипроліферуючою дією були 2-(5-іліден-роданін-3-іл)-сукциніміди із фрагментами 2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)-пропеналю **4.79**, **4.81** та 2-алілоксибензилідену **4.67** у С5 положенні 4-тіазолідинонового циклу . Цікаво, що

зміна положення алілокси-групи на мета положення у **4.68** веде до зниження активності. Розраховані індекси селективності на основі IC_{50} до нормальних клітин *HaCaT*, були найвищими для 3-[-5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-ениліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-гідроксифеніл)піролідин-2,5-діону **4.81** щодо ліній лейкемії *Jurkat* (IC = 56,6) та гліобластоми *U251* (IC = 66,9). Аналіз взаємозв'язку структура-активність у ряді 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів свідчить про важливий вплив замісників у С5 положенні тіазолідинонового циклу. Так, 3-(роданін-3-іл)-1-феніл-піролідин-2,5-діони **4.63**, **4.65** із незаміщеним С5 положенням майже не володіли антипроліферативними властивостями, за винятком помірної активності щодо лінії лейкемії та раку яйників для **4.65**. Аналогічно, наявність залишку ізатину у сполуках **4.70**, **4.71** та **4.76** не сприяла виявленню протипухлинної активності останніх.

Таблиця 4.11

Результати дослідження протипухлинної активності

5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів на клітинних лініях різних видів раку

Клітинна лінія/ІС	IC_{50}, мкМ (72 год)									
	4.63	**4.65**	**4.67**	**4.68**	**4.70**	**4.71**	**4.76**	**4.79**	**4.81**	Доксорубіцин
HaCaT	97,7	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	73,6	0,64
Jurkat	88,4	23,4	53,3	74,0	49,9	6,1	21,5	3,4	1,3	0,43
IC/ Jurkat	1,1	4,27	1,88	1,35	2,00	16,4	4,65	29,4	56,6	
A549	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	63,9	7,25	0,97
IC/ A549	0,98	-	-	-	-	-	-	1,56	10,15	
MCF-7	>100	>100	80,3	98,0	>100	>100	>100	7,95	4,0	0,75
IC/MCF-7	0,98	-	1,25	1,02	-	-	-	12,58	18,4	
KB3-1	нт	нт	>100	нт	нт	нт	нт	70,3	8,0	0,98
IC/ KB3-1	0,98	-	-	-	-	-	-	1,42	9,2	
Skov3	>100	60,8	>100	>100	>100	>100	>100	65,9	>100	9,1
IC/ Skov3	0,98	1,64	-	-	-	-	-	1,52	0,74	
HCT116	>100	>100	57,15	>100	>100	>100	>100	9,18	4,52	0,57
IC/ HCT116	0,98	-	1,75	-	-	-	-	10,89	16,28	
HCT116 p53-/-	>100	>100	9,60	>100	>100	>100	>100	6,00	5,65	2,8
IC/ HCT116 p53-/-	0,98	-	10,42	-	-	-	-	10,67	13,02	
MDA231	>100	>100	98,60	>100	>100	>100	>100	6,45	6,20	5,95
IC/ MDA231	0,98	-	1,01	-	-	-	-	15,5	11,87	
U251	>100	>100	91,20	>100	>100	>100	>100	8,93	1,10	0,89
IC/ U251	0,98	-	1,1	-	-	-	-	11,2	66,9	
HeLa	>100	>100	47,5	>100	>100	58,0	>100	6,65	6,13	0,70
IC/ HeLa	-	-	2,1	-	-	1,72	-	15,04	12,01	

Протипухлинна активність 2-ціано-2-[5-[(4-метоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-*N*-фенілацетаміду **4.111** та 2-[5-[(4-хлорофеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-2-ціано-*N*-фенілацетаміду **4.121** досліджувалася в концентрації 10^{-5} М згідно протоколу Developmental Therapeutic Program (Національний Інститут раку, NCI, США). Сполука **4.111** селективно інгібувала ріст деяких ліній більше, ніж на 50%, а саме лінії *A549/ATCC* недрібноклітинного раку легень, лінії *IGROV1, OVCAR-4, OVCAR-8* раку яйників, *HT29* раку прямої кишки, ліній *TK-10* та *UO-31* раку нирок. Слід зазначити, що найчутливішою до дії **4.111** була лінія *TK-10,* ріст клітин котрої після експозиції досліджуваної речовини становив всього 0.91%. На противагу, заміна метоксильної групи на атом хлору у ариліденовому фрагментів сполуки **4.121** спричинив повну втрату активності (табл. 4.12, додатки Б.8-Б.9) [342].

Таблиця 4.12

Протипухлинна активність сполук 4.111 та 4.121 у концентрації 10 мкМ

Сполука	Середня мітотична активн. 60 ліній, %	Діапазон мітотичної активн. 60 ліній, %	Найбільш чутливі лінії і їх мітотична активність, GP %
4.111	77,85	0,91 – 116,08	Лейкемія: *CCRF-CEM (53,38%), SR* (56,69%) Недрібноклітинний рак легень: *A549/ATCC (32,84%)* Рак прямої кишки: *HT29 (49,43%)* Рак ЦНС: *SF-295 (56,89%)* Меланома: *LOX IMVI (57,61%)* Рак яйників: *IGROV1(33,92%), OVCAR-4 (31,85%), OVCAR-8 (40,78%);* Рак нирок: *CAKI-1(54,55%), TK-10 (0,91%), UO-31 (35,34%)*
4.121	101,20	74,89-121,67	Рак ЦНС: *SNB-75 (74,89%)* Рак нирок: *UO-31 (75,41%)*

На другому етапі скринінгу досліджувалася антипроліферативна активність 2-ціано-2-[5-[(4-метоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-*N*-феніл-ацетаміду **4.111** у градієнті концентрацій. У табл. 4.13 представлено результати дослідження чутливості окремих ракових ліній до дії сполуки **4.111**.

Таблиця 4.13

Чутливість окремих ліній пухлинних клітин до дії 4.111*

Тип раку	Клітинна лінія	GI_{50}, мкМ	IC (GI_{50})	TGI, мкМ	IC (TGI)	LC_{50}, мкМ	IC (LC_{50})
1	2	3	4	5	6	7	8
Лейкемія	*CCRF-CEM*	7,78	1,62	15,5	1,85	30,9	1,33
	HL-60(TB)	16,8	0,75	>50	-	>50	-
	K-562	9,69	1,30	21,8	1,31	49,2	0,84
	MOLT-4	9,42	1,34	19,0	1,51	38,4	1,07
	RPMI-8226	23,7	0,53	>50	-	>100	-
	SR	8,20	1,54	15,3	1,87	28,7	1,44
	MG_MID	12,60		28,6		41,2	
Недрібно-клітинний рак легень	*HOP-62*	15,1	2,21	>50	-	>50	-
	HOP-92	7,70	4,33	18,7	2,49	45,3	1,09
	NCI-H266	14,9	2,24	>50	-	>50	-
	NCI-H23	25,8	1,29	>50	-	>50	-
	NCI-H522	36,8	0,91	>50	-	>50	-
	MG_MID	33,37	-	46,52		49,48	-
Рак прямої кишки	*HCT-116*	23,7	1,95	>50	-	>50	-
	MG_MID	46,24		>50		>50	
Рак ЦНС	*SF-268*	10,9	0,84	>501	-	>50	-
	SF-295	5,29	1,73	6,1	1,84	49,1	0,94
	SF-539	10,7	0,86	37,3	0,79	>50	-
	SNB-19	21,2	0,43	>50	-	>50	-
	SNB-75	1,58	5,80	4,78	6,15	27,4	0,68
	U251	5,36	1,71	18,1	1,62	>50	-
	MG_MID	9,17	-	29,38	-	46,08	-
Меланома	*LOX IMVI*	18,7	2,22	>50	-	>50	-
	M14	38,0	1,09	>50	-	>50	-
	UACC-62	16,2	2,56	>50	-	>50	-
	MG_MID	41,43		>50		>50	
Рак яйників	*IGROV1*	15,1	2,63	42,2	-	>50	-
	SK-OV-3	13,3	2,99	>50	-	>50	-
	MG_MID	39,77	-	>50	-	>50	-
Рак нирок	*786-0*	12,0	1,67	43,4	0,80	>50	-
	A498	12,2	1,65	32,7	1,08	>50	-
	ACHN	6,74	2,98	18,5	1,89	>50	-
	CAKI-1	20,2	0,99	>100	-	>50	-
	RXF 393	1,53	13,12	8,37	4,17	>50	-
	TK-10	7,99	2,51	26,4	1,32	>50	-
	MG_MID	20,08		34,92		>50	-

1	2	3	4	5	6	7	8
Рак простати	*DU-145*	36,7	1,18	>50	-	>50	-
	MG_MID	43,35	0,86	>50	-	>50	-
Рак молочної залози	*MDA-MB-231/ATCC*	6,54	3,68	19,2	1,89	>50	-
	HS 578T	4,41	5,46	32,7	1,11	>50	-
	BT-549	9,46	2,55	29,8	1,22	>50	-
	MG_MID	24,08	-	36,34		>50	-
MG_MID		30,06		41,86		48,18	

*У таблиці наведено дані активності на клітинних лініях, для яких GI_{50} < 50 мкМ.

Так, сполука **4.111** інгібувала ріст 33 ліній ракових клітин серед 59 тестованих. Значення інгібуючої активності GI_{50} щодо ракових клітинних ліній знаходилися на мікромолярному рівні із середніми значеннями GI_{50}/TGI/LC_{50} – 30,06/41,86/48,18 мкМ, що свідчить про перспективність розробки 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-ацетамідів як протипухлинних агентів. Значення параметру GI_{50} були найнижчими для ліній лейкемії, раку нирок, молочної залози та ЦНС. Відповідно до обчислених значень індексів селективності ІС, досліджувана сполука **4.111** селективно інгібувала ріст клітинної лінії *SNB-75* раку ЦНС, при чому на рівні всіх обчислених параметрів. Також, **4.111** суттєво пригнічувала ріст лінії *RXF 393* раку нирок та двох ліній раку молочної залози - *MDA-MB-231/ATCC* та *HS 578T.*

4.5.3. Дослідження протилейшманіозної активності

Слід відзначити, що сполуки з протитрипаносомною активністю можуть виявляти протилейшманіозну та протималярійну дію, зважаючи на подібність деяких есенціальних біо-мішеней в даних паразитів роду кінетопластид. Ще одним аргументом на користь розробки таких біологічно активних сполук є їх потенційна протипухлинна активність, оскільки властивість швидко проліферувати є характерною, як для пухлинних клітини, так і для найпростіших. Відповідно, деякі похідні 5-R-амінометилен-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-фенілпропіонової кислоти із встановленою протитрипаносомною активністю, були тестовані на можливу протилейшманіозну активність.

Первинно сполуки **4.21, 4.31, 4.32** досліджувалися на промастиготній формі *Leishmania major* (штам Friedlin V) у концентрації 50 мкМ. Як і у випадку протитрипаносомної дії наявність гетериліденового чи ариліденового замісників в амінометиліденовій групі посилює протипаразитарну активність. Відповідно етиловий естер 2-(5-{[5-(2,4-дихлоробензил)-тіазол-2-іламіно]-метилен}-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти **4.32** інгібував 99 % росту *L major*, а незаміщений етиловий естер амінометиліден-роданін-3-фенілпропіонової кислоти **4.21** характеризувався найменшою активністю [356]. Для сполук **4.31, 4.32** визначено величини IC_{50} (концентрація, при якій гине 50% паразитів) (табл. 4.14).

Таблиця 4.14

Дослідження протилейшманіозної активності етилових естерів 5-R-амінометилен-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-фенілпропіонової кислоти 4.21, 4.31, 4.32 на *Leishmania major* (штам FV1)

№ п/п	Інгібуваня у конц. 50 мкМ, %	IC_{50}, мкМ			
		L major	BJ	MRC5	TI[a]
1	2	3	4	5	6
4.21	61,1	нт	нт	нт	-
4.31	77,0	28,84 ± 6,12	>50	>50	>1,73
4.32	99,3	15,15 ± 1,76	>50	>50	>3,30
Амфотерицин В	-	0,50 ± 0,06	>50	>50	>100
Мілтефозин	-	8,18 ± 1,57	>50	>50	>6,11

[a]Терапевтичний індекс (TI) – відношення середньої величини IC_{50} для лінії нормальних фібробластів (MRC-5 та BJ) до IC_{50}, обчисленого щодо *Leishmania major* FV1.

4.6. Експериментальна частина

*Загальна методика синтезу 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонових кислот **(4.1-4.6)***

До 1 моль калію гідроксиду (56 г) у 150-200 мл води додають 0,5 моль відповідної амінокислоти (гліцину, таурину, β-аланіну, γ-амінобутиратної кислоти, α-аміно-β-фенілпропіонової кислоти) і перемішують до повного розчинення. У випадку аспарагінової кислоти (0,5 моль) – 1,5 моль калію гідроксиду. До

утвореного розчину додають 0,5 моль (38,05 г) сірковуглецю (CS_2) і перемішують при кімнатній температурі протягом 6 год. До суміші додають 0,5 моль монохлороцтової кислоти, нейтралізованої 0,5 моль калію карбонату (чи натрію гідрокарбонату) у 180 мл води, суміш перемішують протягом 1 год і залишають на 3-4 дні. Після цього додають 0,5 моль концентрованої соляної кислоти (кімн. темп.) та 120 мл 6М соляної кислоти попередньо нагрітої до кипіння, і отриману суміш нагрівають на водяній бані (90 ^oC) протягом 2 год. Після охолодження, утворений осад відфільтровують і перекристалізовують з води або етанолу.

*Загальна методика синтезу етилових, метилових естерів 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонових кислот (**4.11-4.15**)*

0,1 Моль відповідної роданін-3-карбонової кислоти кип'ятять протягом 5 год в середовищі етанолу або метанолу (200-250 мл) з додаванням каталітичних кількостей сульфатної кислоти. Після охолодження реакційної суміші, доводять її pH до 7,0 (за допомогою калію карбонату або натрію гідрокарбонату), відфільтровують утворений осад неорганічної солі. У випадку естерів 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-пропіонової та 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-бутандіової кислот, фільтрат упарюють під вакуумом, отримуючи продукт у вигляді в'язких рідин коричнево-червоного та жовтого кольору відповідно. Метиловий естер 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-бутанової кислоти – темно-коричневий кристалічний порошок, який перекристалізовують із етилацетату або ацетатної кислоти.

*Методика синтезу етилового естру 2-(5-етоксиметиліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-3-феніл-пропіонової кислоти (**4.7**), етилових та метилових естерів 2-(5-етоксиметиліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-карбонових кислот (**4.16-4.20**), 3-[5-етоксиметилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-феніл-піролідин-2,5-діонів (**4.82-4.83**) та 2-ціано-2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазоілдин-2-іліден]-N-(феніл(о-толіл)ацетамідів (**4.87, 4.88**)*

В круглодонну колбу поміщають 0,01 моль 2-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-3-феніл-пропіонової чи 2-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-3-ацетатної кислот, етилового чи метилового естерів 2-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-пропіонової/бутанової/бутандіової кислот, відповідного 3-(1-арил-піролідин-2,5-

діон)-роданіну чи сполук **4.85, 4.86,** додають 0,011 моль тріетилортоформіату та 15-20 мл ацетангідриду. Суміш нагрівають із зворотним холодильником протягом 1,5-2 год, розчин змінює колір на темно-вишневий відразу після закипання. Отриманий розчин виливають на воду, екстрагують етилацетатом, після чого органічний шар відганяють у вакуумі і отриманий осад перекристалізовують з етанолу, ацетатної кислоти чи суміші ДМФА/етанол (**4.87, 4.88**).

*Загальна методика синтезу етилових естерів 2-(5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-(феніл)пропіонових кислот **(4.21, 4.38).***

Суміш еквімолярних кількостей (0,01 моль) кислоти **4.7** чи **4.17** та амонію гідрокарбонату кип'ятять в круглодонній колбі в середовищі етанолу протягом 2 год. Після охолодження реакційної суміші, утворений осад відфільтровують та кристалізують із суміші етанол-вода (1:1).

Таким самим методом синтезують 2-ціано-2-[5-(гідроксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]ацетатної кислоти **4.89,** відфільтрований після охолодження реакційної суміші, осад кристалізують з бутанолу.

*Загальна методика синтезу етилових естерів 5-R-амінометилен-роданін-3-фенілпропіонової кислоти **(4.22-4.33)**, 2-[5-[(4-етоксикарбоніланіліно)-метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]ацетатної кислоти **(4.34),** похідних 3-[5-амінометилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанової- **(4.35-4.37**) та її етилових естерів **(4.39-4.40**), 3-[5-амінометилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутанової кислоти **(4.45**), 3-[5-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-феніл-піролідин-2,5-діонів **4.74, 4.84***

У круглодонну колбу поміщають по 0,01 моль відповідного 5-етоксиметилен-тіазолідин-4-ону, чи сполуки **4.82** та відповідного амінопохідного, додають 10 мл етилового (ізопропілового) спирту. Суміш нагрівають зі зворотнім холодильником протягом 1,5-2 год. Після охолодження реакційної суміші утворений осад відфільтровують та перекристалізовують із суміші ДМФА – етанол ***(4.22-4.33, 4.37)***, ацетатної кислоти (***4.35, 4.36, 4.38, 4.40, 4.74, 4.84***), суміші ацетатна кислота/вода (***4.34***), етанолу (***4.39, 4.45***).

*Загальна методика синтезу етилових естерів 5-піридиніламінометилен-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-пропіонової кислоти (**4.41-4.43**)*

Суміш 0.005 моль відповідного 5-етоксиметиленроданіну та 0.005 моль амінопіридину чи гідразиду 4-піридинкарбонової кислоти в 10 мл етанолу нагрівають протягом 1 години у колбі зі зворотним холодильником. Осад, який утворився після повного охолодження реакційної суміші, відфільтровують, промивають оцтовою кислотою, водою, етанолом та ефіром і перекристалізовують з суміші ДМФА–етанол (1:2).

*Методика синтезу 4-[5-(диметиламінометилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]бутанової кислоти (**4.44**)*

В круглодонну колбу (100 мл) поміщають 0,01 моль роданін-3-бутанової кислоти, 0,01 моль ДМФА-ДМА та 20-25 мл діоксану і кип’ятять із зворотнім холодильником протягом 3 год. До охолодженої реакційної суміші додають 40-50 мл хлороформу, після екстракції, отриману витяжку упарюють під вакуумом; отриману маслянисту рідину висушують на повітрі, твердне протягом 10-14 днів, перекристалізовують із етанолу.

*Загальний метод синтезу 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-роданінів (**4.46-4.62**)*

Метод А. Суміш 5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-сукцинатної кислоти (0,01 моль) та 5 мл тіонілхлориду в середовищі б/в діоксану (15 мл) нагрівають із зворотнім холодильником протягом 1 год., після охолодження осаджують гексаном. Утворений ангідрид відфільтровують та використовують в наступних перетвореннях без додаткової очистки. Цільові сполуки отримують в реакції відповідного ангідриду (0,05 моль) та ароматичного аміну (0,05 моль) в 10 мл ацетатної кислоти при кип’ятінні протягом 3 год. Після охолодження реакційної суміші, утворений осад фільтрують та перекристалізовують із відповідного розчинника.

Метод Б. Суміш 5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-сукцинатної кислоти (0,01 моль) та відповідного ароматичного аміну (0,01 моль) кип’ятять в середовищі ацетатної кислоти протягом 17-20 год. Проходження реакції моніторять за

допомогою ТШХ. Після охолодження реакційної суміші, утворений осад перекристалізовують із ацетатної кислоти чи суміші ДМФА/етанол (1:3).

Цим ж методом синтезувалися 3-[4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-феніл-піролідин-2,5-діони ***4.63-4.66***, при кип'ятінні 4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-сукцинатної кислоти (0,01 моль) із еквімолярними кількостями відповідних ароматичних амінів в середовищі ацетатної кислоти протягом 20-22 год. Отриманий осад після охолодження реакційної суміші відфільтровують і перекристалізовують із суміші ДМФА/етанол (1:5).

Методика синтезу 3-[5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-феніл-піролідин-2,5-діонів ***(4.67-4.73, 4.75-4.81)***

Суміш відповідного 3-[4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-феніл-піролідин-2,5-діону ***4.63-4.66*** (0,01 моль), ацетату натрію (0,01 моль) та еквімолярні кількості відповідного ароматичного альдегуду (для сполук ***4.67-4.69, 4.75, 4.77***), ізатину та його 5-галоген похідних (для сполук ***4.70-4.72, 4.76, 4.78***) або циміналю (сполуки ***4.79-4.81***) в середовищі ацетатної кислоти (50 мл) нагрівають із зворотнім холодильником протягом 4-5 год. Після охолодження реакційну суміш заливають водою, відфільтровують утворений осад, промивають етанолом та діетиловим етером і перекристалізовують із суміші ДМФА/етанол або ацетатної кислоти.

Загальна методика синтезу 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-N-феніл-ацетамід ***4.85*** *та 2-ціано-N-(о-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетамід* ***4.86***

До 0,1 моль ізопропілату натрію в 100 мл ізопропанолу додають 0,1 моль фенілціанацетаміду або *о*-толілціанацетаміду. Одержану суміш перемішують при кімнатній температурі 0,5 год., нагрівають до кипіння. Після охолодження до реакційної суміші додають 0,1 моль монохлорацетатної кислоти і кип'ятять протягом 2 год. Осад, що утворюється після охолодження відфільтровують і перекристалізовують з етанолу.

Загальна методика синтезу 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-N-феніл- та 2-ціано-N-(о-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетамідів ***4.90-4.109***

До 0,01 моль 5-етоксиметиліден похідного **4.87** чи **4.88,** додають 0,01 моль відповідного ароматичного аміну, 3-5 мл ДМФА та 40-50 мл етанолу та нагрівають із зворотнім холодильником протягом 4-5 год. Після охолодження реакційної суміші, утворений осад фільтрують і перекристалізовують із ацетонітрилу або суміші ДМФА/етанол.

Загальна методика синтезу похідних 2-(5-бензиліден-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-2-ціано-N-фенілацетамідів ***4.100-4.124*** *та 2-ціано-2-{5-[5-(4-нітрофеніл)-фуран-2-ілметилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден}-N-фенілацетаміду* ***4.125***

У круглодонну колбу із зворотнім холодильником поміщують 0,005 моль речовини **4.85** чи **4.86**, 0,005 моль безводного ацетату натрію, 0,006 моль відповідного ароматичного альдегіду і 15 мл льодової ацетатної кислоти. Реакційну суміш кип'ятять протягом 3-5 годин і охолоджують. Продукти реакції відфільтровують після повного охолодження реакційної суміші, перекристалізовують з суміші ДМФА-етанол (1:1).

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методики отримання 5-етоксиметиліден-2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-монокарбонових кислот, їх етилових та метилових естерів, які функціоналізовано в реакціях з ароматичними амінами, амінопіридинами та гідразидом 4-піридинкарбонової кислоти та амонію гідрокарбонатом. Опрацьовано метод синтезу 4-[5-(диметиламінометилен)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]бутанової кислоти в реакції роданін-3-бутанової кислоти із ДМФА-ДМА.

2. Розроблено економний та ефективний, альтернативний метод синтезу 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів взаємодією 5-іліден-роданін-3-сукцинатних кислот та ароматичних амінів, оминаючи стадію отримання відповідних ангідридів.

3. Вперше синтезовано ряд похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл- та 2-ціано-N-(*о*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетамідів **4.87-4.109,** та їх 5-ілідена**н**алогів **-** 2-(5-бензиліден(гетериліден)-4-

оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-2-ціано-N-фенілацетамідів в умовах реакції Кньовенагеля **4.100-4.125**.

4. Структури та чистоту синтезованих сполук підтверджено методами елементного аналізу, ^{1}H, ^{13}C ЯМР спектроскопії та мас-спектрометрії.

5. Досліджено протитрипаносомну, антилейшманіозну та протипухлинну активність синтезованих сполук. Серед похідних 5-амінометиліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-монокарбонових кислот виділено ряд перспективних сполук-хітів з протипаразитарними властивостями та низькими токсикометричними показниками щодо людських первинних фібробластів. 5-Єнамін-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-фенілпропіонові кислоти із ариліден/гетериліденовими фрагментами в єнаміновій групі характеризувалися доброю протилейшманіозною активністю. Похідні 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів характеризувалися селективною протипухлинною дією на клітини ліній лейкемії DAMI та HL-60 та низькими показниками гострої токсичності на мишах.

6. Серед ряду 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-роданінів виділено сполуки-хіти із протипухлинними властивостями – 2-(5-іліден-роданін-3-іл)-сукциніміди із фрагментами циміналю **4.79**, **4.81** та 2-алілоксибензилідену **4.67** у С5 положенні.

7. Відповідно до обчислених значень індексів селективності IC, 2-ціано-2-[5-[(4-метоксифеніл)метилен]-4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден]-N-фенілацетамід **4.111** в *in vitro* експерименті на панелі ракових клітин (інгібуюча дія досліджена у градієнті концентрацій) селективно інгібував ріст клітинної лінії SNB-75 раку ЦНС, при чому на рівні всіх обчислених параметрів. Також, сполука **4.111** суттєво пригнічувала ріст лінії *RXF 393* раку нирок та двох ліній раку молочної залози - *MDA-MB-231/ATCC* та *HS 578T.*

Результати дослідження даного розділу наведено в публікаціях: [120, 330, 331, 332, 333, 334, 338, 339, 341, 342, 346, 348].

РОЗДІЛ 5
СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТІАЗОЛІДИНОН/ТІАЗОЛ-ІНДОЛЬНИХ ГІБРИДНИХ МОЛЕКУЛ

5.1. Обгрунтування гібрид-фармакофорного підходу у пошуку потенційних протипаразитарних та протипухлинних агентів. Дизайн структури тіазолідинон(тіазол)-індол(імідазотіадіазол)вмісних гібридів

На основі результатів первинного скринінгу диверсифікованих бібліотек похідних 4-тіазолідинону, а також літературних джерел, було виділено ряд фармакофорів, наявність яких у молекулах спричиняла високу протипаразитарну активність. Основною стратегією пошуку нових протитрипаносомних агентів став первинний скринінг на культурах живих трипаносом, а не експерименти на т.з. валідних біо-мішенях. Це спричинено частими випадками, коли високоефективні та селективні інгібітори деяких есенціальних для виживання паразита мішеней, виявлялися неефективними на культурах трипаносом *in vitro* або в *in vivo* дослідженнях, що може бути пов’язане, зокрема, із проблемами пенетрування активних молекул всередину паразита. Таким чином, прикладною та виправданою є розробка нових структур на основі привілегійованих класів гетероциклів та фармакофорів із активних сполук із встановленою протипаразитарною активністю, як в експериментах інгібування росту клітин, так і в дослідженнях щодо ензимів, в рамках гібрид-фармакофорного підходу та їх подальший первинний скринінг на культурах паразитів *Tb brucei* та *Tb gambiense.* Вивчення протитрипаносомної активності похідних тіазолідинону дозволило виділити даний цикл як фармакофор – відповідальний за виявлення протитрипаносомної активності [56,141,357,358]. Ефективним напрямком оптимізації сполук із протитрипаносомною дією є комбінація тіазольного/тіазолідинонового циклів із гідразонним фрагментом [56,136,145,155]. Таким чином, використання циклів тіазолу та тіазолідинону в рамках гібрид-фармакофорного підходу має ряд переваг при дизайні активних малих молекул з потенційною протитрипаносомною активністю. Цікавими є

поєднання тіазолу із конденсованими [6+5] або [5+5] циклами [154]. Про перспективність системи [6+5] свідчить доведена ефективність похідного бензоксаборолу SCYX-7158, що знаходиться на II/III фазі клінічних досліджень [181,182]. Прикладом фармакофорів із [5+5] циклами є імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазоли, дослідження яких протягом останніх 2 декад, довело їх широкий фармакологічний профіль, включно із протипаразитарними властивостями [132].

Отже, дизайн нових гібридних молекул із прогнозованою протитрипаносомною активністю полягав у розробці сполук, що вміщують цикли 4-тіазолідону/тіазолу та феніл-індольний чи імідазотіадіазольний фрагменти, зв'язані між собою гідразиновим містком (рис. 5.1) [325].

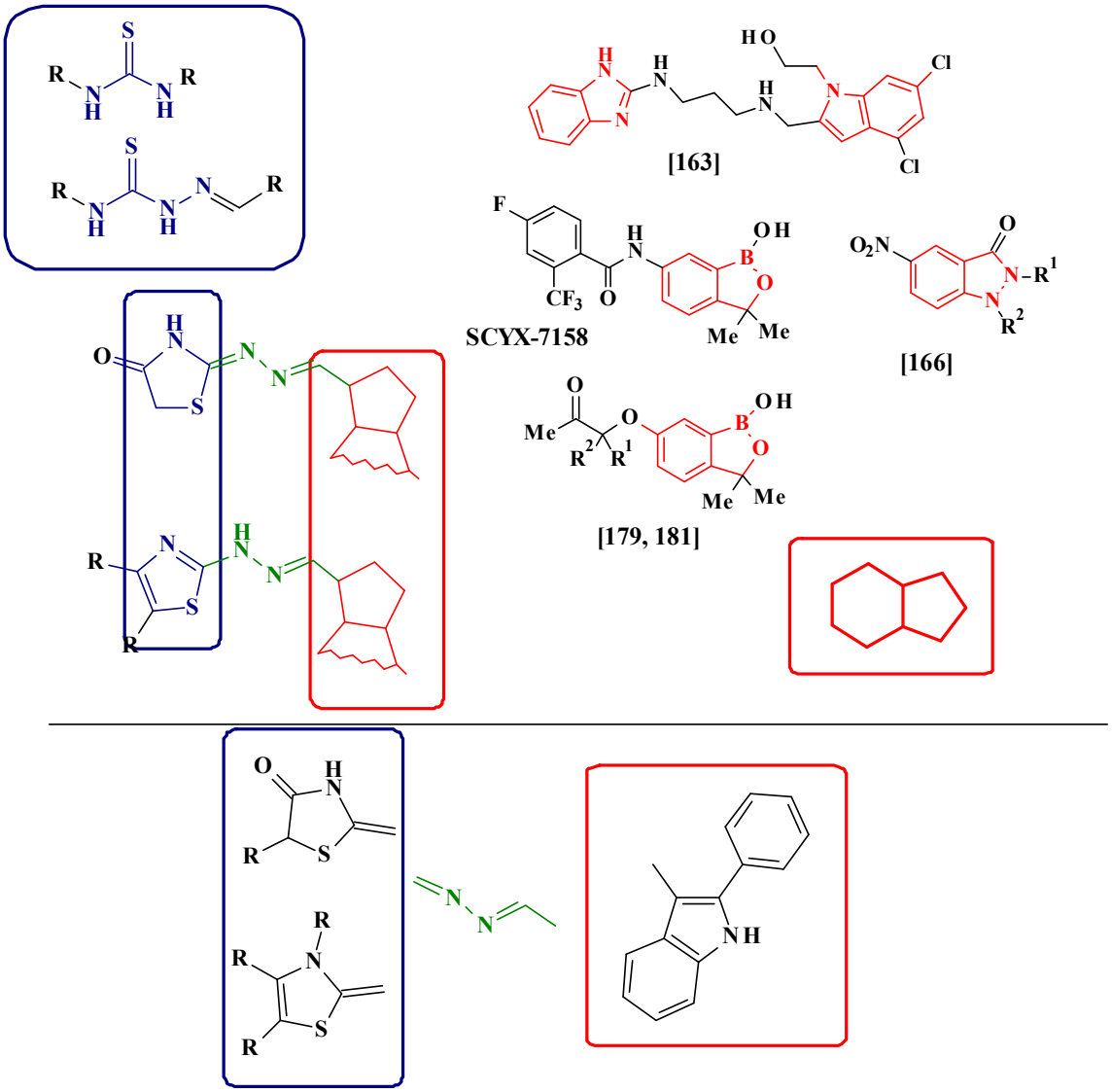


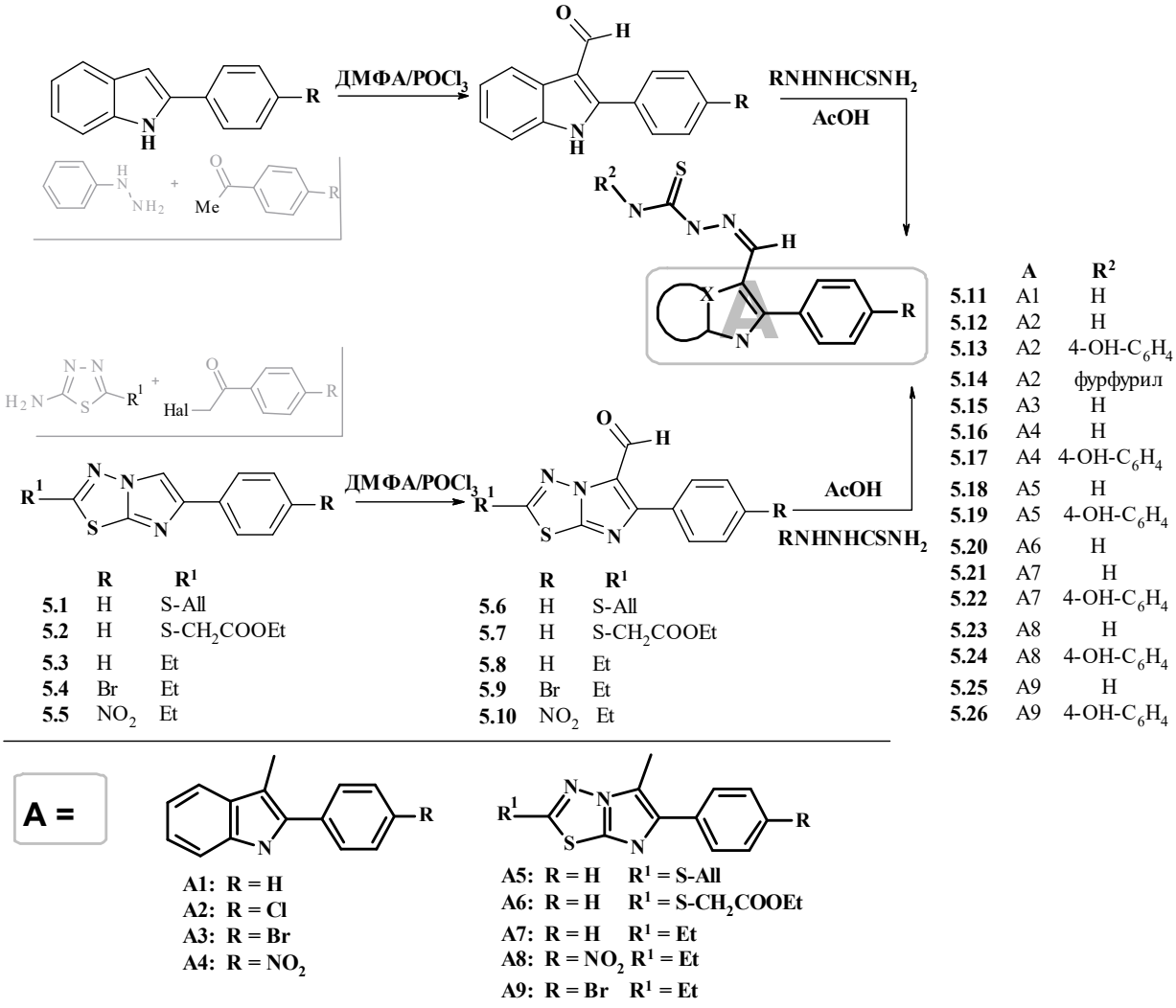
Рис. 5.1. Дизайн структури цільових сполук на основі гібрид-фармакофорного підходу [163,166]

5.2. Синтез ряду 4-тіазолідинон-гідразонів

5.2.1. Синтез 2-арил-1Н-індол-3-карбальдегідтіосемікарбазонів та 6-фенілімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбіальдегід-тіосемікарбазонів

Шляхом ускладнення гідразонного фрагменту в молекули 4-тіазолідинонгідразонів були введені індольний та імідазотіадіазольний цикли. Очевидно, що такого типу [6+5] та [5+5] гетероциклічні структури роблять молекули менш гнучкими і можуть позитивно впливати на їх біодоступність. Велика кількість сполук-лідерів із різних хімічних груп, більшість з яких містить [6+5] цикли та фенільні радикали вважаються потенційними інгібіторами кіназ та селективними інгібіторами росту *Trypanosoma brucei,* що стало одним із аргументів на користь такого шляху оптимізації молекул [163].

Схема 5.1



	R	R¹
5.1	H	S-All
5.2	H	S-CH_2COOEt
5.3	H	Et
5.4	Br	Et
5.5	NO_2	Et

	R	R¹
5.6	H	S-All
5.7	H	S-CH_2COOEt
5.8	H	Et
5.9	Br	Et
5.10	NO_2	Et

	A	R²
5.11	A1	H
5.12	A2	H
5.13	A2	4-OH-C_6H_4
5.14	A2	фурфурил
5.15	A3	H
5.16	A4	H
5.17	A4	4-OH-C_6H_4
5.18	A5	H
5.19	A5	4-OH-C_6H_4
5.20	A6	H
5.21	A7	H
5.22	A7	4-OH-C_6H_4
5.23	A8	H
5.24	A8	4-OH-C_6H_4
5.25	A9	H
5.26	A9	4-OH-C_6H_4

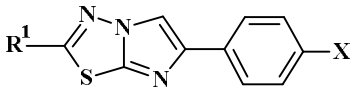
Вихідні тіосемікарбазони отримано за раніше відомими методиками. Тіосемікарбазони із індольним фрагментом – методом синтезу індолів за Фішером, реакцією Вільсмаєра-Хаака та конденсацією із тіосемікарбазидами; сполуки із імідазотіазольним фрагментом отримані в трьохстадійному синтезі із 5-заміщених 2-аміно-1,3,4-тіадіазолів та α-галогенарилкетонів [359] (схема 5.1).

Синтезовані 2-R-6-арилімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазоли **5.1-5.5** та 2-R-6-арилімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегіди **5.6-5.10** – дрібно-кристалічні порошки сірого, білого, свіло-жовтого, жовтого, цегляного, кольорів. Розчинні у діоксані, ДМФА, ДМСО, ацетатній кислоті, бутанолі, слабо розчинні в етанолі та ізопропанолі, нерозчинні у воді, діетиловому етері. Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук наведено у табл. 5.1.

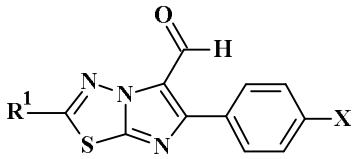
Синтезовані 2-арил-1*H*-індол-3-карбальдегід-тіосемікарбазони **5.11-5.17** та 6-фенілімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід-тіосемікарбазони **5.18-5.26** – сполуки різних відтінків жовтого і сірого кольорів. Розчинні діоксані, ДМФА, ДМСО, ацетатній кислоті, слабо розчинні в етанолі та ізопропанолі, нерозчинні у воді, діетиловому етері. Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук наведено у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

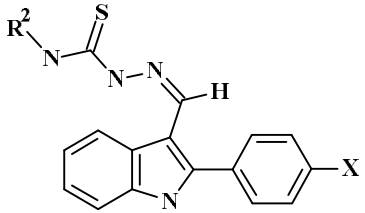
Фізико-хімічні показники синтезованих 2-R-6-арилімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазолів 5.1-5.5, 2-R-6-арилімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегідів 5.6-5.10, 2-арил-1H-індол-3-карбальдегід-тіосемікарбазонів 5.11-5.17 та 6-фенілімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід-тіосемікарбазонів 5.18-5.26



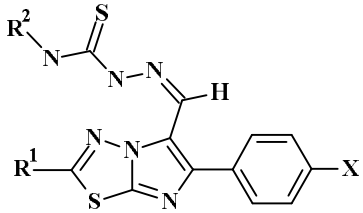
5.1-5.5



5.6-5.10



5.11-5.17



5.18-5.26

Сп-ка	X	R^1	R^2	Ви-хід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
							C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
5.1	H	S-аліл	-	75	110-112	$C_{13}H_{11}N_3S_2$	57,12	4,06	15,37	57,30	4,15	15,20
5.2	H	S-CH_2COOEt	-	65	90-92	$C_{14}H_{13}N_3O_2S_2$	52,65	4,10	13,16	52,70	4,20	13,00
5.3	H	Et	-	70	144-145	$C_{12}H_{11}N_3S$	62,86	4,84	18,32	63,03	4,90	18,20
5.4	Br	Et	-	80	228-229	$C_{12}H_{10}BrN_3S$	46,77	3,27	13,63	46,90	3,35	13,50
5.5	NO_2	Et	-	75	193-194	$C_{12}H_{10}N_4O_2S$	52,55	3,67	20,43	52,70	3,70	20,20
5.6	H	S-аліл	-	86	78-80	$C_{14}H_{11}N_3OS_2$	55,79	3,68	13,94	55,90	3,62	13,70
5.7	H	S-CH_2COOEt	-	88	98-100	$C_{15}H_{13}N_3O_3S_2$	51,86	3,77	12,09	62,00	11,90	11,90
5.8	H	Et	-	89	100-102	$C_{13}H_{11}N_3OS$	60,68	4,31	16,33	60,80	4,25	16,20
5.9	Br	Et	-	82	126-128	$C_{13}H_{10}BrN_3OS$	46,44	3,00	12,50	46,60	3,05	12,40
5.10	NO_2	Et	-	90	173-175	$C_{13}H_{10}N_4O_3S$	51,65	3,33	18,53	51,80	3,40	18,40
5.11	H	-	H	87	225-227	$C_{16}H_{14}N_4S$	65,28	4,79	19,03	65,40	4,85	18,90
5.12	Cl	-	H	90	234-236	$C_{16}H_{13}ClN_4S$	58,44	3,98	17,04	58,60	4,00	16,95
5.13	Cl	-	4-OH-C_6H_5	89	239-241	$C_{22}H_{17}ClN_4OS$	62,78	4,07	13,31	63,00	4,15	13,15

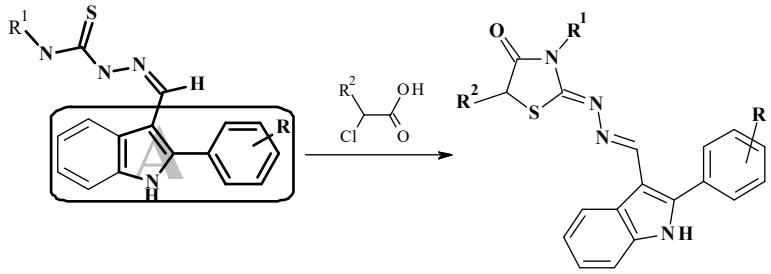
Продовж. табл. 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
5.13	Cl	-	4-OH-C_6H_5	89	239-241	$C_{22}H_{17}ClN_4OS$	62,78	4,07	13,31	63,00	4,15	13,15
5.14	Cl	-	фурфурил	89	223-225	$C_{21}H_{17}ClN_4OS$	61,68	4,19	13,70	61,90	4,20	13,50
5.15	Br	-	H	91	241-243	$C_{16}H_{13}BrN_4S$	51,48	3,51	15,01	51,60	3,60	14,90
5.16	NO_2	-	H	96	253-255	$C_{16}H_{13}N_5O_2S$	56,63	3,86	20,64	56,80	4,00	20,60
5.17	NO_2	-	4-OH-C_6H_5	95	224-226	$C_{22}H_{17}N_5O_3S$	61,24	3,97	16,23	61,40	4,00	16,10
5.18	H	S-аліл	H	79	159-160	$C_{15}H_{14}N_6S_3$	48,11	3,77	22,44	48,00	3,80	22,30
5.19	H	S-аліл	4-OH-C_6H_5	76	232-233	$C_{21}H_{18}N_6OS_3$	54,06	3,89	18,01	54,50	3,95	18,10
5.20	H	S-CH_2COOEt	H	75	212-214	$C_{16}H_{16}N_6O_2S_3$	45,70	3,83	19,98	45,50	3,90	20,10
5.21	H	Et	H	83	239-240	$C_{14}H_{14}N_6S_2$	50,89	4,27	25,43	51,00	4,30	25,35
5.22	H	Et	4-OH-C_6H_5	86	240-241	$C_{20}H_{18}N_6OS_2$	56,85	4,29	19,89	57,00	4,30	19,75
5.23	NO_2	Et	H	82	247-249	$C_{14}H_{13}N_7O_2S_2$	44,79	3,49	26,12	44,90	3,50	26,00
5.24	NO_2	Et	4-OH-C_6H_5	84	247-248	$C_{20}H_{17}N_7O_3S_2$	51,38	3,67	20,97	51,50	3,75	20,85
5.25	Br	Et	H	81	215-217	$C_{14}H_{13}BrN_6S_2$	41,08	3,20	20,53	40,95	3,15	20,60
5.26	Br	Et	4-OH-C_6H_5	80	240-241	$C_{20}H_{17}BrN_6OS_2$	47,91	3,42	16,76	48,10	3,50	16,60

5.2.2. Синтез 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та 2-[(6-феніл-2,3,7,7a-тетрагідроімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів. Синтез 5-(2-R-етил)-2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та 5-(2-R-етил)-2-[(6-феніл-2,3,7,7[a]-тетрагідро-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів

Цільові тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольні гібридні молекули були синтезовані за відомим методом із тіосемікарбазонів та відповідних $[C_2]^{2+}$-реагентів в середовищі ацетатної кислоти або етанолу із додаванням ацетату натрію [142]. Як $[C_2]^{2+}$-реагенти використано α-галогенкарбонові кислоти, N-арилмалеїніміди, малеїновий ангідрид, β-ароїлакрилові кислоти та 2-бромо-бутиролактон (схеми 5.2-5.5). Застосування хлорацетатної кислоти в описаній реакції дозволило отримати 2-[(2-феніл-1H-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-они із незаміщеним С5 положенням 4-тіазолідонового циклу [325]. Натомість, використання 2-хлорпропанової та 2-хлорбутанової кислот забезпечує невеликі аліфатичні фрагменти в цьому ж положенні, що в загальному збільшує ліпофільність молекул. Хоча в кожному окремому випадку остання залежить і від інших замісників, як наприклад, наявності атомів галогену чи нітро групи в фенольному кільці індолфенольного фрагменту.

Схема 5.2



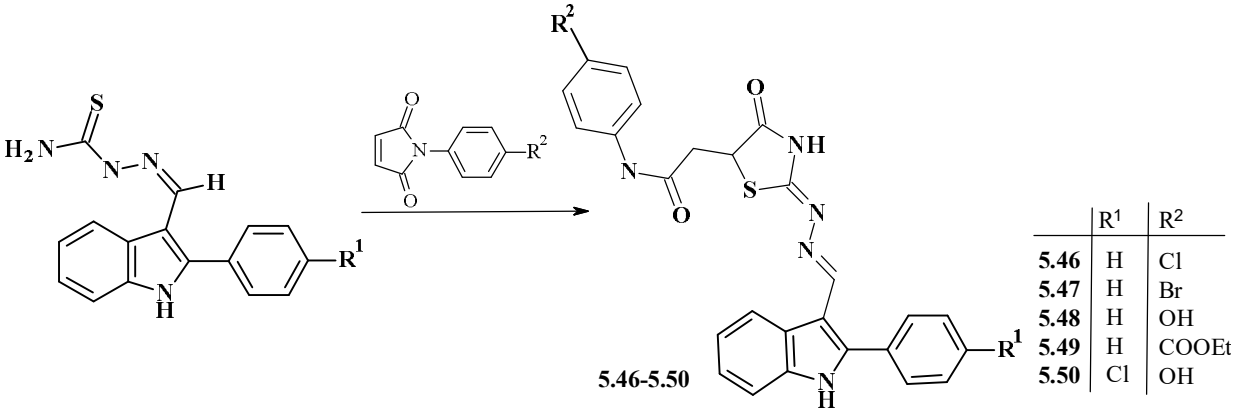
	A	R^1	R^2
5.27	A1	H	H
5.28	A1	H	Me
5.29	A1	H	Et
5.30	A2	H	H
5.31	A2	H	Me
5.32	A2	H	Et
5.33	A3	H	Me
5.34	A3	H	Et
5.35	A4	H	H
5.36	A4	H	Me
5.37	A4	H	Et

	A	R^1	R^2
5.38	A2	фурфурил	H
5.39	A2	фурфурил	Me
5.40	A2	фурфурил	Et
5.41	A2	4-OH-C_6H_4	H
5.42	A2	4-OH-C_6H_4	Me
5.43	A2	4-OH-C_6H_4	Et
5.44	A4	4-OH-C_6H_4	Me
5.45	A4	4-OH-C_6H_4	Et

Синтезовані речовини **5.26-5.45** – дрібно-кристалічні порошки різних відтінків жовтого та оранжевого кольорів. Розчинні у ДМФА, ДМСО, ацетатній кислоті, бутанолі, слабо розчинні в етанолі та ізопропанолі, нерозчинні у воді, діетиловому етері. Фізико-хімічні харакеристики сполук **5.26-5.45** наведено у табл. 5.2.

З метою розширення комбінаторного ряду 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та встановлення взаємозв'язку структура-активність, шляхом утилізації N-арилмалеїнімідів як $[C_2]^{2+}$-реагентів було отримано сполуки із N-ариліденацетамідним замісником в С5 положенні 4-тіазолідонового циклу.

Схема 5.3

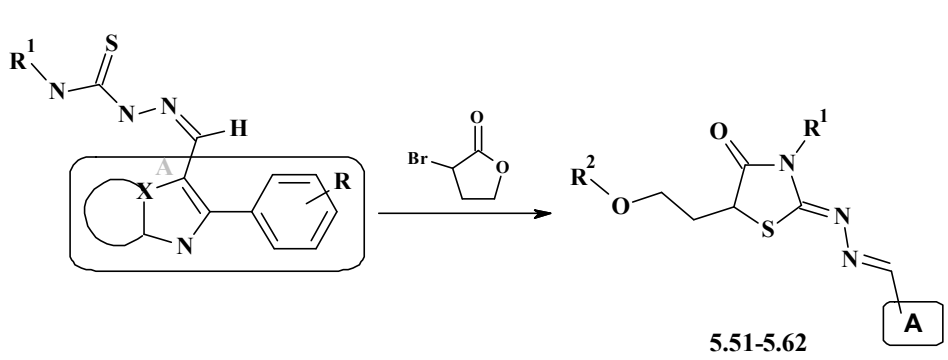


	R¹	R²
5.46	H	Cl
5.47	H	Br
5.48	H	OH
5.49	H	COOEt
5.50	Cl	OH

Синтезовані речовини **5.46-5.50** – дрібнокристалічні порошки жовтого, цегляного кольорів, легко розчинні у ДМФА, ДМСО, розчинні при нагріванні в ацетатній кислоті, бутанолі, важкорозчинні в етанолі, ізопропанолі, нерозчинні у воді, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики сполук наведено у табл. 5.2.

При використанні з 2-бромо-бутиролактону, залежно від середовища реакції, отримано сполуки з вільною або ацетильованою гідроксильною групою ОН (схема 5.4). Сполуки із незаміщеною ОН групою синтезовано в середовищі етанолу із додаванням еквівалентної кількості триетиламіну; відповідні етери отримано в середовищі оцтової кислоти із додаванням ацетату натрію.

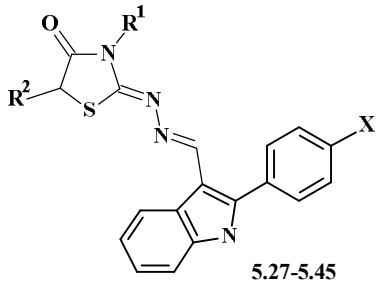
Схема 5.4



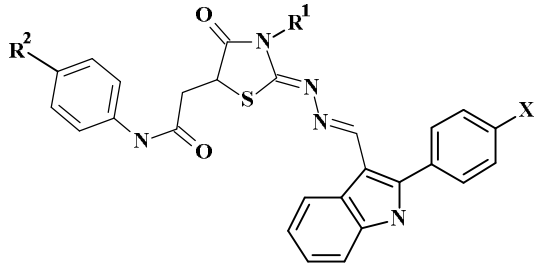
	A	R¹	R²
5.51	A1	H	H
5.52	A1	H	Ac
5.53	A2	H	H
5.54	A2	H	Ac
5.55	A3	H	H
5.56	A3	H	Ac
5.57	A4	H	Ac
5.58	A7	H	Ac
5.59	A2	фурфурил	H
5.60	A2	фурфурил	Ac
5.61	A2	4-OH-C_6H_4	Ac
5.62	A8	4-OH-C_6H_4	Ac

Таблиця 5.2

Фізико-хімічні показники синтезованих 2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та 2-[(6-феніл-2,3,7,7а-тетрагідроімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]тіазолідин-4-онів 5.27-5.50



5.27-5.45



5.46-5.50

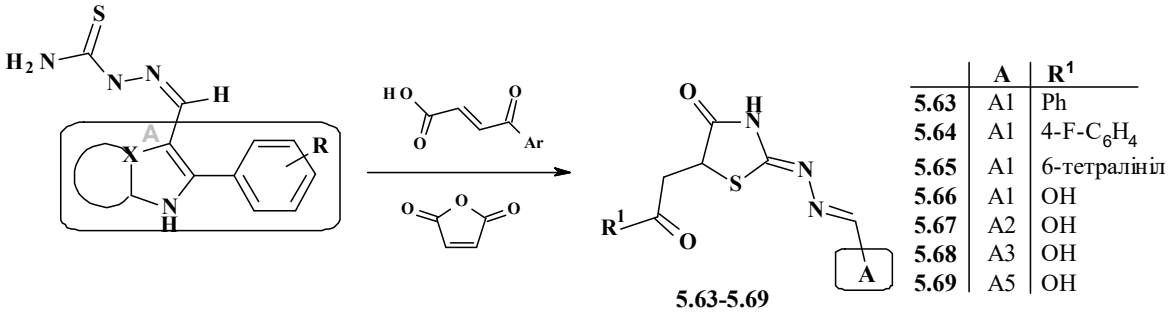
Сп-ка	X	R^1	R^2	Вихід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
							C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
5.27	H	H	H	82	253-255	$C_{18}H_{14}N_4OS$	64,65	4,22	16,75	64,90	4,28	16,60
5.28	H	H	Me	76	266-268	$C_{19}H_{16}N_4OS$	65,50	4,63	16,08	65,70	4,68	15,98
5.29	H	H	Et	74	247-249	$C_{20}H_{18}N_4OS$	66,28	5,01	15,46	66,40	4,95	15,35
5.30	Cl	H	H	76	298-299	$C_{18}H_{13}ClN_4OS$	58,62	3,55	15,19	58,80	3,60	15,10
5.31	Cl	H	Me	78	296-298	$C_{19}H_{15}ClN_4OS$	59,60	3,95	14,63	59,40	3,90	14,75
5.32	Cl	H	Et	77	290-292	$C_{20}H_{17}ClN_4OS$	60,52	4,32	14,12	60,70	4,40	14,00
5.33	Br	H	Me	81	295-296	$C_{19}H_{15}BrN_4OS$	53,40	3,54	13,11	53,60	3,60	13,00
5.34	Br	H	Et	78	312-314	$C_{20}H_{17}BrN_4OS$	54,43	3,88	12,69	54,60	3,92	12,55
5.35	NO_2	H	H	71	>300	$C_{18}H_{13}N_5O_3S$	56,89	3,45	18,46	56,70	3,35	18,60
5.36	NO_2	H	Me	69	305-307	$C_{19}H_{15}N_5O_3S$	58,01	3,84	17,80	58,20	3,90	17,60
5.37	NO_2	H	Et	78	278-280	$C_{20}H_{17}N_5O_3S$	58,96	4,21	17,19	59,10	4,30	17,00
5.38	Cl	фурфурил	H	75	285-287	$C_{23}H_{17}ClN_4O_2S$	61,54	3,82	12,48	61,70	3,90	12,30
5.39	Cl	фурфурил	Me	70	267-269	$C_{24}H_{19}ClN_4O_2S$	62,27	4,14	12,10	62,40	4,25	11,95
5.40	Cl	фурфурил	Et	80	262-624	$C_{25}H_{21}ClN_4O_2S$	62,95	4,44	11,75	62,80	4,35	11,90
5.41	Cl	4-OH-C_6H_5	H	75	339-341	$C_{24}H_{17}ClN_4O_2S$	62,54	3,72	12,15	65,70	3,80	12,00

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
5.41	Cl	4-OH-C_6H_5	H	75	339-341	$C_{24}H_{17}ClN_4O_2S$	62,54	3,72	12,15	65,70	3,80	12,00
5.42	Cl	4-OH-C_6H_5	Me	68	324-326	$C_{25}H_{19}ClN_4O_2S$	63,22	4,03	11,80	63,40	4,15	11,60
5.43	Cl	4-OH-C_6H_5	Et	71	332-334	$C_{26}H_{21}ClN_4O_2S$	63,86	4,33	11,46	64,00	4,40	11,30
5.44	NO_2	4-OH-C_6H_5	Me	73	314-316	$C_{25}H_{19}N_5O_4S$	61,85	3,94	14,42	62,00	4,00	14,30
5.45	NO_2	4-OH-C_6H_5	Et	71	314-315	$C_{26}H_{21}N_5O_4S$	62,51	4,24	14,02	62,70	4,30	13,94
5.46	H	H	Cl	74	286-288	$C_{26}H_{20}ClN_5O_2S$	62,61	4,02	13,95	62,50	4,08	13,95
5.47	H	H	Br	71	>240	$C_{26}H_{20}ClN_5O_2S$	57,15	3,69	12,82	57,30	3,60	13,00
5.48	H	H	OH	68	>240	$C_{26}H_{21}N_5O_3S$	64,58	4,38	14,48	64,40	4,20	14,60
5.49	H	H	COOEt	79	235-237	$C_{29}H_{25}N_5O_4S$	64,55	4,67	12,98	64,40	4,60	13,10
5.50	Cl	H	OH	76	290-291	$C_{26}H_{20}ClN_5O_3S$	60,29	3,89	13,52	60,50	3,95	13,50

В реакціях тіосемікарбазонів із β-ароїлакриловими кислотами та малеїновим ангідридом отримано 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-они із арилаліфатичними замісниками та фрагментом ацетатної кислоти у С5 положенні тіазолідонового циклу відповідно.

Схема 5.5

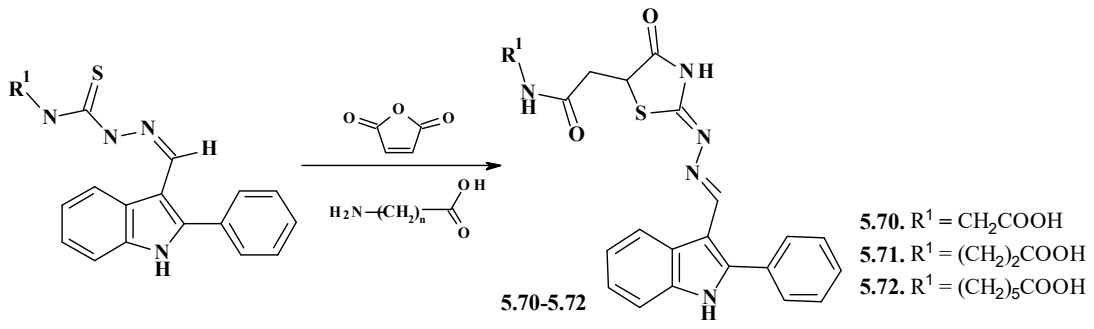


	A	R^1
5.63	A1	Ph
5.64	A1	4-F-C_6H_4
5.65	A1	6-тетралініл
5.66	A1	OH
5.67	A2	OH
5.68	A3	OH
5.69	A5	OH

Синтезовані речовини **5.51-5.69** – дрібнокристалічні порошки світло-жовтого, помаранчевого, вишневого, червоного кольорів. Розчинні у діоксані, ДМФА, ДМСО, важкорозчинні в етанолі, ацетатній кислоті, нерозчинні у воді. Фізико-хімічні характеристики сполук **5.51-5.69** наведено у табл. 5.3.

Сполуки **5.70-5.72** отримано в однокомпонентній *in citu* реакції малеїнового ангідриду, відповідної амінокислоти та тіосемікарбазону.

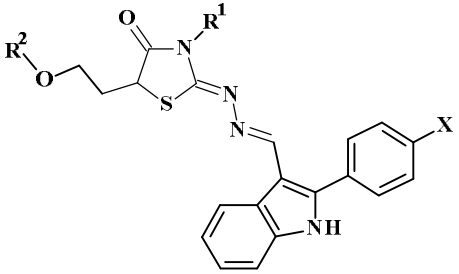
Схема 5.6



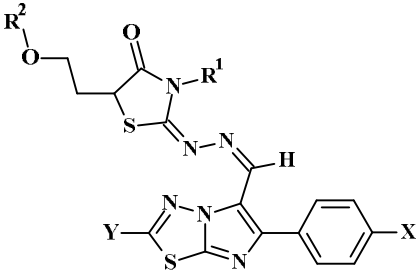
Синтезовані сполуки **5.70-5.72** – дрібнокристалічні бежеві або світло-оранжеві порошки.

Таблиця 5.3

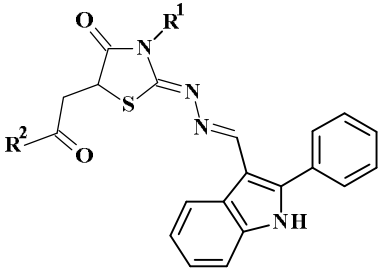
Фізико-хімічні показники синтезованих похідних 5-(2-гідроксиетил)-2-[(2-феніл-3Н-інден-1-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-4-ону, 2-[4-оксо-2-[(2-феніл-3Н-інден-1-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-5-іл]етилацетату та 2-{(6-феніл)-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл]етилацетату, 5-(2-оксо-етил)-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та {4-оксо-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетатних кислот, 2-[4-оксо-2-[(2-феніл-3Н-інден-1-іл)метилен-гідразоно]тіазолідин-5-іл]ацетамідів



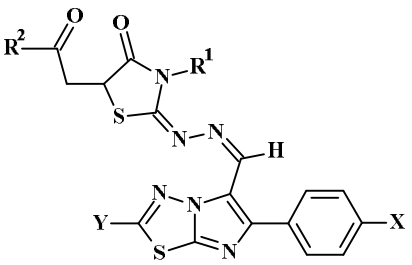
5.51-5.57, 5.59-5.61



5.58, 5.62



5.63-5.68, 5.70-5.72



5.69

Сп-ка	X	Y	R^1	R^2	Ви-хід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
								C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5.51	H	-	H	H	70	223-224	$C_{20}H_{18}N_4O_2S$	63,47	4,79	14,80	63,60	4,80	14,70
5.52	H	-	H	Ac	75	206-208	$C_{22}H_{20}N_4O_3S$	62,84	4,79	13,32	62,90	4,80	13,40
5.53	Cl	-	H	H	80	268-270	$C_{20}H_{17}ClN_4O_2S$	58,18	4,15	13,57	58,00	4,10	13,70
5.54	Cl	-	H	Ac	76	280-281	$C_{22}H_{19}ClN_4O_2S$	58,08	4,21	12,32	58,20	4,25	12,32
5.55	Br	-	H	H	78	>350	$C_{20}H_{17}BrN_4O_2S$	52,52	3,75	12,25	52,70	3,80	12,10
5.56	Br	-	H	Ac	81	270-271	$C_{22}H_{19}BrN_4O_3S$	52,91	3,83	11,22	53,00	3,90	11,10
5.57	NO_2	-	H	Ac	78	274-275	$C_{22}H_{19}N_5O_5S$	56,77	4,11	15,05	56,90	4,15	14,90

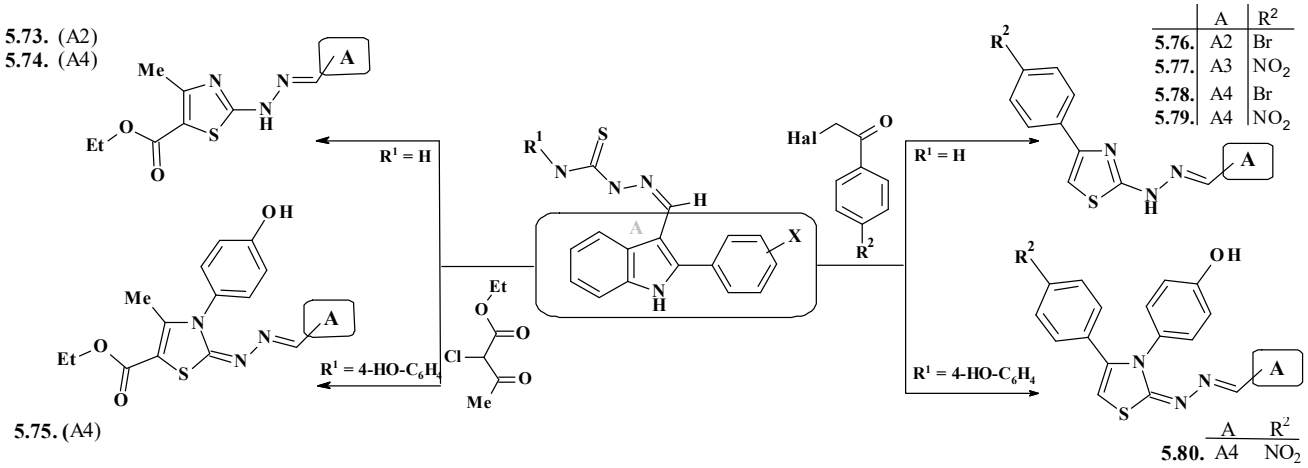
Продовж. табл. 5.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5.58	H	Et	H	Ac	70	186-187	$C_{20}H_{20}N_6O_3S_2$	52,62	4,42	18,41	52,70	4,50	18,45
5.59	Cl	-	фурфурил	H	73	252-254	$C_{25}H_{21}ClN_4O_3S$	60,91	4,29	11,36	61,00	4,30	11,30
5.60	Cl	-	фурфурил	Ac	76	251-253	$C_{27}H_{23}ClN_4O_4S$	60,61	4,33	10,47	60,80	4,40	10,30
5.61	Cl	-	4-OH-C_6H_4	Ac	72	288-290	$C_{28}H_{23}ClN_4O_4S$	61,48	4,24	10,24	61,60	4,30	10,20
5.62	NO_2	Et	4-OH-C_6H_4	Ac	75	325-326	$C_{26}H_{23}N_7O_6S_2$	52,61	3,91	16,52	52,80	3,98	16,40
5.63	H	-	H	Ph	80	239-240	$C_{26}H_{20}N_4O_2S$	69,01	4,45	12,38	69,20	4,60	12,20
5.64	H	-	H	4-F-C_6H_4	69	>255	$C_{26}H_{19}FN_4O_2S$	66,37	4,07	11,91	66,60	4,00	12,00
5.65	H	-	H	6-тетра-лініл	81	>250	$C_{30}H_{26}N_4O_2S$	71,12	5,17	11,06	71,00	5,05	11,30
5.66	H	-	H	OH	79	289-290	$C_{20}H_{16}N_4O_3S$	61,21	4,11	14,28	61,40	4,20	14,40
5.67	Cl	-	H	OH	80	279-280	$C_{20}H_{15}ClN_4O_3S$	56,27	3,54	13,12	56,40	3,60	13,20
5.68	Br	-	H	OH	78	192-193	$C_{20}H_{15}BrN_4O_3S$	50,97	3,21	11,89	51,10	3,18	11,80
5.69	H	S-аліл	H	OH	83	308-309	$C_{19}H_{16}N_6O_3S_3$	48,29	3,41	17,78	48,50	3,50	17,60
5.70	H	-	H	NH-CH_2-COOH	76	192-195	$C_{22}H_{19}N_5O_4S$	58,79	4,26	15,58	58,90	4,30	15,50
5.71	H	-	H	NH-$(CH_2)_2$-COOH	81	>230	$C_{23}H_{21}N_5O_4S$	59,60	4,57	15,11	59,80	4,70	15,00
5.72	H	-	H	NH-$(CH_2)_5$-COOH	80	106-108	$C_{26}H_{27}N_5O_4S$	61,77	5,38	13,85	61,90	5,45	14,00

5.2.3. Синтез 2-{N'-[2-(феніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразино}-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолів

Зважаючи на структурну подібність 4-тіазолідинонового та тіазольного циклів, в межах підходу субструктурно-орієнтованого диверсифікованого синтезу, отримано ряд тіазолгідразонів [325]. 2-Тіазологідразони синтезовано при взаємодії відповідних тіосемікарбазонів із α-галогенкетонами із додаванням ацетату натрію в середовищі ацетатної кислоти [138,164] (схема 5.7).

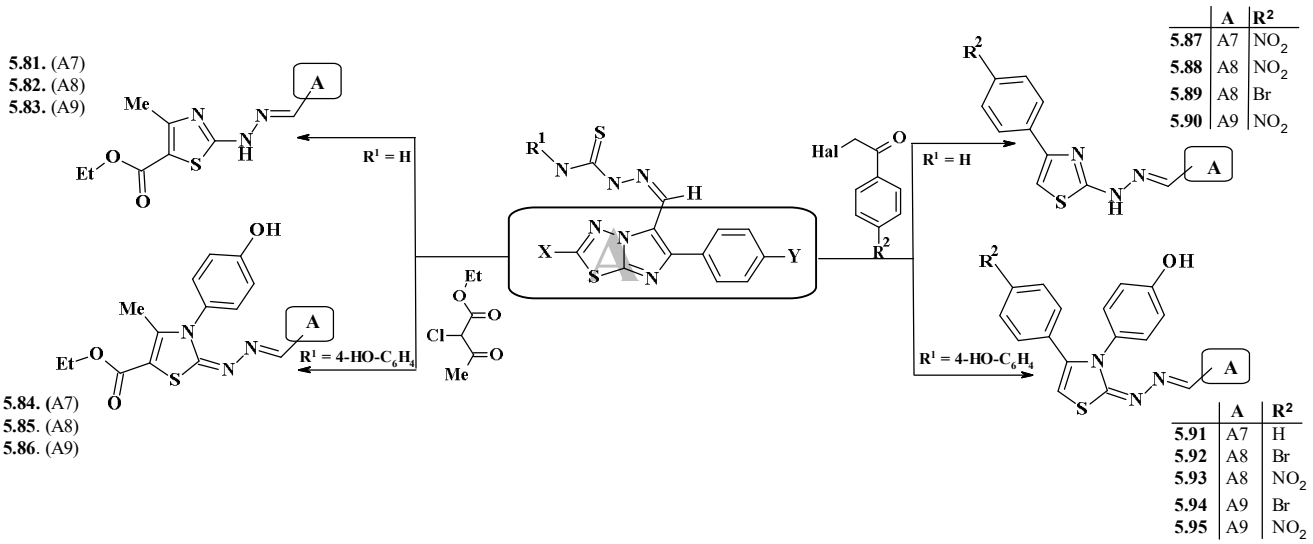
Схема 5.7



Синтезовані етилові естери 2-{N'-[2-(4-феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразино}-4-метил-тіазол-5-карбонових кислот **5.73-5.75** та (N-[4-(4-феніл)-тіазол-2-іл]-N'-[2-(4-феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразини **5.76-5.80** – дрібнокристалічні порошки жовтого, цегляного, вишневого кольорів, розчинні у ДМФА, ДМСО, діоксані, важкорозчинні в ацетатній кислоті, бутанолі, нерозчинні в етанолі, ізопропанолі, воді, діетиловому етері.

Зважаючи на виявлену протитрипаносомну активність ряду тіазол-імідазотіадіазолів, з метою дослідження залежності структура-активність в ряді імідазотіадіазольних похідних, синтезовано низку тіазолгідразонів у реакціях тіосемікарбазонів із α-галогенкетонами при вище описаних умовах.

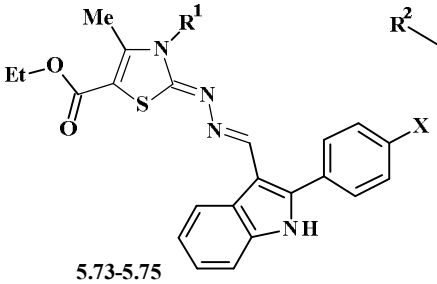
Схема 5.8



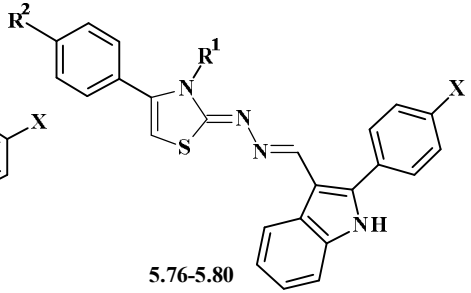
Синтезовані етилові естери 2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонових кислот **5.81-5.86** та N-(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-N'-[4-(4-феніл)-3*H*-тіазол-2-іліден]-гідразини **5.87-5.95** – кристалічні порошки жовтого, світло-коричневого, цегляного, помаранчевого кольорів, розчинні у ДМФА, ДМСО, діоксані, важкорозчинні в ацетатній кислоті, бутанолі, нерозчинні в етанолі, ізопропанолі, воді, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики речовин **5.73-5.95** наведено у табл. 5.4.

Таблиця 5.4

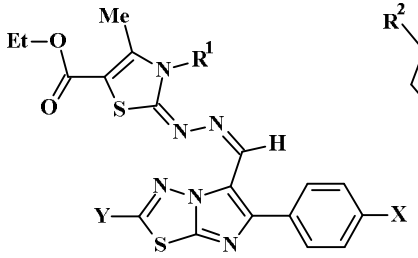
Фізико-хімічні показники синтезованих 2-{N'-[2-(феніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразино}-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолів 5.73-5.95



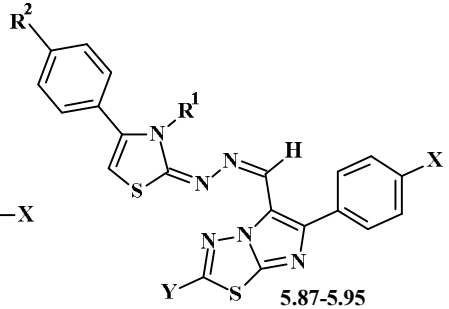
5.73-5.75



5.76-5.80



5.81-5.86



5.87-5.95

Сп-ка	X	Y	R^1	R^2	Вихід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
								C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5.73	Cl	-	-	-	80	268-270	$C_{22}H_{19}ClN_4O_2S$	60,20	4,36	12,76	60,40	4,40	12,60
5.74	NO_2	-	-	-	83	252-253	$C_{22}H_{19}N_5O_4S$	58,79	4,26	15,58	59,00	4,,30	15,45
5.75	NO_2	-	4-OH-C_6H_4	-	72	332-334	$C_{28}H_{23}N_5O_5S$	62,10	4,28	12,93	62,30	4,30	13,00
5.76	Cl	-	-	Br	80	320-322	$C_{26}H_{16}BrClN_4S$	56,76	3,18	11,03	56,90	3,22	10,90
5.77	Br	-	-	NO_2	79	267-269	$C_{24}H_{17}N_5O_2S$	65,59	3,90	15,93	65,70	3,98	16,05
5.78	NO_2	-	-	Br	80	252-254	$C_{24}H_{16}BrN_5O_2S$	65,59	3,90	15,93	65,85	4,00	15,90
5.79	NO_2	-	-	NO_2	77	300-302	$C_{24}H_{16}N_6O_4S$	59,50	3,33	17,35	59,70	3,40	17,20
5.80	NO_2	-	4-OH-C_6H_4	NO_2	82	322-324	$C_{30}H_{20}N_6O_5S$	62,49	3,50	14,58	62,60	3,55	14,37
5.81	H	Et	-	-	70	210-212	$C_{20}H_{20}N_6O_2S_2$	54,23	4,58	19,08	54,56	4,60	19,30
5.82	NO_2	Et	-	-	73	240-241	$C_{20}H_{19}N_7O_4S_2$	49,47	3,94	20,19	49,60	4,10	20,00
5.83	Br	Et	-	-	78	262-264	$C_{26}H_{23}BrN_6O_3S_2$	51,07	3,79	13,74	50,90	3,92	13,70
5.84	H	Et	4-OH-C_6H_4	-	82	230-232	$C_{26}H_{24}N_6O_3S_2$	58,63	4,54	15,78	58,50	4,45	15,90
5.85	NO_2	Et	4-OH-C_6H_4	-	70	274-276	$C_{26}H_{23}N_7O_5S_2$	54,06	4,01	16,97	53,90	4,10	17,00
5.86	Br	Et	4-OH-C_6H_4	-	73	288-290	$C_{26}H_{23}BrN_6O_3S_2$	51,07	3,79	13,74	50,95	3,85	13,80

Продовж. табл. 5.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5.87	H	Et	-	NO_2	78	246-248	$C_{22}H_{17}N_7O_2S_2$	55,57	3,60	20,62	55,70	3,55	20,50
5.88	NO_2	Et	-	NO_2	81	257-259	$C_{22}H_{16}N_8O_4S_2$	50,76	3,10	21,53	50,70	3,00	21,70
5.89	NO_2	Et	-	Br	74	272-274	$C_{22}H_{16}BrN_7O_2S_2$	47,66	2,91	17,68	47,40	2,80	17,80
5.90	Br	Et	-	NO_2	78	270-272	$C_{22}H_{16}BrN_7O_2S_2$	47,66	2,91	17,68	47,80	3,00	17,60
5.91	H	Et	4-OH-C_6H_4	H	75	252-254	$C_{28}H_{22}N_6OS_2$	64,35	4,24	16,08	64,50	4,30	16,00
5.92	NO_2	Et	4-OH-C_6H_4	Br	75	336-338	$C_{28}H_{20}BrN_7O_3S_2$	52,02	3,12	15,16	51,90	3,05	15,30
5.93	NO_2	Et	4-OH-C_6H_4	NO_2	80	324-326	$C_{28}H_{20}N_8O_5S_2$	54,89	3,29	18,29	55,00	3,40	18,20
5.94	Br	Et	4-OH-C_6H_4	Br	75	266-268	$C_{28}H_{20}BrN_6OS_2$	49,43	2,96	12,35	49,60	3,00	12,40
5.95	Br	Et	4-OH-C_6H_4	NO_2	78	284-286	$C_{28}H_{20}BrN_7O_3S_2$	52,02	3,12	15,16	51,90	3,20	15,25

5.3. Спектральні характеристики одержаних сполук

Структра і чистота сполук підтверджена даними елементного та спектроскопічного аналізу: ^{1}H ЯМР, ^{13}C ЯМР, LCMS. Спектри ^{1}H ЯМР цільових сполук містять сигнали протонів характерні для такого типу систем.

Спектральні характеристики ^{1}H, ^{13}C ЯМР та LCMS 2-R-6-арилімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазолів **5.1-5.5**, 2-R-6-арилімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегідів **5.6-5.10.**

5.1. *2-Алілсульфаніл-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ (м 3,98 (д, 2H, *J* = 6,8 Гц, CH_2), 5,23 (д, 1H, *J* = 10,0 Гц, CH_2), 5,37 (д, 1H, *J* = 16,9 Гц, CH_2), 5,92-6,06 (м, 1H, CH=), 7,28 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,42 (т, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,87 (д, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 8,68 (с, 1H, CH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 159,8, 145,4, 145,1, 134,2, 132,9, 129,1, 127,8, 125,1, 120,2, 111,1, 37,1. LCMS (ESI+) *m/z* 274 $(M+H)^+$.

5.2. *Етиловий естер (6-фенілімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-2-ілсульфаніл)-ацетатної кислоти*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,20 (т, 3H, *J* = 10,0 Гц, CH_3), 4.17 (кв, 2H, *J* = 7,0 Гц, CH_2), 4,28 (с, 2H, CH_2), 7,28 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,41 (т, 2H, *J* = 7,3 Гц, аром.),7,86 (д, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 8,67 (с, 1H, CH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 168,2, 159,8, 145,4, 145,1, 134,2, 129,1, 127,8, 125,1, 111,1, 62,1, 35,8, 14,5. LCMS (ESI+) *m/z* 320 $(M+H)^+$.

5.3. *2-Етил-6-фенілімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,34 (т, 3H, *J* = 7,5 Гц, CH_3), 3,07 (кв, 2H, *J* = 7,5 Гц, CH_2), 7,28 (т, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,41 (т, 2H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,87 (д, 2H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 8,62 (с, 1H, CH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 166,8, 145,3, 145,1, 134,5, 129,1, 127,7, 125,1, 110,7, 25,5, 13,1. LCMS (ESI+) *m/z* 230 $(M+H)^+$.

5.4. *6-(4-Бромофеніл)-2-етилімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,35 (т, 3H, *J* = 7,5 Гц, CH_3), 3,11 (кв, 2H, *J* = 7,5 Гц, CH_2), 7,67 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,91 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 8,68 (с, 1H, CH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 167,4, 143,8, 132,5, 132,1, 130,9, 127,1, 120,6, 111,3, 25,5, 13,1. LCMS (ESI+) *m/z* 308/310 $(M+H)^+$.

5.5. *2-Етил-6-(4-нітрофеніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,35 (т, 3H, J = 7,5 Гц, CH_3), 3,08 (кв, 2H, J = 7,5 Гц, CH_2), 8,07 (д, 2H, J = 8,9 Гц, аром.), 8,24 (д, 2H, J = 8,9 Гц, аром.), 8,83 (с, 1H, CH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 168,1, 146,5, 143,1, 141,0, 125,6, 124,7, 113,4, 113,3, 25,5, 13,1. LCMS (ESI+) m/z 275 $(M+H)^+$.

5.6. *2-Алілсульфаніл-6-фенілімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4,03 (д, 2H, J = 6,9 Гц, CH_2), 5,25 (д, 1H, J = 10,0 Гц, $=CH_2$), 5,44 (д, 1H, J = 17,0 Гц, $=CH_2$), 5,94-6,07 (м, 1H, CH=), 7,51-7,53 (м, 3H, аром.), 7,93-7,96 (м, 2H, аром.), 9,97 (с, 1H, CHO). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,7, 163,2, 154,0, 150,8, 132,7, 132,6, 130,1, 129,3, 129,2, 124,0, 120,7, 37,1. LCMS (ESI+) m/z 302 $(M+H)^+$.

5.7. *Етиловий естер (5-форміл-6-фенілімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-2-ілсульфаніл)-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,18 (т, 3H, J = 9,3 Гц, CH_3), 3,98 (кв, 2H, J = 7,1 Гц, CH_2), 4,12 (с, 2H, CH_2), 7,32 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,45-7,49 (м, 2H, аром.), 7,84 (д, 2H, J = 7,3 Гц, аром.), 10,02 (с, 1H, CHO). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ. 176,9, 168,2, 159,6, 145,3, 145,2, 134,0, 127,7, 126,6, 125,2, 111,0, 62,2, 35,6, 14,5. LCMS (ESI+) m/z 348 $(M+H)^+$.

5.8. *2-Етил-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,37 (т, 3H, J = 7,5 Гц, CH_3), 3,16 (кв, 2H, J = 7,5 Гц, CH_2), 7,51-7,53 (м, 3H, аром.),7,93-7,96 (м, 2H, аолм.), 9,96 (с, 1H, CHO). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,6, 169,7, 154,5, 151,1, 132,8, 130,0, 129,3, 129,2, 123,9, 25,5, 13,5. LCMS (ESI+) m/z 258 $(M+H)^+$.

5.9. *6-(4-Бромофеніл)-2-етилімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,37 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 3,16 (кв, 2H, J = 7,4 Гц , CH_2), 7,71 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,93 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 9,98 (с, 1H, CHO). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,6, 170,0, 152,5, 150,9, 132,1, 132,0, 131,1, 123,9, 123,6, 25,5, 13,4. LCMS (ESI+) m/z 336/338 $(M+H)^+$.

5.10. *2-Етил-6-(4-нітрофеніл)імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,38 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 3,19 (кв, 2H, J = 7,3 Гц, CH_2), 8,28 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,35 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 10,08 (с, 1H, CHO).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,9, 170,7, 151,0, 150,5, 148,2, 139,0, 130,2, 124,6, 124,3, 25,6, 13,4. LCMS (ESI+) *m/z* 303 $(M+H)^+$.

Спектральні характеристики ^{1}H, ^{13}C ЯМР та LCMS 2-арил-1*H*-індол-3-карбальдегід-тіосемікарбазони **5.11-5.17** та 6-фенілімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід-тіосемікарбазони **5.18-5.26.**

5.11. *(2-Феніл-1H-індол-3-іл)-метилентіосемікарбазон*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,16 (т, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,24 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,37 (шс, 1H, NH_2), 7,44 (д, 1H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,50 (т, 1H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,57 (т, 2H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,61 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 8,04 (шс, 1H, NH_2), 8,33 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 8,50 (с, 1H, CH), 11,16 (с, 1H, NH), 11,88 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,0 142,7, 141,8, 136,9, 131,4, 129,7, 129,3, 129,2, 125,6, 123,5, 123,1, 121,5, 111,9, 107,9. LCMS (ESI+) m/z 295 $(M+H)^+$.

5.12. (*2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл)-метилентіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 7,18 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,28 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,43 (шс, 1H, NH_2), 7,68 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 7,82 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,11 (шс, 1H, NH_2), 8,33 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 8,52 (с, 1H, CH), 11,14 (с, 1H, NH), 11,82 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,2 142,6, 141,8, 137,0, 131,2, 129,6, 129,4, 129,2, 125,4, 123,9, 123,0, 121,2, 111,6, 108,0. LCMS (ESI+) m/z 329/331 $(M+H)^+$.

5.13. *N^1-(2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл)-метиліден)-N^2-(4-гідроксифеніл)-тіосемікарбазон.*^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 6,81 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,12 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,21 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,42 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,74 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,87 (d, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 8,05 (шс, 1H, NH), 8,31 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 8,52 (с, 1H, CH), 9,42 (с, 1H, OH), 11,82 (с, 1H, NH), 11,86 (с, 1H, NH) ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,1 143,0, 141,9, 137,6, 137,1, 133,4, 131,4, 131,2, 130,0, 129,6, 129,4, 129,2, 125,4, 123,9, 123,0, 121,4, 112,0, 108,6. LCMS (ESI+) m/z 422/424 $(M+H)^+$.

5.14. *N^1-(2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл)-метиліден)-N^2-фурфурил-тіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 4,92 (с, 2H, NCH_2), 7,18 (т, 1H, *J* =

7,0 Гц, аром.), 7,22 (т, 1H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,41 (д, 1H, *J* = 6,5 Гц, аром.), 7,45 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 7,64 (м, 3H, аром.), 7,82-7,86 (м, 3H, аром.), 8,05 (шс, 1H, NH), 8,24 (д, 1H, аром.), 11,78 (шс, 1H, NH), 11,86 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,1, 153,6, 149,4, 143,0, 142,1, 137,0, 134,3, 131,4, 130,2, 129,6, 126,2, 123,9, 122,9, 121,8, 112,30, 111,1, 109,2, 108,9, 44,2. LCMS (ESI+) m/z 410/412 $(M+H)^+$.

5.15. (*2-(4-Бромофеніл)-1H-індол-3-іл)-метилентіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 7,21 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,26 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,40 (шс, 1H, NH_2), 7,70 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,85 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,05 (шс, 1H, NH_2), 8,23 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 11,14 (с, 1H, NH), 11,82 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,0 143,0, 141,9, 137,1, 131,3, 130,1, 129,6, 129,4, 125,4, 123,8, 122,0, 121,2, 112,0, 109,1. LCMS (ESI+) m/z 374 $(M+H)^+$.

5.16. (*2-(4-Нітрофеніл)-1H-індол-3-іл)-метилентіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 7,25 (т, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,31 (т, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,42 (шс, 1H, NH_2), 7,74 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,89 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,09 (шс, 1H, NH_2), 8,26 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 8,59 (с, 1H, CH), 11,21 (с, 1H, NH), 11,86 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,1, 144,0, 141,9, 137,5, 131,4, 130,5, 129,6, 129,2, 125,0, 123,9, 122,1, 121,2, 111,8, 108,7. LCMS (ESI+) m/z 340 $(M+H)^+$.

5.17. *N^1-(2-(4-Нітрофеніл)-1H-індол-3-іл)-метиліден)-N^2-(4-гідроксифеніл)-тіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 7,08 (d, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,18 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,24 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,54 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,78 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,89 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 8,09 (шс, 1H, NH), 8,31 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 8,52 (с, 1H, CH), 9,46 (с, 1H, OH), 11,38 (с, 1H, NH), 11,86 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176,8, 143,6, 142,0, 137,5, 137,0, 133,1, 131,6, 131,0, 129,8, 129,5, 128,6, 127.6, 125.4, 124.0, 123.0, 121.6, 112.2, 109.2. LCMS (ESI+) m/z 432 $(M+H)^+$.

5.18. *N^1-(2-Алілтіо-6-фенілімідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)-тіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4,00 (д, 2H, *J* = 6,5 Гц, CH_2), 5,23 (д, 1H, *J* = 9,9 Гц, CH_2), 5,39 (д, 1H, *J* = 19,1 Гц, CH_2), 5,97-6,05 (м, 1H, CH), 7,16 (шс, 1H, NH), 7,43 (т, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7.49 (т, 2H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,71 (д, 2H, *J* =

7,3 Гц, аром.), 8,55 (шс, 2H, CH, NH), 11,8 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 178,3, 161,0, 148,0, 147,2, 133,6, 132,7, 131,6, 129,1, 128,9, 128,5, 120,2, 119,7, 36,9. LCMS (ESI+) m/z 375 $(M+H)^+$.

5.19. *N-(4-Гідроксифеніл)-N^1-(2-алілтіо-6-фенілімідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)тіосемікарбазон*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,94 (д, 2H, J = 6,5 Гц, аліл), 5,12 (д, 1H, J = 9,9 Гц, аліл), 5,28 (д, 1H, J = 16,8 Гц), 5,88 (м, 1H, аліл), 6,76 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,39 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,43 (т, 1H, J = 7,1 Гц, аром.), 7,48-7,52 (м, 2H, аром.), 7,73 (д, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 8,52 (с, 1H, CH), 9,38 (с, 1H, OH), 9,43 (с, 1H, NH), 11,87 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,6, 161,2, 155,5, 148,2, 147,4, 133,6, 132,4, 131,2, 130,3, 129,2, 128,9, 128,5, 126,1, 120,4, 119,8, 115,4, 36,9. LCMS (ESI+) m/z 467 $(M+H)^+$.

5.20. *Тіосемікарбазон етилового естру 5-форміл-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-2-ілсульфаніл)-ацетатної кислоти*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,22 (т, 3H, J = 7,0 Гц, CH_3), 4,16 (кв, 2H, J = 7,1 Гц, CH_2CH_3), 4,37 (с, 2H, SCH_2CO), 7,42 (т, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,52 (т, 2H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,95 (д, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 12,00 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 174,5, 168,0, 160,9, 148,0, 147,5, 144,0, 133,7, 130,0, 129,4, 128,9, 128.7, 119,6, 62,2, 35,8, 14,6. LCMS (ESI+) m/z 421 $(M+H)^+$.

5.21. *N^1-(2-Етил-6-фенілімідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)-тіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,35 (т, 3H, J = 7,3 Гц, CH_3), 3,13 (кв, 2H, J = 7,3 Гц, CH_2), 7,18 (с, 1H, NH), 7,43 (д, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,48 (т, 2H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,71 (д, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 8,41 (bшс, 1H, NH), 8,46 (с, 1H, CH), 11,57 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 178,3, 167,7, 148,2, 147,4, 133,8, 131,6, 129,1, 128,8, 128,5, 119,5, 25,7, 13,0. LCMS (ESI+) m/z 331 $(M+H)^+$.

5.22. *N^1-(2-Етил-6-фенілімідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)-N^2-(4-гідроксифеніл)-тіосемікарбазон*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,32 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 3,11 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2), 6,77 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,40 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,42-7,44 (м, 1H, аром.), 7,50 (т, 2H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,74 (д, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 8,53 (с, 1H, CH), 9,43 (шс, 2H, OH, NH), 11,87 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR

(100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,4, 167,9, 155,5, 148,4, 147,6, 133,8, 131,1, 130,3, 129,2, 128,8, 128,5, 125,8, 119,66, 115,4, 25,7, 12,9. LCMS (ESI+) m/z 423 $(M+H)^+$.

5.23. *N^1-(2-Етил-6-(4-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)-тіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,35 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 3,13 (кв, 2H, J = 7,6 Гц, CH_2), 7,21 (с, 1H, NH), 8,00 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,28 (м, 2H, аром.), 8,47 (шс, 1H, NH), 8,49 (с, 1H, CH), 11,63 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 178,4, 168,8, 148,6, 147,1, 144,2, 140,3, 131,0, 130,2, 129,1, 124,3, 121,0, 25,7, 12,9. LCMS (ESI+) m/z 376 $(M+H)^+$.

5.24. *N^1-(2-Етил-6-(4-нітрофеніл)-імідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)-N^2-(4-гідроксифеніл)-тіосемікарбазон*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,34 (т, 3H, J = 7,8 Гц, CH_3), 3,12 (кв, 2H, J = 7,3 Гц, CH_2), 6,77 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,39 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 8,05 (д, 2H, J = 8,1 Гц, аром.), 8,30 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 8,57 (с, 1H, CH), 9,33 (шс, 1H, NH), 9,38 (с, 1H, OH), 11,82 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,2, 168,9, 160,2, 155,5, 148,7, 147,1, 130,5, 130,2, 129,1, 129,1, 125,8, 124,3, 124,0, 115,4, 25,8, 12,8. LCMS (ESI+) m/z 468 $(M+H)^+$.

5.25. *N^1-(2-Етил-6-(4-бромофеніл)-імідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)-тіосемікарбазон.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,38 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 3,13 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2), 7,18 (с, 1H, NH), 7,70 (шс, 4H, аром.), 8,41 (шс, 1H, NH), 8,43 (с, 1H, CH), 11,56 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 178,3, 168,0, 148,3, 145,9, 133,0, 132,0, 131,4, 130,4, 122,1, 119,7, 25,7, 13,0. LCMS (ESI+) m/z 409/411 $(M+H)^+$.

5.26. *N^1-(2-Етил-6-(4-бромофеніл)-імідазо[2,1-b]-1,3,4-тіадіазол-5-ілметиліден)-N^2-(4-гідроксифеніл)-тіосемікарбазон*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,32 (т, 3H, J = 7,5 Гц, CH_3), 3,12 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2), 6,77 (d, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,39 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,69 (d, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,71 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 8,51 (с, 1H, CH), 9,38 (шс, 1H, NH), 9,43 (с, 1H, OH), 11.89 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,5, 168,2, 155,5, 148,4, 146,0, 133,1, 132,1, 130,9, 130,4, 130,2, 125,7, 122,2, 119,8, 115,5, 25,7, 12,9. LCMS (ESI+) m/z 501/503 $(M+H)^+$.

Спектральні характеристики ^{1}H, ^{13}C ЯМР та LCMS 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів **5.27-5.45.**

5.27. *2-[(2-Феніл-1H-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,82 (с, 2H, CH_2), 7,17 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,22 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,44-7,48 (м, 2H, аром.), 7,54-7,57 (м, 2H, аром.), 7,65-7,68 (м, 2H, аром.), 8,35 (д, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 8,.81 (с, 1H, CH), 11,72 (шс, 1H, NH), 11,77 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,2, 152,5, 142,9, 137,0, 131,8, 129,6, 129,1, 128,9, 126,5, 123,1, 121,3, 111,8, 108,9, 33,44. LCMS (ESI+) *m/z* 335 $(M+H)^+$.

5.28. *5-Метил-2-[(2-феніл-1H-індол-3-іл-метилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,63 (д, 3H, *J* = 7,0 Гц, CH_3), 4,09 (кв, 1H, *J* = 7,0 Гц, CH), 7,17 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,21 (т, 1H, *J* = 6,9 Гц, аром.), 7,42-7,45 (м, 2H, аром.), 7,56 (т, 2H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 7,66 (д, 2H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 8,33 (д, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 8,59 (с, 1H, CH), 11,65 (шс, 1H, NH), 11.78 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,1, 152,6, 152,6, 142,9, 137,1, 131,8, 129,6, 129,1 128,9, 126,5, 123,2, 121,2, 111,8, 108,9, 42,6, 19,6. LCMS (ESI+) *m/z* 349 $(M+H)^+$.

5.29. *5-Етил-2-[(2-феніл-1H-індол-3-іл-метилен)гідразоно]-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,11 (т, 3H, *J* = 7,2 Гц, CH_3), 1,92 (м, 1H, $CHCH_2$), 2,10 (м, 1H, $CHCH_2$), 4,00 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,16 (м, 2H, аром.), 7,37-7,43 (т, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,52 (т, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,65 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,33 (д, 1H, *J* = 6,4 Гц, аром.), 8,57 (с, 1H, CH), 11,61 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 172,4, 152,8, 143,3, 137,0, 131,4, 129,7, 129,4, 126,3, 123,6, 122,8, 121,6, 112,1, 108,6, 49,7, 25,9, 10,7. LCMS (ESI+) m/z 363 $(M+H)^+$.

5.30. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-тіазолідин-4-он.*^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,90 (с, 2H, CH_2), 7,20 (т, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,26 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,47 (д, 1H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,64 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,68 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 8,32 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 8,53 (с, 1H, CH), 11,84 (с, 1H, NH), 12,04 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,3, 152,2, 141,6, 137,0, 134,2, 131,4, 130,3, 129,5, 126,3, 123,8, 122,9, 121,7, 112,2, 109,0, 33,6. LCMS (ESI+) m/z 369/371 $(M+H)^+$.

5.31. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-5-метил-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,54 (d, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 4,21 (кв, 1H, J = 7,2 Гц, CH), 7,21 (т, 1H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,28 (т, 1H, J = 7,4 Гц, аром.), 7,47 (д, 1H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,64 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,68 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,32 (д, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 11,76 (с, 1H, NH), 12,00 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176,5, 152,4, 141,7, 137,0, 134,2, 131,3, 130,2, 129,5, 126,2, 123,8, 122,9, 121,7, 120,2, 112,2, 42,4, 19,4. LCMS (ESI+) m/z 383/385 $(M+H)^+$.

5.32. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-5-етил-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 0,99 (т, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 1,84-4,89 (m, 1H, CH_2), 1,98-2,04 (м, 1H, CH_2), 4,25-4,27 (м, 1H, CH), 7,23 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,48 (д, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,66 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,69 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 8,33 (д, 1H, J = 7,6 Гц, аром.), 8,55 (с, 1H, CH), 11,83 (с, 1H, NH), 12,05 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): 174,2, 152,4, 141,7, 137,0, 134,2, 131,3, 130,2, 129,50, 129,4, 126,3, 123,8, 122,9, 121,8, 112,2, 109,0, 50,0, 25,9, 10,7. LCMS (ESI+) m/z 397/399 $(M+H)^+$.

5.33. *2-{[2-(4-Бромофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-5-метил-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,53 (д, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 4,20 (кв, 1H, J = 7,2 Гц, CH), 7,21 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,26 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,47 д, 1H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,61 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,78 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 8,32 (д, 1H, J = 7,7 Гц, аром.), 8,53 (с, 1H, CH), 11,82 (шс, 1H, NH), 12,05 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,8, 152,3, 141,7, 137,1, 132,4, 131,6, 130,6, 126,3, 123,9, 123,0, 122.9, 121,8, 112,2, 109,0, 42,8, 19,4. LCMS (ESI+) m/z 427/429 $(M+H)^+$.

5.34. *2-{[2-(4-Бромофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-5-етил-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 0,99 (т, 3H, J = 7,0 Гц, CH_3), 1,83-1,90 (м, 1H, CH_2), 1,97-2,03 (м, 1H, CH_2), 1,97-2,03 (м, 1H, CH_2), 4,23-4,26 (м, 1H, CH), 7,22 (т, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,48 (д, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 7.62 (д, 2H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,79 (д, 2H, J = 7,9 Гц, аром.), 8,33 (д, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 11,81 (шс, 1H, NH), 12,04 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR

(100 MHz, DMSO-d_6): δ 172,4, 152,6, 141,7, 137,0, 132,4, 131,6, 130,6, 126,3, 123,8, 122,9, 121,8, 112,2, 109,0, 49,6, 25,9, 10,7. LCMS (ESI+) m/z 441/443 $(M+H)^+$.

5.35. *2-{[2-(4-Нітрофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,82 (с, 2H, CH_2), 7,17 т, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,25 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,47 (д, 1H, J = 7,4 Гц, аром.), 7,92 (д, 2H, J = 7,7 Гц, аром.), 8,34-8,39 (м, 3H, аром.), 8,62 (с, 1H, CH), 12,04 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,2, 147,6, 140,0, 137,8, 137,5, 130,7, 126,3, 124,6, 124,5, 123,2, 122,0, 112,5, 110.4, 33,6. LCMS (ESI+) m/z 380 $(M+H)^+$.

5.36. *5-Метил-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,55 (д, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 4,22 (кв, 1H, J = 7,0 Гц, $CHCH_3$), 7,24 (д, 1H, J = 7,7 Гц, аром.), 7,32 (д, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,52 (д, 1H, J = 8,0 Гц, аром.), 7,94 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 8,31-8,38 (м, 1H, аром.), 8,42 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 8,61 (с, 1H, CH), 12,26 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,5, 152,0, 147,6, 140,0, 137,8, 137,4, 130,7, 126,2, 124,6, 124,1, 123,2, 122,0, 119,5, 112,5, 110,4, 42,8, 19,4. LCMS (ESI+) m/z 394 $(M+H)^+$.

5.37. *5-Етил-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 0,99 (т, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 1,80-1,86 (м, 1H, $CHCH_2$), 1,94-2,06 (м, 1H, $CHCH_2$), 4,23-4,28 (м, 1H, CH), 7,26 (т, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,32 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,52 (д, 1H, J = 8,2 Гц, аром.), 7,95 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 8,29 (д, 1H, J = 8,0 Гц, аром.), 8,42 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 8,61 (с, 1H, CH), 11,88 (шс, 1H, NH), 12,80 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,3, 148,4, 147,6, 140,0, 137,8, 137,4, 130,7, 130,2, 128,0, 126,2, 124,6, 124,1, 123,2, 122,1, 119,5, 110,4, 49,2, 25,9, 10,9. LCMS (ESI+) m/z 408 $(M+H)^+$.

5.38. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-3-фуран-2-ілметил-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4,04 (с, 2H, CH_2), 4,90 (с, 2H, CH_2), 6,39 (м, 2H, аром.), 7,19-7,30 (м, 2H, аром.), 7,48 (д, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,58 (м, 1H, аром.), 7,69 (шс, 4H, аром.), 8,34 (д, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 8,58 (с, 1H, CH=), 12,11 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 172,3, 161,0, 153,6, 149,4, 143,0, 142,1, 137,0, 134,3, 131,4, 130,2, 129,6, 126,2, 123,9, 122,9, 121,8, 112,3, 111,1, 109,2, 108,9, 44,3, 32,5. LCMS (ESI+) m/z 449/451 $(M+H)^+$.

5.39. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-3-фуран-2-ілметил-5-метил-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,57 (д, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 4,34 (м, 1H, CH), 4,91 (с, 2H, CH_2), 6,37 (д, 1H, J = 4,0 Гц, аром.), 6,39-6,42 (д, 1H, J = 3,9 Гц, аром.), 7,20-7,30 (м, 2H, аром.), 7,48 (д, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,69 (шс, 4H, аром.), 7,58 (м, 1H, аром.), 8,34 (д, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 8,56 (с, 1H, CH), 12,11 (с, 1H, NH), ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,3, 159,4, 153,7, 149,4, 143,0, 142,2, 137,0, 134,4, 131,5, 130,2, 129,6, 126,2, 123,9, 122,9, 121,8, 112,3, 111,2, 109,0, 108,9, 41,7, 19,5. LCMS (ESI+) m/z 463/465 $(M+H)^+$.

5.40. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-іл-метилен]-гідразоно}-3-фуран-2-ілметил-5-етил-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 0,93 (т, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 1,91 (дд. 1H, J = 7,1, 14,2 Гц, CH_2), 1,99-2,04 (м, 1H, CH_2), 4,41 (дд, 1H, J = 4,3, 6,8 Гц, CH), 4,92 (с, 2H, NCH_2), 6,35-6,37 (м, 1H, аром.), 6,38-6,41 (м, 1H, аром.), 7,23-7,31 (м, 2H, аром.), 7,49 (д, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,69 (шс, 4H, аром.), 8,35 (д, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 8,58 (с, 1H, CH), 12,12 (с, 1H, NH), ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,4, 159,4, 153,9, 149,4, 143,0, 142,3, 137,0, 134,4, 131,5, 130,2, 129,6, 126,2, 123,9, 122,9, 121,9, 112,3, 111.2, 109.0, 108.9, 48.4, 41.6, 26.0, 10.2. LCMS (ESI+) m/z 477/479 $(M+H)^+$.

5.41. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-3-(4-гідроксифеінл)-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4,08 (с, 2H, CH_2), 6,83 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,15 (д, 2H, J = 8,0 Гц, аром.), 7,23-7,29 (м, 2H, аром.), 7,49 (д, 1H, J = 8,0 Гц, аром.), 7,63 (шс, 4H, аром.), 8,37 (с, 1H, CH), 8,38-8,41 (м, 1H, аром.), 9,79 (с, 1H, OH), 12,07 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 172,7, 163,3, 158,0, 153,1, 142,0, 137,0, 134,3, 131,3, 130,1, 129,8, 129,5, 129,4, 126,7, 126,3, 123,9, 122,9, 121,8, 116,0, 112,2, 108,9, 32,6. LCMS (ESI+) m/z 461/463 $(M+H)^+$.

5.42. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-3-(4-гідроксифеінл)-5-метил-тіазолідин-4-он.* H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,65 (д, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 4,38 (кв, 1H, J = 7,2 Гц, CH), 6,85 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,17 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,26 (м, 2H, аром.), 7,48 (д, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,68 (шс, 4H, аром.), 8,37 (с, 1H, CH), 8,39 (д, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 9,79 (с, 1H, OH), 12,08 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,7, 162,8, 161,7, 158,0, 153,2, 142,0, 137,0,

134,3, 131,3, 129,8, 129,5, 126,8, 126,2, 123,8, 122,9, 121,8, 116,0, 112,2, 108,9, 41,5, 19,6. LCMS (ESI+) m/z 475/477 $(M+H)^+$.

5.43. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-5-етил-3-(4-гідроксифеінл)-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,06 (т, 3H, J = 7,1 Гц, CH_3), 1,94-2,11 (м, 2H, CH_2), 4,42 (дд, 1H, J = 4,4, 6,9 Гц, CH), 6,84 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,13 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,21-7,32 (м, 2H, аром.), 7,47 (д, 1H, J = 6,7 Гц, аром.), 7,62 (шс, 4H, аром.), 8,37 (с, 1H, CH), 8,38 (м, 1H, аром.), 9,78 (с, 1H, OH), 12,06 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,8, 161,7, 158,0, 153,4, 142,1, 137,0, 134,3, 131,4, 130,1, 129,8, 129,5, 126,7, 126,2, 123,9, 122,9, 121,9, 116,1, 112,2, 108,9, 48,3, 26,2, 10,5. LCMS (ESI+) m/z 489/491 $(M+H)^+$.

5.44. *3-(4-Гідроксифеніл)-5-метил-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,65 (д, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 4,38 (кв, 1H, J = 7,2 Гц, CH), 6,84 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,16 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,32 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,52 (д, 1H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,88 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,38-8,40 (м, 3H, аром.), 8,42 (с, 1H, CH), 9,78 (с, 1H, OH), 12,27 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,8, 162,4, 160,1, 158,0, 152,9, 147,7, 140,5, 137,7, 137,4, 130,7, 129,8, 126,8, 126,2, 124,6, 116,0, 113,5, 112,5, 110,3, 41,6, 19,5. LCMS (ESI+) m/z 486 $(M+H)^+$.

5.45. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-5-етил-3-(4-гідроксифеніл)-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,07 (т, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 2,00 (дд, 1H, J = 7,3, 14,2 Гц, CH_2), 2,05-2,12 (м, 1H, CH_2), 4,42 (м, 1H, CH), 6,84 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,13 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,23 (т, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,52 (д, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,89 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 8,38 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 8,39 (д, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 8,44 (с, 1H, CH), 9,80 (шс, 1H, OH), 12,23 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,0, 161,5, 159,0, 151,6, 141,8, 136,9, 134,1, 130,2, 129,8, 129,6, 129,3, 126,8, 126,2, 124,1, 122,8, 121,7, 115,6, 112,1, 110,0, 41,5, 26,1, 10,4. LCMS (ESI+) m/z 500 $(M+H)^+$.

Спектральні характеристики ^{1}H, ^{13}C ЯМР та LCMS N-(феніл)-2-[4-оксо-2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-5-іл]ацетамідів **5.46-5.50.**

5.46. *N-(4-Хлорофеніл)-2-{4-оксо-2-[(2-феніл-1H-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетамід.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,02 (дд, 1H, J = 9,1, 16,5 Гц, $CHCH_2$), 3,22-3,27 (м, 1H, $CHCH_2$), 4,28 (кв, 2H, J = 7,0 Гц, CH_2), 4,47 (дд, 1H, J = 3,5, 9,1 Гц, $CHCH_2$), 7,20 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,25 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,37 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,47 (д, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,52 (т, 1H, J = 6,7 Гц, аром.), 7,59-7,68 (м, 6H, аром.), 8,23 (д, 1H, J = 7,7 Гц, аром.), 8,56 (с, 1H, CH), 10,31 (с, 1H, NH), 11,82 (шс, 1H, NH), 12,0 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 173,6, 168,7, 143,3, 138,2, 137,0, 131,4, 129,7, 129,4, 129,2, 127,4, 126.3, 123,6, 122,7, 121,6, 121,2, 112,2, 108,7, 47,9, 44,3. LCMS (ESI+) m/z 502/504 $(M+H)^+$.

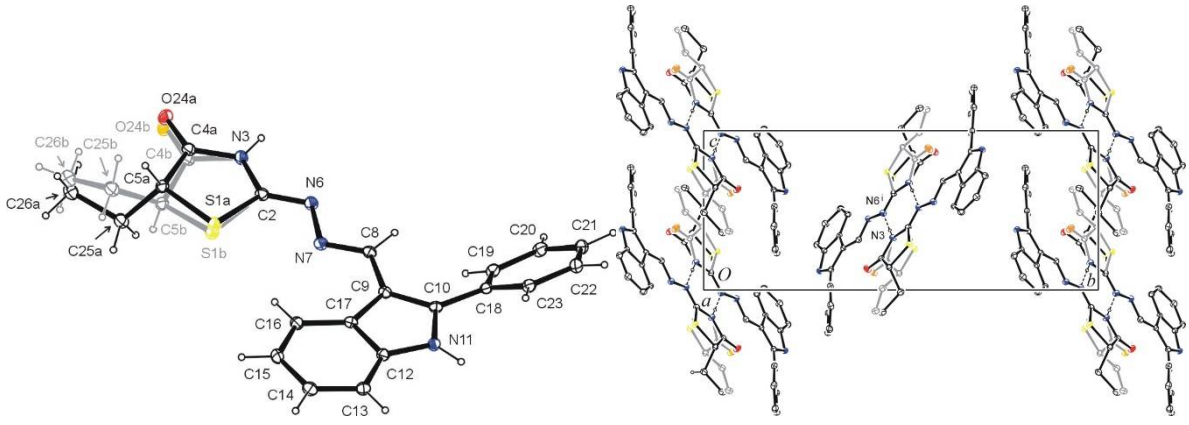
5.47. *N-(4-Бромофеніл)-2-{4-оксо-2-[(2-феніл-1H-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетамід.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,99 (дд, 1H, J = 9,1, 16,2 Гц, $CHCH_2$), 3,22-3,26 (м, 1H, $CHCH_2$), 4,44-4,46 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,19 (т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,24 т, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,43-7,51 (м, 4H, аром.), 7,52-7,64 (м, 4H, аром.), 7,62-7,70 (м, 2H, аром.), 8,.28 (д, 1H, J = 7,4 Гц, аром.), 8,56 (с, 1H, CH), 10,30 (с, 1H, NH), 11,88 (шс, 1H, NH), 12,0 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176,2, 168,7, 143,3, 138,6, 137,0, 132,1, 131,4, 129,7, 129,5, 126,3, 123,6, 122,7, 121,7, 121,6, 115,4, 112,2, 108,6, 44,3, 43,5. LCMS (ESI+) m/z 546/548 $(M+H)^+$.

5.48. *N-(4-Гідроксифеніл)-2-{4-оксо-2-[(2-феніл-1H-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетамід.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,92 (дд, 1H, J = 9,2, 16,0 Гц, CH_2), 3,21 (дд, 1H, J = 3,2, 9,0 Гц, CH_2), 4,43 (дд, 1H, J = 3,8, 13,8 Гц, CH), 6,70 (д, 2H, J = 8,8 Гц, аром.), 6,70 (д, 2H, J = 8,8 Гц, аром.), 7,21 (т, 1H, J = 6,7 Гц, аром.), 7,26 (т, 1H, J = 6,9 Гц, аром.), 7,37 (д, 2H, J = 8,8 Гц, аром.), 7,74 (д, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,53 (д, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,60 (т, 2H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,66 (д, 2H, J = 7,0 Гц, аром.), 8,29 (д, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 8,57 (с, 1H, CH), 9,.23 (с, 1H, OH), 9,93 (с, 1H, NH), 11,87 (шс, 1H, NH), 12,02 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 182,7, 167,7, 153,9, 143,9, 143,3, 137,0, 131,4, 131,0, 129,7, 129,5, 126,2, 123,6, 122,7, 121,7, 121,4, 115,6, 112,2, 108,6, 44,5, 43,6. LCMS (ESI+) m/z 546/548 $(M+H)^+$.

5.49. *Етиловий естер 4-(2-{4-оксо-2-[(2-феніл-1H-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазоілдин-5-іл}-ацетиламіно)-бензойної кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz,

DMSO-d_6): δ 1,31 (т, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 3,05 (дд, 1H, J = 9,0, 16,2 Гц, $CHCH_2$), 3,28-3,33 (м, 1H, $CHCH_2$), 4,28 (кв, 2H, J = 7,0 Гц, CH_2), 4,70 (дд, 1H, J = 3,2, 8,9 Гц, $CHCH_2$), 7,21 (т, 1H, J = 7,4 Гц, аром.), 7,25 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,46 (д, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,52 (т, 1H, J = 8,0 Гц, аром.), 7,59 (т, 2H, J = 7,4 Гц, аром.), 7,66 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,73 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,92 (д, 2H, J = 7,7 Гц, аром.), 8,23 (д, 1H, J = 7,6 Гц, аром.), 8,56 (с, 1H, CH), 10,51 (с, 1H, NH), 11,88 (шс, 1H, NH), 12,0 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 172,5, 169,2, 165,8, 143,6, 143,3, 137,0, 131,4, 130,8, 129,7, 129,4, 126,2, 124,8, 123,6, 122,7, 121,6, 119,0, 112,1, 108,5, 60,9, 44,2, 21,5, 14,7. LCMS (ESI+) m/z 540 $(M+H)^+$.

5.50. *2-(2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл)-N-(4-гідроксифеніл)-ацетамід*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,94-2,97 (м, 1H, CH_2), 3,16-3,24 (м, 1H, CH_2), 4,45 (дд, J = 3,9, 9,2 Гц, 1H, CH), 6,71 (м, 2H, аром.), 7,23-7,27 (м, 1H, аром.), 7,38 (д, 1H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,48 (д, 1H, J = 8,1 Гц, аром.), 7,68 (шс, 4H, аром.), 7,96 (шс, 1H, аром.), 8,32 (д, 1H, J = 7,9 Гц, аром.), 8,55 (с, 1H, CH=), 9,23 (с, 1H, OH), 9,93 (с, 1H, NH), 11,90 (с, 1H, NH), 11,97 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 167,7, 162,8, 153,9, 141,7, 137,0, 134,3, 131,4, 131,0, 130,3, 129,5, 126,2, 123,8, 122,8, 121,8, 121,4, 115,6, 112,2, 108,9, 36,3, 31,3. LCMS (ESI+) m/z 518/250 $(M+H)^+$.



a **b**

Рис. 5.2. ORTEP вигляд сполуки **5.29** (a); кристалічна гратка (b). Атоми гідрогену зображено як сфери довільних радіусів

Теоретично, для тіосемікарбазонів і відповідних тіазолів/тіазолідинонів біля імінного звязку є можливими геометричні ізомери (E та Z) [138,360], які були раніше описані [361]. Додатково проведений рентгеноструктурний аналіз сполуки **5.29** (рис. 5.2).

Рентгеноструктурний аналіз сполуки **5.29** показав, що атом гідрогену є приєднаний до N3 атому, що узгоджується із системою, що містить вторинну аміно групу в тіазолідиновому кільці. При цьому, атоми N6 and N7 в гідразоновій групі є імінними нітрогенами. На користь релевантності цих результатів свідчать міжатомні відстані N3–C4 [1.372(2) Å] та C2–N3 [1.3705(18) Å], а також C2=N6 [1.2883(18) Å] і N7=C8 [1.2858(18) Å], що є близькими до середніх значень, як одинарних зв'язків (O=)C–NH [1.357(3) Å] та HN–C(=N) [1.376(3) Å], так і подвійного зв'язку C=N [1.281(3) Å] відповідно, отриманих із аналізу структур, що містять N-(4-оксо-1,3-тіазолідин-2-іліден)гідразиновий фрагмент доступний у базі даних Crystal Structure Database, Version 5.39 (refcodes: NEBHOU, DIQHIW, FOTQEM, IKIVIJ, QAJSEC, ROMXUN, SOHHIH, ULACEQ, WOGGOQ, XUBYOK, R < 0.075) [362].

Проведені дослідження свідчать, що деякі атоми в кристалічній структурі є невпорядковані. Це спостереження відноситься до частини молекули, що включає атоми S1, C4, C5, O24, C25, C26 із 5-етил-1,3-тіазолідин-4-ону. Кожен з цих атомів займає дві альтернативні локації в кристалі, позначені ***a*** та ***b.*** Внаслідок такого їх розташування, існує два різних енантіомери молекули, а саме, конфігурація *R* містить атоми S1, C4, C5, O24, C25, C26 в позиції ***a,*** а в S конфігурації – атоми знаходяться в позиції ***b*** відповідно, і навпаки для симетричного сайту. Чинник просторової частотності для цих п'яти атомів в орієнтації ***a*** є 0,858(2), тоді як в орієнтації ***b*** – 0,142(2). В результаті невпорядкованості деяких атомів в молекулі, точне передбачення їхньої локалізації на карті є менш ймовірним, що відображається у більшій похибці параметрів невпорядкованих фрагментів.

Система атомів S1a(S1b), N3, C2, N6, N7 з подвійним зв'язком C2=N6 має *Z* конфігурацію [торсійний кут S1A–C2–N6–N7: 3,82(18)°, S1B–C2–N6–N7 -13,2(3)°], тоді як система атомів N6, N7, C8, C9 з подвійним зв'язком N7=C8 має *E* конфігурацію [торсійний кут N6–N7–C8–C9: 179,90(12)°]. В молекулі **5.29**,

наближено планарна система індолу (r.m.s. середньоквадратичне відхилення = 0,0224 Å) і система тіазолідинону в локації ***a*** (r.m.s. = 0,0218 Å) є майже копланарними із величиною двогранного кута 4,04(10)°. Для системи тіазолідинону, що знаходиться в альтернативній позиції ***b***, торсійний кут складає 15,7(4)°.

Середні площини фенільного кільця та індольної системи зв'язаних C10–C18 зв'язком, утворюють двогранний кут 33,46(4)°. Розташування цих систем є результатом обертання фенольного кільця навколо зв'язку C10–C18.

В кристалі частинки є зв'язані гідрогенними зв'язками N3-H3···N6^{i} {(i) -*x*,1-*y*,1-*z*} у центросиметричні димери, і останні є некласичними водневими зв'язками C25a–H25B···O24a^{ii} {(ii) -*x*,1-*y*,-*z*}східчасто укладеними (табл. 5.5). Ряди частинок наростають по осі *z*.

Таблиця 5.5

Геометрія водневих звязків (Å, º) для структури 5.29

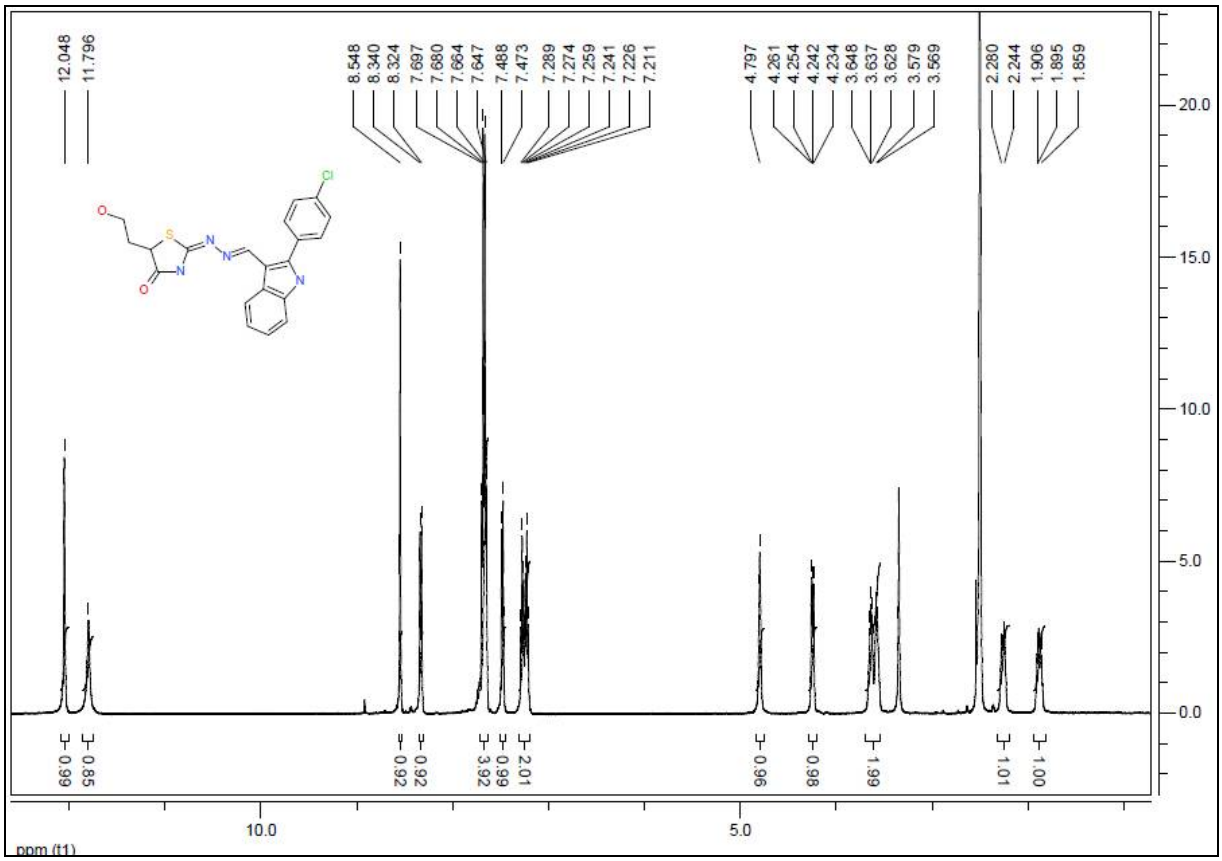
Водневі зв'язки (між частинками)	Донор-H (Å)	H···Акцептор (Å)	Донор··· Акцептор (Å)	Донор-H··· Акцептор (º)
N3–H3···N6^{i}	0.88(2)	2.05(2)	2.9286(18)	178(2)
C25a–H25B···O24	0.97	2.55	3.466(3)	157

Коди симетрії: (i) -*x*,1-*y*,1-*z* ; (ii) -*x*,1-*y*,-*z*;

Спектральні характеристики ^{1}H, ^{13}C ЯМР та LCMS 5-(2-R-етил)-2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та 5-(2-R-етил)-2-[(6-феніл-2,3,7,7a-тетрагідро-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів **5.51-5.62.**

Ароматичні протони індол-фенільного фрагменту дають сигнали в області від 7,12 м.ч. до 8,03-8,36 м.ч. Сигнали аліфатичних протонів утворюють складну систему з мультиплетів чи дублетів дублетів при 1,84-1,89 м.ч., 2,15-2,35 м.ч. 3,57-3,64 м.ч. чи 4,17-4,29 м.ч.

Приклад ^{1}H та ^{13}C ЯМР-спектрів 2-{[2-(4-хлорофеніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-5-(2-гідроксиетил)-тіазолідин-4-ону **5.53** представлено на рис. 5.3.



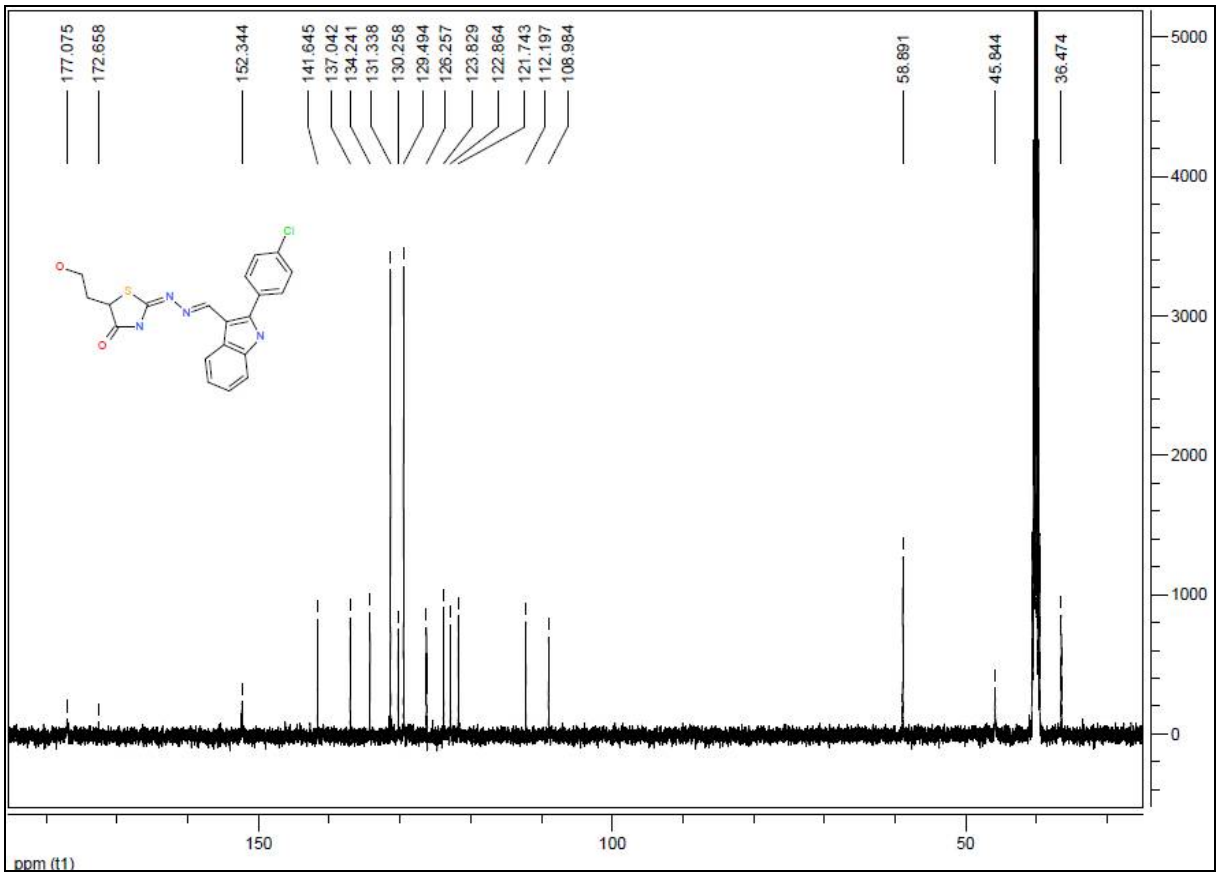


Рис. 5.3. Спектри ЯМР ^{1}H та ^{13}C 2-{[2-(4-хлорофеніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-5-(2-гідроксиетил)-тіазолідин-4-ону **5.53**

5.51. *5-(2-Гідроксиетил)-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,86-1,90 (м, 1H, CH_2), 2,27-2,32 (м, 1H, CH_2), 3,63-3,66 (м, 2H, CH_2), 4,16 (дд, 1H, *J* = 4,0, 9,6 Гц, CH), 4,54 (шс, 1H, OH), 7,17 (т, 1H, *J* = 7,7 Гц,), 7,41-7,47 (м, 1H), 7,55 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.) 7,64 (д, *J* = 7,4 Гц), 7,69 (д, *J* = 7,6 Гц, 1H), 8,57 (с, 1H, CH), 11,63 (шс, 1H, NH), 11,74 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 172,6, 167.9, 158,2, 143,2, 137.0, 131,4, 129,7, 129,5, 126,3, 123,6, 122,8, 121,7, 112,2, 108,6, 58,9, 40,9, 36,5, LCMS (ESI+) m/z 379 $(M+H)^+$.

5.52. *Етиловий естер 2-{4-оксо-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетатної кислоти.* ^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,06 (с, 3H, CH_3), 2,13-2,21 (м, 1H, алкіл), 2,36-2,41 (м, 1H, алкіл), 4,41 (дд, 1H, *J* = 4,4, 8,2 Гц, алкіл), 4,20-4,25 (м, 1H, алкіл), 4,27-4,31 (м, 1H, алкіл), 7,12 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,17 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,42 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 7.45 (t, 1H, *J* = 7,4 гц, 1H, аром.), 7,54 (т, 2H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7.65 дd, 2H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 8,03 (д, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 8,56 (с, 1H, CH), 11,73 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,4, 170,6, 168,4, 167,3, 143,3, 137,0, 131,4, 129,7, 129,4, 126,3, 123,7, 122,8, 121,6, 112,2, 108,6, 61,9, 45,7, 31,8, 21,1. LCMS (ESI+) m/z 421 $(M+H)^+$.

5.53. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1Н-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-5-(2-гідроксиетил)-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,86-1,91 (м, 1H, CH_2), 2,24-2,29 (м, 1H, CH_2), 3,57-3,64 (м, 2H, CH_2), 4,24 (дд, 1H, *J* = 3,7, 9,4 Гц, CH), 4,78 (шс, 1H, OH), 7,26 (т, 1H, *J* = 7,6 Гц,), 7,27 (т, 1H, J = 7,7 Гц, аром.), 7,47 (д, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.) 7,65 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,69 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 8,33 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 11,79 (шс, 1H, NH), 12,05 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,1, 172,7, 152,3, 141,6, 137,0, 134,2, 131,3, 130,3, 129,5, 126,6, 123,8, 122,9, 121,7, 112,2, 109,0, 58,9, 45,8, 36,5. LCMS (ESI+) m/z 413/415 $(M+H)^+$.

5.54. *Етиловий естер 2-(2-{[2-(4-хлорофеніл)-1Н-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл)-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,05 (с, 3H, CH_3), 2,15-2,19 (м, 1H, CH_2), 2,36 (дд, 1H, *J* = 4,6, 14,4 Гц, CH_2), 4,17-4,19 (м, 1H, CH_2), 4,26-4,29 (м, 1H, CH_2), 4,31 (дд, 1H, *J* = 4,2, 8,9 Hz, CH), 7,20

(т, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,48 (д, 1H, *J* = 8, Гц, аром.), 7,66 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,69 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 8,33 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 11,87 (шс, 1H, NH), 12,06 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 170,6, 162,9, 159,4, 152,2, 141,7, 137,0, 134,3, 131,3, 130,2, 129,5, 126,2, 123,8, 122,8, 121,7, 112,2, 109,0, 61,8, 45,6, 31,8, 21,1. LCMS (ESI+) m/z 453/455 $(M+H)^+$.

5.55. *2-{[2-(4-Бромофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-5-(2-гідроксиетил)-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,84-1,89 (м, 1H, CH_2), 2,20-2,25 (м, 1H, CH_2), 3,56-3,62 (м, 2H, CH_2), 4,22 (дд, 1H, *J* = 3,7, 9,4 Гц, CH), 4,80 (шс, 1H, OH), 7,25 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц,), 7,28 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,52 (д, 1H, *J* = 8,0 Гц, аром.) 7,70 (д, *J* = 8,2 2H, Гц, аром.), 7,75 (д, *J* = 8,2 2H, Гц, аром.), 8,36 (м, 1H, аром.), 8,53 (с, 1H, CH), 11,81 (шс, 1H, NH), 11,98 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,0, 162,8, 141,5, 141,2, 137,0, 132,3, 131,7, 130,6, 125,6, 123,8, 123,2, 123,0, 121,6, 112,0, 108,4, 56,9, 36,3, 31,3. LCMS (ESI+) m/z 457/459 $(M+H)^+$.

5.56. *Етиловий естер 2-(2-{[2-(4-бромофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл)-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,05 (с, 3H, CH_3), 2,15-2,18 (м, 1H, CH_2), 2,33-2,37 (м, 1H, CH_2), 4,18-4,20 (м, 1H, CH), 4,27-4,32 (м, 2H, CH_2), 7,20 (т, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,48 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,62 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,79 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 8,34 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 8,55 (с, 1H, CH), 11,88 (шс, 1H, NH), 12,05 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 170,6, 162,0, 154,7, 152,4, 141,7, 137,1, 132,4, 131,6, 130,6, 126,3, 123,9, 122,9, 122,8, 121,7, 112,2, 109,0, 61,8, 45,7, 31,8, 21,1. LCMS (ESI+) m/z 499/501 $(M+H)^+$.

5.57. *Етиловий естер 2-(2-{[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл)-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,07 (с, 3H, CH_3), 2,10-2,21 (м, 1H, CH_2CH), 2,38-2,42 (м, 1H, CH_2CH), 4,20 (шс, 2H, CH_2), 4,27-4,31 (м, 1H, CH_2CH), 7,19 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,24-7,27 (м, 1H, аром.), 7,48 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,92 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 8,36-8,40 (м, 3H, аром.), 8,63 (с, 1H, CH), 12,04 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 170,7, 169,8, 152,1,

147,6, 140,1, 137,8, 137,5, 130,7, 127,7, 126,2, 124,6, 124,5, 123,2, 122,0, 112,5, 110,4, 61,8, 45,8, 31,7, 21,2. LCMS (ESI+) m/z 466 $(M+H)^+$.

5.58. *Етиловий естер 2-{2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-оксо-тіазіолідин-5-іл}-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,39 (т, 3H, *J* = 7,4 Гц, CH_3), 2,01 (с, 3H, CH_3), 2,10-2,16 (м, 1H, CH_2), 2,31-2,36 (м, 1H, CH_2), 3,14 (кв, 2H, *J* = 7,4 Гц, CH_2), 4,11-4,17 (м, 1H, CH_2), 4,21-4,25 (м, 1H, CH_2), 4,30 (дд, 1H, *J* = 4,6, 3,2 Гц, 5-H, тіаз.), 7,41 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,50 (т, 2H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,99 (д, 2H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 8,60 (с, 1H, CH), 12,06 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,7, 170,6, 167,8, 150,0, 148,0, 147,1, 133,8, 132,3, 129,0, 128,9, 128,8, 124,3, 61,6, 35,1, 31,7, 25,7, 21,1, 13,0. LCMS (ESI+) m/z 457 $(M+H)^+$.

5.59. *2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-3-(фуран-2-ілметил)-5-(2-гідроксиетил)- тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,89-1,94 (м, 1H, $CHCH_2$), 2,25-2,32 (м, 1H, $CHCH_2$), 3,59-3,63 (м, 2H, CH_2), 4,37 (дд, *J* = 3,9, 9,2 Гц, 1H, CH), 4,85 (т, 1H, *J* =5,1 Гц, OH), 4,91 (с, 2H, CH_2), 6,36-6,37 (м, 1H, аром.), 6,39-6,41 (м, 1H, аром.), 7,27-7,31 (м, 2H, аром.), 7,49 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,58-7,59 (м, 1H, аром.), 7,69 (шс, 4H, аром.), 8,33 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 8,57 (с, 1H, CH), 12,12 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,8, 159,7, 153,7, 149,4, 143,0, 142,2, 137,0, 134,4, 131,4, 130,2, 129,6, 126,2, 123,9, 122,9, 121,8, 112,2, 111,1, 109,0, 108,9, 58,6, 44,8, 40,6, 36,4. LCMS (ESI+) m/z 493/495 $(M+H)^+$.

5.60. *Етиловий естер 2-(2-{[2-(4-хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-3-фуран-2-ілметил-4-оксо-тіазолідин-5-іл)-ацетатної кислоти*. 1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,01 (с, 3H, CH_3), 2,15-2,23 (м, 1H, $CHCH_2$), 2,35-2,42 (м, 1H, $CHCH_2$), 4,11-4,19 (м, 1H, $CHCH_2$),4,24-4,32 (м, 1H, CH_2), 4,47 (дд, 1H, *J* = 4,7, 7,9 Гц, $CHCH_2$), 4,92 (с, 2H, CH_2), 6,38-6,39 (м, 2H, аром.), 7,20 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.),7,28 (т, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,49 (д, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,57-7,89 (м, 1H, аром.), 7,69 (шс, 4H, аром.), 8,35 (д, 1H, *J* = 7,5 Гц, 1H), 8,58 (с, 1H, CH),12,13 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,3, 170,7, 159,5, 153,8, 149,3, 143,1, 142,3, 137,1, 134,4, 131,5, 130,2, 129,6, 126,2, 123,9, 122,9, 121,8, 112,3, 111,2, 109,2, 108,9, 61,7, 47,5, 44,6, 31,8, 21,1. LCMS (ESI+) m/z 535/537 $(M+H)^+$.

5.61. *Етиловий естер 2-[2-{[2-(4-хлорофеніл)-1Н-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-3-(4-гідроксифеніл)-4-оксо-тіазолідин-5-іл]-ацетатної кислоти.* 1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2,05 (с, 3Н, CH_3), 2,31 (м, 1Н, алкіл), 2,43 (м, 1Н, алкіл), 4,21-4,27 (м, 1Н, алкіл), 4,36 (м, 1Н, алкіл), 4,8 (дд , *J* = 4,3 Гц, *J* = 7,8 Гц, 1Н, алкіл), 6,85 (д, *J* = 8,7 2Н, Гц, аром.), 7,16 (д, *J* = 8,7 2Н, Гц, аром.), 7,19-7,28 (м, 2Н, аром.), 7,48 (д, *J* = 8,0 1Н, Гц, аром.), 7,63 (шс, 4Н, аром.), 8,38 (с 1Н, СН), 8,39 (д, *J* = 6,0 1Н, Гц), 9,78 (с, 1Н, ОН), 12,07 (с, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 179,4, 175,4, 166,5, 162,7, 158,0, 146,9, 141,8, 139,0, 136,1, 134,8, 134,5, 134,3, 131,4, 131,0, 128,6, 127,6, 126,5, 120,8, 117,0, 113,6, 66,60, 49,2, 36,7, 26,0. LCMS (ESI+) m/z 547/549 $(M+H)^+$.

5.62. *Етиловий естер 2-{2-[(2-етил-6-(4-нітрофеніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-3-(4-гідроксифеніл)-4-оксо-тіазолідин-5-іл}-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,37 (т, 3Н, *J* = 7,0 Гц, CH_3), 1,98 (с, 3Н, CH_3), 2,31-2,34 (м, 1Н, CH_2), 2,45-2,48 (м, 1Н, CH_2), 3,40 (кв, 2Н, *J* = 7,3 Гц, CH_2), 4,40-4,49 (м, 1Н, CH_2), 4,50-4,51 (м, 1Н, CH_2), 4,53 (м, 1Н, тіаз.), 6,90 (д, 2Н, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,30 (д, 2Н, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,80 (м, 2Н,аром.), 8,10-8,13 (м, 2Н, аром.), 8,53 (с, 1Н, СН), 9,83 (с, 1Н, ОН). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 171,0, 165,3, 161,9, 158,4, 152,6, 147,5, 146,2, 145,8, 142,0, 134,3, 132,0, 131,8, 130,5, 129,2, 122,0, 116,0, 60,9, 43,6, 32,9, 25,3, 21,0, 12,9. LCMS (ESI+) m/z 594 $(M+H)^+$.

Спектральні характеристики ^{1}H та ^{13}C ЯМР та LCMS 5-(2-оксо-етил)-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та {4-оксо-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетатних кислот **5.63-5.69**.

5.63. *5-(2-Оксо-2-фенілетил)-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 3,81 (м, 1Н, CH_2), 3,97 (м, 1Н, CH_2), 4,49 (м, 1Н, СН), 7,21 (м, 2Н, аром.), 7,46 (д, 1Н, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,52-7,70 (м, 4Н, аром.), 8,01 (д, 2Н, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,28 (д, 1Н, *J* = 7,6 Гц, аром.), 8,56 (с, 1Н, СН), 11,98 (с, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 197,6, 177,1, 169,7, 156,4, 143,3, 137,0, 136,2, 134,3, 131,4, 129,7, 129,5, 129,3, 128,6, 126,2, 123,6, 122,7, 121,7, 113,6, 112,2, 108,6, 43,5, 42,2. LCMS (ESI+) m/z 453 $(M+H)^+$.

5.64. *5-[2-(4-Флюорофеніл)-2-оксоетил]-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он.* ^{1}HNMR (DMSO-d_6): δ 3,60 (м, 1Н, CH_2), 3,90 (м, 1Н, CH_2), 4,40 (м, 1Н, CH), 7,20 (т, 2Н, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,38-7,46 (м, 1Н, аром.), 7,56 (т, 2Н, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,65 (д, 1Н, *J* = 8,3 Гц, аром.) 8,12 (t, 2Н, *J* = 8,4 Гц, аром.), 8,26 (м, 1Н, аром.), 8,56 (с, 1Н, CH), 11,63 (с, 1Н, NH), 11,70 (с, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 196,3, 179,4, 169,2, 162,6 (*J* = 230 Hz), 143,3, 137,0, 133,0, 131,8, 131,7 (*J* = 9 Hz), 131,4, 129,7, 129,5, 126,3, 123,7, 122,8, 121,7, 116,5 (*J* = 23 Hz), 116,3, 112,2, 108,7, 43,5, 42,2. LCMS (ESI+) m/z 471 $(M+H)^+$.

5.65. *5-[2-Оксо-2-(5,6,7,8-тетрагідронафтален-1-іл)-етил]-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 1,82 (шс, 2Н, CH_2), 2,83 (шс, 3Н, CH_2CH_2), 3,05 (шс, 3Н, CH_2CH_2), 3,58 (дд, 1Н, *J* = 10,0, 18,0 Гц, CH_2CH), 3,87-3,93 (м, 1Н, CH_2CH), 4,36 (дд, 1Н, *J* = 4,0, 9,7 Гц, CH), 7,12-7,19 (м, 2Н, аром.), 7,41-7,74 (м, 4Н, аром.),7,55 (t, 2Н, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,62 (д, 1Н, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,69-7,71 (м, 2Н, аром.), 8,26 (д, 1Н, *J* = 7,9 Гц, аром.), 8,57 (с, 1Н, CH=), 11,73 (с, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 197,3, 172,5, 168,0, 165,2, 143,9, 143,3, 137,7, 137,0, 133,8, 131,4, 129,9, 129,7, 129,5, 126,2, 125,6, 123,6, 122,7, 121,6, 112,2, 110,6, 110,4, 108,6, 42,2, 40,9, 29,5, 29,2, 22,9, 22,8. LCMS (ESI+) m/z 507 $(M+H)^+$.

5.66. *{4-Оксо-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетатна кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,86 (дд, 1Н, *J* = 8,5, 17,0 Гц, $CHCH_2$), 3,09 (дд, 1Н, *J* = 3,0, 17,0 Гц, $CHCH_2$), 4,28 (дд, 1Н, *J* = 3,1, 8,2 Гц, CH), 7,21 (т, 2Н, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,45 (т, 1Н, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,47 (д, 1Н, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,56 (т, 2Н, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,66 (д, 2Н, *J* = 7,7 Гц, аром.), 8,32 (д, 1Н, *J* = 7,32 Гц, аром.), 8,60 (с, 1Н, CH), 11,77 (с, 1Н, NH), 12,20 (шс, 1Н, COOH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 175,6, 171,9, 160,4, 152,8, 142,9, 137,0, 131,8, 129,6, 129,1, 128,9, 126,5, 123,2, 123,1, 121,3, 111,8, 108,8, 44,1, 37,8. LCMS (ESI+) m/z 393 $(M+H)^+$.

5.67. *(2-{[2-(4-Хлорофеніл)-1Н-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл)-ацетатна кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,93 (дд, 1Н, *J* = 8,5, 17,5 Гц, $CHCH_2$), 3,05 (дд, 1Н, *J* = 3,7, 17,5 Гц, $CHCH_2$), 4,39 (дд, 1Н, *J* = 3,7, 8,5 Гц, $CHCH_2$), 7,22 (д, 1Н, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,27 (д, 1Н, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,48 (д, 1Н, *J* =

7,9 Гц, аром.), 7,65 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,69 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 8,31 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 8,55 (с, 1H, CH), 12,01 (с, 1H, NH), 12,19 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176,0, 172,4, 172,2, 152,3, 141,7, 137,0, 134,3, 131,3, 130,2, 129,5, 126,2, 123,8, 122,8, 121,7, 112,2, 109,0, 44,1, 37,3. LCMS (ESI+) m/z 427/429 $(M+H)^+$.

5.68. *(2-{[2-(4-Бромофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл)-ацетатна кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,89-2,95 (м, 1H, $CHCH_2$), 3,05 (дд, 1H, *J* = 3,7, 17,5 Гц, $CHCH_2$), 4,38 (дд, 1H, *J* = 3,7, 8,5 Гц, $CHCH_2$), 7,22 (т, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,48 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.),7,62 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,79 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 8,30 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 12,05 (с, 1H, NH), 12,27 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176,0, 172,2, 152,3, 141,7, 137,1, 132,4, 131,6, 130,593, 126,3, 123,9, 122,9, 122,8, 121,7, 112,2, 108,9, 44,1, 37,3. LCMS (ESI+) m/z 471/473 $(M+H)^+$.

5.69. *{2-[(2-Алілсульфаніл-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-оксо-тіазоілдин-5-іл}-ацетатна кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,88-2,92 (m, 1H, CH_2), 2,97-3,04 (м, 1H, CH_2), 4,05 (шс, 2H, CH_2), 4,38 (шс, 1H, CH), 5,22 (д, 1H, *J* = 9,1 Гц, CH), 5,47 (д, 1H, *J* = 16,4 Гц, CH), 6,00-6,05 (м, 1H, CH_2), 7,41 (шс, 1H, arom.), 7,49 (шс, 2H, аром.), 7,92-7,95 (м, 2H, аром.), 8,57 (с, 1H, CH), 12,40 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 194,3, 175,9, 172,2, 161,1, 147,9, 147,7, 144,3, 133,6, 132,8, 129,0, 128,9, 128,7, 120,3, 119,7, 44,2, 37,2, 36,8. LCMS (ESI+) m/z 473 $(M+H)^+$.

Спектральні характеристики ^{1}H та ^{13}C ЯМР та LCMS (2-{4-оксо-2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетиламіно)-алканкарбонових кислот **5.70-5.72.**

5.70. *(2-{4-Оксо-2-[(2- феніл-1H-індол-3-ілметилен)- гідразоно]- тіазолідин-5-іл}-ацетиламіно)-ацетатна кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,53 (шс, 2H, CH_2), 2,76 (дд, 1H, *J* = 9,5, 16,4 Гц, $CHCH_2$), 3,03-3,08 (м, 1H, $CHCH_2$), 3,79-3,81 (м, 2H, CH_2CH_2), 4,33 (дд, 1H, *J* = 3,2, 9,5 Гц, $CHCH_2$), 7,32 (м, 2H, arom.), 7,46 (д, 1H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,52 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,58 (t, 2H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,62-7,66 (м,

2H, аром.), 7,28 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 8,42-8,44 (м, 1H, аром.), 8,54 (с, 1H, CH), 11,99 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176,4, 171,7, 169,9, 152,6, 143,2, 137,0, 131,4, 129,7, 129,5, 126,3, 123,6, 122,8, 121,7, 112,2, 108,6, 44,5, 41,3, 38,3. LCMS (ESI+) m/z 450 $(M+H)^+$.

5.71. *3-(2-{4-Оксо-[(2- феніл-1H-індол-3-ілметилен)- гідразоно]- тіазолідин-5-іл}- ацетиламіно)-пропіонова кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 2,42 (т, 2H, *J* = 6,7 Гц, CH_2CH_2), 2,68 (dd, 1H, *J* = 9,8, 16,0 Гц, $CHCH_2$), 2,95-2,99 (м, 1H, $CHCH_2$), 2,89-3,02 (м, 2H, CH_2CH_2), 4,33 (дд, 1H, *J* = 2,8, 9,5 Гц, $CHCH_2$), 7,25 (т, 2H, *J* =8,8 Гц, аром.), 7,47 (м, 1H, аром.), 7,52 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,59 (т, 2H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,65-7,67 (м, 2H, аром.), 8,17 (шс, 1H, аром.), 8,31 (д, 1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 8,57 (с, 1H, CH), 11,99 (шс, 2H, 2xNH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176,4, 173,3, 169,5, 152,6, 143,2, 137,0, 131,4, 129,7, 129,4, 126,3, 123,6, 122,8, 121,7, 112,1, 108,6, 44,6, 38,5, 35,4, 34,3. LCMS (ESI) m/z 464 $(M+H)^+$.

5.72. *6-(2-{4-Оксо-[(2- феніл-1H-індол-3-ілметилен)- гідразоно]- тіазолідин-5-іл}-ацетиламіно)-гексанова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 1,26-1,29 (м, 2H, CH_2), 1,42 (т, 2H, *J* = 6,6 Гц, CH_2), 1,49 (т, 2H, *J* = 6,7 Гц, CH_2), 2,17 (т, 2H, *J* = 6,9 Гц, CH_2), 2,65 (дд, 1H, *J* = 10,0, 15,1 Гц, $CHCH_2$), 2,95-2,98 (м, 1H, CH_2), 3,04-3,05 (м, 2H, CH_2), 3,37 (шс, 1H, CH_2), 4,32-4,34 (м, 1H, $CHCH_2$), 7,20-7,26 (м, 2H, аром.), 7,46-7,52 (м, 2H, аром.), 7,56-7,59 (м, 1H, аром.), 7,61-7,66 (м, 2H, аром.), 8,05 (шс, 1H, аром.), 8,29 (м, 1H, аром.), 8,55 (с, 1H, CH), 11,89 (с, 1H, NH), 11,99 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 173,4, 169,2, 143,2, 142,7, 137,0, 131,4, 130,4, 129,7, 129,4, 129,2, 126,3, 123,6, 122,8, 121,6, 112,2, 108,6, 44,8, 39,0, 38,7, 34,2, 29,3, 26,4, 24,7. LCMS (ESI) m/z 506 $(M+H)^+$.

Спектральні характеристики ^{1}H та ^{13}C ЯМР та LCMS етилових естерів 2-{N'-[2-(4-феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразино}-4-метил-тіазол-5-карбонових кислот **5.73-5.74**, етилового естеру 3-(4-гідроксифеніл)-4-метил-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової кислоти **5.75**, (N-[4-(4-феніл)-тіазол-2-іл]-N'-[2-(4-феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразинів **5.76-5.79** та

4-(4-(4-нітрофеніл)-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-тіазол-3-іл)-фенолу **5.80**

5.73. *Етиловий естер 2-{N'-[2-(4-хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразино}-4-метил-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,31 (т, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 2,48 (с, 3H, CH_3), 4,23 (кв, 2H, J = 7,0 Гц, CH_2), 7,24-7,29 (м, 2H, аром.),7,49 (д, 1H, J = 6,5 Гц, аром.), 7,69 (шс, 4H, аром.), 8,28 (д, 1H, J = 6,0 Гц, аром.), 8,39 (с, 1H, CH), 12,00 (с, 1H, NH), 12,12 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 162,6, 140,5, 137,1, 134,2, 131,4, 130,4, 129,5, 125,7, 123,9, 122,3, 121,7, 112,3, 108,6, 60,5, 18,0, 14,9. LCMS (ESI) m/z 439 $(M+H)^+$.

5.74. *Етиловий естер 4-метил-2-{N'-[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразино}-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,30 (т, 3H, J = 7,0 Гц, CH_3), 2,47 (с, 3H, CH_3), 4,17-4,26 (м, 2H, CH_2), 7,31 (т, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,52 (т, 1H, J = 7,4 Гц, аром.), 7,94 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,25- (д, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 8,31 (д, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 8,41 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,45 (с, 1H, CH), 12,2 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 162,6, 147,8, 147,5, 146,7, 141,7, 138,8, 137,9, 137,5, 130,6, 127,4, 124,5, 124,2, 122,6, 122,0, 119,3, 112,5, 110,1, 60,6, 17,9, 14,9. LCMS (ESI) m/z 450 $(M+H)^+$.

5.75. *Етиловий естер 3-(4-гідроксифеніл)-4-метил-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,31 (т, 3H, J = 7,1 Гц, CH_3), 2,18 (с, 3H, CH_3), 4,27 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2), 6,89 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,24 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,27-7,33 (м, 2H, аром.), 7,50 (д, 1H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,87 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,35-8,41 (м, 4H, аром.), 9,39 (шс, 1H, OH), 12,16 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 173,8, 166,0, 162,1, 158,5, 149,1, 148,6, 148,0, 147,4, 139,2, 138,0, 137,4, 130,6, 130,3, 127,6, 126,1, 124,6, 124,4, 123,1, 121,9, 116,6, 112,4, 110,8, 102,4, 61,1, 14,8, 14,4. LCMS (ESI) m/z 542 $(M+H)^+$.

5.76. *(N-[4-(4-Бромофеніл)-тіазол-2-іл]-N'-[2-(4-хлорофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразин.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ 7,22 (т, 1H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,27 (t, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,38 (с, 1H, CH), 7,47 (д, 1H, J = 7,7 Гц, аром.), 7,60 (d, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,68 (шс, 4H, аром.), 7,81 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 8,33 (д, 1H, J = 7,6 Гц,

аром.), 8,38 (с, 1H, CH), 11,91 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ 164,5, 159,4, 147,2, 145,0, 139,0, 138,4, 137,5, 134,2, 131,7, 130,2, 129,8, 128,0, 123,9, 124,0, 122,5, 121,7, 120,8, 119,0, 111,8, 103,8. LCMS (ESI) m/z 507/509 $(M+H)^+$.

5.77. *N-[2-(4-Нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-N'-(4-феніл-тіазол-2-іл)-гідразин.* ^{1}H NMR (DMSO-*d*$_6$): δ 7,15-7,30 (м, 1H, аром.), 7,31-7,37 (м, 2H, аром.), 7,43 (т, 2H, *J* = 7,3 Гц, аром.),7,47-7,54 (м, 2H, аром.), 7,64-7,72 (м, 1H, аром.), 7,88 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,96 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 8,13-8,20 (м, 1H, аром.), 8,43 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 8,48 (с, 1H, CH), 12,15 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ 168,8, 161,4, 149,9, 147,4, 139,6, 138,1, 137,6, 134,6, 130,5, 129,1, 128,2, 126,1, 125,7, 124,5, 124,5, 122,8, 121,8, 112,5, 110,4, 103,7. LCMS (ESI) m/z 440 $(M+H)^+$.

5.78. *N-[4-(4-Бромофеніл)-тіазол-2-іл]-N'-[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразин.* ^{1}H NMR (DMSO-*d*$_6$): δ 77,22 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,27 (т, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,42-7,47 (м, 2H, аром.), 7,58-7,60 (м, 2H, аром.), 7,68 (шс, 4H, аром.), 7,81 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 8,43 (м, 1H, аром.), 8,98 (с, 1H, CH), 12,13 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ 164,6, 155,9, 147,4, 144,6, 139,0, 138,1, 137,5, 134,4, 132,0, 130,4, 130,1, 128,0, 124,5, 124,1, 122,8, 121,7, 121,0, 119,3, 112,4, 104,5. LCMS (ESI) m/z 519/520 $(M+H)^+$.

5.79. *N-[2-(4-Нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-N'-[4-(4-нітрофеніл)-тіазол-2-іл]-гідразин.* ^{1}H NMR (DMSO-*d*$_6$): δ 7,27 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,33 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,51 (д, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 7,72 (с, 1H, аром.), 7,94 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 8,12 (д, 2H, *J* = 8,7 Гц, аром.), 8,28 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 8,37 (д, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 8,43 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 8,45 (с, 1H, CH), 12,13 (с, 1H, NH).^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ 167,3, 166,8, 147,4, 146,6, 138,1, 137,5, 130,4, 130,1, 126,8, 126,8, 125,7, 24,9, 124,5, 124,5, 124,1, 121,8, 119,3, 112,4, 110,4, 108,4. LCMS (ESI) m/z 485 $(M+H)^+$.

5.80. *4-(4-(4-Нітрофеніл)-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-тіазол-3-іл)-фенол*. ^{1}HNMR (DMSO-d$_6$), (ppm): 6,65 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 6,78 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 7,14 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 7,23 (д, *J* = 8,5 Гц, 1H), 7,27-7,36 (м, 2H), 7,47 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 7,50-7,53 (м, 1H), 7,60 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 7,89 (м, 2H),

7,95 (с, 1Н,), 8,11-8,17 (м, 2Н), 8,37-8,42 (м, 2Н, аром.), 9,75 (шс, 1Н, ОН), 12,20 (шс, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМSO-*д*$_6$): δ 168,8, 162,8, 148,2, 147,7, 147,7, 137,6, 137,5, 132,2, 130,8, 130,5, 130,2, 125,7, 124,6, 123,9, 122,8, 122,2, 116,8, 116,1, 112,7, 112,0, 111,0, 109,9, 109,8, 109,0. LCMS (ESI) m/z 577 $(M+H)^+$.

Спектри ^{1}Н та ^{13}С ЯМР та мас-спектри етилових естерів 2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонових кислот **5.81-5.83**, та 2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-3-(4-гідроксифеніл)-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонових кислот **5.84-5.86**

Спектри ^{1}Н ЯМР похідних 2-[(імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолу характеризуються наявністю сигналу метиліденового протону у положенні 5 імідазотіадіазольного циклу при δ ~ 8,35-8,53 м.ч., або інколи сигнал цього протону утворює мультиплет разом з ароматичними протонами. Останні залежно від замісників у фенільних циклах утворюють дублети, триплети чи мультеплети у діапазоні від 6,90 до 8,31-8,45 м.ч. Етиловий фрагмент в етилових естрах 2-гідразоно-4-метил-тіазол-5-карбонових кислот **5.81-5.86** утворюють триплет і квартет при 1,37-1,43 м.ч. та 4,20-4,24 м.ч. відповідно. С-5 протон тіазольного циклу утворює синглет при δ ~ 7,69-7,73 м.ч. у 3-незаміщених похілних **5.87-5.90** та синглет при δ ~ 6,71-6,94 м.ч. у 4-{2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-феніл-тіазол-3-іл}-фенолах **5.91-5.95.**

5.81. *Етиловий естер 2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ 1,28 (т, 3Н, *J* = 7,1 Гц, CH_3), 1,43 (т, 3Н, *J* = 7,4 Гц, CH_3), 2,47 (с, 3Н, CH_3), 3,15 (кв, 2Н, *J* = 7,4 Гц, CH_2), 4,20 (кв, 2Н, *J* = 7,1 Гц, CH_2), 7,42 (т, 1Н, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,50 (т, 2Н, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,86 (д, 2Н, *J* = 7,3 Гц, аром.), 8,42 (с, 1Н, 5-CH=, імідаз.), 12,36 (с, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ 177,0, 167,3, 162,4, 157,4, 146,4, 134,0, 129,0, 128,7, 128,6, 121,8, 118,159, 115,1, 104,9, 60,6, 25,7, 21,1, 14,7, 12,6. LCMS (ESI) m/z 441 $(M+H)^+$.

5.82. *Етиловий естер 2-{[2-етил-6-(4-нітрофеніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,30 (т, 3H, J = 7,0 Гц, CH_3), 1,42 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 2,36 (шс, 3H, CH_3), 3,17-3,20 (м, 2H, CH_2), 4,19-4,22 (м, 2H, CH_2), 8,32-8,35 (м, 3H, аром.), 8,51-8,53 (м, 2H, аром.). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 174,3, 164,0, 163,8, 151,9, 149,4, 144,9, 142,9, 135,4, 128,8, 124,2, 116,7, 110,5, 106,1, 58,4, 24,5, 20,7, 14,6, 12,9. LCMS (ESI) m/z 485 $(M+H)^+$.

5.83. *Етиловий естер 2-{[6-(4-бромофеніл)-2-етил-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,30 (т, 3H, J = 7,1 Гц, CH_3), 1,42 (т, 3H, J = 7,3 Гц, CH_3), 2,46 (с, 3H, CH_3), 3,14 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2), 4,20 (кв, 2H, J = 6,9 Гц, CH_2), 7,65 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,93 (д, 2H, J = 8,0 Гц, аром.), 8,44 (с, 1H, CH=). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,1, 166,0, 164,2, 152,3, 149,1, 145,0, 142,6, 135,2, 128,6, 124,0, 116,0, 110,3, 106,2, 62,7, 23,4, 19,6, 14,7, 12,8. LCMS (ESI) m/z 611/613 $(M+H)^+$.

5.84. *Етиловий естер 2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-3-(4-гідроксифеніл)-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,30 (т, 3H, J = 7,1 Гц, CH_3), 1,43 (т, 3H, J = 7,5 Гц, CH_3), 2,19 (с, 3H, CH_3), 3,13 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2), 4,24 (кв, 2H, J = 6,9 Гц, CH_2), 6,90 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,23 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,38 (т, 1H, J = 7,1 Гц, аром.), 7,46 (т, 2H, J = 7,4 Гц, аром.), 7,95 (д, 2H, J = 7,3 Гц, аром.), 8,36 (с, 1H, CH=), 9,88 (шс, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 167,1, 162,0, 158,5, 148,3, 146,6, 135,9, 134,0, 132,6, 130,2, 128,9, 128,5, 127,4, 120,1, 119,9, 116,6, 111,4, 107,5, 61,1, 25,7, 14,7, 14,3, 12,6. LCMS (ESI) m/z 533 $(M+H)^+$.

5.85. *Етиловий естер 2-{[2-етил-6-(4-нітрофеніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-3-(4-гідроксифеніл)-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової ксилоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,29 (т, 3H, J = 7,1 Гц, CH_3), 1,37 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 2,17 (с, 3H, CH_3), 3,09 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2), 4,21 (кв, 2H, J = 7,0 Гц, CH_2), 6,90 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,23 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,23 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 8,37 (с, 1H, 5-CH=, імідаз.), 8,40 (д, 2H, J =

8,8 Гц, аром.), 9,82 (шс, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 177,9, 168,3, 163,2, 158,6, 154,5, 142,9, 140,6, 140,5, 135,84, 130,1, 129,0, 123,8, 123,8, 116,6, 109,7, 105,8, 104,4, 60,6, 25,7, 14,5, 14,2, 12,6. LCMS (ESI) m/z 578 $(M+H)^+$.

5.86. *Етиловий естер 2-{[6-(4-бромофеніл)-2-етил-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-3-(4-гідроксифеніл)-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,32 (т, 3H, J = 7,1 Гц, CH_3), 1,40 (т, 3H, J = 7,3 Гц, CH_3), 2,19 (с, 3H, CH_3), 3,11 (кв, 2H, J = 7,2 Гц, CH_2), 4,24 (кв, 2H, J = 7,1 Гц, CH_2), 6,91 (д, 2H, J = 8,1 Гц, аром.), 7,23 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,62 (д, 2H, J = 8,1 Гц, аром.), 8,02 (д, 2H, J = 8,0 Гц, аром.), 8,37 (с, 1H, 5-CH=, імідаз.), 9,85 (с, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 170,52, 165,7, 162,3, 149,5, 144,0, 141,5, 140,9, 136,0, 131,9, 131,8, 131,2, 130,4, 130,3, 130,2, 122,8, 120,5, 118,5, 116,5, 114,6, 108,2, 25,7, 13,0. LCMS (ESI) m/z 611/613 $(M+H)^+$.

Спектри ^{1}H та ^{13}C ЯМР та мас-спектри N-(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-N'-[4-(4-феніл)-3*H*-тіазол-2-іліден]-гідразинів **5.87-5.90**, 4-{2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-феніл-тіазол-3-іл}-фенолів **5.91-5.95**.

5.87. *N-(2-Етил-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-N'-[4-(4-нітро-феніл)-3H-тіазол-2-іліден]-гідразин.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,42 (т, 3H, J = 7,2 Гц, CH_3), 3,15 (кв, 2H, J = 7,3 Гц, CH_2CH_3), 7,42 (т, 1H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,52 (т, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,73 (с, 1H, тіаз.), 7,88 (д, 2H, J = 7,4 Гц, аром.), 8,10 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 8,27 (д, 2H, J = 8,0 Гц, аром.), 8,42 (с, 1H, 5-CH=, імідаз.), 12,27 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 169,0, 167,4, 149,0, 147,3, 146,7, 146,0, 141,2, 134,1, 131,1, 129,0, 128,6, 126,8, 124,6, 119,6, 112,6, 109,4, 25,7, 13,0. LCMS (ESI) m/z 476 $(M+H)^+$.

5.88. *N-[2-Етил-6-(4-нітро-феніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-N'-[4-(4-нітро-феніл)-3H-тіазол-2-іліден]-гідразин.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,42 (т, 3H, J = 7,4 Гц, CH_3), 3,14 (кв, 2H, J = 7,4 Гц, CH_2CH_3), 7,69 (с, 1H, 5-H, тіаз.), 8,08 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 8,25 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 8,31 (шс, 4H, аром.), 8,49 (с, 1H, 5-CH=, імідаз.), 12,36 (шс, 1H, NH, тіаз.). ^{13}C NMR (100 MHz,

DMSO-d_6): δ 171,9, 169,2, 147,0, 146,5, 141,0, 135,2, 134,0, 132,5 130,9, 129,0, 128,2, 124,3, 121,0, 121,2 105,0, 25,6, 13,2. LCMS (ESI) m/z 521 $(M+H)^+$.

5.89. *N-[4-(4-Бромо-феніл)-тіазол-2-іл]-N'-[2-етил-6-(4-нітро-феніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразин.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 1,41 (т, 3H, *J* = 7,4 Гц, CH_3), 3,16 (кв, 2H, *J* = 7,4 Гц, CH_2), 7,44 (с, 1H, аром.), 7,60 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,80 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 8,33 (шс, 4H, аром.), 8,49 (с, 1H, CH), 12,14 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 172,5, 168,6, 147,2, 146,8, 140,7, 135,6, 134,2, 132,0, 130,2, 129,0, 128,0, 124,1, 121,4, 121,0, 105,5, 25,7, 13,0. LCMS (ESI) m/z 554/556 $(M+H)^+$.

5.90. *N-[6-(4-Бромо-феніл)-2-етил-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-N'-[4-(4-нітро-феніл)-3H-4-тіазол-2-іл]-гідразин.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-$д_6$): δ 1,40 (т, 3H, *J* = 7,4 Гц, CH_3), 3,14 (кв, 2H, *J* = 7,4 Гц, CH_2), 7,69 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,72 (с, 1H, 5-H, тіаз.), 7,92 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 8,09 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 8,26 (д, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 8,41 (с, 1H, CH=), 12,31 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-$д_6$): δ 167,8, 155,3, 146,7, 143,9, 133,4, 131,9, 131,8, 130,4, 126,8, 124,6, 121,8, 121,7, 119,8, 116,4, 109,1, 25,7, 13,0. LCMC (ECI) м/z 554/556 $(M+H)^+$.

5.91. *4-{2-[(2-Етил-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-феніл-тіазол-3-іл}-фенол.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-$д_6$): δ 1,43 (т, 3H, *J* = 7,4 Гц, CH_3), 3,14 (кв, 2H, *J* = 7,4 Гц, CH_2), 6,65 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,07 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,20-7,29 (м, 5H, аром.), 7,39 (т, 2H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,47 (т, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,90 (д, 2H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 8,35 (с, 1H, CH=), 9,75 (шс, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-$д_6$): δ 170,5, 167,6, 158,2, 147,9, 147,0, 141,5, 139,7, 133,9, 130,3, 129,3, 129,3, 129,0, 128,7, 128,6, 128,5, 127,6, 119,6, 116,4. LCMS (ESI) m/z 523 $(M+H)^+$.

5.92. *4-(4-(4-Бромо-феніл)-2-{[2-етил-6-(4-нітро-феніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-тіазол-3-іл)-фенол.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-$д_6$): δ 1,39 (т, 3H, *J* = 7,3 Гц, CH_3), 3,13 (кв, 2H, *J* = 7,3 Гц, CH_2), 6,71 (с, 1H, тіаз.), 6,75 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,07 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,13 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 7,46 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 8,30 (д, 2H, *J* = 8,7 Гц, аром.), 8,45-8,48 (м,

3H, аром., 5-CH=, імідаз.), 9,81 (шс, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-*д*$_6$): δ 170,8, 162,4, 152,4, 149,7, 145,2, 140,0, 137,5, 135,4, 132,9, 131,7, 130,9, 130,3, 128,9, 124,0, 122,1, 121,0, 120,7, 117,5, 116,2, 110,0, 106,8, 100,9, 25,7, 12,9. LCMC (ECI) м/z 646/648 $(M+H)^+$.

5.93. *4-[2-{[2-Етил-6-(4-нітро-феніл)-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-4-(4-нітро-феніл)-тіазол-3-іл]-фенол.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*$_6$): δ 1,39 (т, 3H, *J* = 7,2 Гц, CH_3), 3,14 (м, 2H, CH_2), 6,77-6,82 (м, 2H, Гц, аром.), 6,79 (с, 1H, тіаз.), 7,19-7,25 (м, 4H, аром.), 7,52 (м, 2H, аром.), 7,72 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 8,12 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 8,53 (с, 1H, =CH), 9,82 (шс, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-*д*$_6$): δ 171,2, 163,0, 152,6, 149,6, 145,7, 139,9, 137,6, 135,4, 133,0, 131,2, 131,5, 130,3, 129,0, 124,0, 122,0, 121,3, 120,6, 118,1, 116,1, 110,6, 106,8, 100,9, 25,6, 12,8. LCMC (ECI) м/z 613 $(M+H)^+$.

5.94. *4-(4-(4-Бромо-феніл)-2-{[6-(4-бромо-феніл)-2-етил-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-тіазол-3-іл)-фенол.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*$_6$): δ 1,41 (т, 3H, *J* = 7,0 Гц, CH_3), 3,14 (кв, 2H, *J* = 7,5 Гц, CH_2CH_3), 6,78 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 6,82 (с, 1H, тіаз.), 7,12-7,16 (м, 4H, аром.), 7,48 (д, 2H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,68 (д, 2H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 8,05 (д, 2H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 8,50 (с, 1H, 5-CH=, імідаз.), 9,80 (шс, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-*д*$_6$): δ 166,3, 162,3, 151,4, 149,5, 146,1, 144,3, 144,0, 136,0, 131,9, 131,7, 131,2, 130,4, 130,3, 130,2, 129,6, 129,3, 116,5, 115,4, 114,6, 25,7, 13,0. LCMC (ECI) м/z 679/681/683 $(M+H)^+$.

5.95. *4-[2-{[6-(4-Бромо-феніл)-2-етил-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-4-(4-нітро-феніл)-тіазол-3-іл]-фенол.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*$_6$): δ 1,38 (т, 3H, *J* = 7,4 Гц, CH_3), 3,11 (кв, 2H, *J* = 7,4 Гц, CH_2CH_3), 6,75 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 6,94 (с, 1H, 5-H, тіаз.), 7,11 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,43 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,68 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 8,07-8,11 (м, 4H, аром.), 8,41 (с, 1H, CH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-*д*$_6$): δ 170,1, 163,5, 151,6, 149,2, 146,1, 144,3, 143,8, 136,2, 132,1, 131,8, 131,2, 130,4, 130,3, 130,2, 129,6, 129,4, 116,6, 115,4, 114,6, 25,7, 12,9. LCMC (ECI) м/z 646/648 $(M+H)^+$.

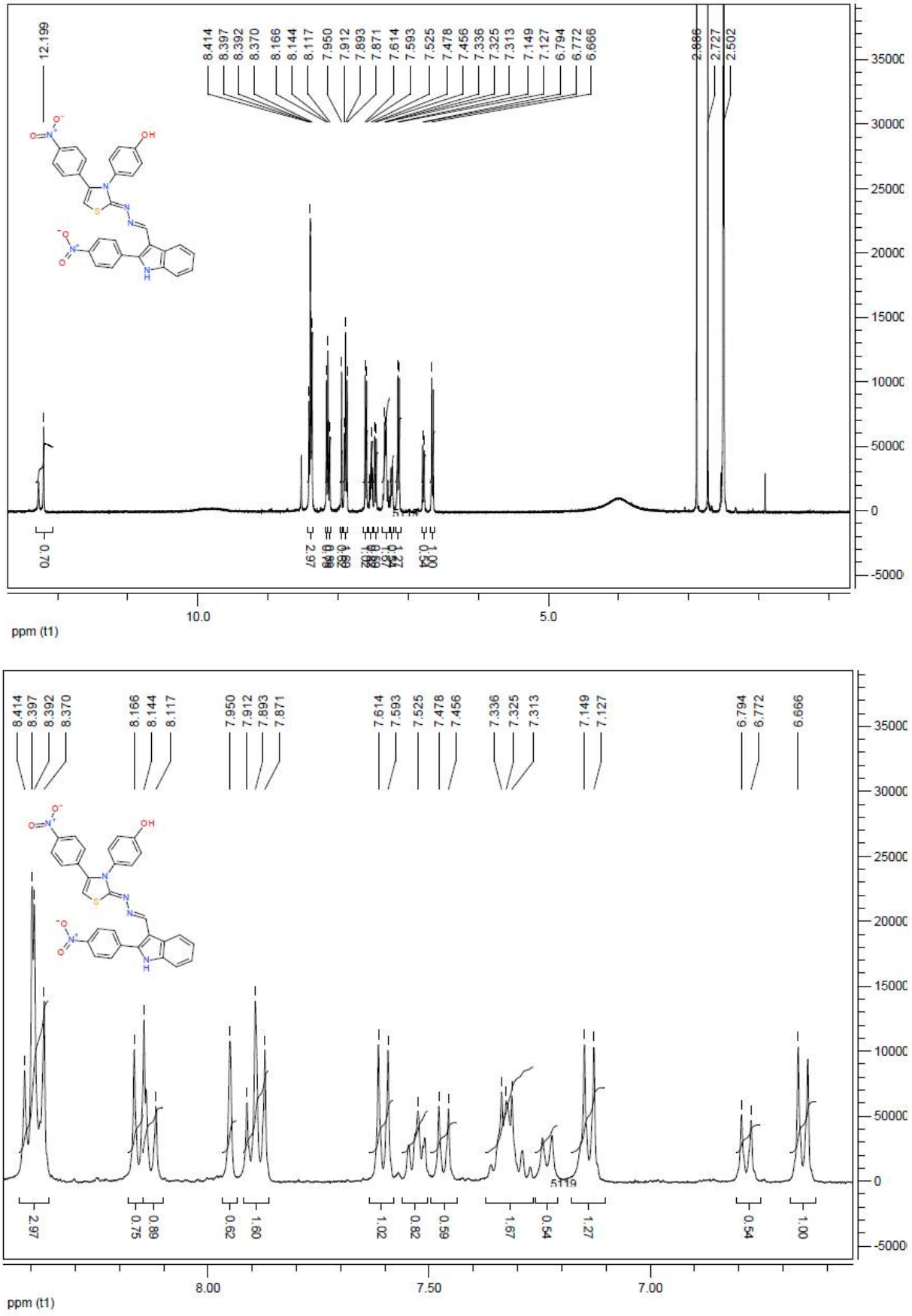


Рис. 5.4. Спектр МР ^{1}H 4-(4-(4-нітрофеніл)-2-{[2-(4-нітрофеніл)-1H-індол-3-ілметилен]-гідразоно}-тіазол-3-іл)-фенолу **5.80.**

5.4. Протипаразитарна активність тіазолідинон(тіазол)-індол(імідазотіадіазол) вмісних гібридів

5.4.1. Скринінг протитрипаносомної активності

Синтезовані тіазолідон/тіазол-феніліндол/імідазотіадіазольні гібридні молекули досліджувалися на предмет протипаразитарної активності на *Tb gambiense* (*Tbg*) та *Tb brucei (Tbb)* в *in vitro* експериментах [120,325,363,364]. Передумовою такого скринінгу стала доведена протитрипаносомна активність ряду сполук, що містять [6+5] та [5+5] гетероцикли. Так, наприклад, комбінація інданонового циклу із тіазольними фрагментами в одній молекулі забезпечила трипаноцидну активність похідних 1-інданон-тіазолілгідразонів щодо *T. cruzi* (штам Tulahuen 2) [164]. Також, інденовий цикл є наявним в молекулі індатраліну – неселективного інгібітора захоплення моноаміну, аналоги якого були активними відносно трипанотіон редуктази [92]. Такі похідні індазолу, як 3-алкокси-1-алкіліндазоли, 2-дизаміщені індазолін-3-они з нітро групою в С5 положенні та 2,3-заміщені індазол-1-оксиди були активними в *in vitro* дослідженнях на *T cruzi* [165,166]. Молекули із фталімідним фрагментом, який можна вважати біоізостером індолу, також виявили трипаноцидну активність щодо *T cruzi,* діючи, навіть, селективніше, ніж Бензнідазол [169].

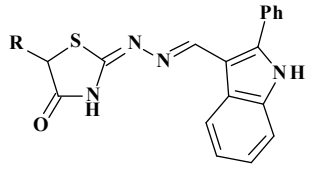
Синтезовані речовини досліджувалися в *in vitro* експерименті на *Tb brucei* (штам 90-13) (табл. 5.6) та *Tb gambiense* (табл. 5.7-5.8). При цьому обчислювалася концентрація напівмаксимального інгібування росту паразитів $IC_{50.}$

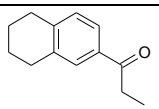
Після встановлення значного протитрипаносомного ефекту досліджуваних похідних в експериментах на *Tb brucei,* ряд 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів тестувався на *Tb gambiense* (табл. 4.7). Досліджено вплив замісників в *napa*-положенні фенольного кільця та в N3-положенні 4-тіазолідонового кільця. Сполуки-хіти **5.63**, **5.29** та **5.52,** знайдені в попередньому дослідженні інгібували ріст паразитів при таких ж рівнях концентрацій. Цікаво, що

заміна гідрогену в С5 положенні тіазолідону (**5.27**) на метильну (**5.28**), етильну (**5.29**) або метокси-пропіонільну (**5.52**) групи не впливала на активність.

Таблиця 5.6

Величини IC_{50}, мкМ досліджені для похідних 4-тіазолідонів із індольним фрагментом на *Trypanosoma brucei brucei*



№ п\п	R	IC_{50}, мкМ
1	2	3
5.29	Et	0,03 ± 0,004
5.52	$MeCOO(CH_2)_2$	0,06 ± 0,003
5.51	$OHCH_2CH_2$	0,17 ± 0,004
5.49	4-$EtCOOC_6H_4NHCOCH_2$	6,86 ± 0,261
5.63	Ph-$COCH_2$	7,73 ± 0,310
5.47	4-Br C_6H_4-$NCOCH_2$	7,86 ± 0,260
5.46	4-Cl-C_6H_4-$NHCOCH_2$	9,16 ± 1,142
5.64	4-F-C_6H_4-$COCH_2$	10,63 ± 1,810
5.65		13,13 ± 0,97
5.72	$HOOC-(CH_2)_5-NH-COCH_2$	14,04 ± 0,830
5.71	$HOOC-(CH_2)_2-NH-COCH_2$	34,84 ± 0,450

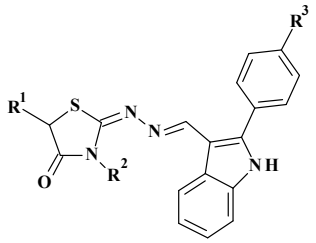
Дані є виражені як середнє значення ± СВ

Це спостереження може свідчити про необхідність наявності феніл-індольного та тіазолідонового фрагментів в молекулах для виявлення трипаноцидних властивостей. Порівнюючи сполуки із метилфурановим (**5.38-5.40**) та *п*-оксо-фенільним (**5.41-5.43**) замісниками в N3 положенні тіазолідону та їхні незаміщені аналоги (**5.27-5.29**), можна зробити висновок, що заміщення даного положення не є ессенціальним. Хоча, *п*-окси-фенільний фрагмент є більш вигідним, ніж 2-метилфуран. Введення атомів галогену, так як і нітро групи у фенольне кільце не впливало на анти-трипаносомну активність, крім похідного **5.45,** що показало відмінне інгібування росту, підтверджуючи переваги етильної групи у С5 та *п*-окси-фенільного фрагменту в N3 положенні тіазолідонового кільця. В загальному 2-[(2-

феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-они показали дуже добрі трипаноцидні властивості, інгібуючи ріст *Tb gambiense* у мікро- та субмікромолярних концентраціях.

Таблиця 5.7

Ефективні концентрації IC_{50}, мкМ для похідних 2-[(2-феніл-1H-індол-3-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-4-ону на *Trypanosoma brucei gambiense*



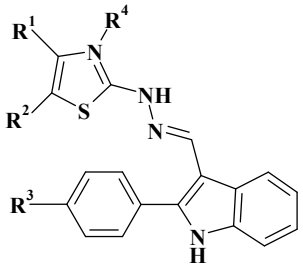
№ п\п	R^1	R^2	R^3	IC_{50},мкМ
1	2	3	4	5
5.27	H	H	H	0,23 ± 0,009
5.28	Me	H	H	0,21± 0,014
5.29	Et	H	H	0,11± 0,040
5.52	$MeCOO(CH_2)_2$	H	H	0,23 ± 0,014
5.63	$PhCOCH_2$	H	H	2,82 ± 0,426
5.30	H	H	Cl	3,93 ± 0,363
5.31	Me	H	Cl	2,22 ± 0,071
5.32	Et	H	Cl	1,42 ± 0,098
5.53	$OHCH_2CH_2$	H	Cl	1,49 ± 0,104
5.59	$OHCH_2CH_2$	фуран-2-ілметил	Cl	1,40 ± 0,158
5.54	$MeOOCCH_2CH_2$	H	Cl	1,34 ± 0,057
5.61	$MeOOCCH_2CH_2$	4-OHC_6H_4	Cl	0,38 ± 0,080
5.60	$MeOOCCH_2CH_2$	фуран-2-ілметил	Cl	1,59 ± 0,084
5.38	H	фуран-2-ілметил	Cl	7,31 ± 1,354
5.39	Me	фуран-2-ілметил	Cl	1,71 ± 0,194
5.40	Et	фуран-2-ілметил	Cl	1,71 ± 0,161
5.41	H	4-OHC_6H_4	Cl	0,82 ± 0,111
5.42	Me	4-OHC_6H_4	Cl	1,17 ± 0,126
5.43	Et	4-OHC_6H_4	Cl	0,86 ± 0,076
5.33	Me	H	Br	1,35 ± 0,126
5.34	Et	H	Br	1,50 ± 0,111
5.55	$OHCH_2CH_2$	H	Br	3,34 ± 0,534
5.56	$MeOOCCH_2CH_2$	H	Br	1,36 ± 0,018
5.36	Me	H	NO_2	4,70 ± 0,500
5.37	Et	H	NO_2	6,20 ± 2,200
5.45	Et	4-OHC_6H_4	NO_2	0,14 ± 0,010

Дані є виражені як середнє значення ± СВ

Наступним кроком у встановленні взаємозв'язку структура-активність стало дослідження впливу 4-тіазолідонового кільця, шляхом заміни його на тіазол (табл. 5.8). В загальному, величини IC_{50} залишилися на такому ж рівні. Етилацетатна група в С5 положенні тіазолу у сполуках **5.73, 5.74** та **5.75** позитивно впливала на інгібування росту трипаносом, відповідно активні концентрації IC_{50} для цих похідних були на порядок нижчі, ніж для незаміщених аналогів.

Таблиця 5.8

Ефективні концентрації IC_{50}, мкМ для похідних N-[(E)-(2-феніл-1H-індол-3-іл)метиленаміно]тіазол-2-аміну на *Trypanosoma brucei gambiense*



№ п\п	R^1	R^2	R^3	R^4	IC_{50}, мкМ
1	2	3	4	5	6
5.73	Me	C_2H_5OOC	Cl	-	0,53 ± 0,205
5.74	Me	C_2H_5OOC	NO_2	-	0,74 ± 0,068
5.75	Me	C_2H_5OOC	NO_2	4-OHC_6H_4	0,66 ±0,030
5.76	4-Br-C_6H_4	H	Cl	-	15,20 ± 0,400
5.77	Ph	H	NO_2	-	6,00 ± 0,600
5.78	4-BrC_6H_4	H	NO_2	-	2,30 ± 0,900
5.79	4-$NO_2C_6H_4$	H	NO_2	-	>20,6
5.80	4-$NO_2C_6H_4$	H	NO_2	4-OHC_6H_4	1,50 ± 0,200

Для ідентифікованих сполук-хітів проводилося дослідження цитотоксичності на людських первинних фібробластах (клітинна лінія AB943). Не всі тестовані сполуки відрізнялися низькими рівнями цитотоксичності, як і не спостерігалося виразної залежності впливу структурно різних молекулярних фрагментів на токсичність. Не зважаючи на це, 5 сполук характеризувалися високими індексами селективності (IC > 100), більшість з яких належить до групи похідних 2-[(2-феніл-1H-індол-3-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-4-ону (табл. 5.9).

Таблиця 5.9

Цитотоксичність сполук-хітів тестована на людських первинних фібробластах (клітинна лінія AB943)

№ п/п	IC_{50}, мкг/мл	IC_{50}, мкМ	IC
1	2	3	4
5.61	>50	> 91	> 242
5.29	9,0 ± 2,5	24,83	219,7
5.94	>50	>73,49	> 154,4
5.95	>50	77,34	>151,6
5.85	>50	86,57	> 135,5
5.41	>50	>108,5	>131,7
5.28	9,8 ± 1,5	28,13	130,8
5.75	44,9 ± 2,5	82,9	126,6
5.52	8,8 ± 0,1	20,92	95,09
5.89	>50	90,17	>75,14
5.84	27,4 ± 4,8	51,45	69,06
5.45	4,3 ± 0,2	8,6	60,56
5.27	4,4 ± 0,7	13,16	57,21
5.78	>50	>96,45	> 41,9
5.73	9,0 ± 0,4	20,51	39
5.43	42,0 ± 0,2	8,6	10,06
5.53	4,4 ± 1,1	10,66	7,15
5.59	3,1 ± 0,4	6,23	4,45
5.31	2,0 ± 0,1	5,22	2,35
Пентамідин	7,9 ± 0,3	23,20	5396
Ніфуртимокс	18,7 ± 0,8	65,09	14
Меларсопрол	1,6 ± 0,1	4,02	

Таблиця 5.10

Гостра токсичність досліджена для найактивніших сполук

№ п\п	LD_{50}, мг/кг	№ п\п	LD_{50}, мг/кг
1	2	1	2
5.28	220±20,1	**5.43**	330±25,3
5.29	220±13,7	**5.52**	200±16,2
5.30	270±18,2	**5.66**	240±20,0
5.31	310±26,1	**5.67**	290±19,6

Для 8 сполук із найвищою трипаноцидною активністю досліджено гостру токсичність (на мишах) та обчислено величини LD_{50} (табл. 5.10). Розчини, що містили різні концентрації тестованих сполук у порядку зростання (від 100 до 1000

мг/кг), вводилися мишам інтраперитонеально негайно після приготування. Величини LD_{50} розраховувалися відповідно до методу Лічфільда-Вілкоксона. Досліджувані сполуки-хіти характеризуються низькою гострою токсичністю в межах 200-330 мг/кг.

5.4.2. Скринінг протилейшманіозної та протималярійної активності

Зважаючи на філогенетичну спорідненість паразитичних найпростіших роду лейшманія *(Leishmania),* що належать до родини *Trypanosomatidae* класу кінетопластид, виправданим стало вивчення протилейшманіозної активності тіазолідинон/тіазол-феніліндол/імідазотіадіазольних гібридних молекул. *In vitro* скринінг протилейшманіозної активності проводився на промастиготах *Leishmania major (штам* Friedlin V1) [356,363,364]. Первинно досліджувалося інгібування росту промастиготів у концентрації 50 мкМ в тесті з аламаровим синім (інкубація протягом 72 год). Числові дані репрезентують середнє між двома тестуваннями із трьома повторами. Хітами вважалися сполуки, що інгібували ріст більше, ніж 50% паразитів.

Таблиця 5.11

Інгібування росту промастиготів *Leishmania major (штам* Friedlin V1) досліджуваними речовинами у концентрації 50 мкМ та обчислені величини IC_{50} (мкМ)

№ п\п	% інгіб-ня росту	IC_{50}, мкМ			
		L major	BJ	MRC5	TI[a]
1	2	3	4	5	6
5.6	90,3	8,94 ± 1,12	>50	35,44 ± 4,23	>4,78
5.10	80,3	30,35 ± 6,12	>50	>50	>1,65
5.27	98,7	1,73 ± 0,22	>50	>50	>29,07
5.28	51,7	1,01 ± 0,13	>50	>50	>48,08
5.29	97,6	1,12 ± 0,23	>50	>50	>44,64
5.30	89,1	7,01 ± 1,36	>50	>50	>7,13
5.32	53,9	22,72 ± 4,92	7,45 ± 1,46	8,8 ± 1,67	0,36
5.33	76,3	18,55 ± 2,31	>50	>50	>2,70
5.34	78,3	18,83 ± 3,32	7,45 ± 0,9	5,91 ± 0,79	0,36

5.37	67,0	14,72 ± 1,77	29,84 ± 5,34	25,24 ± 3,27	1,87
5.38	86,3	12,57 ± 2,31	8,07 ± 0,45	10,76 ± 2,27	0,75
5.52	99,4	3,51 ± 0,71	37,05 ± 5,45	42,76 ± 6,48	11,34
5.53	99,3	15,71 ± 3,71	22,35 ± 3,54	13,18 ± 5,64	1,13
5.55	89,7	12,85 ± 2,81	29,23 ± 7,31	15,86 ± 3,05	1,75
5.63	83,7	9,14 ± 1,49	>50	>50	>5,47
5.64	90,0	8,09 ± 1,75	>50	49,82 ± 0,51	>6,18
5.73	95,4	12,04 ± 2,06	>50	9,98 ± 1,56	>2,49
5.74	96,5	7,22 ± 1,01	50	23,5 ± 3,0	5,09
Амфотерцин В	-	0,50 ± 0,06	>50	>50	>100
Мілтефозин	-	8,18 ± 1,57	>50	>50	>6,11

[a]Терапевтичний індекс (TI) – відношення середньої величини IC_{50} для лінії нормальних фібробластів (MRC-5 та BJ) до IC_{50}, обчисленого щодо *Leishmania major* FV1.

Серед знайдених сполук-хітів, 75% становлять похідні феніліндолу, хоча й 2-алілсульфаніл-6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегід **5.6** інгібував ріст 90% паразитів. При цьому найактивнішими виявилися тіазолідон/тіазол-феніліндольні гібридні молекули із естерною (**5.52, 5.73**, **5.74**) чи гідроксильною групами (**5.53**) у С5 положенні тіазолідонового чи тіазольного циклів. Хоча, неможливо однозначно оцінити вплив замісників при аналізі взаємозвязку структура-активність, оскільки сполуки **5.27** без замісників у фенольному чи тіазолідоновому циклах, як і **5.29** із етильним фрагментом в С5 тіазолідону також інгібували ріст більше, ніж 95% лейшманій.

Другим етапом скринінгу було обчислення напівмаксимальних інгібуючих концентрацій для вищезазначених сполук. 2-[(2-Феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он **5.27** та його похідні із метильною **5.28** та етильною **5.29** групами характеризувалися найнижчими значеннями IC_{50}, що корелює із даними їх трипаноцидної активності і опосередковано може свідчити про подібні механізми реалізації протипаразитарної активності щодо трипаносом та лейшманій. Атоми галогену чи нітро група у фенільному кільці феніл-індольного фрагменту, як і ускладнення замісників в тіазольному/тіазолідоновому фрагменті сприяє зниженню протилейшманіозної активності досліджуваних сполук.

Ще одним напрямком пошуку протипаразитарних агентів серед похідних тіазолу/тіазолідинону є розробка молекул із протималярійними властивостями [220,221]. Так 5-[2-(4-флюорофеніл)-2-оксоетил]-2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он **5.64** інгібував ріст *Plasmodium falciparum* в *in vitro* експерименті на 82,19% у концентрації 10 мг/мл, та характеризувався мікромолярною величиною IC_{50} = 5,31 ± 1,28 мкМ при IC_{50} = 0,065 ± 0,001 для препарату порівняння Хлорохіну [365,366]. Дані протималярійної активності сполуки **5.64** є додатковими аргументами на користь високого протипаразитарного потенціалу групи похідних тіазолідон/феніліндольних гібридів.

5.5. Встановлення кореляцій структура-активність, розробка методів оптимізації найактивніших структур

Порівняння відносно низької антитрипаносомної активності 5-ен-4-тіазолідинонгідразонів із різними фрагментами у молекулах із структурно подібними тіазолідонами, що містять феніл-індольний фрагмент, вказує на необхідність останнього для виявлення протипаразитарних властивостей цього класу гібридних «лікоподібних» молекул. Аналіз взаємозв'язку структура-активність новосинтезованих тіазолідинон(тіазол)-індол(імідазотіадіазол)вмісних гібридів дозволив окреслити наступні закономірності:

- наявність фенільного кільця (зв'язаного із індольним) є есенціальною;
- тіазолідин/тіазольні похідні є активнішими, ніж аналогічні тіосемікарбазони;
- малі замісники зв'язані одинарним зв'язком із С5 положенням тіазолідинонового циклу є вигіднішими для виявлення протипаразитарних властивостей;
- не спостерігалося особливих відмінностей активності між похідними тіазолу і 4-тіазолідинону;
- найактивніші сполуки ідентифіковані в експериментах на трипаносомах характеризувалися найнижчими значеннями IC_{50} у дослідженнях на лейшманіях (рис. 5.5).

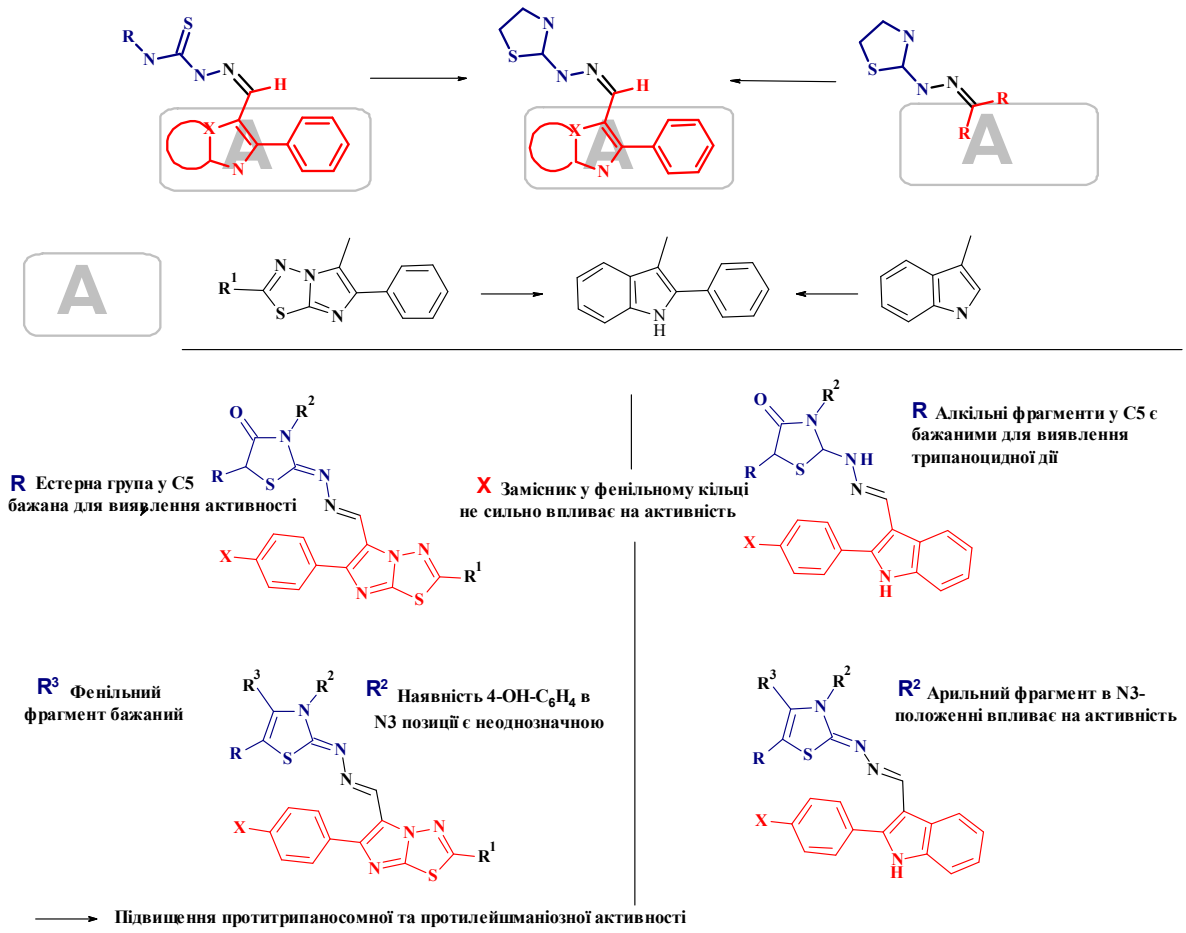


Рис. 5.5. Деякі закономірності взаємозв'язку структура – протитрипаносомна активність

5.6. Експериментальна частина

Загальний метод синтезу 2-R-6-арилімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазолів ***5.1 - 5.5***

Суміш 2-аміно-5-R-1,3,4-тіадіазолу (1,0 екв.) та 2-бромацетофенону (1,0 екв.) в етанолі кип'ятилася протягом 8 год. Після охолодження, до реакційної суміші додавали розчин натрію гідрокарбонату до pH = 9,0. Утворений осад відфільтровували, промивали етанолом та діетиловим етером та перекристалізовували із відповідного розчиника.

Загальний метод синтезу 2-R-6-арилімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегідів ***5.6-5.10***

Реагент Вільсмєра-Хаака отриманий у реакції фосфору оксихлориду із безводним диметилформамідом (1:3) при 0ºС та перемішуванні протягом 10 хв. До

отриманого реагенту додавали 2-R-6-арилімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол (1.0 екв) та перемішували протягом 30 хв при 0ºС, потім 2 год при кімнатній температурі та 2 год при температурі 60ºС. Тоді, до реакційної суміші додавали натрію гідрокарбонат та перемішували при нагріванні до 90 ºС протягом 2 год. Після охолодження, додавали воду та екстрагували продукт хлороформом. Хлороформну витяжку висушували над натрію сульфатом та концентрували. Цільові речовини перекритсалізовували із відповідного розчинника.

Загальний метод синтезу тіосемікарбозонів 6-фенілімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегідів та 2-арил-1Н-індол-3-карбальдегідів ***5.11-5.26***

В круглодонну колбу поміщають еквімолярні кількості 6-фенілімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбальдегіду або 2-арил-1*H*-індол-3-карбальдегіду і тіосемікарбазиду і кип'ятять в середовищі ацетатної кислоти протягом 1 год. Після охолодження реакційної суміші до кімнатної температури, утворений осад відфільтровують, промивають ацетатною кислотою, водою та етанолом і перекристалізовують із відповідного розчинника.

Загальний метод синтезу 2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів ***5.26-5.45*** *та N-(феніл)-2-[(2Z)-4-оксо-2-[(E)-(2-феніл-1Н-індол-3-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-5-іл]ацетамідів* ***5.46-5.50***

В круглодонну колбу поміщають суміш відповідного тіосемікарбазону (1,0 екв.), α-галогенкарбонової кислоти або N-арилмалеїніміду (1,0 екв.) та натрію ацетату (1,0 екв.) в ацетатній кислоті та кип'ятять протягом 2-4 годин. Проходження реакції контролювалося методом ТШХ. Після охолодження реакційної суміші до кімнатної температури, утворений осад відфільтровували, промивали ацетатною кислотою, водою та етанолом і перекристалізовували із суміші ДМФА/етанол (1:1) або ацетатної кислоти.

Загальна методика синтезу 5-(2-R-етил)-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та 5-(2-R-етил)-2-[(6-феніл-2,3,7,7a-тетрагідро-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів ***5.51-5.62,*** *5-(2-оксо-2-феніл(тетранілін)етил)-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів* ***5.63-5.65****, {4-оксо-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-*

тіазолідин-5-іл}-ацетатних кислот ***5.66-5.68*** *та {2-[(2-Алілсульфаніл-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-оксо-тіазоілдин-5-іл}-ацетатної кислоти* ***5.69***

Метод А. До відповідного тіосемікарбазону (1,0 екв.) додають α-бромо-γ-бутиролактон (1,0 екв.) та триетиламін (1,0 екв.) та кип'ятять в середовищі етанолу протягом 5 год. Проходження реакції контролювалося за допомогою ТШХ. Після охолодження реакційної суміші до кімнатної температури, утворений осад відфільтровували та перекристалізовували із етанолу.

Метод В. До відповідного тіосемікарбазону (1 екв.) додають α-бромо-γ-бутиролактон (1,0 екв.) або малеїновий ангідрид (1,0 екв.) чи β-ароїлакрилову кислоту (1,0 екв.), ацетат натрію безводний та кип'ятять в середовищі льодової ацетатної кислоти протягом 3 год. Проходження реакції контролювалося за допомогою ТШХ. Реакційна суміш охолоджувалася до кімнатної температури, утворений осад відфільтровують та перекристалізовують із відповідного розчинника.

Загальна методика синтезу (2-{4-оксо-2-[(2-феніл-1Н-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-5-іл}-ацетиламіно)алкан карбонових кислот ***5.70-5.72***

Суміш малеїнового ангідриду (1.0 екв.) та відповідної амінокислоти (1.0 екв.) в ацетатній кислоті кип'ятилася із зворотнім холодильником протягом 1 год. До реакційної суміші додавали тіосемікарбазон (1 екв.) та безводний ацетат натрію (1 екв.) та нагрівали ще протягом 3 год. Проходження реакції контролювалося за допомогою ТШХ. Реакційна суміш охолоджувалася до кімнатної температури, утворений осад відфільтровують та перекристалізовують із відповідного розчинника.

Загальна методика синтезу етилових естерів 2-{N'-[2-(4-феніл)-1Н-індол-3-ілметилен]-гідразино}-4-метил-тіазол-5-карбонових кислот ***5.73-5.75****, (N-[4-(4-феніл)-тіазол-2-іл]-N'-[2-(4-феніл)-1Н-індол-3-ілметилен]-гідразинів* ***5.76-5.80,*** *етилових естерів 2-[(2-етил-6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-4-метил-2,3-дигідро-тіазол-5-карбонових кислот* ***5.81-5.86*** *та N-(2-етил-*

6-феніл-імідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-N'-[4-(4-феніл)-3H-тіазол-2-іліден]-гідразинів ***5.87-5.95***

До відповідного тіосемікарбазону (1 екв.) додавали бромоацетофенон або етил-2-хлороацетоацетат (1,1 екв.), безводний ацетат натрію (1,0 екв.) та ацетатну кислоту. Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 год. Після охолодження, утворений осад відфільтровували, промивали ацетатною кислотою, водою, етанолом та перекристалізовували із відповідного розчинника.

ВИСНОВКИ

1.Вихідні 2-арил-1H-індол-3-карбальдегідтіосемікарбазони синтезовано за відомими методами Фішера, Вільсмаєра-Хаака; 6-фенілімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-карбіальдегід-тіосемікарбазони синтезовано у трьохстадійному синтезі із 5-заміщених 2-аміно-1,3,4-тіадіазолів та α-галогенарилкетонів.

2.В рамках гібрид-фармакофорного підходу синтезовано ряд 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів та похідні 2-{(6-феніл)-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен]-гідразоно}-4-оксо-тіазолідин-5-іл]етилацетату за відомим методом із тіосемікарбазонів та відповідних $[C_2]^{2+}$-реагентів в середовищі оцтової кислоти або етанолу із додаванням ацетату натрію.

3.Зважаючи на структурну подібність 4-тіазолідинонового та тіазольного циклів та з метою встановлення взаємозвязків структура-активність, синтезовано 2-{N'-[2-(феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразино}-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів при взаємодії відповідних тіосемікарбазонів із α-галогенкетонами.

4.Структура синтезованих сполук та результати проведених хімічних перетворень підтверджено методами спектроскопії ^{1}H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії.

5.Досліджено протитрипаносомну активність тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних гібридних молекул на паразитах T*rypanosoma brucei brucei* та T*rypanosoma brucei gambiense.* Встановлено їх високу протипаразитарну

активність на рівні субмікромолярних значень напівмаксимальних інігібуючих концентрацій.

6.Результати вивчення протилейшманіозної активності ряду тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних щодо *Leishmania major (штам* Friedlin V1) корелюють із такими при дослідженні протитрипаносомної активності для 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів, які ідентифіковані як сполуки-хіти в обох тестах. 5-[2-(4-Флюорофеніл)-2-оксоетил]-2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-он **5.64** характеризувався мікромолярною величиною IC_{50} щодо *Plasmodium falciparum* в *in vitro* експерименті.

7.Для найактивніших сполук-хітів проводилося дослідження цитотоксичності на людських первинних фібробластах (клітинна лінія AB943); 8 із них характеризувалися високими індексами селективності (IC > 100), більшість з яких належить до групи похідних 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-іл)метиленгідразоно]тіазолідин-4-ону.

8.Для 8 сполук із найвищою трипаноцидною активністю досліджено гостру токсичність (на мишах) та обчислено величини $LD_{50,}$ які свідчать про низькі рівні гострої токсичності в межах 200-330 мг/кг.

Результати дослідження даного розділу наведено в публікаціях: [56, 120, 325, 356 357, 358, 363, 364, 365, 366].

РОЗДІЛ 6
СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ КОНДЕНСОВАНИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНОНУ ТА ІНШИХ ПОЛІЦИКЛІЧНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ

6.1. Застосування гібрид-фармакофорного, комбінаторного підходів та методу молекулярної гібридизації у дизайні біологічно-активних конденсованих похідних тіазолідинону

Зважаючи на різну інтерпретацію похідних 4- та 2-тіазолідинону, в тому числі як можливих акцепторів Міхаеля, одним із альтернативних напрямків їх розробки є синтез конденсованих поліциклічних систем на основі тіазолідинонів. До останніх належить тіопіранотіазольний цикл та його похідні, які володіють широким фармакологічним профілем, та невисокою гострою токсичністю і є цікавими об'єктами для дослідження в медичній хімії. Тіопіранотіазоли гіпотетично можуть розглядатися як біоміметики своїх прекурсорів – біологічно активних 5-ен-4-тіазолідинонів, без зазначених властивостей акцепторів Міхаеля [202,204,205,367,368].

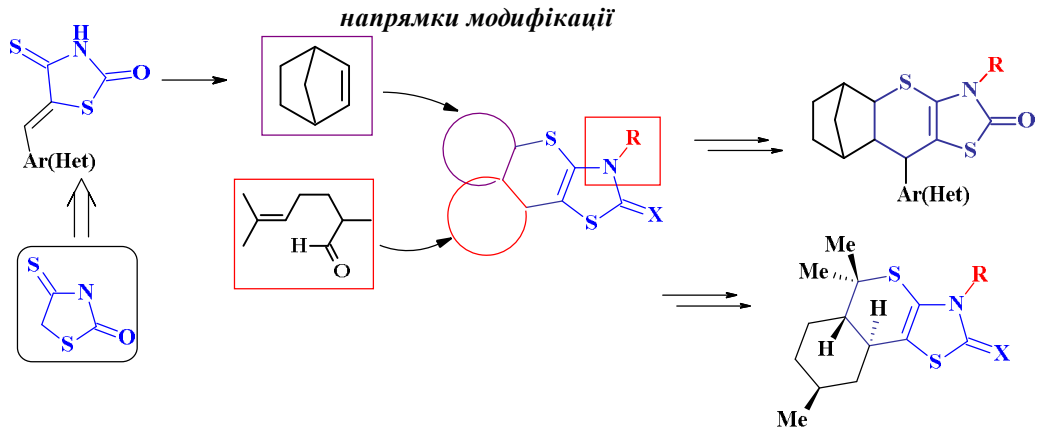


Рис. 6.1. Загальна схема дизайну нових похідних тіопіранотіазолу.

Отже, виходячи із результатів дослідження їх фармакологічного профілю, можна зробити висновок, що такі сполуки зберігають біологічну активність своїх попередників, при цьому характеризуються іншими хімічними та фізичними властивостями. Описаними біологічними активностями для тіопіранотіазолів є протипухлинна [203–206], протитрипаносомна [207], антиоксидантна та

протизапальна [369] тощо. Найефективнішим методом їх синтезу є утилізація 5-ен-4-тіоксо-2-тіазолідинонів у реакції *гетеро*-Дільса-Альдера [370].

З метою отримання нових похідних різноманітних конденсованих три- та тетрациклічних тіопіранотіазолів було синтезовано ряди N-заміщених 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 та ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазолу [324,371] (рис. 6.1).

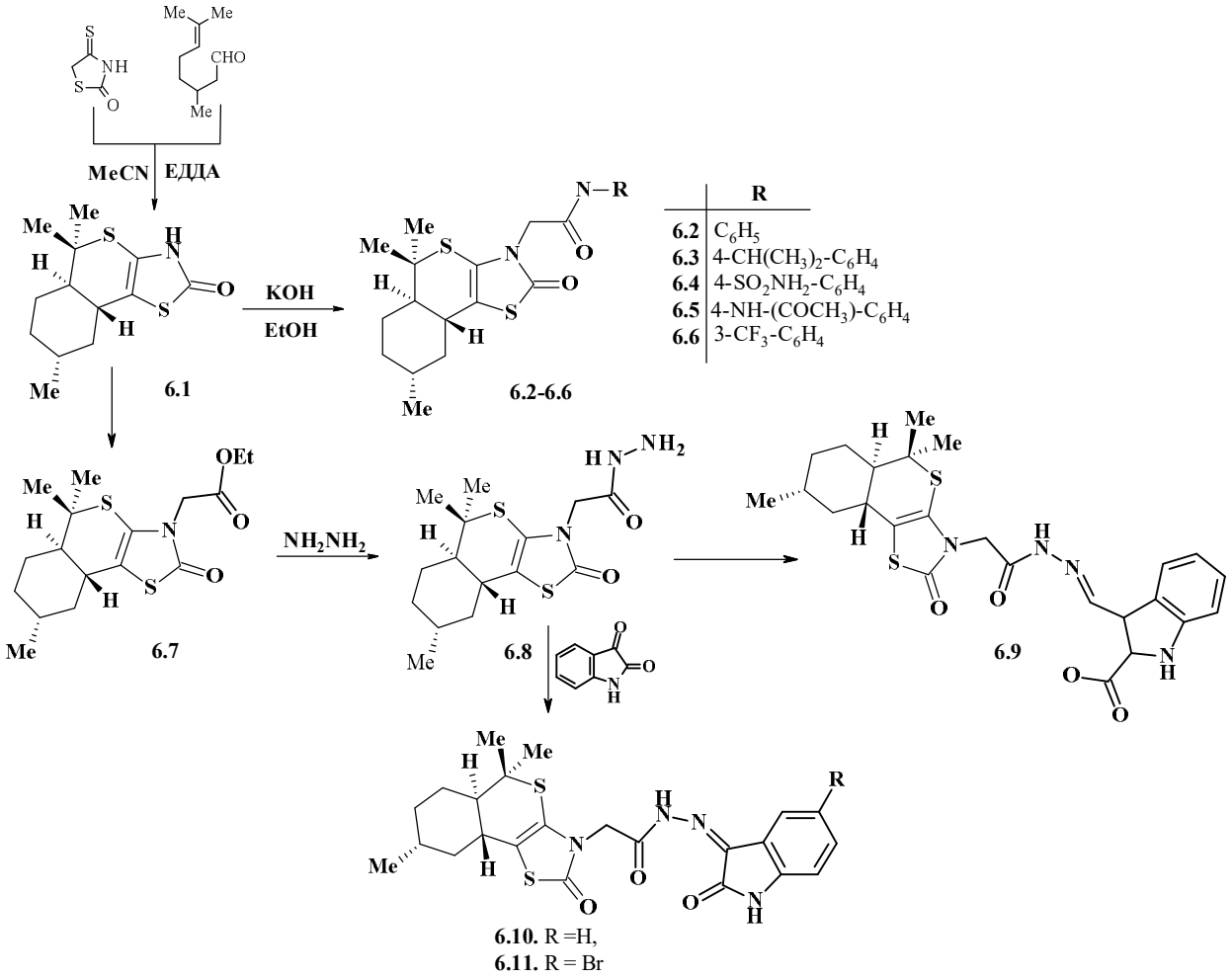
6.1.1.Оптимізація підходів до отримання ізотіохроменотіазолів

Утилізація 4-тіоксо-тіазолідин-2-ону як метиленактивного дієну в «доміно» реакції Кньовенагеля-*гетеро*-Дільса-Альдера із 3,7-диметил-6-октеналем в якості дієнофілу дозволяє отримання з високими виходами ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазолу **6.1** [372]. З метою диверсифікації бібліотеки ізотіохроменотіазолів, в реакціях алкілування хлорацетамідами синтезовано похідні **6.2-6.6**. Для отримання сполук **6.9-6.10** із ізатиновим та індолкарбоксильним фрагментами у молекулах ресинтезовано етиловий естер 2-(2-оксо-5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2*H*-ізотіохромено[4*a*,4-*d*]тіазол-3-іл)-ацетатної кислоти **6.7** при взаємодії вихідної сполуки **6.1** із етилхлороацетатом через стадію утворення *in situ* калійної солі **6.1** в середовищі етанолу. Очистка цільового продукту проводилася методом колонкової хроматографії у системі розчинників толуол:етилацетат (8:1). Синтез гідразиду **6.8** здійснено у реакції етилового естеру **6.7** з гідразингідратом в середовищі етанолу, отриманий продукт вводився у подальші реакції без додаткової очистки [310] (схема 6.1).

Синтезовані N-заміщені (5aR,8R,9aR)-5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2*H*-ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-они **6.2-6.8** – дрібнокристалічні порошки білого, світло-жовтого кольорів, легко розчинні в ДМФА, етанолі, ізопропанолі, бензолі, ацетонітрилі, етилацетаті, розчинні в ацетатній кислоті, діетиловому етері, нерозчинні у гексані та воді. Ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-3-іл]ацетил]гідразоно]метил]індолін-2-карбонова кислота **6.9** та 2-ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-3-іл]-N-[(2-оксоіндолін-3-іліден)аміно]-ацетамід **6.10** – кристалічні порошки

світло-коричневого та яскраво-жовтого кольорів відповідно, розчинні в ДМФА, етанолі, ізопропанолі, бензолі, ацетонітрилі, етилацетаті, ацетатній кислоті, діетиловому етері, нерозчинні у гексані та воді. Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук наведено у табл. 6.1. Структура та чистота синтезованих сполук підтверджена елементним аналізом, методами ^{1}H-ЯМР та хромато-мас спектроскопії.

Схема 6.1



	R
6.2	C_6H_5
6.3	4-$CH(CH_3)_2$-C_6H_4
6.4	4-SO_2NH_2-C_6H_4
6.5	4-NH-$(COCH_3)$-C_6H_4
6.6	3-CF_3-C_6H_4

Таблиця 6.1

Фізико-хімічні характеристики N-заміщених похідних ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-онів

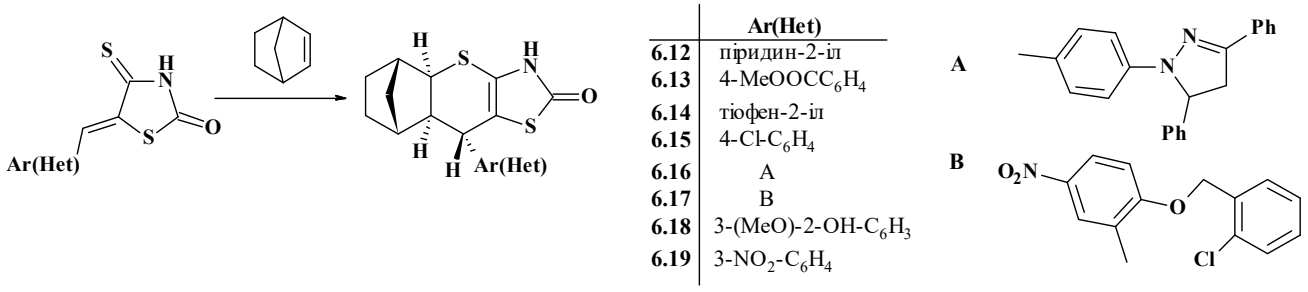
Спо-лука	Ви-хід, %	T пл., °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено, %		
				C, %	H, %	N, %	N, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6.2	93	180-183	$C_{21}H_{26}N_2O_2S_2$	62,65	6,51	6,96	62,80	6,60	6,80
6.3	68	241-244	$C_{24}H_{32}N_2O_2S_2$	64,83	7,25	6,30	64,60	7,15	6,40
6.4	79	111-114	$C_{21}H_{27}N_3O_4S_3$	52,37	5,65	8,72	52,50	5,60	8,65

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6.5	87	259-260	$C_{23}H_{29}N_3O_3S_2$	60,10	6,36	9,14	60,00	6,40	8,96
6.6	80	182-184	$C_{22}H_{25}F_3N_2O_2S_2$	56,15	5,35	5,95	56,00	5,47	5,70
6.7	50	82-85	$C_{17}H_{25}NO_3S_2$	57,43	7,09	3,94	57,21	7,13	4,05
6.8	80	158-160	$C_{15}H_{23}N_3O_2S_2$	52,76	6,79	12,30	52,93	6,85	12,20
6.9	75	136-138	$C_{25}H_{30}N_4O_4S_2$	58,34	5,88	10,89	58,52	5,98	10,73
6.10	71	123-125	$C_{23}H_{26}N_4O_3S_2$	58,70	5,57	11,91	58,94	5,47	11,95
6.11	75	143-145	$C_{23}H_{25}BrN_4O_3S_2$	50,27	4,59	10,20	50,46	4,35	10,00

6.1.2. Синтез нових похідних тіопіранотіазолу із норборнановим фрагментом у молекулі

Зважаючи на встановлену протипухлинну активність похідних тіопіранотіазолу із норборнановим фрагментом у молекулах і доведення його позитивного впливу на селективність такої дії на рак легень, нирок, молочної залози, а також лейкемії та меланоми [202,203], було синтезовано ряд нових 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 та їх N-заміщених похідних [311]. Цільові тіопіранотіазоли **6.12-6.19** синтезувалися в реакції *гетеро*-Дільса-Альдера, використовуючи 5-ен-ізороданіни як гетеродієни та норборнен як дієнофіл [203] (схема 6.2). Такий підхід є ефективним регіо- та стереоселективним інструментом для отримання функціоналізованого ядра тіазолотіопірану [372]. Одним із перспективних напрямків оптимізації 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 є модифікація вихідних 5-ен-4-тіоксо-2-тіазолідинонів у С5 положенні, що досягається введенням різних бензиліденових та гетероциклічних фрагментів у реакції Кньовенагеля (схема 6.2).

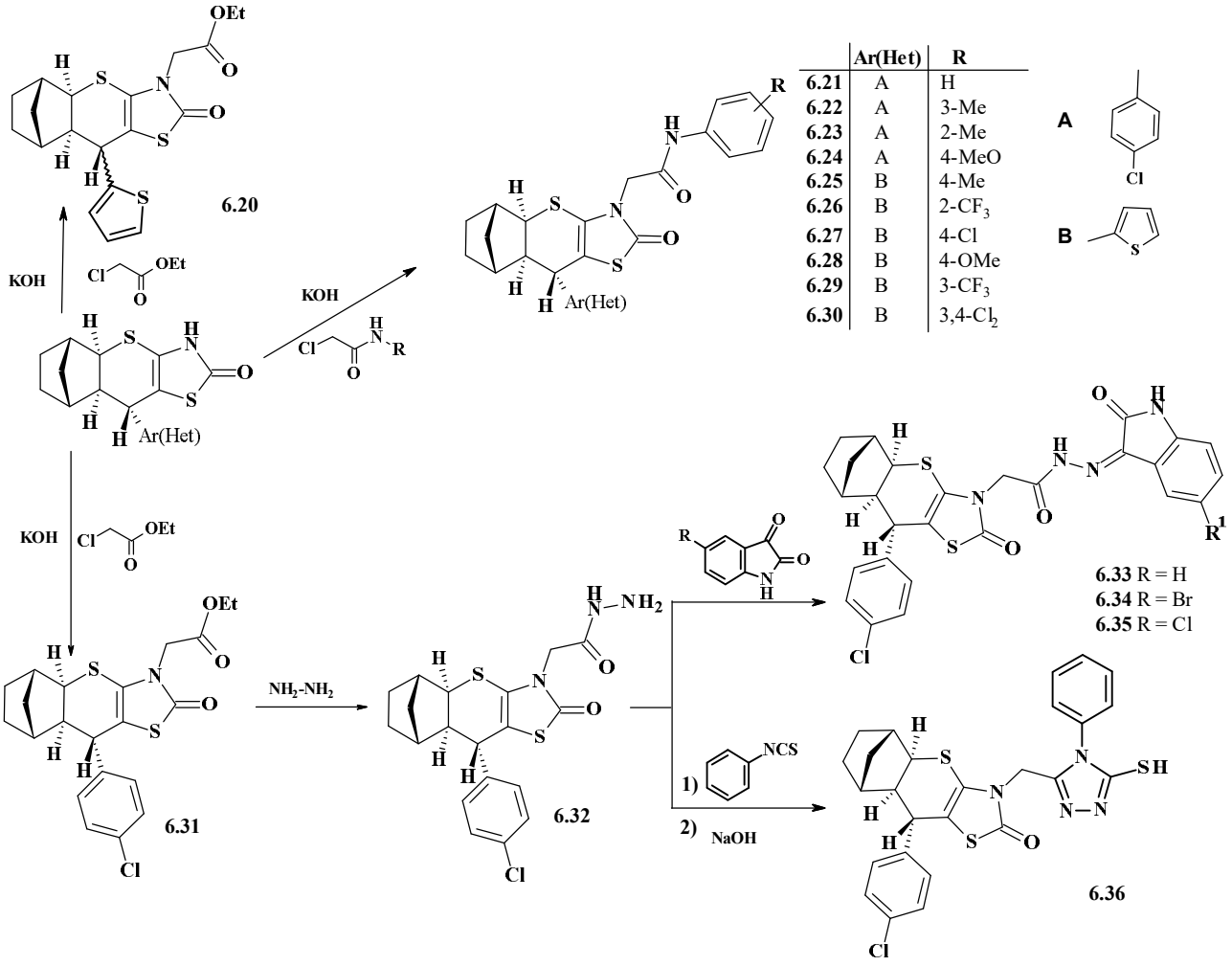
Схема 6.2



Синтезовані 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-они-6 **6.12-6.19** – дрібнокристалічні порошки білого, світло-жовтого, жовто-коричневого кольорів, легко розчинні в ДМФА, розчинні в ацетатній кислоті, при нагріванні в спиртах, нерозчинні у воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук наведено у табл. 6.2. Структура та чистота синтезованих сполук підтверджена елементним аналізом, методами ^{1}Н-ЯМР та хромато-мас спектроскопії.

З метою розширення комбінаторної бібліотеки та фармакологічного профілю досліджуваних похідних синтезовано ряд N-заміщених тіазолотіопіранів в реакціях алкілування та шляхом послідовної модифікації введених функціональних груп. Однією з переваг таких молекул є доведене зниження токсичності із введенням замісника в N-положення 4-тіазолідинонового циклу [373]. Схема синтезу включала отримання *in citu* калійних солей 2-(9-(4-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6. Як алкілюючі агенти утилізовано ряд N-заміщених хлороацетамідів. Гідразид 2-(9-(4’-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти **6.32** отримано при взаємодії естеру **6.31** з гідразингідратом в середовищі етанолу. В свою чергу, естери **6.20** та **6.31** синтезували в реакції вихідних 2-(9-(4-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 **6.14** і **6.15** із етилхлороацетатом через стадію утворення *in situ* калійних солей в середовищі етанолу Цільові сполуки **6.33-6.35** із ізатиновими фрагментами у молекулах синтезовано шляхом кип’ятіння гідразиду **6.32** із відповідним ізатином також в середовищі етанолу. 5-(1-Феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-он-6 **6.36** синтезований у реакції гідразиду **6.32** із фенілізотіоціанатом та наступному лужному гідролізі (схема 6.3) [311,374].

Схема 6.3



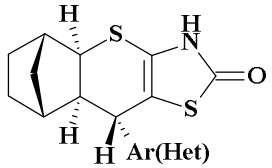
	Ar(Het)	R
6.21	A	H
6.22	A	3-Me
6.23	A	2-Me
6.24	A	4-MeO
6.25	B	4-Me
6.26	B	2-CF_3
6.27	B	4-Cl
6.28	B	4-OMe
6.29	B	3-CF_3
6.30	B	3,4-Cl_2

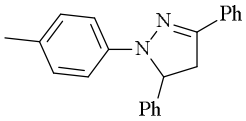
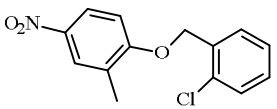
A **B**

Синтезовані 2-(9-(4-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-ацетаміди **6.21-6.24,** 2-(9-(тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-ацетаміди **6.25-6.30** та естер **6.20** – дрібнокристалічні порошки білого, світло-жовтого, коричневого кольорів, легко розчинні в ДМФА, розчинні в ацетатній кислоті, толуолі, бензолі, хлороформі, при нагріванні в спиртах, нерозчинні у воді та діетиловому етері. Синтезовані сполуки **6.33-6.36** – кристалічні порошки різних відтінків жовтого кольору, легко розчинні в ДМФА, розчинні в ацетатній кислоті, важко розчинні у спиртах, нерозчинні в толуолі, воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук наведено у табл. 6.3.

Таблиця 6.2

Фізико-хімічні характеристики 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 6.12-6.19

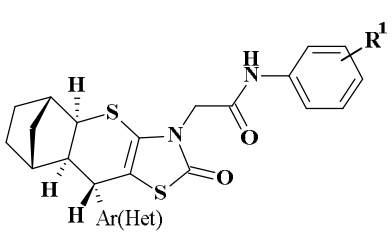


Сполука	Ar(Het)	Вихід, %	Т.пл., °С	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
					C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
6.12	Піридин-3-іл	68	226–228	$C_{16}H_{16}N_2OS_2$	60,73	5,10	8,85	60,00	5,20	9,00
6.13	4-MeOOC-C_6H_4	70	243-245	$C_{19}H_{19}NO_3S_2$	61,10	5,13	3,75	61,00	5,00	4,00
6.14*	Тіофен-2-іл	80	240-242	$C_{15}H_{15}NOS_3$	56,04	4,70	4,36	56,35	4,82	4,25
6.15*	4-Cl-C_6H_4	85	221-223	$C_{17}H_{16}ClNOS_2$	58,35	4,61	4,00	58,05	4,77	4,12
6.16		76	133–135	$C_{32}H_{29}N_3OS_2$	71,74	5,46	7,84	72,00	5,60	7,60
6.17		63	232–233	$C_{24}H_{21}ClN_2O_4S_2$	57,54	4,22	5,59	57,80	4,30	5,40
6.18	3-MeO-2-OH-C_6H_3	75	215-216	$C_{18}H_{19}NO_3S_2$	59,81	5,30	3,87	60,00	5,50	3,70
6.19	3-NO_2-C_6H_4	78	236–238	$C_{17}H_{16}N_2O_3S_2$	56,65	4,47	7,77	56,85	4,65	7,50

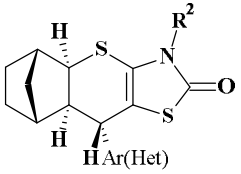
*Сполуки ресинтезовано відповідно раніше описаній методиці [372]

Таблиця 6.3

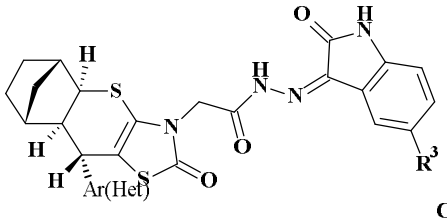
Фізико-хімічні характеристики 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 6.20-6.36



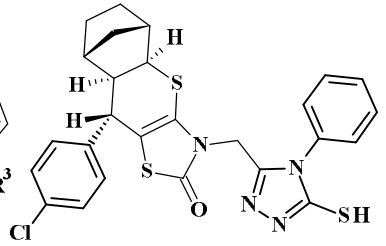
6.21-6.30



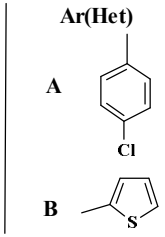
6.20, 6.31, 6.32



6.33-6.35



6.36



Сп-ка	Ar/ Het	R^1	R^2	R^3	Вихід, %	Т.пл., °С	Брутто-формула	Обчислено			Знайдено		
								С, %	Н,%	N, %	С, %	Н,%	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
6.20	B	-	CH_2-COO-Et	-	97	85-87	$C_{19}H_{21}NO_3S_3$	55,99	5,19	3,44	56,20	5,10	3,40
6.21	A	H	-	-	71	105-107	$C_{23}H_{13}ClN_2O_2S_2$	62,16	4,80	5,80	62,40	5,00	5,60
6.22	A	3-Me	-	-	71	164–166	$C_{26}H_{25}ClN_2O_2S_2$	62,82	5,07	5,64	63,00	5,20	5,50
6.23	A	2-Me	-	-	74	215–217	$C_{26}H_{25}ClN_2O_2S_2$	62,82	5,07	5,64	62,70	5,00	5,60
6.24	A	4-OMe	-	-	78	132–134	$C_{26}H_{25}ClN_2O_3S_2$	60,87	4,91	5,46	61,00	5,10	4,60
6.25	B	4-Me	-	-	73	230–232	$C_{24}H_{24}N_2O_2S_3$	61,51	5,16	5,98	61,70	5,20	6,10
6.26	B	2-CF_3	-	-	69	153–155	$C_{24}H_{21}F_3N_2O_2S_3$	55,16	4,05	5,36	55,30	4,30	5,50
6.27	B	4-Cl	-	-	74	232–234	$C_{23}H_{21}ClN_2O_2S_3$	56,48	4,33	5,73	56,70	4,50	5,50
6.28	B	4-OMe	-	-	75	264–266	$C_{24}H_{24}N_2O_3S_3$	59,48	4,99	5,78	59,70	5,10	5,50
6.29	B	3-CF_3	-	-	68	182–184	$C_{24}H_{21}F_3N_2O_3S_3$	55,16	4,05	5,36	55,00	3,90	5,50
6.30	B	3,4-Cl_2	-	-	72	219–221	$C_{23}H_{20}Cl_2N_2O_2S_3$	52,77	3,85	5,35	52,90	4,00	5,20
6.31	A	-	CH_2-COO-Et	-	78	178–180	$C_{21}H_{22}ClNO_3S_2$	57,85	5,09	3,21	58,00	5,20	4,90
6.32	A	-	CH_2-CO-N_2H_3	-	60	219–221	$C_{19}H_{20}ClN_3O_2S_2$	54,08	4,78	9,96	54,10	4,80	10,00

Продовж. табл. 6.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
6.33	A	-	-	H	76	272–274	$C_{27}H_{23}ClN_4O_3S_2$	58,85	4,21	10,17	59,00	4,40	10,00
6.34	A	-	-	Br	78	> 250	$C_{27}H_{22}BrClN_4O_3S_2$	51,48	3,52	8,89	51,60	3,70	8,70
6.35	A	-	-	Cl	72	> 250	$C_{27}H_{22}Cl_2N_4O_3S_2$	55,39	3,79	9,57	55,60	4,00	9,40
6.36	A	-	-	-	72	> 250	$C_{26}H_{23}ClN_4OS_3$	57,92	4,30	10,39	58,10	4,38	10,30

6.2. Синтез та перетворення 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)-1*H*-індол-2-карбонових кислот

Серед різноманітних фармакологічно привабливих нітрогенвмісних гетероциклів, молекули, що вміщують фрагмент індолу представляють широко розповсюджений клас біологічно активних сполук природного походження [375–377]. Більш того, система індолу належить до есенціальних фрагментів різних синтетичних та півсинтетичних лікарських засобів, а також інших фармакологічно активних сполук [378]. Останнім часом цей клас сполук приваблює медичних хіміків як потенційне джерело протиракових агентів [379,380], зокрема інгібіторів полімеризації тубуліну [381]. Також є введені у практику протиракові лікарські засоби на основі ядра індолу, такі як: Апазіквон (Apaziquone) – алкілюючий агент для лікування раку сечового міхура (його активні метаболіти алклюють ДНК, що спричиняє апоптоз) або Панабіностат (Panabinostat) – для терапії множинної мієломи (діє як неселективний інгібітор пістон діацетилази) [382]. В свою чергу, похідні (тіо)гідантоїну є також цікавими об’єктами для медичної хімії, і вивчаються як потенційні протипухлинні агенти. Так, 5-заміщені 2-тіогідантоїни селективно інгібували мутовані форми ізоцитрат дегідрогенази, що зустрічаються у деяких видах раку [383], імідазолідин-2,4-діони описані як потенційні інгібітори протеїнів Bcl-2 родини [384].

Зважаючи на вище викладене, а також спираючись на раніше нами встановлений протипаразитарний потенціал тіазол/тіазолідинон-феніліндол/імідазотіадіазольних гібридів [325], розробка ефективних, препаративних методів синтезу різноманітних молекул (конденсованих поліциклічних систем та неконденсованих сполук), що вміщують індольний цикл є важливою для потреб медичної хімії. Таким чином, в рамках гібрид фармакофорного підходу здійснено дизайн сполук, що вміщують цикли індолу та тіазолідону чи тіогідантоїну як потенційних «лікоподібниї сполук» (рис. 6.2).

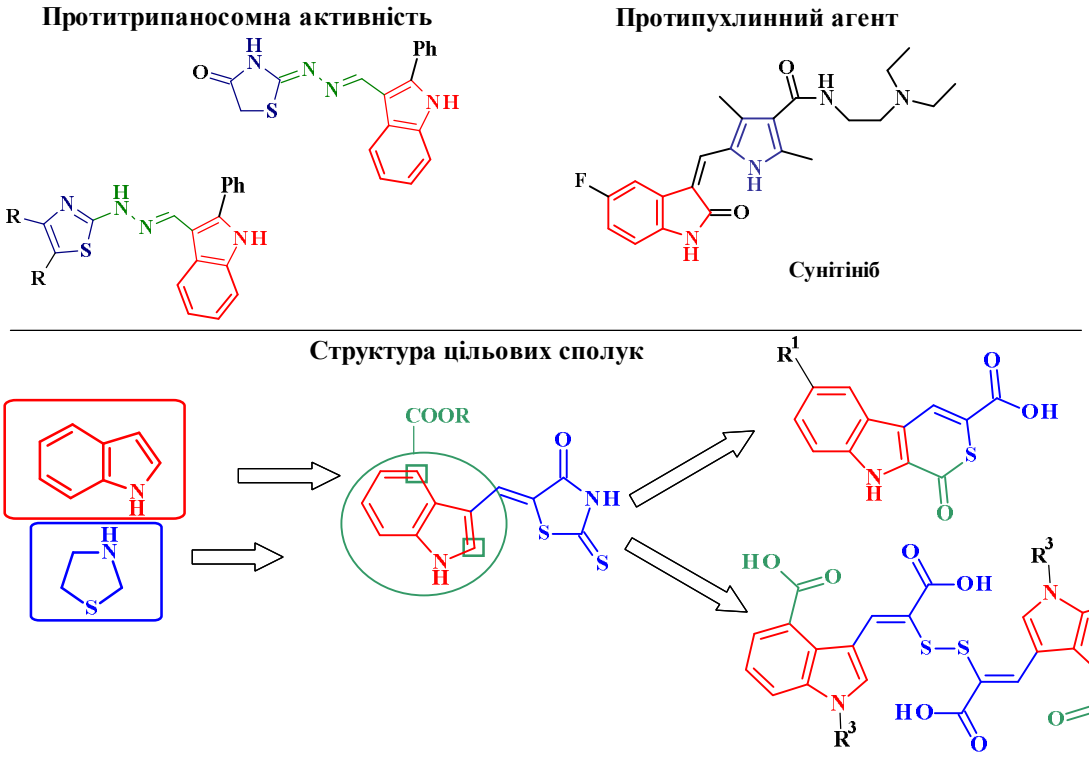
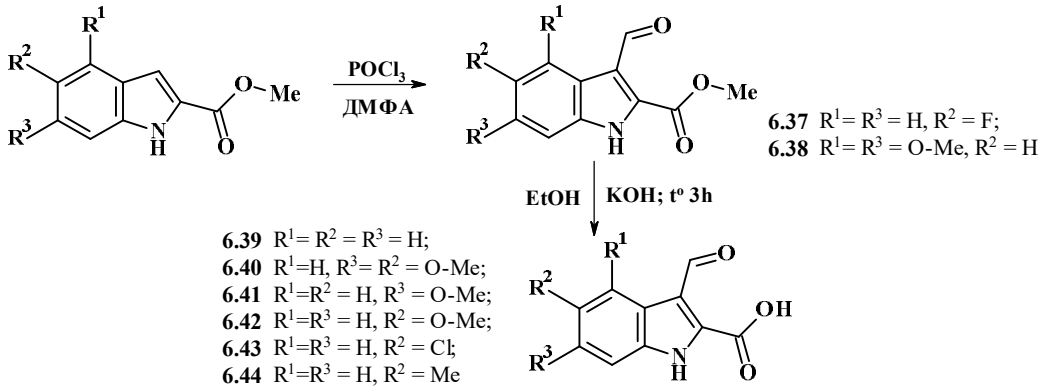


Рис. 6.2. Дизайн тіазолідон-індолкарбоксилатів, тіазолідон-індолкарбонових кислот та їх поліциклічних похідних як потенційних протипухлинних та протипаразитарних агентів

6.2.1. Синтез похідних 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот

Вихідні 2-метоксикарбоніл-індол-3-карбоксальдегіди **6.37-6.38** синтезовано із відповідних індолів у реакції Вільсмаєра-Хаака формілюванням $POCl_3$ та N,N-диметилформамідом.

Схема 6.4



3-Форміл-індол-2-карбонові кислоти **6.39-6.44** отримано в реакціях гідролізу відповідних 2-метоксикарбоніл-індол-3-карбоксальдегідів за відомим методом: **6.39** [385], **6.43** [386] (схема 6.4).

Синтезовані метил-3-форміліндолін-2-карбоксилати **6.37-6.38** та 3-форміліндолін-2-карбонові кислоти **6.39-6.44 –** кристалічні порошки сірого, брудно-жовтого, оранжевого кольорів, розчинні у спиртах, діоксані, ДМФА, ацетатній кислоті, нерозчинні в діетиловому етері, воді, гексані. Фізико-хімічні характеристики метил-3-форміліндолін-2-карбоксилатів та 3-форміліндолін-2-карбонових кислот наведено у табл. 6.4.

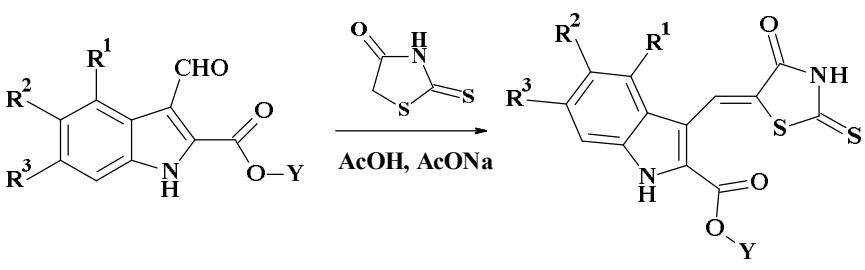
Таблиця 6.4

Фізико-хімічні характеристики вихідних метил-3-форміліндолін-2-карбоксилатів 6.37-6.38 та 3-форміліндолін-2-карбонових кислот 6.39-6.44

Спо-лука	Ви-хід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
				C, %	H, %	N, %	N, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6.37	85	197-198	$C_{11}H_8FNO_3$	59,73	3,65	6,33	59,59	3,56	6,41
6.38	89	211-212	$C_{13}H_{13}NO$	59,31	4,98	5,32	59,21	5,06	5,41
6.39	80	235-238	$C_{10}H_7NO_3$	62,82	4,74	7,33	62,70	4,63	7,41
6.40	92	221-222	$C_{12}H_{11}NO_5$	57,83	4,45	5,62	57,75	4,51	5,65
6.41	89	216-217	$C_{11}H_9NO_4$	60,28	4,14	6,39	60,35	4,11	6,35
6.42	83	219-220	$C_{11}H_{11}NO_4$	59,73	5,01	6,33	59,85	4,95	6,43
6.43	85	195-197	$C_{10}H_8ClNO_3$	53,23	3,57	6,21	53,02	3,60	6,17
6.44	90	203-205	$C_{11}H_{11}NO_3$	64,38	5,40	6,83	64,10	5,48	6,93

Цільові 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)-1*H*-індол-2-карбоксилати та 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)-1*H*-індол-2-карбонові кислоти синтезовані в реакції конденсації Кньовенагеля вихідних метил-3-форміліндолін-2-карбоксилатів **6.37-6.38** та 3-форміліндолін-2-карбонових кислот **6.39-6.44** із роданіном. Реакція відбувається в середовищі ацетатної кислоти в присутності натрію ацетату при нагріванні протягом 3-4 год з утворенням роданін-5-іл-1*H*-індолів **6.44-6.51** (схема 6.5) [387,388].

Схема 6.5

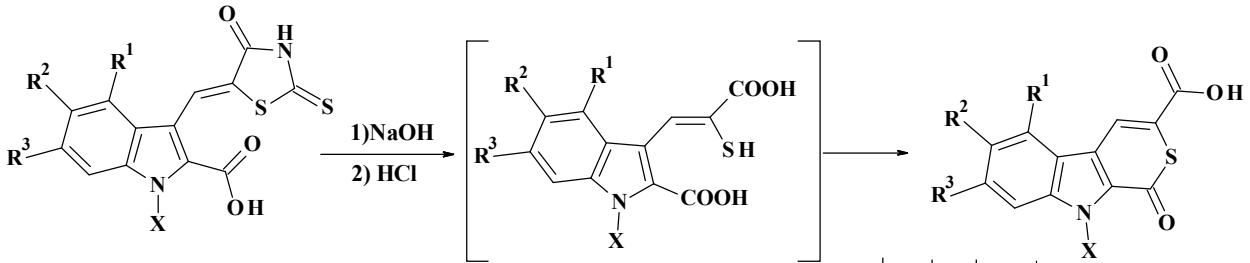


	Y	R¹	R²	R³
6.45	H	H	H	H
6.46	H	H	Me	H
6.47	Me	H	F	H
6.48	H	H	Cl	H
6.49	H	H	OMe	H
6.50	Me	OMe	H	OMe
6.51	H	H	H	OMe
6.52	H	H	OMe	OMe

Синтезовані 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонові кислоти та їх метильні естери **6.45-6.52** – дрібнокристалічні порошки яскравих жовтого та оранжевого кольорів, розчинні в ацетатній кислоті, ДМФА, діоксані, при нагріванні у спиртах, нерозчинні в діетиловому етері, воді, гексані. Фізико-хімічні характеристики наведено у табл. 6.5.

Наступним кроком стало вивчення реакції гідролізу 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот та їх метильних естерів, в результаті якої прогнозовано утворилися конденсовані трициклічні системи 1-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонових кислот **6.53-6.58** (схема 6.6). Дана реакція проходить через стадію формування відповідних тіоакрилових кислот, що піддаються спонтанній гетероциклізації з утворенням цільових сполук. Гідроліз відбувався в середовищі 30% розчину натрію гідроксиду та нагріванні протягом 30 хв.

Схема 6.6



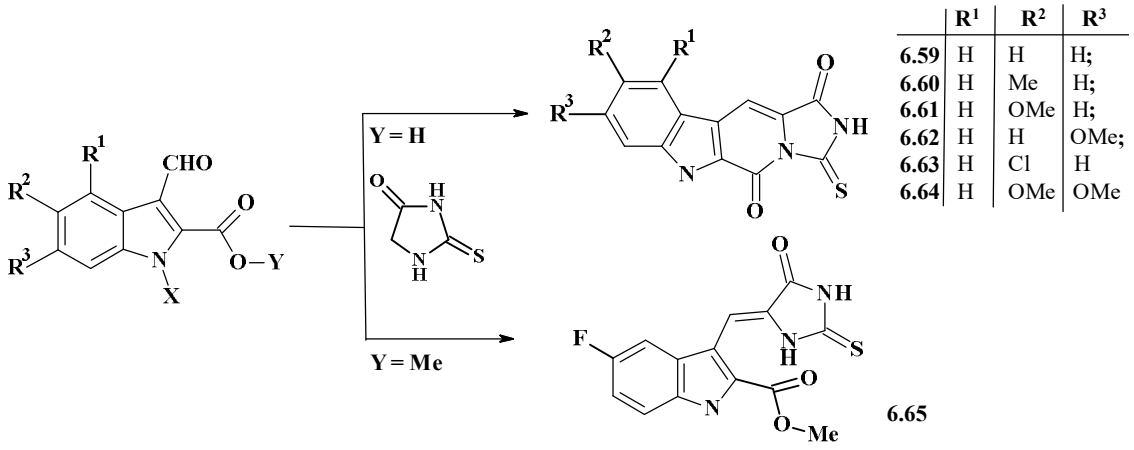
	X	R¹	R²	R³
6.53	H	H	H	H
6.54	Me	H	OMe	OMe
6.55	H	H	F	H
6.56	H	H	Cl	H
6.57	H	H	OMe	H
6.58	H	H	H	OMe

Синтезовані 3-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонові кислоти **6.53-6.58** – дрібнокристалічні порошки темно-сірого, темно-вишневого кольорів,

розчинні в ДМФА, діоксані, важко розчинні в ацетатній кислоті, спиртах, нерозчинні в бензолі, діетиловому етері, воді, гексані. Фізико-хімічні характеристики наведено у табл. 6.5.

Для оцінки можливості утворення аддуктів 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот та тіогідантоїну, їх вводили у реакцію в еквімолярному співвідношенні в середовищі ацетатної кислоти при нагріванні протягом 4-5 год. В результаті цієї реакції утворювалися цікаві конденсовані тетрациклічні 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони [389], представлені на схемі 6.7. Цікаво, що при взаємодії метил-3-форміліндолін-2-карбоксилату **6.37** із 2-тіогідантоїном проходить конденсація Кньовенагеля і циклізація не відбувається, ймовірно через наявність естерної групи.

Схема 6.7



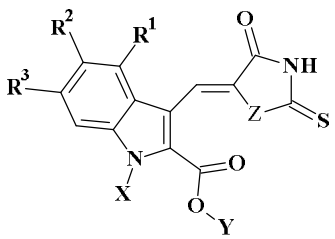
	R¹	R²	R³
6.59	H	H	H;
6.60	H	Me	H;
6.61	H	OMe	H;
6.62	H	H	OMe;
6.63	H	Cl	H
6.64	H	OMe	OMe

6.65

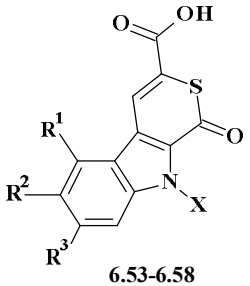
Синтезовані 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони **6.59-6.64** – дрібнокристалічні порошки оранжевого та цегляного кольорів, розчинні у ДМФА, важко розчинні в ацетатній кислоті, нерозчинні у спиртах, діоксані, діетиловому етері, воді, гексані; 5-[(5-флюоро-1*H*-індол-3-іл)метилен]-2-тіоксо-імідазолідин-4-он **6.65** – порошок яскраво-оранжевого кольору, розчинний в ацетатній кислоті, ДМФА, важко розчинний у спиртах. Фізико-хімічні характеристики наведено у табл. 6.5. Реакції гідролізу метилових естерів 3-(роданін-5-іліденметилен)-1*H*-індол-4-карбонових кислот **6.66** та **6.67** не призвели до утворення можливих сполук із семичленним циклом. Натомість, проходить конкурентна реакція оксидативної димеризації з утворенням енергетично вигідніших біс-аддуктів **6.68** та **6.69** (схема 6.8), з'єднаних дисульфідним мостиком [387].

Таблиця 6.5

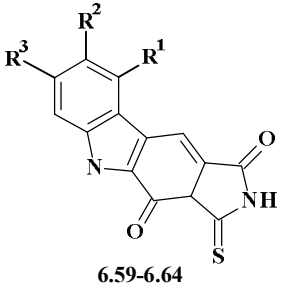
Фізико-хімічні характеристики 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1Н-індол-карбоксильних кислот 6.45, 6.46, 6.48, 6.49, 6.51, 6.52, 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1Н-індол-карбоксилатів 6.47, 6.50, 1-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонові кислот 6.53-6.58, 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діонів 6.59-6.64, 5-[(5-флюоро-1Н-індол-3-іл)метилен]-2-тіоксо-імідазолідин-4-ону 6.65, метилових естрів 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметилен)-1Н-індол-4-карбоксильних кислот 6.66-6.67 та їх дисульфідів 6.68-6.69



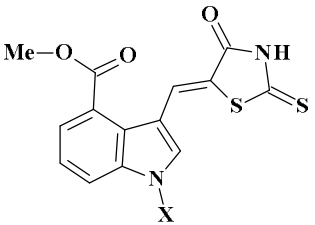
6.45-6.52 (Z=S), **6.65** (Z=NH)



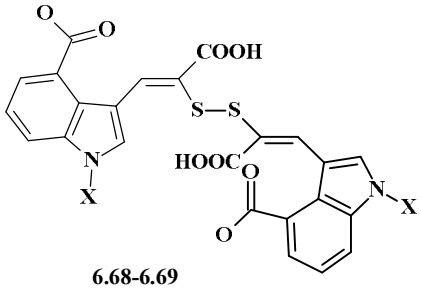
6.53-6.58



6.59-6.64



6.66-6.67



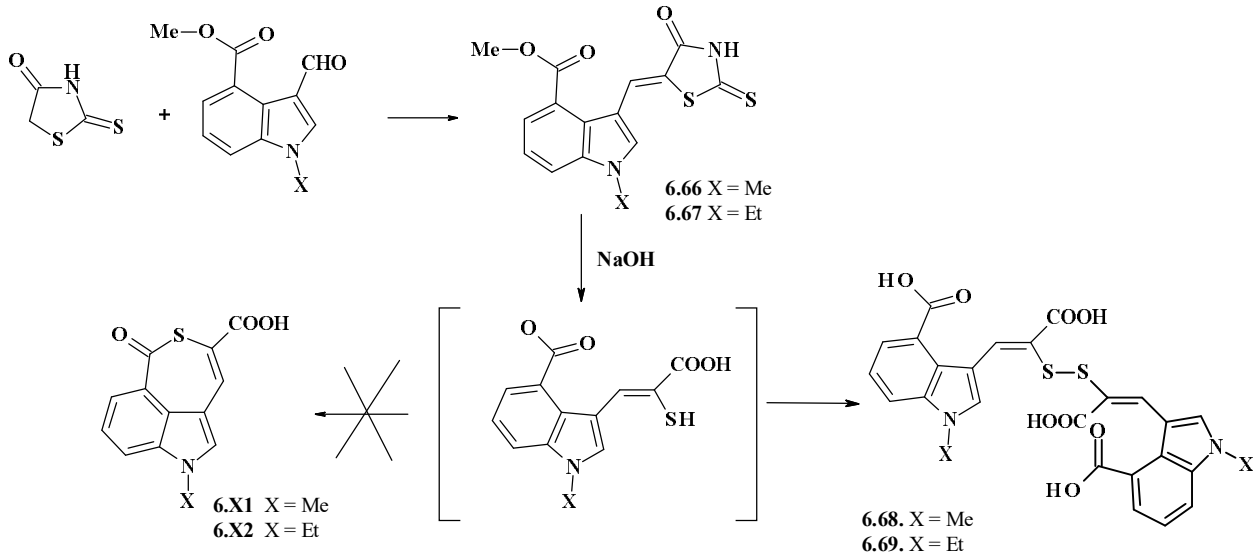
6.68-6.69

Спо-лука	X	Y	R^1	R^2	R^3	Ви-хід, %	Т.пл., °С	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
									C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
6.45	H	H	H	H	H	80	284-286	$C_{13}H_8N_2O_3S_2$	60,73	5,10	10,76	60,90	5,30	10,60
6.46	H	H	H	Me	H	85	272-274	$C_{14}H_{10}N_2O_3S_2$	52,82	3,17	8,80	52,60	8,00	9,00
6.47	H	Me	H	F	H	64	240-242	$C_{14}H_9FN_2O_3S_2$	49,99	2,70	8,33	49,70	2,40	8,60
6.48	H	H	H	Cl	H	62	>255	$C_{13}H_7ClN_2O_3S_2$	46,09	2,08	8,27	46,20	2,15	8,20
6.49	H	H	H	OMe	H	70	>255	$C_{14}H_{10}N_2O_4S_2$	50,29	3,01	8,38	50,45	2,90	8,50
6.50	H	Me	OMe	H	OMe	68	213-215	$C_{16}H_{14}N_2O_5S_2$	50,78	3,73	7,40	50,90	3,60	7,20
6.51	H	H	H	H	OMe	71	>255	$C_{14}H_{10}N_2O_4S_2$	50,29	3,01	8,38	50,45	2,90	8,50
6.52	H	H	H	OMe	OMe	75	238-240	$C_{15}H_{12}N_2O_5S_2$	49,44	3,32	7,69	49,90	3,40	7,56
6.53	H	-	H	H	H	75	242-244	$C_{12}H_7NO_3S$	58,77	2,88	5,71	59,5	3,00	5,80

Продовж. табл. 6.5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
6.54	H	-	H	OMe	OMe	72	241-243	$C_{14}H_{11}NO_5S$	55,08	3,63	4,59	55,12	3,70	4,50
6.55	H	-	H	F	H	60	>255	$C_{12}H_6FNO_3S$	54,75	2,30	5,32	55,00	2,25	5,40
6.56	H	-	H	Cl	H	65	>255	$C_{12}H_6ClNO_3S$	51,53	2,16	5,01	52,00	2,20	4,90
6.57	H	-	H	OMe	H	63	>255	$C_{13}H_9NO_4S$	56,72	3,30	5,09	57,20	3,20	5,20
6.58	H	-	H	H	OMe	71	>260	$C_{13}H_9NO_4S$	56,72	3,30	5,09	56,89	3,20	5,23
6.59	-	-	H	H	H	88	282-284	$C_{14}H_8N_2O_2S$	62,67	3,01	10,44	62,89	3,10	10,03
6.60	-	-	H	Me	H	62	276-278	$C_{15}H_{10}N_2O_2S$	63,81	3,57	9,92	64,00	3,45	10,14
6.61	-	-	H	OMe	H	50	260-262	$C_{15}H_{10}N_2O_3S$	60,39	3,38	9,39	60,56	3,20	9,45
6.62	-	-	H	H	OMe	70	264-266	$C_{15}H_{10}N_2O_3S$	60,39	3,38	9,39	60,10	3,26	9,52
6.63	-	-	H	Cl	H	70	279-281	$C_{14}H_7ClN_2O_2S$	55,54	2,33	9,25	55,63	2,30	9,34
6.64	-	-	H	OMe	OMe	70	285-286	$C_{16}H_{12}N_2O_4S$	58,53	3,68	8,53	58,70	3,80	8,67
6.65	H	Me	H	F	H	87	268-270	$C_{14}H_{10}FN_3O_3S$	52,66	3,16	13,16	52,81	3,10	13,28
6.66	Me	-	-	-	-	74	290-292	$C_{15}H_{12}N_2O_3S_2$	54,20	3,64	8,43	54,00	3,75	8,60
6.67	Et	-	-	-	-	95	227-229	$C_{16}H_{14}N_2O_3S_2$	55,47	4,07	8,09	55,60	3,90	8,00
6.68	Me	-	-	-	-	80	232-233	$C_{26}H_{20}N_2O_8S_2$	56,51	3,65	5,07	55,90	3,70	5,20
6.69	Et	-	-	-	-	79	220-221	$C_{28}H_{24}N_2O_8S_2$	57,92	4,17	4,82	58,20	4,10	4,75

Схема 6.8



Для оцінки можливості утворення семичленного циклу, було обчислено вільну енергію Гібса на DFT рівні. Всі представлені геометрії та енергії отримано з використанням гібридного функціоналу M06-2X [390] і базисного набору 6-311G(d,p) включеного у програму GAUSSIAN 09 Rev.01D [391] у PCM [392] моделі сольватації (вода). За допомогою розрахунку коливального спектру на тому ж рівні отримано підтвердження досягнення мінімума та термодинамічні дані для оптимізованих структур. Сполуки із 6-членними (**6.53, 6.55. 6.57**) та 7-членними циклами **6.X1-6.X2** прогнозуються плоскими завдяки утворення конюгованих систем. Відповідно, 7-членний цикл є напруженим і, як наслідок, енергетично невигідним. ΔG Циклізації становить -10,8 – -10,1 ккал/моль для 6-членного та +1,5, +1,7 ккал/моль для 7-членного циклів.

Таблиця 6.6

Відносна енергія Гібса для сполук 6.53, 6.55. 6.57 та 6.X1-6.X2.

Сп-ка	ΔG_{rxn}, ккал/моль
6.55	-10,1
6.53	-10,8
6.57	-10,5
6.X1	+1,5
6.X2	+1,7

Таким чином, циклізація з утворенням 1-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонових кислот є термодинамічно вигідною, на відміну від циклізації метилових естерів 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-4-карбонових кислот **6.66-6.67**, де рівновага зсунута до вихідних реагентів. Це спричиняє проходження конкурентної реакції оксидативної димеризації з утворенням дисульфідів **6.68-6.69.**

Синтезовані 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони **6.66-6.67** та дисульфіди **6.68-6.69** – дрібнокристалічні порошки світло-жовтого та оранжевого кольорів, розчинні в ацетатній кислоті, ДМФА, важко розчинні у спиртах, ацетонітрилі, нерозчинні в діетиловому етері, воді, гексані. Фізико-хімічні характеристики наведено у табл. 6.5.

6.3. Спектральні характеристики одержаних сполук

Структура синтезованих речовин підтверджена елементним аналізом, а також методами ^{1}H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

^{1}H та ^{13}C ЯМР та LC-MS спектри N-заміщених (5aR,8R,9aR)-5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2*H*-ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-онів **6.1-6.12**

Аліфатичні протони біциклічної гідрованої системи у спектрах ^{1}H ЯМР ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазолів характеризуються сигналами у слабкому полі від 0,87-0,92 м.ч. до 2,24-2,34 м.ч. у вигляді мультиплетів, триплетів та дублетів. При цьому, сигнали 2 метильних груп виражені синглетами при 1,16-1,32 м.ч., а ще однієї CH_3 групи знаходяться в області 0,87-1,06 м.ч. у вигляді дублету або мультиплету (при накладанні із сигналами циклічних протонів). Сигнали гідрогенів ацетамідної групи CH_2CO, як правило, дають 2 дублети при 4,28-4,37м.ч., 4,38-4,47 м.ч. із константами спін-спінової взаємодії 17,0-18,0 Гц. Сигнал атома гідрогену амінної групи ацетамідного залишку знаходиться при 10,2-10,4 м.ч. у вигляді синглету.

6.1 *5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-d][1,3]тіазол-2-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6), δ: 0,87 (д, *J* = 6,8 Гц, 3H, CH_3CH), 0,90–1,05 (м, 3H), 1,25 (с, 3H, CH_3), 1,28 (с, 3H, CH_3), 1,42–1,51 (м, 1H), 1,55 (т, *J* = 12,0 Гц, 1H), 1,73 (д, *J* = 12,0 Гц, 1H), 1,83 (м, 2H), 2,24 (т, *J* = 8,0 Гц, 1H), 11,12 (с, 1H, NH).

6.2. *N-(Феніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-d][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6), δ: 0,90–1,05 (м, 6H, CH_3CH, CH_3), 1,20 (шс, 6H, 2*CH_3), 1,45–1,55 (м, 1H), 1,65 (м, 1H), 1,75 (м, 1H), 1,90 (м, 2H), 2,34 (м, 1H), 4,30 (шс, 2H, CH_2CO), 6,90 (т, *J* = 8,4 Гц, 1H, аром,), 7,20 (т, *J* = 8,4 Гц, 2H, аром,), 7,45 (д, *J* = 8,4 Гц, 2H, аром,), 10,20 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6): 171,1, 164,7, 139,0, 129,3, 124,0, 119,5, 113,7, 106,2, 50,7, 48,7, 45,8, 42,4, 36,7, 34,9, 32,0, 27,6, 25,9, 23,4, 22,4. LCMS (ESI) m/z 401 (M + H)+.

6.3. *N-(4-Ізопропіленфеніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-d][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6), δ: 0,90 (д, *J* = 6,8 Гц, 3H, CH_3CH), 1,00–1,05 (м, 3H), 1,16 (с, 3H, CH_3), 1,19 (с, 3H, CH_3), 1,29 (д, *J* = 12,9 Гц, 2*CH_3, 6H), 1,45–1,55 (м, 1H), 1,65 (т, *J* = 12,0 Гц, 1H), 1,75 (д, *J* = 12,0 Гц, 1H), 1,90 (м, 2H), 2,34 (т, *J* = 8,0 Гц, 1H), 2,85 (м, 1H, $CHMe_2$), 4,28 (д, *J* = 18,0 Гц, 1H, CH_2CO), 4,38 (д, *J* = 18,0 Гц, 1H, CH_2CO), 7,18 (д, *J* = 8,4 Гц, 2H, аром,), 7,45 (д, *J* = 8,4 Гц, 2H, аром,), 10,19 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-d_6): 171,3, 164,0, 152,5, 150,0, 139,0, 136,3, 129,5, 119,1, 107,7, 50,6, 47,6, 42,8, 36,8, 35,0, 34,9, 32,2, 27,9, 26,1, 23,8, 23,6, 22,6.

6.4. *N-(4-Сульфонамідофеніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-d][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6), δ: 0,88–0,92 (м, 3H, CH_3CH); 0,97–1,03 (м, 3H), 1,27–1,32 (м, 6H, 2*CH_3), 1,49–1,57 (м, 1H), 1,61–1,67 (м, 1H), 1,71–1,81 (м, 1H), 1,86–1,89 (м, 1H), 2,27–2,34 (м, 1H), 4,35 (д, *J* = 17,2 Гц, 1H, CH_2CO), 4,43 (д, *J* = 17,0 Гц, 1H, CH_2CO), 7,24 (с, 2H, NH_2), 7,71 (д, 2H, *J* = 8,7 Гц, 2H, C_6H_4), 7,77 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, 2H, C_6H_4), 10,61 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО-d6): 170,5, 165,4, 141,8, 139,2, 127,3, 122,0, 119,1, 106,3, 50,4, 48,7, 45,9, 42,6, 36,6, 34,8, 32,0, 27,7, 25,8, 23,6, 22,4.

6.5. *N-(4-Ацетиламінофеніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-d][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d6), δ: 0,94 (д, J = 6,8 Гц, 3H, CH_3CH), 1,00–1,18 (м, 3H), 1,28 (с, 3H, CH_3), 1,32 (с, 3H, CH_3), 1,45–1,55 (м, 1H), 1,66 (м, 1H), 1,75 (м, 1H), 1,88 (м, 2H), 2,02 (с, 3H, CH_3CO), 2,33 (м, 1H), 4,30 (д, *J* = 18,0 Гц, 1H, CH_2CO), 4,40 (д, *J* = 18,0 Гц, 1H, CH_2CO), 7,50 (шс, 4H, аром.), 9,91 (с, 1H, NH), 10,24 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО- d6): 170,5, 168,4, 164,3, 135,6, 134,2, 122,1, 119,9, 106,2, 50,7, 48,6, 45,7, 42,4, 36,7, 34,9, 32,0, 27,6, 25,9, 24,3, 23,4, 22,3. LCMC (ECI) м/z 460 (M + H)+.

6.6. *N-(3-Трифлюорометилфеніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-д][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід*. ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-d6), δ: 0,92 (д, 3H, *J* = 6,2 Гц, CH_3CH), 0,98–1,06 (м, 3H), 1,28 (с, 3H, CH_3), 1,32 (с, 3H, CH3), 1,51–1,56 (м, 1H), 1,67 (т, 1H, *J* = 11,3 Гц), 1,75 (д, 1H, *J* = 11,3 Гц), 1,88 (м, 2H), 2,34 (м, 1H), 4,37 (д, 1H, *J* = 17,4 Гц, CH_2CO), 4,47 (д, 1H, *J* = 17,1 Гц, H_2CO), 7,43 (д, 1H, *J* = 7,3 Гц, 3-CF_3-C_6H_4), 7,59 (д, 1H, *J* = 7,1 Гц, 2-CF_3-C_6H_4), 7,72–7,74 (м, 1H, 3-CF_3-C_6H_4), 8,09 (с, 1H, 3-CF_3-C_6H_4), 10,74 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМСО- d6): 170,6, 165,5, 139,8, 130,7 (q, J = 20 Гц), 123,1 (q, J = 160 Гц), 122,0, 120,5, 114,6 (кв, *J* = 5 Гц), 111,8, 109,3, 103,4, 50,8, 48,8, 44,0, 42,6, 36,8, 34,8, 32,0, 27,6, 25,9, 23,5, 22,4. LCMC (ECI) м/z 471 (M + H)+.

6.10. *N-(2-Оксоіндолін-3-іліден)аміно)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-д][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід*. ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-d_6), δ: 0,87 (шс, 3H, CH_3), 0,94 (м, 3H), 1,24 (с, 6H, 2* CH_3, 2H), 1,45 (м, 1H), 1,62-1,72 (м, 2H), 1,82 (м, 2H), 2,21-2,29 (м, 1H), 4,81 (с, 2H, CH_2), 6,92-7,07 (м, 2H, аром.), 7,36-7,55 (м, 2H, аром.), 11,27 (1H, NH), 12,62 (1H, NH).

6.3.2. ^{1}H ЯМР та LCMS спектри 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 6.12-6.19 та їх заміщених похідних **6.12-6.35.**

6.12. *9-(2-Піридил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6.* ^{1}H NMR (DMSO-*d*6), δ: 1,14 м, 1,23 (д, *J* = 9,8 Гц), 1,35 м, 1,45 м, 1,62 м, 1,95 м, 2,10 м, 2,24 м (9H, норборн. фрагм.), 3,42–3,48 (м, 2H, ArCH, SCH), 7,67 (м, 1H, аром,), 7,86 (д, 1H, *J* = 6,8 Гц, аром,), 8,57 (с, 1H, аром,), 8,75 (д, 1H, *J* = 5,0 Гц, аром,), 11,05 (с, 1H, NH). LCMS (ESI) m/z 317 (97 %, (M+H+).

6.13. *9-(4-Метилоксикарбоксифеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6*. ^{1}H NMR (DMSO-*d*6, δ: 1,05 м, 1,18 (д, *J* = 10,2 Гц), 1,32 м, 1,38 м, 1,58 м, 1,89 м, 2,11(д, *J* = 10,1 Гц), 2,24 м (9H, норборн. фрагм.), 3,44 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, ArCH), 3,56 (д, 1H, *J* = 10,2 Гц, CCH), 3,85 (с, 3H, CH_3), 7,54 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром,), 7,97 (д, 2H, *J* = 8,0 Гц, аром,), 11,53 (с, 1H, NH). LCMS (ESI) m/z 374 (98 %, (M+H+).

6.14. *9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6.*

6.15. *9-(4-Хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6*.

6.16. *9-(4-(3,5-Дифеніл-4,5-дигідропіразол-1-іл)-феніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6***.** ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,14 м, 1,28 м, 1,39 м, 1,62 м, 1,86 м, 2,10 м, 2,23 м, 2,32 м (9H, норборн. фрагм.), 3,39 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, ArCH), 3,48 (м, 1H, CH_2CH), 3,85 (м, 1H, CH_2CH), 3,94 (д, 1H, *J* = 10,2 Гц, CCH), 5,76 (м, 1H, CH_2CH), 6,84–6,92 (м, 2H, аром.), 7,21–7,28 (м, 4H, аром.), 7,56–7,62 (м, 4H, аром.), 7,69–7,73 (шс, 4H, аром.), 11,02 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 536 (96,2 %, (M+H+).

6.17. *9-(5-Нітро-2-(2-хлоробензилоксифеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6***.** ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,07 м,

1,21 (д, *J* = 9,6 Гц), 1,28 м, 1,39 м, 1,58 м, 1,92 м, 2,20 м, 2,38 м, (9H, норборн. фрагм.), 3,42 (м, 1H, ArCH), 3,99 (д, 1H, *J* = 9,7 Гц, CCH), 5,28 (с, 2H, OCH_2), 7,22–7,24 (м, 2H,аром,), 7,30–7,40 (м, 2H, аром,), 7,90 (м, 2H, аром,), 8,22 (с, 1H, аром,), 11,54 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 501/503 (95,6 %, (M+H+).

6.18. *9-(2-Гідрокси-3-метоксифеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6.* ^{1}H NMR (ДМСО-$д_6$), δ: 1,05 м, 1,20 (д, *J* = 9,2 Гц), 1,31 м, 1,42 м, 1,60 м, 1,92 шс, 2,08 (д, *J* = 7,8 Гц), 2,20 шс, 2,27 м, (9H, норборн. фрагм.), 3,41 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, ArCH), 3,47 (д, 1H, *J* = 10,1 Гц, CCH), 3,82 (с, 3H, CH_3), 6,80–6,84 (м, 1H, аром,) 6,86–6,93 (м, 2H, аром,), 8,78 (с, 1H, OH), 11,40 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 362 (97,8 %, (M+H+).

6.19. *9-(2-Нітрофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6*. ^{1}H NMR (ДМСО-$д_6$), δ: 1,12м, 1,20 (д, *J* =10,1 Гц), 1,32 м, 1,47 м, 1,65 м, 2,06 м, 2,12 м, 2,22 м (9Н, норборн. фрагм.), 3,22 (д, 1Н, *J* = 7,6 Гц, ArCH), 3,35 (д, 1Н, *J* = 10,4 Гц, CCH), 7,22–7,28 (м, 3Н, аром,),7,92 (шс, 1Н, аром,), 11,12 (с, 1Н, NH). LCMC (ECI) м/z 361 (96 %, (M+H+).

^{1}H ЯМР та LCMS спектри N-заміщених 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 **6.20-6.35**.

6.20. *Етиловий естер 2-(9-(тіофен-2-іл)--3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)- ацетатної кислот*

6.21. *2-(9-(4'-Хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)- N-феніл-ацетамід.* 1H NMR (DMSO-*d*6), δ: 1,11 м, 1,16 (д, *J* = 10,0 Гц), 1,32 м, 1,41 м, 1,62 м, 2,07 м, 2,21 м, (9Н, норборн. фрагм.), 3,38 (д, 1Н, *J* = 7,8 Гц, ArCH), 3,52 (д, 1Н, *J* = 10,1 Гц, CCH), 4,58 (шс, 2Н, CH_2CO), 6,72–6,78 (м, 4Н, аром.), 6,94–7,05 (м, 3Н, аром.), 7,12–7,15 (м, 2Н, аром.), 10,98 (с, 1Н, NH). LCMS (ESI) m/z 483/485 (95.6 %, (M+H+).

6.22. *2-(9-(4'-Хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)- N-3-метилфеніл-ацетамід.* ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,20 м, 1,31 м, 1,51 м, 1,62 м, 2,12 м, 2,24 м, (9Н, норборн. фрагм.), 2,33 (с, 3Н, CH_3), 3,39 (д, 1Н, *J* = 7,8 Гц, ArCH), 3,70 (д, 1Н, *J* = 10,2 Гц, CCH), 4,58 (м, 2Н, CH_2CO), 7,35 (д, 2Н, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,42 (д, 2Н, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,50– 7,56 (м, 3Н, аром.), 7,68 (шс, 1Н, аром.), 10,52 (с, 1Н, NH). LCMC (ECI) м/z 497/498 (95,6 %, (M+H+).

6.23. *2-(9-(4'-Хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)- N-2-метилфеніл-ацетамід.* ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,22 м, 1,28 м, 1,34 м, 1,51 м, 2,14 м, 2,23 м (9Н, норборн. фрагм.), 2,33 (с, 3Н, CH_3), 3,32 (д, 1Н, *J* = 7,8 Гц, ArCH), 3,91 (д, 1Н, *J* = 10,4 Гц, CCH), 4,87 (д, 1Н, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 4,96 (д, 1Н, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 7,32 (д, 2Н, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,36 (д, 2Н, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,42 (д, 1Н, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,52–7,56 (м, 3Н, аром.), 10,60 (с, 1Н, NH). LCMC (ECI) м/z 497/499 (97,0 %, (M+H+).

6.24. *2-(9-(4'-Хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)- N-4-метоксифеніл-ацетамід.* ^{1}H NMR (ДМСО-$д_6$), δ: 1,18 м, 1,22 м, 1,33 м, 1,51 м, 2,12 м, 2,31 м (9Н, норборн. фрагм.), 3,30 (д, 1Н, *J* = 7,6 Гц, ArCH), 3,81 (с, 3Н, CH_3), 3,87 (д, 1Н, *J* = 10,2 Гц, CCH), 4,52 (д, 1Н, *J* = 16,0, Гц, CH_2CO), 4,62 (д, 1Н, *J* = 16,0, Гц, CH_2CO), 7,30 (д, 2Н, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,34 (д, 2Н, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,52 (д, 2Н, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,56 (д, 2Н, *J* = 8,3 Гц, аром.), 10,57 (с, 1Н, NH). LCMC (ECI) м/z 513/515 (97,0 %, (M+H+).

6.25. *2-(9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-4-метилфеніл-ацетамід*. ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,24 м, 1,30 (т, *J* = 9,2 Гц), 1,53 м, 1,64 м, 2,13м, 2,23 м (9Н, норборн. фрагм.), 2,27 (с, 3Н, CH_3), 3,33 (д, 1Н, *J* = 7,6 Гц, ArCH), 3,91 (д, 1Н, *J* = 10,6 Гц, CCH), 4,46 (д, 1Н, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 4,51 (д, 1Н, *J* = 16,0, Гц, CH_2CO), 7,10 (м, 4Н, аром.), 7,41 (д, 2Н, *J* = 8,2 аром.), 7,45 (д, 1Н, *J* = 6,8 Гц, аром.), 10,16 (с, 1Н, NH). LCMC (ECI) м/z 469 (97 %, (M+H+).

6.26. *2-(9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-2-трифлюорометилфеніл-ацетамід.* ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,24 м, 1,32 м, 1,54 м, 1,63 м, 2,18 м, 2,23 м (9Н, норборн. фрагм.), 3,34 (д, 1Н, *J* = 7,6 Гц, ArCH), 3,71 (д, 1Н, *J* = 7,8 Гц, CCH), 4,52 (д, 1Н, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 4,54 (д, 1Н, *J* = 16,0, Гц, CH_2CO), 7,05–7,10 (м, 2Н, аром.), 7,25–7,30 (м, 2Н, аром.), 7,36 (м, 2Н, аром.), 7,40 (д, 1Н, *J* = 7,5 Гц, аром.), 9,81 (с, 1Н, NH). LCMC (ECI) м/z 523 (98,2 %, (M+H+).

6.27. *2-(9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,02,10,04,8]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-4-хлорофеніл-ацетамід.* ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,23 м, 1,28 м, 1,58 м, 1,64 м, 2,21 м, 2,24 м (9Н, норборн. фрагм.), 3,34 (д, 1Н, *J* = 7,2 Гц, ArCH), 3,93 (д, 1Н, *J* = 8,8 Гц, CCH), 4,42 (д, 1Н, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 4,46 (д, 1Н, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO),.7,05 (шс, 1Н, аром.), 7,12 (шс, 1Н, аром.), 7,39 (д, 2Н, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,60 (д, 1Н, *J* = 4,0 Гц, аром.), 7,96 (д, 2Н, *J* = 7,4 Гц, аром.), 10,35 (с, 1Н, NH). LCMC (ECI) м/z 489/491 (97,0 %, (M+H+).

6.28. *2-(9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-4-метоксифеніл-ацетамід.* ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ:

1,26 (д, *J* = 9,5 Гц) 1,35 м, 1,55 (т, *J* = 8,9 Гц), 1,68 м, 2,21 м, 2,38 м (9H, норборн. фрагм.), 3,10 (с, 3H, CH_3), 3,37 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, ArCH), 3,92 (д, 1H, *J* = 10,7 Гц, CCH), 4,55 (д, 1H, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 4,57 (д, 1H, *J* = 16,0, Гц, CH_2CO), 7,06 (т, 1H, *J* = 4,2 Гц, аром.), 7,13 (шс, 1H, аром.), 7,42 (д, 1H, *J* = 4,8 Гц, аром.), 7,73 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,93 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 10,35 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 485 (98,0 %, (M+H+).

6.29. *2-(9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-3-трифлюорометилфеніл-ацетамід.* ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,26 м, 1,36 м, 1,56 м, 1,68 м, 2,21 м, 2,28 (9H, норборн. фрагм.), 3,38 (д, 1H, *J* = 7,7 Гц, ArCH), 3,92 (д, 1H, *J* = 10,6 Гц, CCH), 4,54 (д, 1H, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 4,57 (д, 1H, *J* = 16,0, Гц, CH_2CO), 7,06 (м, 1H, аром.), 7,13 (шс, 1H, аром.), 7,35 (т, 1H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,40 (д, 1H, *J* = 4,8 Гц, аром.), 7,51 (т, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 7,76 (д, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 8,07 (с, 1H, аром.), 10,57 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 523 (97,0 %, (M+H+).

6.30. *2-(9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-3,4-дихлорофеніл-ацетамід*. ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,26 (д, *J* = 9,7 Гц), 1,38 (т, *J* = 9,3 Гц), 1,56 (т, *J* = 9,8 Гц), 1,68 м, 2,18 м, 2,28 (9H, норборн. фрагм.), 3,36 (д, 1H, *J* = 7,3 Гц, ArCH), 3,90 (д, 1H, *J* = 10,4 Гц, CCH), 4,52 (д, 1H, *J* = 16,7 Гц, CH_2CO), 4,56 (д, 1H, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 7,06 (д, 1H, *J* = 4,7 Гц, аром.), 7,11 (шс, 1H, аром.), 7,40 (д, 1H, *J* = 4,73 Гц, аром.), 7,42 (м, 2H, аром.), 7,96 (с, 1H, аром.), 10,51 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 523/524/525 (96,0 %, (M+H+).

6.31. *Етиловий естер 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (ДМСО-*д*6), δ: 1,16 м, 1,26 (д, *J* = 9,2 Гц), 1,32 м, 1,30 (т, 3H, *J* = 7,2 Гц, CH_3), 1,50 (т, *J* = 8,2 Гц), 1,67 (т, *J* = 9,0 Гц), 2,07 м, 2,21 м (9H, норборн, фрагм,), 3,31 (д, 1H, *J* = 17,6 Гц, CCH), 3,50 (д, 1H, *J* = 10,2 Гц, ArCH), 4,21 (кв, 2H, *J* = 7,2 Гц, CH_2CH_3), 4,37 (с, 2H, CH_2CO), 7,33–7,36 (м, 4H, аром.). LCMC (ECI) м/z 436/438 (96 %, (M+H+).

6.32. *Гідразид 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*6), δ: 1,14 м, 1,23 (д, *J* = 10,3 Гц), 1,31 (т, *J* = 10,7 Гц), 1,48 м, 1,66 м, 2,02 м,

2,20 м, 2,26 м (9H, норборн. фрагм.), 3,32 (д, 1H, *J* = 7,9 Гц, ArCH), 3,52 (д, 1H, *J* = 9,7 Гц, CCH), 4,31 (д, 1H, *J* = 16,3 Гц, CH_2CO), 4,41 (д, 1H, *J* = 16,0 Гц, CH_2CO), 7,37 (м, 4H, аром.), 8,10 (шс, 1H, NH), 9,60 (шс, 2H, NH_2). LCMC (ECI) м/z 422/424 (98%, (M+H+).

Спектри ^{1}H ЯМР свідчать про проходження «доміно» реакції Кньовенагеля-*гетеро*-Дільса-Альдера з утворенням базової гетероциклічної системи, та позитивного процесу *N*-алкілювання. На прикладі ^{1}H ЯМР спектру для сполуки **6.35** видно класичну систему дублетів, триплетів та мультиплетів при ~1,10-3,30 м.ч. характерних для норборнанового фрагменту. Сигнал протону CH групи зв'язаної з ароматичним циклом утворює дублет при ~3,36-3,98 м.ч. та часто накладається із сигналами норборнанового фрагменту. Сигнал екзоциклічної групи N-CH_2-CO відповідає двом дублетам із константою спін-спінової взаємодії ~16,0 Гц, що є зумовлено діастереотопністю протонів метиленової групи (рис. 6.3).

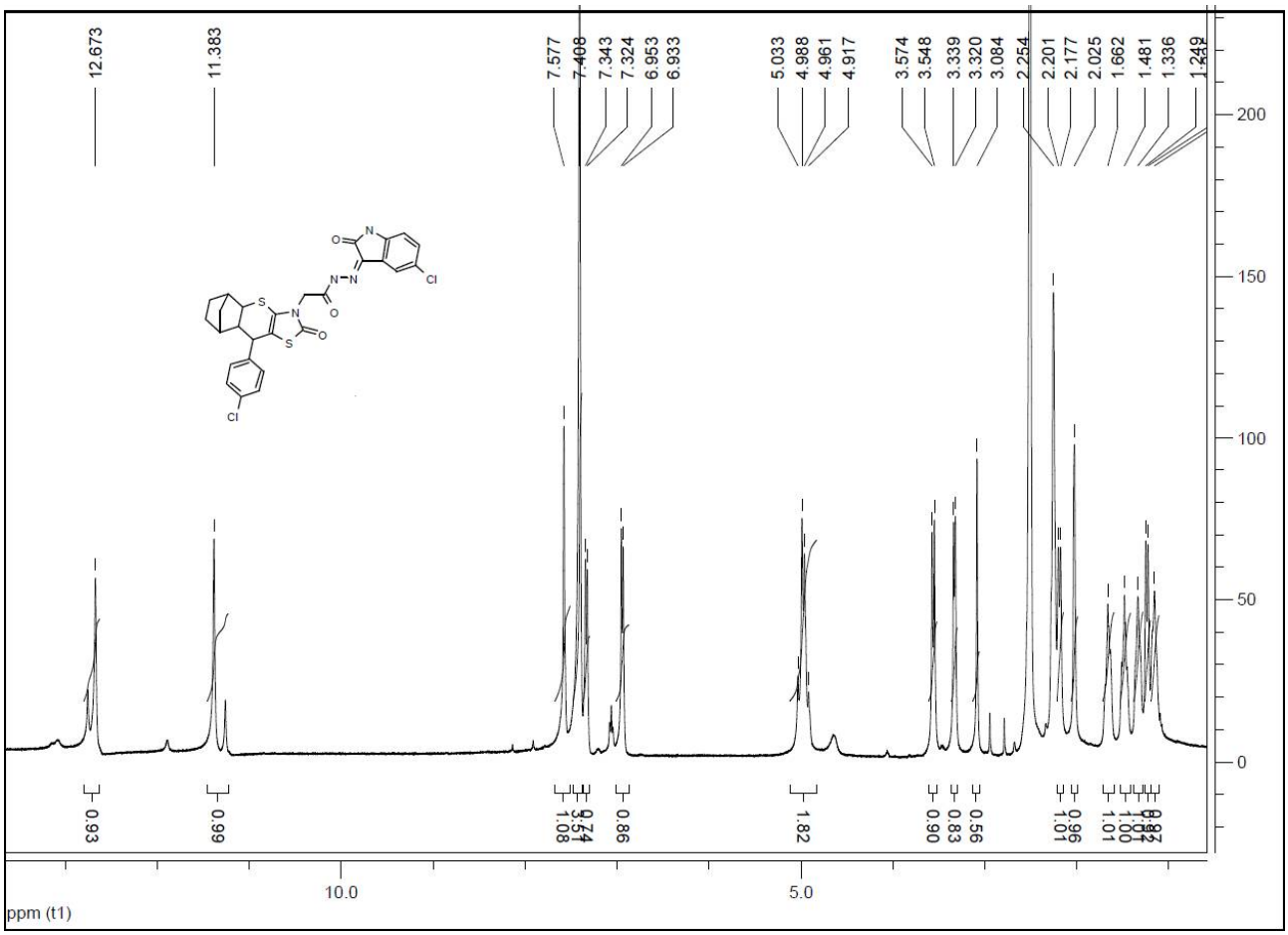


Рис.6.3. ^{1}H ПМР спектр сполуки **6.35**

6.33. *(2-Оксо-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-гідразид 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти.* ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*6), δ: 1,15 м, 1,23 (д, *J* = 9,7 Гц), 1,33 м, 1,47 м, 1,68 м, 2,02 м, 2,18 м, 2,25 м (9H, норборн. фрагм.), 3,34 (д, 1H, *J* = 6,7 Гц, ArCH), 3,56 (д, 1H, *J* = 9,9 Гц, CCH), 4,92 (д, 1H, *J* = 17,6 Гц, CH_2CO), 5,02 (д, 1H, *J* = 17,6 Гц, CH_2CO), 6,94 (д, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,06 (т, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,34 (т, 1H, *J* = 7,7 Гц, аром.), 7,41 (шс, 4H, аром.), 7,57 (д, 1H, *J* = 6,7 Гц, аром.), 11,26 (с, 1H, NH), 12,76 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 552/554 (96 %, (M+H+).

6.34. *(2-Оксо-1,2-дигідро-5-бромоіндол-3-іліден)-гідразид 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти.*^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*6), δ: 1,16 м, 1,24 м, 1,34 м, 1,48 м, 1,66 м, 2,03 м, 2,19 м, 2,23 м (9H, норборн. фрагм.), 3,34 (д, 1H, *J* = 7,1 Гц, ArCH), 3,54 (д, 1H, *J* = 10,3 Гц, CCH), 4,94 (д, 1H, *J* = 16,6 Гц, CH_2CO), 5,02 (д, 1H, *J* = 16,9 Гц, CH_2CO), 6,91 (д, 1H, *J* = 6,9 Гц, аром.), 7,41 (шс, 4H, аром.), 7,47 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 7,72 (с, 1H, аром.), 11,47 (с, 1H, NH), 12,69 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 629/631/632/633 (98 %, (M+H+).

6.35. *(2-Оксо-1,2-дигідро-5-хлороіндол-3-іліден)-гідразид 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9,2,1,$0^{2,10}$,$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти*. ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*6), δ: 1,16 м, 1,24 (д, *J* = 9,7 Гц), 1,34 м, 1,48 м, 1,62 м, 2,03 м, 2,19 (д, *J* = 9,6 Гц), 2,25 м (9H, норборн. фрагм.), 3,33 (д, 1H, *J* = 7,3 Гц, ArCH), 3,56 (д, 1H, *J* = 10,3 Гц, CCH), 4,98 (м, 2H, CH_2CO), 6,94 (д, 1H, J = 8,0 Гц, аром.), 7,33 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,41 (шс, 4H, аром.), 7,58 (с, 1H, аром.), 11,38 (с, 1H, NH), 12,67 (с, 1H, NH). LCMC (ECI) м/z 586/588 (95%, (M+H+).

6.36. *5-(1-Феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-он-6*. ^{1}H NMR (400 МГц, ДМСО-*д*6), δ: 1,11т, 1,20д, 1,30т, 1,44т, 1,63м, 1,95м, 2,15м, 2,23м, 3,25д (*J* = 7,6 Гц), 3,49д (*J* = 10,5 Гц) (11H, норборнановий фрагмент, Ar-CH), 4,74 (дд, 2H, *J* = 16,9 Гц, CH_2COC), 7,40, 7,56 (2*м, 9H, Ar), 13,90 (с, 1H, SH).

^{1}H ЯМР спектри метил-3-форміліндолін-2-карбоксилатів **6.37-6.38** та 3-форміліндолін-2-карбонових кислот **6.39-6.44**.

6.37. *Метил 5-флюоро-3-форміліндол-2-карбоксилат*. ^{1}H NMR (300 МГц, DMSO-d_6) δ: 13,01 (с, 1H), 10,54 (с, 1H), 7,88 (дд, *J* = 2,4, *J* = 9,6, 1H), 7,57 (дд, *J* = 4,5, *J* = 9,0 Гц 1H), 7,27 (дт, *J* = 2,4, *J* = 9,6 Гц 1H), 3,98 (с, 3H).

6.38. *Метил 3-форміл-4,6-диметоксиіндол-2-карбоксилат*. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6), δ: 10,56 (с, 1H), 10,20 (с, 1H), 7,09 (с, 1H), 6,48 (с, 1H), 4,04 (с, 3H, CH_3), 4,00 (с, 3H, CH_3), 3,84 (с, 3H, CH_3).

6.39. *3-Форміл-1H-індол-2-карбонова кислота.*

6.40. *3-Форміл-5,6-диметоксиіндол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6), δ: 13,83 (шс, 1H), 12,46 (с, 1H), 10,57 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 6,94 (с, 1H), 3,79 (с, 6H, 2*CH_3).

6.41. *3-Форміл-6-метокси-1H-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6), δ: 13,93 (шс, 1H), 12,48 (с, 1H), 10,58 (с, 1H), 8,07 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 6,93 (д, *J* = 2,4 Гц, 1H), 6,91 (дд, *J* = 2,4, *J* = 8,7 Гц, 1H), 3,78 (с, 3H, CH_3).

6.42. *3-Форміл-5-метокси-1H-індол-2-карбонова кислота*.

6.43. *5-Хлоро-3-форміл-1H-індол-2-карбонова кислота*

6.44. *3-Форміл-5-метил-1H-індол-2-карбонова кислота*.

^{1}H, ^{13}C ЯМР та LCMS спектри 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот та їх метильних естерів **6.45-6.52**

6.45. *3-(4-Оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-2-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 7,28 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, індол.), 7,39 (т, 1H, *J* = 7,4 Гц, індол.), 7,56 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, індол,), 7,81 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, індол.), 8,37 (с, 1H, CH=), 12,65 (с, 1H, NH), 13,72 (шс, 1H, COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ (ppm): 114,0, 114,4, 121,9, 122,0, 124,2, 125,2, 125,9, 128,2, 129,4 (=CH), 136,8, 162,5 (C=O), 169,6 (COOH), 195,6 (C=S). LCMS (ESI^+) *m/z* 305 $(M+H)^+$.

6.46. *5-Метил-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-2-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 2,89 (с, 3H, CH_3), 7,21 д, 1H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,44 (д, 1H, *J* = 8,4 Гц, аром), 7,58 (с, 1H, аром), 8,38 (с, 1H, NH), 12,55 (с, 1H, NH), 13,69 (шс, 1H, COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ (ppm):

21,9, 113,6, 114,0, 121,0, 124,5, 124,7, 127,7, 128,5, 129,3, 131,1, 135,2, 162,5, 169,6, 195,6. LCMS (ESI^+) *m/z* 319 $(M+H)^+$.

6.47. *Метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-2-карбонова кислоти*. ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,93 (с, 3Н, OMe), 7,29 (дт, 1Н, *J* = 2,3, 9,1 Гц, аром.), 7,54 (дд, 1Н, *J* = 2,2, 10,1 Гц, аром.), 7,57 (дд, 1Н, *J* = 4,7, 9,1 Гц, аром.), 8,21 (с, 1Н, =CH), 12,88 (с, 1Н, NH), 13,73 (шс, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 52,9 (OCH_3), 106,5 (д, 6-C_{ind}, J_{CF} = 24,6 Гц), 115,0 (д, 7- C_{ind}, J_{CF} = 5,0 Гц), 115,2, 115,4, 115,6 (д, 4-C_{ind}, J_{CF} = 10,3 Гц), 124,2, 124,3, 128,9, 133,7 (=CH), 153,6 (д, 6-C, J_{CF} = 236,5 Гц), 161,1 (C=O), 169,4 (COO), 195,6 (C=S). LCMS (ESI): *m/z* 337 (100.0%, $[M+H]^+$).

6.48. *5-Хлоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-2-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 7,10 (д, 1Н, *J* = 8.7 Гц, аром.), 7,21 (с, 1Н, аром.), 7,54 (дд, 1Н, *J* = 2,1, 10,1 Гц, аром.), 8,28 (с, 1Н, =CH), 12,73 (с, 1Н, NH), 13,71 (шс, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), *δ:* 108,5, 108,8, 116,5, 116,7, 117,0, 117,7, 126,7, 128,1, 129,6, 135,6, 164,7, 172,3, 198,1.

6.49. *5-Метокси-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5іліденметил)-1Н-індол-2-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,80 (с, 3Н, OMe), 7,04 (д, 1Н, *J* = 8,8 Гц, аром.), 7,18 (с, 1Н, аром.), 7,45 (д, 1Н, *J* = 8,8 Гц, аром.), 8,38 (с, 1Н, =CH), 12,55 (с, 1Н, NH), 13,70 (шс, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), *δ:* 55,9 (OCH_3), 102,6, 114,0, 114,9, 117,0, 124,5, 124,8, 128,4, 129,4, 131,8 (=CH), 155,3, 162,5 (C=O), 162,7 (COOH), 195,5 (C=S). LCMS (ESI): *m/z* 335 (96.8%, $[M+H]^+$).

6.50. *Метиловий естер 4,6-диметокси-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-2-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,86 (с, 3Н, CH_3), 4,03 (с, 3Н, CH_3), 4,08 (с, 3Н, CH_3), 6,54 (шс, 1Н, аром.), 7,14 (с, 1Н, аром.), 8,15 (с, 1Н, CH=), 10,25 (с, 1Н, NH), 10,63 (с, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), *δ:* 52,3, 56,8, 57,2, 106,3, 123,4, 124,2, 125,9, 126,7, 127,7, 128,7, 128,9, 139,7, 158,6, 161,7, 165,5, 187,2. LCMS (ESI^+) *m/z* 379 $(M+H)^+$.

6.51 *6-Метокси-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5іліденметил)-1Н-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,89 (с, 3Н, CH_3), 6,89 (шс, 1Н, аром.), 7,65 (д, 1Н, *J* = 8,71 Гц, аром.), 8,06 (д, 1Н, *J* = 8,62 Гц, аром.), 8,25

(с, 1H, CH=), 10,53 (с, 1H, NH), 12,63 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), *δ:* 55,1, 97,0, 115,5, 117,2, 121,4, 125,8, 127,8, 128,8, 129,7, 133,7, 139,7, 161,0, 171,7, 190,1.

6.52. *5,6-Диметокси-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-2-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 1,89 (с, 3H, Me), 3,81 (с, 3H, OCH_3), 3,86 (с, 3H, OCH_3), 6,54 (шс, 1H, аром.), 7,09 (шс, 1H, аром.), 7,21(с, 1H, Гц, аром.), 8,15 (с, 1H, CH=), 10,48 (с, 1H, NH), 13,63 (шс, 1H, COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), *δ:* 55,9, 56,2, 95,4, 102,7, 114,8, 117,4, 124,5, 127,3, 128,5, 131,9, 146,7, 150,1, 162,4, 169,7, 195,5. LCMS (ESI$^+$) *m/z* 365 $(M+H)^+$.

Спектри ^{1}H ЯМР похідних 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонових кислот **6.46-6.53** доводять проходження конденсації Кньовенагеля, про що свідчить сигнал протону метиліденової групи у С5 положенні тіазолідинового циклу у вигляді синглету при ~ 8,15-8,38 м.ч. Ароматичні протони індольного фрагменту виражені синглетами та дублетами в області від 6,54 м.ч. до 7,81 м.ч. для 5,6-заміщених похідних та системою двох дублетів і двох триплетів для 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.45.** Приклад ^{1}H та ^{13}C ЯМР спектрів метилового естеру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.47** наведено на рис. 6.4. Проходження реакції циклізації 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонових кислот з утворенням 1-оксо-9*H*-тіопірано[3,4-*b*]індол-3-карбонових кислот **6.53-6.58** також підтверджено ^{1}H ЯМР спектрами, що характеризуються наявністю тільки ароматичних протонів в області від 6,92 до 8,71 м.ч. та синглетом протону CH= групи біля карбоксильного фрагменту, зміщеному у сильне поле при ~ 8,17-8,26 м.ч. Сигнали ароматичних протонів у ^{13}C ЯМР спектрах знаходяться від 102,3 м.ч. до 158,0 м.ч., деякі сигнали індольного фрагменту виражені дублетами, атом карбону карбоксильної групи дає сигнал при 162,5-164,0 м.ч., сигнал атома карбону С=О групи знаходиться в сильному полі при ~ 176,4-179,5 м.ч. Приклад опису ^{13}C ЯМР спектру сполуки **6.55** представлено на рис. 6.5.

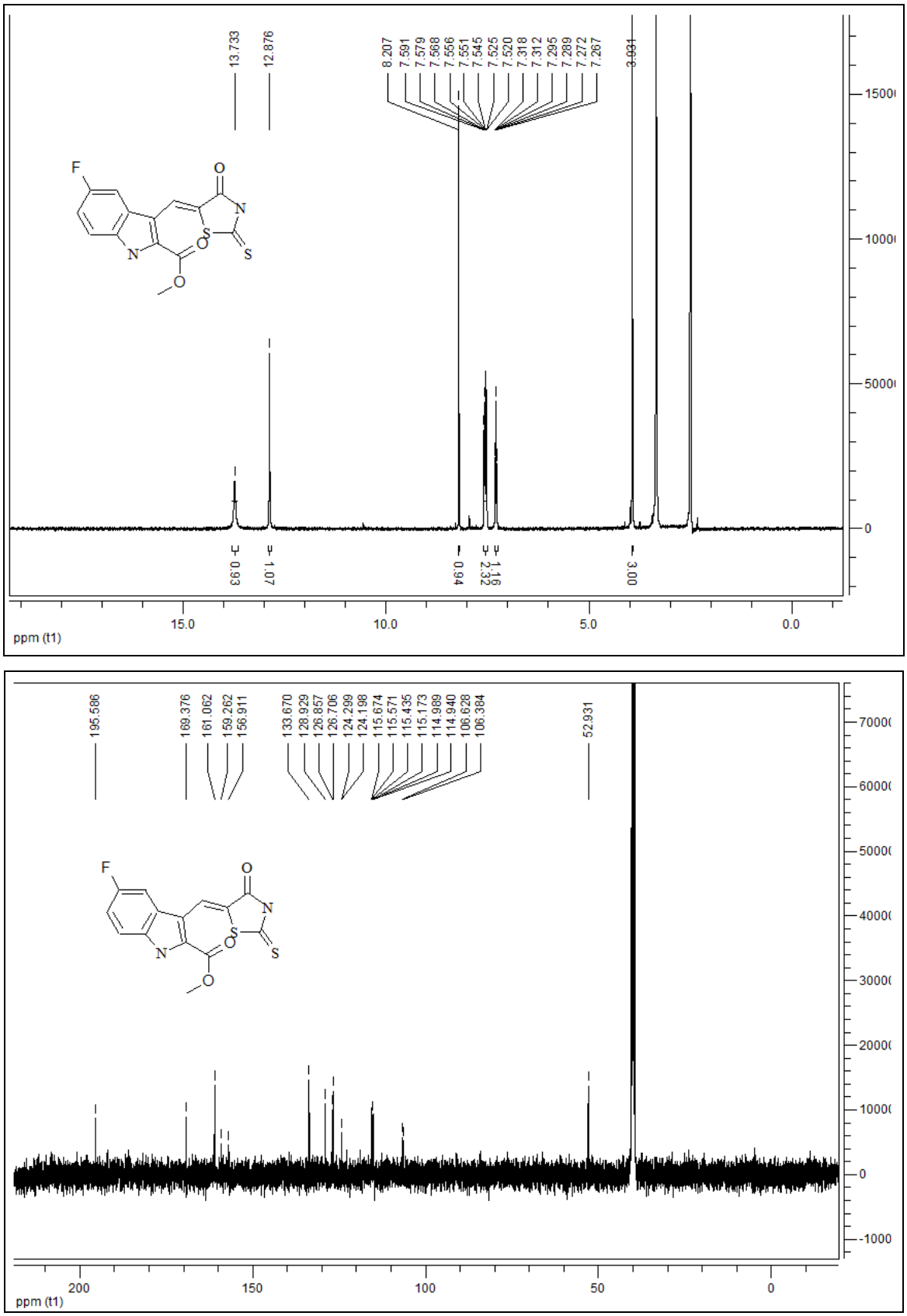


Рис. 6.4. ^{1}H та ^{13}C спектри метилового естру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.47**.

^{1}H, ^{13}C ЯМР та LCMS спектри 1-оксо-9*H*-тіопірано[3,4-*b*]індол-3-карбонових кислот **6.53-6.58**

6.53. *1-Оксо-9H-тіопірано[3,4-b]індол-3-карбонова кислота* ***5914*** ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 7,34 (т, 1H, J = 6,9 Гц), 7,55 (т, 1H, J = 6,9 Гц), 7,62 (д, 1H, J = 8,0 Гц), 8,32 (д, 1H, J = 7,8 Гц), 8,78 (с, 1H, CH=), 12,89 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 113,7 (8-C), 122,3 (5-C), 122,2 (4b-C), 123,3 (6-C), 124,5 (7-C), 124,6 (8a-C), 127,1 (4-C), 128,7 (3-C), 131,2 (4a-C), 139,1 (9a-C), 164,1 (COOH), 176,6 (C=O). LCMS (ESI$^+$) *m/z* 246 (M+H)$^+$.

6.54. *6,7-Диметокси-9H-1-оксо-тіопірано[3,4-b]індол-3-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 3,87 (с, 3H, OCH_3), 3,92 (с, 3H, OCH_3), 7,20 (шс, 1H, аром.), 7,81 (шс, 1H, аром.), 8,62 (с, 1H, CH=), 12,81 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 56,3, 56,4, 106,0, 107,8, 111,9, 120,3, 121,0, 127,3, 128,7, 131,6, 133,9, 154,6, 162,5, 179,5. LCMS (ESI$^+$) *m/z* 305 (M+H)$^+$.

6.55. *6-Флюоро-9-метил-1-оксо-тіопірано[3,4-b]індол-3-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 7,41 (т, 1H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,60 (дд, 1H, J = 3,0, 8,5 Гц, аром.), 8,71(д, 1H, J = 8,5 Гц), 8,79 (с, 1H, =CH), 12,96 (с, 1H, NH), 13,89 (шс, 1H, COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМSO-$д_6$), δ: 106,7 (д, 7-C, J_{CF} = 24,3 Гц), 114,9 (д, 8-C, J_{CF} = 9,5 Гц), 117,2 (д, 5-C, J_{CF} = 27,0 Гц), 123,2 (4-C), 123,9 (д, 8a-C, J_{CF} = 5,0 Гц), 124,6 (д, 4b-C, J_{CF} = 11,0 Гц), 126,3 (3-C), 132,0 (4a-C), 135,4 (9a-C), 158,0 (д, 6-C, J_{CF} = 236,8 Гц), 163,7 (COOH), 176,4 (C=O). ESI-MS *m/z* 364 (M+H)$^+$.

6.56. *6-Хлоро-1-оксо-9H-тіопірано[3,4-b]індол-3-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 7,31 (м, 1H, аром.), 7,48-7,53 (м, 1H, аром.), 8,04 (д, 1H, J = 9,31 Гц), 8,64 (с, 1H, CH=), 12,84 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, ДМSO-$д_6$), δ: 106,9 (д, 7-C, J_{CF} = 24,3 Гц), 115,1 (д, 8-C, J_{CF} = 9,4 Гц), 117,6 (д, 5-C, J_{CF} = 26,9 Гц), 123,3 (4-C), 124,1 (д, 8a-C, J_{CF} = 5,3 Гц), 124,8 (д, 4b-C, J_{CF} = 10,8 Гц), 126,6 (3-C), 132,2 (4a-C), 135,6 (9a-C), 159,8, 164,0 (COOH), 176,7 (C=O).

6.57. *6-Метокси-1-оксо-9H-тіопірано[3,4-b]індол-3-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,86 (с, 3H, OMe), 7,17 (д, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,49 (д, 1H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,86 (с, 1H, аром.), 8,82 (с, 1H, =CH), 12,75 (с, 1H, NH), 13,80 (шс, 1H, COOH), ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 56,0 (OCH_3), 102,3 (7-C),

115,0 (8-C), 120,2 (5-C), 123,7 (4-C), 124,1 (8a-C), 122,2 (4b-C), 125,9 (3-C), 131,3 (4a-C), 134,2 (9a-C), 155,6 (6-C), 163,9 (COOH), 176,5 (C=O). LCMS (ESI): *m/z* 275 (96,5%, $[M-H]^+$).

6.58. *7-Метокси-1-оксо-9H-тіопірано[3,4-b]індол-3-карбонова кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,78 (с, 3H, CH_3), 6,92 (м, 2H, аром.), 7,66 (д, 1H, *J* = 8,75 Гц, аром.), 8,35 (с, 1H, CH=), 10,6 (с, 1H, NH), 12,39 (шс, 1H, COOH).

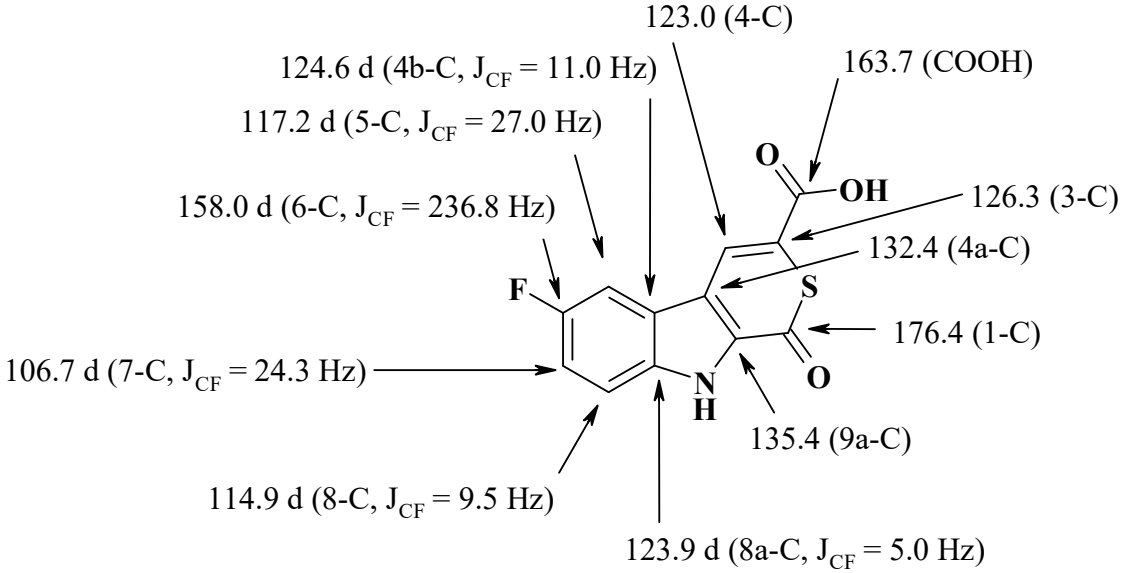


Рис. 6.5. Відповідність сигналів у ^{13}C спектрі ЯМР атомам карбону для 6-флюоро-9-метил-1-оксо-тіопірано[3,4-*b*]індол-3-карбонової кислоти **6.55**

^{1}H, ^{13}C ЯМР спектри 1-тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діонів **6.59-6.65**.

6.59. *1-Тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діон.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 2,48 (с, 1H), 7,17 (т, 1H, аром.), 7,32 (т, 1H, аром.), 7,51 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,76 (д, 1H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 8,26 (с, 1H, CH=), 8.95 (шс, 1H, NH), 12,33 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 113,7, 116,0, 121,1, 122,2, 124,5, 124,9, 125,5, 127,7, 130,9, 136,8, 162,9, 175,7, 180,6.

6.60. *6-Метил-1тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діон.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 2,34 (с, 3H, CH_3), 7,17 (м, 1H, аром.), 7,41 (д, 1H, аром.), 7,54 (с, 1H, аром.), 8,25 (с, 1H, CH=), 8,96 (с, 1H, NH), 12,23 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 21,9, 113,4, 115,4, 121,4, 124,7, 125,2, 127,4, 130,0, 130,6, 135,2, 162,9, 175,7, 175,8, 180,6, 180,7.

6.61. *6-Метокси-1-тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діон.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,78 (с, 3H, O-CH_3), 6,99 (д, 1H, *J* = 8,9 Гц, аром.), 7,14 (с, 1H, аром.), 7,41 (д, 1H, *J* = 8,9 Гц, аром.), 8,26 (с, 1H, CH=), 8,93 (шс, 1H, NH), 12,23 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 57,9, 104,9, 116,8, 117,6, 118,9, 127,0, 127,2 (д, *J* = 17,5 Гц), 130,0, 132,3, 134,1, 156,8, 165,0, 177,8, 183,0.

6.62. *7-Метокси-1-тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діон.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,87 (с, 3H, CH_3), 6,83 (д, 1H, аром.), 6,85 (с, 1H, аром.), 7,63 (д, 1H, аром.), 8,17 (с, 1H, CH=), 8,96 (с, 1H, NH), 12,24 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 55,6, 94,9, 112,7, 117,2, 118,7, 123,1, 124,3, 125,0, 131,6, 138,2, 158,7, 161,5, 175,7, 180,5,188,0.

6.63. *6-Хлоро-1-тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діон.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 7,24 (м, 1H, аром.), 7,49 (шс, 1H, аром.), 7,8 (с, 1H, аром.), 7,87 (с, 1H, CH=), 7,92 (с, 1H, NH), 13,08 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 107,0, 108,9 (д, *J* =24,3 Гц), 117,1 (д, *J* = 9,5 Гц), 118,7 (д, *J* = 26,2 Гц), 122,7, 125,7 (д, *J* = 10,9 Гц), 127,4, 134,8, 138,8, 154,0, 164,1, 164,9, 177,6.

6.64. *6,7-Диметокси-1-тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діон.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,79 (с, 6H, 2 O-CH_3), 6,97 (с, 1H, аром.), 7,14 (с, 1H, аром.), 8,31 (с, 1H, CH=), 8,99 (шс, 1H, NH), 12,05 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 55,5, 55,7, 94,8, 102,6, 115,3, 117,1, 125,1, 129,2, 131,3, 145,6, 149,3, 162,6, 175,2, 180,2, 180,3.

6.65. *Метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-імідазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-2-карбонової кислоти*. ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,89 (с, 3H, CH_3), 7,24 (д, 1H, аром.), 7,48-7,54 (м, 2H, аром.), 8,13 (с, 1H, CH=), 8,99 (с, 1H, NH), 9,36 (шс, 1H, NH), 12,59 (с,1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 52,7 (OCH_3), 106,4 (д, 6-C_{ind}, J_{CF} = 23,4 Гц), 114,7 (7- C_{ind}), 115,4, 116,5, 123,7, 124,4, 127,7, 131,8, 133,7, 156,1, 161,3, 175,5, 180,4.

^{1}H, ^{13}C ЯМР спектри метилових естерів 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазоілдин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-4-карбонової кислоти **6.66, 6.67** та дисульфідів на їх основі **6.68, 6.69.**

6.66. *Метиловий естер 1-метил-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-4-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 3,90 (с, 6Н, CH_3, CH_3CO), 7,33 (т, 1Н, J = 7,6 Гц, аром.), 7,71 (д, 1Н, J = 8,2 Гц, аром.), 7,74 (д, 1Н, J = 8,6 Гц, аром.), 7,83 (с, 1Н, =CH), 8,41 (с, 1Н, 2-H_{indole}), 13,52 (шс, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 34,1 (CH_3), 52,8 (CH_3O), 110,3, 116,2, 118,3, 122,9, 124,0, 124,6, 125,4, 128,9, 135,9, 138,7, 168,2 (COO), 169,6 (C=O), 195,7 (C=S), LCMS (ESI): *m/z* 333 (100,0%, $[M+H]^+$).

6.67. *Метиловий естер 1-етил-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1Н-індол-4-карбонової кислоти.* ^{1}H NMR (400 МГц, DMSO-d_6), δ: 1,37 (т, 3Н, J = 7,1 Гц, CH_3), 3,91 (с, 3Н, CH_3CO), 4,36 (кв, 2Н, J = 7,1 Гц, CH_2), 7,33 (т, 1Н, J = 7,8 Гц, аром.), 7,71 (д, 1Н, J = 7,4 Гц, аром.), 7,83 (д, 1Н, J = 8,2 Гц, аром.), 7,91 (с, 1Н, =CH), 8,41 (с, 1Н, 2-H_{indole}), 13,54 (шс, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), δ: 15,7 (CH_3), 42,0 (CH_2), 52,8 (CH_3O), 110,5, 116,1, 118,5, 122,9, 124,2, 124,7, 125,2, 128,8, 134,5, 137,6, 168,1 (COO), 169,6 (C=O), 195,7 (C=C). LCMC (ECI): *m/z* 347 (95,0%, $[M+H]^+$).

6.68. *2-[1-Карбокси-2-(4-карбокси-1-метил-1Н-3-індоліл)-1-етинілдисульфаніл]-3-(4-карбокси-1-метил-1Н-3-індоліл)-2-пропенова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,83 (с, 6Н, 2*CH_3), 7,26 (т, 2Н, J = 7,3 Гц, аром.), 7,60 (д, 2Н, J = 7,6 Гц, аром.), 7,67 (д, 2Н, J = 8,0 Гц, аром.), 8,59 (с, 2Н, 2*=CH), 8,85 (с, 2Н, 2*NH), 12,82 (шс, 4Н, 4*COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), δ: 33,8 (CH_3), 109,9, 115,0, 119,6, 122,0, 124,2, 125,2, 125,3, 136,1, 137,8, 142,6 (=C-C), 168,1 (COOH), 169,8 (COOH). LCMS (ESI): *m/z* 276 (95.6%, $[M+H]^+$).

6.69. *2-[1-Карбокси-2-(4-карбокси-1-етил-1Н-3-індоліл)-1-етинілсульфаніл]-3-(4-карбокси-1-етил-1Н-3-індоліл)-2-прпенова кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 1,32 (т, 6Н, J = 7,0 Гц, 2*CH_3), 4,24 (кв, 4Н, J = 7,0 Гц, 2*CH_2), 7,26 (т, 2Н, J = 7,6 Гц, аром.), 7,59 (д, 2Н, J = 7,1 Гц, аром.), 7,74 (д, 2Н, J = 8,0 Гц, аром.), 8,68 (с, 2Н, 2*=CH), 8,88 (с, 2Н, 2*NH), 12,83 (шс, 4Н, 4*COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMCO-d_6), δ: 15,6 (CH_3), 41,7 (CH_2), 110,2, 114,9, 119,5, 122,0, 124,2, 125,3, 125,5, 134,3, 136,8, 142,6 (=C-C), 168,1 (COOH), 169,8 (COOH). LCMS (ESI): *m/z* 579 (96.7%, $[M-H]^+$).

6.4. Дослідження протипаразитарної та протипухлинної активності новосинтезованих сполук. Встановлення кореляцій структура-активність, розробка методів оптимізації структури

6.4.1. Результати дослідження біологічної активності тіазолотіопранів

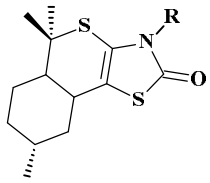
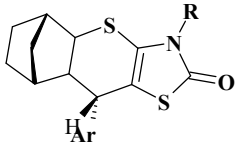
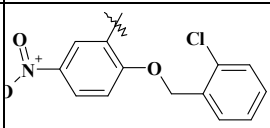
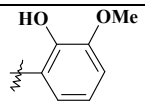
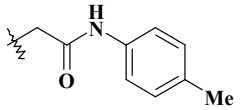
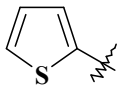
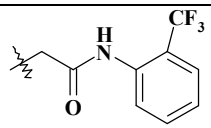
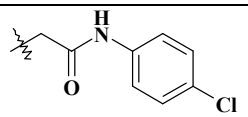
Тіазолотіопірани – фармакологічно привабливі структури із фіксованим 5-ен-4-тіазолідиноновим фрагментом, які можна інтерпретувати як аналоги останніх із збереженою біологічною активністю та відмінними фізико-хімічними характеристиками [202]. Вивчення антипроліферативної активності ряду (5a*R*,11b*R*)-3,5a,6,11b-тетрагідро-2*H*,5*H*-хромено[4',3':4,5]тіпірано[2,3-*d*][1,3]тіазол-2-онів на панелі ракових клітин, що представляють найбільш поширені раку, довело значний протипухлинний потенціал *N*-заміщених тіопірано[2,3-*d*]тіазолів [204,324], а також їх перспективність у пошуку нових протипаразитарних агентів [158].

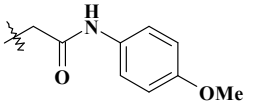
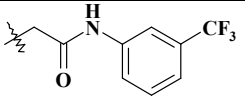
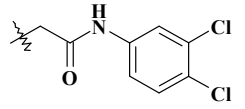
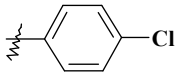
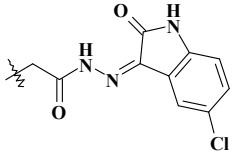
Тому, логічним було вивчення потенційної протитрипаносомної дії ряду новосинтезованих ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазолів та 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 (табл. 6.7) [310,311,393,394]. Така дія досліджувалася в *in vitro* експериментах на кровяних формах *Trypanosoma brucei brucei*. Всі сполуки тестувалися в градієнті концентрацій, з наступним обчисленням значень IC_{50} на основі дозозалежних кривих. Препаратом порівняння було обрано Ніфуртимокс (IC_{50} = 2,39 мкМ). Загалом ці дві групи тіопіранотіазолів виявили високу або помірну трипаноцидну активність, похідні 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 характеризувалися дещо вищими значеннями IC_{50}. Найактивнішою сполукою серед них був N-(3-трифлюорометилфеніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід **6.6** із мікромолярною напівмаксимальною концентрацією інгібування росту *Trypanosoma brucei brucei* (IC_{50} = 2,98 мкМ), що знаходиться на одному рівні із такою для препарату порівняння. Очевидно, що введення ариліден-ацетамідного фрагменту підвищує

протитрипаносомну активність, до речі така структурна модифікація позитивно впливає і на виявлення протипухлинної активності ізотіохроменотіазолів [258].

Таблиця 6.7

Дослідження протитрипаносомної активності ізотіохромено[4a,4-d][1,3]тіазолів та 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-онів-6 на *Trypanosoma brucei brucei*

№ п/п	Структура		IC_{50}, мкМ	LD_{50}, мг/кг
				
	R			
6.1	H		29,32	240
6.2	C_6H_5		10,18	
6.3	4-$CH(CH_3)_2$-C_6H_4		14,17	
6.4	4-SO_2NH_2-C_6H_4		14,12	
6.5	4-NH-($COCH_3$)-C_6H_4		18,28	
6.6	3-CF_3-C_6H_4		2,98	270
				
	Ar	R		
6.17		H	4,17	
6.18		H	22,68	
6.14		H	53,81	
6.25			7,47	
6.26			6,31	
6.27			7,16	

6.28			4,13	
6.29			7,65	
6.30			7,64	
6.35			13,32	

Порівнюючи протитрипаносмону активність N-незаміщених 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 **6.14, 6.17, 6.18**, із рештою похідних у цьому ряді, видно залежність активності від структури замісника в С9 положенні основного скафолду. Так, молекулами із найслабшою протипаразитарною дією є похідні із тіофеновим **6.14** та 3-оксометил-2-гідроксифенільним **6.18** замісниками, величини $IC_{50,}$ для яких були на порядок вищими. При цьому введення N-фенілацетамідних залишків у молекулу 9-(тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-ону-6 значно підвищує активність останніх. Введення 5-хлорізатинового фрагменту у молекулу **6.35** негативно впливало на трипаноцидну активність.

Вивчення протилейшманіозної активності ряду ізотіохроменотіазолів на промастиготах *Leishmania major (штам* Friedlin V1), виділив N-(феніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2*H*-ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід **6.2** як найактивнішу сполуку із величиною IC_{50} в даному експерименті на такому ж рівні, як і щодо *Tb brucei*. Наявність замісників у фенільному радикалі у N3-положенні основної трициклічної системи спричиняє підвищення IC_{50} на порядок. Сполуки **6.2**, **6.4** та **6.6** характеризувалися низькою токсичністю щодо нормальних фібробластів ліній BJ та MRC5 із величинами IC_{50} >50 мкМ (табл. 6.8) [356,366].

В рамках т.з. «концепції перепрофілювання» або пошуку іншого фармакологічного профілю для сполук-хітів із певною біологічною активністю чи лікарських засобів, ряд 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-

азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 досліджувався на наявність протипухлинної активності [394].

Таблиця 6.8

Обчислені величини IC_{50} (мкМ) щодо промастиготів *Leishmania major (штам* Friedlin V1) та нормальних фібробластів ліній BJ та MRC5 досліджуваними ізотіохроменотіазолами

№ п\п	IC_{50}, мкМ			
	L major	BJ	MRC5	TI[a]
6.2	8,68 ± 1,34	>50	>50	>5,76
6.4	19,76 ± 3,07	>50	>50	>2,53
6.6	14,42 ± 1,29	>50	>50	>3,47
Амфотерицин В	0,50 ± 0,06	>50	>50	>100
Мілтефозин	8,18 ± 1,57	>50	>50	>6,11

[a]Терапевтичний індекс (TI) – відношення середньої величини IC_{50} для лінії нормальних фібробластів (MRC-5 та BJ) до IC_{50}, обчисленого щодо *Leishmania major* FV1.

Основним напрямком тестувань було дослідження протилейкемічної дії сполук **6.15, 6.16, 6.18, 6.26 – 6.28, 6.30, 6.33-6.35** на 4 лініях клітин, а саме: Dami, HL-60, Jurkat та K562. Загалом тестовані сполуки не діяли на ріст клітин лінії Dami, а найчутливішою лінією виявилася HL-60, 3 сполуки інгібували її ріст більше, ніж на 50%. 2-(9-(Тіофен-2-іл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-N-4-хлорофеніл-ацетамід **6.27** характеризувався найвищою протипухлинною активністю, суттєво інгібуючи ріст 3 лейкемічних ліній (табл. 6.9). Слід відмітити негативний вплив ізатинового фрагменту на протипухлинну дію тіопіранотіазолів.

Таблиця 6.9

Ріст клітин (%) лейкемічних ліній Dami, HL-60, Jurkat та K562 при дії 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-онів-6 у концентрації 10 мкМ

№ п/п	Лінії лейкемічних клітин			
	Dami	HL-60	Jurkat	K562
1	2	3	4	5
6.15	109,85	28,69	108,03	104,31

1	2	3	4	5
6.16	153,42	63,34	86,90	99,16
6.18	175,26	33,51	107,37	117,74
6.26	145,09	195,63	100,49	88,42
6.27	129,55	1,19	7,74	14,53
6.28	104,68	64,80	88,67	85,13
6.30	117,92	155,29	98,27	111,68
6.33	91,17	94,76	95,51	95,44
6.34	136,41	129,40	104,04	102,57
6.35	102,18	119,75	105,48	102,37

Наступним етапом дослідження протиракової активності 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-онів-6 стало їх дослідження в рамках Developmental Therapeutic Program Національного інституту раку, США. Етиловий естер 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти **6.31** тестувався в одній концентрації (10^{-5}М) на близько 60 лініях ракових клітин (таких як недрібноклітинний рак легень, рак прямої кишки, рак молочної залози, рак ячників, лейкемія, рак нирок, меланома, рак простати). Відповідно з протоколом скринінгу, кожна клітинна лінія культивувалася та інкубувалася протягом 24-48 год на мікротитрувальному планшеті. Досліджувані сполуки потім додавалися в одній концентрації і культура клітин інкубувалася протягом наступних 48 год. Визначення кінцевого результату проводилося при кількісному оцінюванні інтенсивності флуоресцентного випромінювання (барвник – сульфородамін Б). Результат для досліджуваної сполуки відображався як відсоток росту ракових клітин із речовиною порівняно із ростом контрольних ліній клітин без додавання сполук (табл. 6.10) [311].

Цікаво, що найнижчі відсотки росту пухлинних клітин при дії **6.31** спостерігалися для ліній лейкемії (*CCRF-CEM* та *K-562*), що узгоджується із трендом, встановленим для багатьох класів похідних 4-тіазолідонів. Також, дана сполука володіла селективним цитостатичним ефектом щодо лінії раку прямої кишки *HCT-15* (GI = -100%).

Таблиця 6.10

Дослідження інгібування росту ракових клітин етиловим естером 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатної кислоти 6.31 (10 мкМ)

Сер. знач. росту %	Діапазон росту, %	Найчутливіші клітинні лінії	Відс. росту GI, % найчутливіших кліт. ліній	Позитивний цитостатич. ефект[a]
63,53	-100,00 до 92,68	*CCRF-CEM* /L *K-562* /L *HCT-116* /CC *HCT-15* /CC *HT-29* /CC *SK-MEL-5* /M *CAKI-1* /RC *UO-31* /RC *PC-3* /PC *T-47D* /BC	13,40 29,06 38,78 -100,00 50,49 41,34 22,75 50,33 42,85 38,85	8/59

[a] Відношення кількості клітинних ліній із відсотком росту від 0 до 50 до загального числа ліній.
L – лейкемія; NscLC- недрібноклітинний рак легень; BC – рак молочної залози; CC – рак прямої кишки; OC – рак яйників; RC – рак нирок; M – меланома; CNSC – рак ЦНС.

Естер **6.31,** а також тіопіранотіазол із норборнановим фрагментом у молекулі (відібраний без попереднього скринінгу) **6.12** досліджувалися докладніше у градієнті концентрацій (0,01-100 мкМ). Результати дослідження є представлені у табл. 6.11 (додатки В.1-В.2). Сполука **6.12** із піридиновим фрагментом у С9 положенні та незаміщеним положенням N5 не показала значних рівнів інгібування росту клітин, відповідно діапазон GI_{50} становив від 33,1 до >100,0 мкМ і була найменш активною речовиною серед досліджуваних. В свою чергу, естер **6.31** показав найкращі рівні інгібування для ліній лейкемії: HL-60(TB) (GI_{50}= 8,66 мкМ) та RPMI-8226 (GI_{50}= 15,6 мкМ).

Таблиця 6.11

Результати скринігу *in vitro* у градієнті концентрацій (10^{-4}–10^{-8}М)

Лінії ракових клітин	GI_{50}, мкМ	
	6.12	**6.31**

Лейкемія		
CCRF-CEM	нт	78,2
HL-60(TB)	36,6	8,66
K-562	37,3	>100,0
MOLT-4	33,1	>100,0
RPMI-8226	64,8	15,6
SR	50,5	>100,0
Недрібноклітинний рак легень		
A549/ATCC	65,5	83,6
HOP-62	нт	>100,0
HOP-92	61,8	38,1
NCI-H23	>100,0	63,1
NCI-H460	75,1	61,2
NCI-H522	>100,0	62,0
Рак прямої кишки		
COLO 205	82,7	92,9
HCC-2998	>100,0	нт
HCT-116	58,2	37,7
HCT-15	61,4	>100,0
HT29	46,1	48,1
KM12	>100,0	73,1
Рак ЦНС		
SF-295	83,2	82,6
SNB-75	36,5	54,3
U251	89,0	>100,0
Меланома		
LOX IMVI	71,9	65,8
MALME-3M	>100,0	68,0
SK-MEL-28	43,1	17,1
SK-MEL-5	33,8	33,7
UACC-257	>100,0	74,7
UACC-62	52,5	>100,0
Рак яйників		
OVCAR-3	70,3	>100,0
OVCAR-4	45,6	40,1
NCI/ADR-RES	>100,0	62,5
Рак нирок		
ACHN	79,4	>100,0
CAKI-1	71,7	>100,0
RXF 393	нт	82,0
TK-10	76,1	>100,0
UO-31	53,0	>100,0
Рак молочної залози		
MCF7	82,9	74,1
MDA-MB-231/ATCC	84,8	>100,0

HS 578T *BT-549* *T-47D*	67,1 55,7 71,1	57,1 80,2 37,9
Рак простати		
PC-3 *DU-145*	87,6 93,2	нт >100,0
Кількість “чутливих ліній”[a]	33/56 (59%)	26/57 (46%)

[a] ч/з – відношення чутливих ліній (GI_{50} <100,0) до загального числа досліджуваних сполук

Отримані результати протипухлинної активності тіопіранотіазолів із норборненовим фрагментом у молекулах використано для встановлення теоретичних механізмів їх дії за допомогою *in silico* інструменту NCI – COMPARE аналізу. Алгоритм останнього дозволяє встановлювати ймовірні біохімічні механізми дії досліджуваних сполук на основі їх протоколів *in vitro* активніості, порівнюючи такі із протоколами для стандартних агентів. COMPARE аналіз проводився для сполук **6.12** та **6.31** при порівнянні їх результатів показника GI_{50} із «Стандартними агентами» бази NCI (табл. 6.12).

Таблиця 6.12

Результати COMPARE аналізу

№ п/п	ККП	Мішень	Механізм дії[a]
6.12	0,482	талікарпін	інгібітором р-глікопротеїну, затримує ріст ракових клітин у G2/M та G1 фазах
6.31	0,45	триметилтриметилолмеламін	-

[a] Ймовірний механізм дії сполук встановлювався за із використанням літературних джерел; ККП – коефіцієнт кореляції Пірсона

На жаль, розраховані коефіцієнти кореляції Пірсона не вказують на механізми цитотоксичності досліджуваних сполук із високою вірогідністю. Ймовірно, ККП < 0,5 для сполук **6.12** та **6.31** свідчить про інші молекулярні механізми реалізації їх протиракової дії.

6.4.2. Результати дослідження біологічної аткивності 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індолкарбонових кислот та їх конденсованих похідних

Маючи на меті розробку сполук із подвійною дією (а саме проти паразитарною/протираковою) і беручи до уваги високу протитрипаносомну активність тіазолідинон/тіазол-феніліндол/імідазотіадіазольних гібридів, новосинтезовані 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбоксилати та карбонові кислоти, а також їх конденсованих похідні вивчалися на предмет антипроліферативної активніості в Національному інституті раку (США) в рамках Developmental Therapeutic Program. Результати дослідження сполук в одній концентрації (10^{-5} М) на панелі 57-59 ліній ракових клітин представлені у табл. 6.13 (додатки В.3-В.13) [387,389]. Більшість із досліджуваних 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)-1*H*-індол-2-карбонових кислот та їх естерів не володіли значною протипухлинною активністю, хоча були помірно активними щодо деяких ракових ліній, як наприклад, лейкемічна лінія CCRF-CEM чи клітинна лінія раку легень HOP-92. Слід відмітити, селективну чутливість лінії раку нирок UO-31 до дії більшості тестованих 3-(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)-1*H*-індол-2-карбоксилатів та поліциклічних продуктів їх гідролізу. Кращі рівні інгібування росту ракових клітин спостерігалися для 6-метокси-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазоілдин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.51**, що інгібувала ріст близько половини клітин лейкемічних ліній K-562 та SR, лінії раку ЦНС SNB-75 і була найактивнішою щодо лінії Меланоми MDA-MB-435 (28.30% росту). Беззаперечною сполукою-хітом виявися метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-ідіденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.47,** що інгібував ріст ракових клітин більш, ніж на 80%. Сполука **6.47** не тільки значно інгібувала ріст більшості клітинних ліній, а й спричиняла загибель клітин деяких ліній, як наприклад: лінії HL-60(TB) (-28,78), K-562 (8,26), RPMI-8226 (-9,01) лейкемії, лінія NCI-H522 (-33,27) раку легень, лінія COLO 205 (-2,37) раку прямої кишки, SF-539 (-26,56) раку ЦНС, лінії MDA-MB-435 (-20,87) та SK-MEL-5 (-40,97) меланоми; лінія OVCAR-3 (-1,67) раку яйників та лінія BT-549 (-3,33) раку молочної залози. Отримані результати були достатніми для дослідження протипухлинної дії даної сполуки у градієнті концентрацій (табл. 6.14, додаток В.4).

Таблиця 6.13

Скринінг протипухлинної активності 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індолкарбонових кислот та їх конденсованих похідних у концентрації 10^{-5} М

Сп-ка	Сер, % росту	Межі росту, %	Найчутливіші лінії пухлинних клітин до дії тестованих сполук, (ріст, %)	Позит. цито-статич. ефект[a]	Позит. цитото-ксич. ефект[b]
6.46	100,84	64,51–125,31	*Лейкемія*: CCRF-CEM (64,51); *Недрібноклітинний рак легень*: NCI-H522 (73,23)	0/58	0/58
6.47	17,16	-40,97 – 61,21	*Лейкемія*: HL-60(TB) (-28,78), K-562 (8,26), RPMI-8226 (-9,01); *Недрібноклітинний рак легень*: NCI-H460 (3,20), NCI-H522 (-33,27); *Рак прямої кишки*: COLO 205 (-2,37), HCT-116 (6,89), HT29 (8,16); *Рак ЦНС*: SF-539 (-26,56), U251 (8,56); *Меланома*: M14 (2,31), MDA-MB-435 (-20,87), SK-MEL-5 (-40,97); *Рак яйників*: OVCAR-3 (-1,67), NCI/ADR-RES (7,28); *Рак нирок*: 786-0 (9,99); *Рак молочної залози*: BT-549 (-3,33)	43/58	9/58
6.48	99,73	75,73 – 111,7	*Рак нирок*: UO-31 (75,73)	0/57	0/57
6.49	98,90	82,56 – 116,12	*Рак нирок*: UO-31 (82,56)	0/57	0/57
6.50	95,57	55,53 – 124,11	*Лейкемія:* CCRF-CEM (70,71); *Недрібноклітинний рак легень*: HOP-92 (55,53); *Меланома*: LOX IMVI (73,38), UACC-62 (78,77); *Рак нирок*: UO-31 (73,88)	0/58	0/58
6.51	83,01	28,30 – 109,80	*Лейкемія*: K-562 (53,66), SR (56,49); *Недрібноклітинний рак легень*: HOP-92 (64,14), NCI-H522 (63,17); *Рак ЦНС*: SNB-75 (42,97); *Меланома*: LOX IMVI (59,38); MDA-MB-435 (28,30); UACC-62 (66,33); *Рак яйників*: IGROV1 (71,51);	2/57	0/57

			Рак нирок: CAKI-1 (65,80), RXF 393 (66,74), UO-31 (60,55); *Рак молочної залози*: MDA-MB-231/ATCC (73,19)		
6.52	103,54	88,53 – 117,64	*Недрібноклітинний рак легень*: HOP-92 (88,53)	0/58	0/58
6.54	93,95	69,88 – 105,48	*Рак молочної залози*: T-47D (69,88)	0/57	0/57
6.55	94,18	64,11– 114,44	*Лейкемія*: RPMI-8226 (76,27); *Рак нирок*: UO-31 (64,11); *Рак молочної залози*: T-47D (75,20)	0/59	0/59
6.56	103,59	74,91– 128,73	*Рак нирок*: UO-31 (74,91)	0/57	0/57
6.57	105,48	86,29 – 124,31	*Рак нирок*: UO-31 (86,29)	0/57	0/57
6.63	99,26	71,77 – 112,47	*Недрібноклітинний рак легень*: HOP-92 (88,53); *Рак нирок*: UO-31 (71,77)	0/57	0/57
6.65	100,74	72,07 – 118,51	*Рак нирок*: UO-31 (72,07)	0/59	0/59

[a] Відношення числа клітинних ліній із відсотком росту від 0 до 50 до загального числа ліній ракових клітин.
[b] Відношення числа клітинних ліній із відсотком росту <0 до загального числа ліній ракових клітин.

Таблиця 6.14

Обчислені інгібуючі, летальні концентрації та індекси селективності для 6.47 в двох експериментах щодо панелі ракових клітин (NSC: D - 808318/1 Exper ID. 1906RS12/1811NS35)

Захворювання	Клітинна лінія	GI_{50}, мкМ	IC (GI_{50})	TGI, мкМ	IC (TGI)	LC_{50}, мкМ	IC (LC_{50})
1	2	3	4	5	6	7	8
Лейкемія	CCRF-CEM	0,099/0,178	6,55/2,54	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-
	HL-60 (TB)	0,250/0,275	2,59/1,64	0,755/100	55,75/-	75,6/100	1,24/-
	K-562	0,049/0,041	13,24/11,01	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-
	MOLT-4	0,345/0,161	1,88/2,80	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-
	RPMI-8226	0,311/0,300	2,09/1,51	1,65/9,33	25,51/3,91	>100/>100	-/-
	SR	0,048/-	13,51/-	>100/-	-/-	>100/-	-/-
		0,184/0,191	0,649/0,452				
Недрібно-клітинний рак легень	A549/ATCC	0,327/0,197	1,98/2,29	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-
	EKVX	0,394/2,470	1,65/0,18	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-
	HOP-62	0,256/0,127	2,53/3,56	20,2/17,3	2,08/2,11	>100/>100	-/-
	HOP-92	1,200/1,180	0,54/0,38	12,5/16,5	3,37/2,21	>100/>100	-/-
	NCI-H226	0,352/2,610	1,84/0,17	3,30/32,3	12,75/1,13	>100/>100	-/-
	NCI-H23	0,373/0,446	1,74/1,01	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-
	NCI-H322M	0,366/0,540	1,77/0,84	>100/57,2	-/0,64	>100/>100	-/-
	NCI-H460	0,072/0,090	9,01/5,02	10,1/10,1	4,17/3,61	>100/74,6	-/1,23
	NCI-H522	0,050/0,027	12,97/16,72	3,44/0,344	12,23/106,02	>100/>100	-/-
		0,377/0,854					
Рак прямої кишки	COLO 205	-/0,311	-/1,45	-/1,24	-/29,41	-/6,96	-/13,19
	HCC-2998	0,371/0,453	1,75/1,00	1,63/8,96	25,82/4,07	>100/>100	-/-
	HCT-116	0,052/0,043	12,48/10,50	21,9/12,7	1,92/2,87	>100/>100	-/-
	HCT-15	0,072/0,062	9,01/7,28	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-
	HT29	0,518/0,603	1,25/0,75	13,5/10,4	3,12/3,51	>100/>100	-/-
	KM12	0,048/0,111	13,51/4,07	7,36/15,7	5,72/2,32	>100/>100	-/-
	SW-620	0,051/0,049	12,72/9,21	>100/>100	-/-	>100/>100	-/-

1	2	3	4	5	6	7	8
		0,185/0,233					
Рак ЦНС	SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0,368/0,898 0,052/0,297 0,061/0,090 0,200/0,160 0,043/0,021 0,062/0,113	1,76/0,50 12,48/1,52 10,63/5,02 3,24/2,82 15,09/21,50 10,46/4,00	24,4/36,6 11,0/15,8 0,719/0,785 >100/28,0 11,2/12,4 14,3/14,1	1,72/1,00 3,83/2,31 58,54/46,46 -/1,30 3,76/2,94 2,94/2,59	>100/>100 >100/>100 75,3/38,1 >100/>100 55,5/69,1 >100/>100	-/- -/- 1,24/2,41 -/- 1,69/1,33 -/-
		0,131/0,263					
Меланома	LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0,070/0,127 0,064/0,567 0,055/0,054 0,025/0,022 0,872/0,744 2,62/0,433 0,259/0,066 6,88/5,46 1,05/0,059	9,27/3,56 10,14/0,80 11,79/8,36 25,95/20,52 0,74/0,61 0,25/1,04 2,50/6,84 0,09/0,08 0,62/7,65	>100/10,6 16,2/52,0 >100/>100 0,070/0,052 96,1/17,5 >100/69,8 1,12/0,495 >100/>100 >100/21,1	-/3,44 2,60/0,70 -/- 601,26/701,35 0,44/2,08 -/0,52 37,58/73,68 -/- -/1,73	>100/>100 >100/>100 >100/>100 >100/>100 >100/>100 >100/>100 6,02/4,73 >100/>100 >100/>100	-/- -/- -/- -/- -/- -/- 15,56/19, 41 -/-
		1,322/0,837					
Рак яйників	IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0,287/0,263 0,041/0,048 0,658/0,729 0,897/0,923 0,246/0,165 0,065/0,077 -/0,513	2,26/1,72 15,82/9,41 0,99/0,62 0,72/0,49 2,64/2,74 9,98/5,86 -/0,88	14,1/15,7 0,362/37,0 24,1/23,5 >100/>100 47,1/30,2 20,4/0,646 -/31,3	2,98/2,32 116,27/0,99 1,75/1,55 -/- 0,89/1,21 2,06/56,45 -/1,17	>100/>100 54,5/>100 >100/>100 >100/>100 >100/>100 >100/>100 -/>100	-/- 1,72/- -/- -/- -/- -/- -/-
		0,366/0,389					
Рак нирок	786-0 A498 ACHN	0,285/0,052 -/0,202 0,084/0,058	2,28/8,68 -/2,24 7,72/7,78	12,9/17,7 -/0,942 22,4/14,5	3,26/2,06 -/38,72 1,88/2,52	90,3/100 -/90,3 >100/93,9	1,04/- -/1,02 -/0,98

1	2	3	4	5	6	7	8
	CAKI-1 RXF 393 SN-12C TK-10 UO-31	0,128/0,074 0,091/0,064 0,505/0,249 1,92/0,375 0,632/0,330	5,07/6,10 7,13/7,05 1,28/1,81 0,34/1,20 1,03/1,37	5,15/9,51 0,963/17,5 >100/6,90 49,4/7,56 2,35/11,2	8,17/3,83 43,71/2,08 -/5,29 0,85/4,82 17,91/3,26	74,9/53,7 >100/>100 >100/>100 >100/56,1 6,57/57,3	1,25/1,71 -/- -/- -/1,64 14,26/1,60
		0,521/0,176					
Рак простати	PC-3 DU-145	0,225/0,072 0,205/0,241	2,88/6,27 3,16/1,87	57,1/12,1 13,1/>100	0,74/3,01 3,21/-	>100/>100 >100/>100	-/- -/-
		0,215/0,157					
Рак молочної залози	MCF7 MDA-MB-31/ATCC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0,277/0,245 0,418/0,306 0,045/0,060 0,168/0,155 11,1/1,75 0,414/0,303	2,34/1,84 1,55/1,48 14,42/7,53 3,86/2,91 0,06/0,26 1,57/1,49	16,3/13,8 19,3/0,940 18,9/24,7 0,168/3,56 3,07/>100 0,414/1,20	2,58/2,64 2,18/38,80 2,23/1,48 250,52/10,24 13,071/- 101,66/30,39	>100/>100 >100/80,6 >100/>100 >100/>100 >100/>100 >100/>100	-/- -/1,14 -/- -/- -/- -/-
		2,07/0,47					
MID		0,649/0,452		42,088/36,471		93,66/91,82	

Результат дослідження сполук-хіта **6.47** у градієнті концентрацій довів її високу протипухлинну активність щодо більшості досліджуваних ракових ліній (табл. 6.14) із середнім значенням напівмаксимальної інгібуючої концентрації GI_{50} на рівні 0,649/0,452 мкМ (обчислена у двох експериментах). Середні значення двох інших дозозалежних параметрів TGI та LC_{50} складали 42,088/36,471 мкМ та 93,66/91,82 мкМ відповідно. В загальному сполука **6.47** володіла субмікромолярними значеннями інгібуючих концентрацій щодо переважної більшості ліній ракових клітин [387]. Цікаво, що заміна тіазольного гетероциклу на імідазольний у метил 5-флюоро-3-[(5-оксо-2-тіоксо-імідазолідин-4-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбоксилаті **6.65** призвела майже до повної втрати активності (табл. 6.13).

Також було обчислено індекси селективності шляхом ділення середнього значення концентрації (мкМ), виведеного для всієї панелі на значення інгібуючої чи летальної концентрації (мкМ) для індивідуальної лінії. Відношення між 3 і 6 означають середню селективність, значення більше 6 свідчать про високу селективність дії тестованої речовини щодо відповідної клітинної лінії, тоді як значення нижче 3 означають, що речовина не селективна [350]. На рівні показника GI_{50} **6.47** селективно інгібувала ріст 12 ліній клітин, для яких індекси селективності були вищими 6-ти в обох експериментах. Більше того, значення індексів селективності обчислені для показника TGI знаходилися від 10,24 до 701,35 для 6 ліній. Виходячи із двох вище зазначених параметрів, найкращі індекси селективніості у двох експериментах були обчислені для ліній NCI-H522 (рак легень) та MDA-MB-435 (меланома). Також значення pGI_{50} (відємний логарифм) для **6.47** порівнювалися із такими для стандартних агентів (з БД NCI) [395]. Сунітініб, Вінкристину сульфат, Вінбластину сульфат, Метотрексат та Мітраміцин (рис. 6.6). Сунітініб був обраний, зважаючи на 2D-подібність із досліджуваною сполукою **6.47**; Вінкристин та Вінбластин виявилися препаратами із ймовірно подібними механізмами дії в результаті та COMPARE аналізу (табл. 6.15).

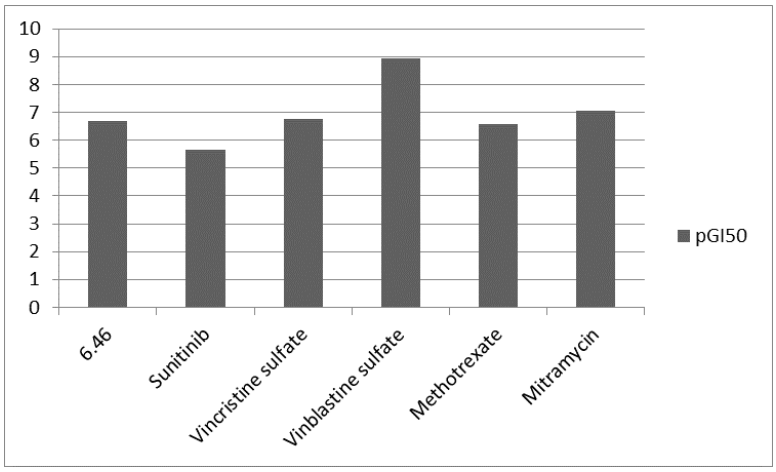


Рис. 6.6. Порівняння значень pGI_{50} стандартних агентів із середнім pGI_{50} для сполуки **6.47**

COMPARE аналіз проводився для сполуки **6.47** на базі даних стандартних агентів Національного інституту раку США (NCI "Standard Agents" database) на рівні GI_{50} та TGI значень (табл. 6.14). Значущими для аналізу були значення коефіцієнтів кореляції Пірсона (ККП) > 0,5. Отримані значення кореляції не дозволяють окреслити ймовірниі механізми дії досліджуваної сполуки із високою вірогідністю. Хоча, на рівні GI_{50} найвищу кореляцію обчислено для інгібіторів біосинтезу піримідину Бреквінару та Dichloroallyl Lawsone, інгібіторів синтезу ДНК – Емофоліну натрію та 5-Азацитидину; на рівні TGI найкраща кореляція спостерігалася із Маітанзином, що діє на мікротрубочки, лікарськими засобами Вінбалстином, Вінкристином та інгібітором полімеризації тубуліну Ризоксином.

Таблиця 6.15

Результати COMPARE аналізу на GI_{50} та TGI рівнях (Exp Id:1811NS35)

ККП[a]	Мішень	Вектор мішені	Механізм дії [b]
1	2	3	4
GI_{50} показник			
0,553	DUP785 (Бреквінар)	S368390	Інгібує дигідрооротат дегідрогеназу, блокуючи біосинтез піримідину
0,54	Dichloroallyl Lawsone	S126771	Інгібітор біосинтезу піримідину
0,537	Емофолін натрію	S139490	Інгібує синтез тетрагідрофолату, виснаження нуклеотидних пулів, синтез ДНК, РНК та протеїнів

1	2	3	4
0,534	5-Азацитидин	S102816	Інгібує ДНК метилтрансферазу, спричиняючи гіпометилювання ДНК
0,518	Тіазофурин	S286193	Інгібітор ІМФ дегідрогенази
0,517	3-Деазаурідин	S126849	Інгібує цитидин синтазу, знижуючи внутрішньоклітинні рівні цитидину та дезоксицитидину і перериваючи синтез ДНК і РНК
TGI показник			
0,608	Маітанзин	S153858	Гальмує «збирання» мікротрубочок, інгібує «розбирання» мікротрубочок та перериває мітоз
0,596	Вінбластину сульфат	S49842	Порушує утворення та функції мікротрубочок, порушує метаболізм глютамінової кислоти
0,586	Вінкристину сульфат	S67574	Незворотньо зв'язується із мікротрубочками та білками веретена поділу у S фазі клітинного циклу та порушує утворення мітотичного веретена, таким чином затримуючи ріст ракових клітин у метафазі.
0,562	Ризоксин	S332598	Інгібітор полімеризації тубуліну

[a] ККП – коефіцієнт кореляції Пірсона
[b] Ймовірний механізм дії сполук встановлювався за із використанням літературних джерел

6.5. Експериментальна частина

Синтез N-заміщених (5aR,8R,9aR)-5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-d]тіазол-2-онів ***6.2-6.6***

Етанольний розчин калію гідроксиду (0,011 моль) додають до підігрітої суспензії вихідної речовини **6.1** у 30 мл етанолу, перемішують і до реакційної суміші додають відповідний хлороацетамід (0,01 моль) та каталітичні кількості калію йодиду. Суміш нагрівають із зворотнім холодильником протягом 4-5 год, після охолодження осаджують водою, відфільтровують та утворений осад перекристалізовують із суміші етанол:вода (1:1) (**6.2, 6.6**), ізопропанолу (**6.3, 6.5**) чи суміші ацетатна кислота:вода (1:1) (**6.4**).

Синтез етилового естру та гідразиду 2-(2-оксо-(5aR,8R,9aR)-5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-d]тіазол-3-іл)-ацетатної кислоти ***6.7-6.8***

До підігрітої суспензії 0,01 моль вихідного (5aR,8R,9aR)-5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2*H*-ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-ону **6.1** в 20 мл етанолу додають етанольний розчин 0,01 моль калію гідроксиду, 0,011 моль етилхлороацетату та каталітичні кількості калію йодиду та калію карбонату і нагрівають протягом 5-6 год. Відфільтровують отриманий після охолодження осад неорганічної солі, фільтрат упарюють під вакуумом та очищують колонковою хроматографією (система розчинників толуол:етилацетат = 8:1), кристалічний порошок естеру отримують при упарюванні фракції з цільовим продуктом. Також можливо введення даної сполуки в подальшу реакції з гідразингідратом без попередньої очистки, після упарювання фільтрату.

Загальний метод синтезу 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 ***6.12-6.19***.

Суміш відповідного 5-іліден-4-тіоксо-2-тіазолідону (0,001 моль), 2-норборнену (0,0012 моль) та каталітичних кількостей гідрохінону в середовищі ацетатної кислоти (20 мл) нагрівалася із зворотним холодильником. Отриманий після охолодження реакційної суміші, осад висушували та перекисталізовували із суміші ДМФА/етанол (1:2) або ацетатної кислоти.

Загальний метод синтезу естерів та амідів 2-(9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатних кислот ***6.20-6.31***

До підігрітої суспензії відповідного 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-ону-6 (0,003 моль) в етанолі (чи метанолі) додають етанольний (метанольний) розчин калію гідроксиду (0,003 моль), відповідний хлороацетамід чи етилхлороацетат (0,0033 моль) та каталітичні кількості KI та нагрівають в середовищі етанол(метанол)/ДМФА (2:1) протягом 3-3,5 год. Утворений осад відфільтровують, промивають водою (для розчинення калію хлориду), етанолом та перекристалізовують з бутанолу, ацетатної кислоти чи суміші ДМФА/метанол (1:1).

Синтез гідразиду 2-(9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]-тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)- ацетатної кислот ***6.32***

Суміш сполуки ***6.31*** (0,003 моль) та гідразингідрату (0,004 моль) в етанолі (20 мл) нагрівають із зворотнім холодильником протягом 5 год. Утворений осад відфільтровують та перекристалізовують із ацетатної кислоти.

Загальний метод синтезу (2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-гідразидів 2-(9-арил-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.0^{2,10}.0^{4,8}]тетрадецен-4(8)-он-6-іл-5)-ацетатних кислот ***6.33-6.35***

Суміш еквімолярних кількостей гідразиду **6.32** та відповідного ізатину (0,003 моль) в середовищі етанолу:ацетатної кислоти (20:2) нагрівалася із зворотнім холодильником протягом 5 год. Отриманий після охолодження осад відфільтровували та кристалізували із суміші ДМФА/етанол (1:2) або ацетатної кислоти.

Загальний метод синтезу 5-(1-феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2'. 1.0^{2,10}.0^{4,8}] тетрадецен-4(8)-ону-6 ***6.36***

Синтез 4-[9-(4'-хлорофеніл)-6-оксо-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2'. 1.0^{2,10}.0^{4,8}]-тетрадец-4(8)-ен-5-іл]-ацетил-1-феніл-тіосемікарбазиду. У круглодонну колбу із зворотнім холодильником поміщують 0,003 моль гідразиду **6.32**, 0,004 моль фенілізотіоціанату, 20 мл етанолу та кип'ятять протягом 1 години і охолоджують. Продукт реакції відфільтровують, промивають водою, спиртом, ефіром і перекристалізовують з етанолу. У круглодонну колбу із зворотнім холодильником поміщують 0,003 моль 4-[9-(4'-хлорофеніл)-6-оксо-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.02,10.04,8]-тетрадец-4(8)-ен-5-іл]-ацетил-1-феніл-тіосемікарбазиду, 10-12 мл 2% розчину NaOH і кип'ятять протягом 2 годин. Після охолодження реакційну суміш підкислюють до pH=5 розведеним розчином HCl та фільтрують. Кристалізують з суміші ДМФА: EtOH(1:2).

Загальний метод синтезу метил-3-форміліндол-2-карбоксилатів ***6.37-6.38***

$POCl_3$ (12 мл, 0,16 моль) додають краплями до ДМФА (45 мл, 0,56 моль) перемішуючи на льодяній лазні. До цієї суміші додають розчин відповідного метил-індол-2-карбоксилату (0,15 моль) в ДМФА (10 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30 хв, після чого нагрівають при температурі 40 - 60°С протягом 4 год. Реакційну суміш виливають на лід (200 г) та нейтралізують

водним розчином NaOH до pH 5–6. Осад, що утворився відфільтровують та кристалізують із метанолу.

Загальний метод синтезу 3-форміліндол-2-карбонових кислот ***6.39-6.44***

$POCl_3$ (12 мл, 0,16 моль) додають краплями до ДМФА (45 мл, 0,56 моль) перемішуючи на льодяній лазні. До цієї суміші додають розчин відповідного метил-індол-2-карбоксилату (0,15 моль) в ДМФА (10 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30 хв, після чого нагрівають при температурі 40 - 60°C протягом 4 год. Реакційну суміш виливають на лід (200 г) та нейтралізують водним розчином NaOH до pH 5–6. Отриманий осад відфільтровують та суспендують в етанолі (50 мл). До суспензії додають краплями розчин KOH (8,4 г, 0,15 моль) у 50 мл води краплями та перемішують при кімнатній температурі протягом 3 год. Після чого реакційну суміш підкислюють розведеною HCl до pH 5–6. Утворений осад відфільтровують та кристалізують з етанолу.

Загальний метод синтезу похідних 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-карбонових кислот ***6.45-6.52***

Суміш відповідної 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонової кислоти ***6.39-6.44*** або відповідного метилового естеру 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонової кислоти ***6.45-6.52*** (0,01 моль) та 4-тіоксо-2-тіазолідинону (0,01 моль) в середовищі ацетатної кислоти (20 мл) та присутності натрію ацетату (0,01 моль) нагрівали із зворотнім холодильником протягом 2,5 год. Отриманий осад відфільтровують та кристалізують із ацетатної кислоти.

Метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-імідазолідин-5-іліденметил)-1H-індол-2-карбонової кислоти ***6.65*** синтезується цим же ж методом при використанні метил 5-флюоро-3-форміліндол-2-карбоксилату **6.37** та 2-тіогідантоїну як вихідних реагентів. Відфільтрований порошок кристалізують із суміші ДМФА/етанол.

Загальний метод синтезу 1-оксо-9H-тіопірано[3,4-b]індол-3-карбонових кислот ***6.53-6.58***

Суміш 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-карбонової кислоти (0,01 моль) із водним розчином натрію гідроксиду (0,035 моль) нагрівалася

із зворотнім холодильником протягом 30 хв. Після охолодження, реакційна суміш охолоджувалася та нейтралізувалася розчином HCl конц. (0,035 моль). Продукт гідролізу відфільтровували, промивали водою, висушували та перекристалізовували із суміші ДМФА/етанол (1:5) чи ацетатної кислоти.

Загальний метод синтезу 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-b]карбазол-3,10-діонів ***6.59-6.64***

Суміш відповідної 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонової кислоти ***6.39-6.44*** (0,01 моль) та 2-тіогідантоїну (0,01 моль) в середовищі ацетатної кислоти (20 мл) та присутності натрію ацетату (0,01 моль) нагрівали із зворотнім холодильником протягом 3 год. Отриманий осад відфільтровують та кристалізують із суміші ДМФА/етанол.

Загальний метод синтезу метилових естерів 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметилен)-1Н-індол-4-карбонової кислоти ***6.66-6.67***

Суміш відповідного метилового естеру 3-форміл-1*H*-індол-4-карбонової кислоти (0,01 моль), 4-тіоксо-2-тіазолідинону (0,01 моль) та натрію ацетату (0,01 моль) в середовищі ацетатної кислоти (20 мл) нагрівали із зворотнім холодильником протягом 3 год. Отриманий осад відфільтровували та перекристалізовували із ацетатної кислоти (***6.67***) або суміші ДМФА/етанол (1:5) (***6.66***).

Загальний метод синтезу 2-[1-карбокси-2-(4-карбокси-1-метил(етил)-1Н-3-індоліл)-1-етинілдисульфаніл]-3-(4-карбокси-1-метил(етил)-1Н-3-індоліл)-2-пропенових кислот ***6.68-6.69***

Відповідний метиловий естер 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-4-карбонової кислоти ***6.66-6.67*** (0,01 моль) перемішували із водним розчином натрію гідроксиду (0,035 моль) і нагрівали із зворотнім холодильником протягом 30 хв. Після охолодження, реакційну суміш охолоджували та нейтралізували розчином $HCl_{конц.}$ (0,035 моль). Продукт гідролізу відфільтровували, промивали водою, висушували та перекристалізовували із суміші ДМФА/етанол (1:5).

ВИСНОВКИ

1. З метою диверсифікації бібліотеки ізотіохроменотіазолів, отримано їх нові N-заміщені похідні, зокрема із ізатиновим та індолкарбоксильним фрагментами у молекулах **6.2-6.11**. Опрацьовано методи синтезу 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 та **6.12-6.19** їх N-заміщених похідних **6.20-6.35**. Протитрипаносомної активність наведених груп тіопіранотіазолів вивчалася в *in vitro* експериментах на кровяних формах *Trypanosoma brucei brucei*. Загалом вони виявили високу (мікромолярні значення напівмаксимальних інгібуючих концентрацій) або помірну трипаноцидну активність, похідні 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 характеризувалися дещо вищими значеннями $IC_{50.}$ Вивчення протилейшманіозної активності ряду ізотіохроменотіазолів на промастиготах *Leishmania major (штам* Friedlin V1), дозволило виділити N-(феніл)-2-{5,5,8-триметил-3,5,5a,6,7,8,9,9a-октагідро-2H-ізотіохромено[4a,4-*d*][1,3]тіазол-2-он-3-іл}-ацетамід **6.2** із мікромолярною величиною IC_{50} співмірною із такою щодо *Tb brucei*.

2. В рамках гібрид-фармакофорного підходу вперше синтезовано молекули, що вміщують тіазолідоновий/тіогідантоїновий та індольний гетероцикли. Вперше здійснено гідроліз 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот та їх метильних естерів, що дозволило отримати трициклічні системи 1-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонових кислот **6.53-6.58**.

3. Досліджено взаємодію 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот із 2-тіогідантоїном, в результаті якої отримано тетрацикліні 1-тіоксо-9,10a-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони **6.59-6.64.** На основі ^{1}H та ^{13}C спектрів доведено, що при взаємодії метил-3-форміліндолін-2-карбоксилату **6.37** із 2-тіогідантоїном в таких самих умовах, не відбувається циклізація, а продуктом реакції є 5-[(5-флюоро-1*H*-індол-3-іл)метилен]-2-тіоксо-імідазоілдин-4-он **6.65.**

4. Досліджено реакцію гідролізу метилових естерів 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметилен)-1*H*-індол-4-карбоновихих кислот, внаслідок якої

утворюються енергетично вигідніші біс-аддукти з’єднані дисульфідним містком **6.68-6.69,** ніж очікувані поліциклічні системи із семичленним циклом. Структури та чистоту синтезованих сполук підтверджено методами елементного аналізу, ^{1}H, ^{13}C ЯМР спектроскопії та мас-спектрометрії.

5. Досліджено протитрипаносомну та протипухлинну активність синтезованих сполук. Виявлено сполуку-лідер **6.47,** що у градієнті концентрацій володіла високою протипухлинною активністю щодо більшості досліджуваних ракових ліній із середнім значенням інгібуючої концентрації GI_{50} на рівні 0,649/0,452 мкМ.

Результати дослідження даного розділу наведено в публікаціях: [202, 310, 311, 324, 370, 371, 374, 387, 388, 389, 393, 394].

РОЗДІЛ 7
ДИЗАЙН, СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ГІБРИДНИХ МОЛЕКУЛ, ЩО ВМІЩУЮТЬ ІНДОЛЬНИЙ ЦИКЛ, 2-ТІОКСО-4-ТІАЗОЛІДОН, 4-ТІОКСО-2-ТІАЗОЛІДОН, 3,5-ДІАРИЛПІРАЗОЛ ТА ТІОПІРАНОТІАЗОЛЬНУ СИСТЕМУ

7.1. Застосування гібрид-фармакофорного та комбінаторного підходів для спрямованого дизайну та синтезу гібридних молекул на основі тіазолідинону та інших гетероциклів

Для розробки мультитаргетних лікарських засобів, критично важливим є виділення високоефективних вихідних молекул серед тисяч можливих. Тіазолідиноновий цикл та його аналоги безсумнівно належать до скафолдів із доведеною біологічною активністю і є привабливими для утилізації в рамках комбінаторного, гібрид-фармакофорного та фрагмент-орієнтованого дизайну лікарських засобів [396]. Дизайн гібридних молекул як мультитаргетних сполук часто пропонує нові можливості підвищення ефективності, зниження токсичності, покращення біодоступності, тощо. Гібридна молекула формується із двох (чи більше) фармакофорних фрагментів, які можуть підсилювати фармакологічні ефекти один одного або нові сполуки часто можуть виявляти два або більше біологічні ефекти, і відповідно розглядатися як багатоцільові чи мультитаргетні агенти. Одними з найефективніших є гібридні молекули, що мають властивості взаємодіяти із двома чи більше біо-мішенями і відповідно виступати тригерами більше, ніж однієї біологічної відповіді. Такі підходи особливо актуальні для розробки потенційних агентів для терапії захворювань із складним етіопатогенезом, як рак, хвороба Альцгеймера, артеріальна гіпертензія, а також деякі інфекційні захворювання [397,398].

Таким чином, метою даного фрагменту представленого комплексного дослідження був дизайн нових гібридних молекул шляхом поєднання в одній молекулі структурних фрагментів 2-аміно-4-тіазолідинону та індолін-2-карбонових кислот, 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонових кислот з індольним чи піразоліновими

циклами, похідних тіопіранотіазолу із піразоліновим та [6+5]-гетероциклами [349,388,399,400] (рис. 7.1).

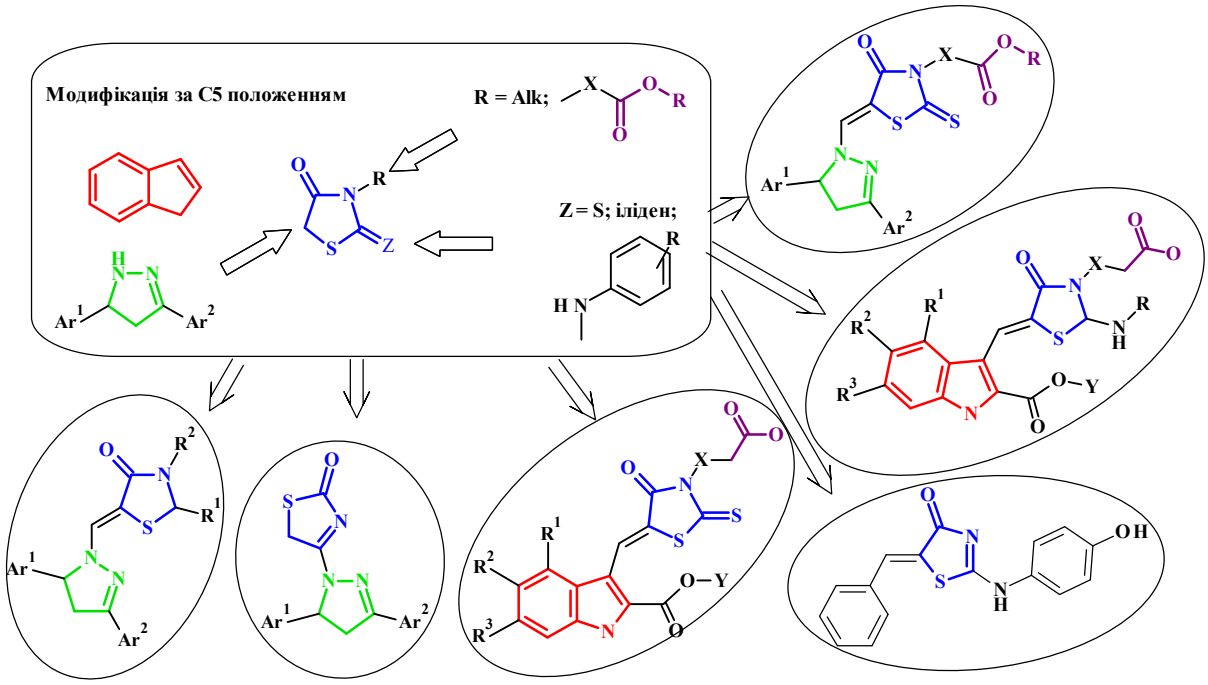


Рис. 7.1. Гібрид-фармакофорний підхід у дизайні нових молекул на основі гетероциклічних фрагментів із встановленою протипухлинною та протипаразитарною активністю.

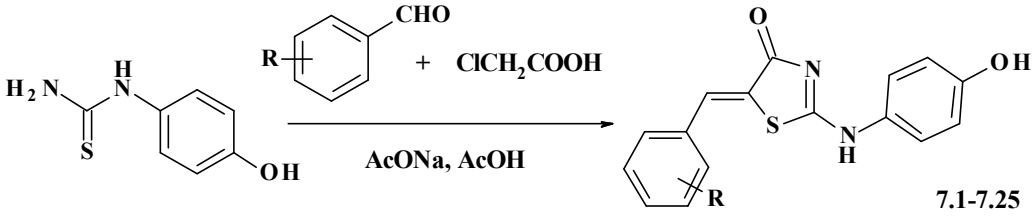
7.2. Дизайн та синтез 5-ариліден-2-ариламінотіазолідонів-4

Одним з аргументів на користь синтезу гібридних тіазолідинонів із *n*-гідроксифенільним фрагментом була встановлена висока активність 1-(4-гідроксифеніл)-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)піролідин-2,5-діону **4.65** щодо лінії лейкемії *Jurkat* та низька токсичність щодо нормальних клітин, а також значна антипроліферативна здатність 3-[(5-[-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-1-(4-гідроксифеніл)піролідин-2,5-діону **4.81** щодо ряду ракових клітинних ліній із мікромолярними значеннями IC_{50} співмірними із препаратом порівняння доксорубіцином (див. табл. 4.11). Крім цього, для класу 5-ен-2-аміно(іміно)-4-тіазолідинонів доведено високу протипухлинну активність у

різноманітних *in vitro* дослідженнях [248,401]. Такого типу сполуки із пара-гідроксифенільною групою у С2 положенні тіазолідинону виявляють високу протипухлинну активність [402]. Більше того, серед похідних 5-ен-4-тіазолідинонів описано багато високо-афінних лігандів до відомих протипухлинних біо-мішеней, як наприклад, антагоністи інтегрину a_vb_3 [403], інгібітори циклін-залежної кінази 1/цикліну В [404,405], PPAR-антагоністи [254], модулятори естрогенового α-рецептора [406], інгібітори протеїн-тирозин фосфатази PTP1B [407], агенти, що зв'язуються з ДНК [408] та ін. Важливість фрагменту у С5 положенні 5-іліден похідних для виявлення їх біологічної активності є також доведеною в численних *in vitro* дослідженнях [134].

Таким чином, *n*-гідроксифенільний фрагмент було введено у 2 положення тіазолідинонового циклу і отримано ряд 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів в однореакторній реакції арилтіосечовини, хлороацетатної кислоти та відповідного ароматичного аміну в присутності натрію ацетату в середовищі ацетатної кислоти [409] (схема 7.1).

Схема 7.1



7.1. R = 2-F
7.2. R = 4-F
7.3. R = 2-Cl
7.4. R = 2,6-Cl_2
7.5 R = 4-Br
7.6 R = 2-CF_3
7.7 R = 3-CF_3
7.8 R = 2-Et
7.9 R = 2-OMe
7.10 R = 3-OMe
7.11 R = 3-OMe-4-OH
7.12 R = 3-OH-4-OMe
7.13 R = 2,3-$(OMe)_2$
7.14. R = 3,5-$(OMe)_2$
7.15 R = 3,4-$(OMe)_2$
7.16 R = 4-OH-3,5-$(OMe)_2$
7.17 R = 2-OEt
7.18 R = 3-OEt
7.19 R = 3-OEt-4-OH
7.20 R = 2-$PhCH_2O$
7.21 R = 3-OCF_3
7.22 R = 2-CH_2=CH-CH_2O
7.23 R = 3-CH_2=CH-CH_2O
7.24 R = 2-$OCHF_2$
7.25 R = 3-$OCHF_2$

Синтезовані 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-они **7.1-7.25** – дрібнокристалічні порошки білого та світло-жовтого кольорів, розчинні у ДМФА, діоксані, ДМСО, нерозчинні в етанолі, ацетонітрилі, ацетатній кислоті, воді,

діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів наведено у табл. 7.1.

Таблиця 7.1

Фізико-хімічні характеристики 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів

Сполука	Вихід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
				C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
7.1	78	>260	$C_{16}H_{11}FN_2O_2S$	61,14	3,53	8,91	61,25	3,60	9,00
7.2	85	268-269	$C_{16}H_{11}FN_2O_2S$	61,14	3,53	8,91	61,30	3,63	8,90
7.3	70	>260	$C_{16}H_{11}ClN_2O_2S$	58,09	3,35	8,47	58,20	3,42	8,53
7.4	87	>260	$C_{16}H_{10}Cl_2N_2O_2S$	52,62	2,76	7,67	52,53	2,80	7,75
7.5	80	>250	$C_{16}H_{11}BrN_2O_2S$	51,21	2,95	7,47	51,40	3,02	7,59
7.6	75	248-250	$C_{17}H_{11}F_3N_2O_2S$	56,04	3,04	7,69	56,36	3,24	7,52
7.7	86	>250	$C_{17}H_{11}F_3N_2O_2S$	56,04	3,04	7,69	55,80	3,10	7,60
7.8	75	>250	$C_{18}H_{16}N_2O_2S$	66,64	4,97	8,64	66,84	5,10	8,50
7.9	79	>280	$C_{17}H_{14}N_2O_3S$	62,56	4,32	8,58	62,43	4,26	8,50
7.10	79	>280	$C_{17}H_{14}N_2O_3S$	62,56	4,32	8,58	62,50	4,30	8,65
7.11[a]	80	>280	$C_{17}H_{14}N_2O_4S$	59,64	4,12	8,18	60,02	4,10	8,12
7.12	86	294-296 (літ.); >280	$C_{17}H_{14}N_2O_4S$	59,64	4,12	8,18	59,50	4,23	8,03
7.13	88	>280	$C_{18}H_{16}N_2O_4S$	60,66	4,53	7,86	60,78	4,64	7,95
7.14	78	>280	$C_{18}H_{16}N_2O_4S$	60,66	4,53	7,86	60,80	4,43	7,92
7.15[b]	79	288-290 (літ.); >280	$C_{18}H_{16}N_2O_4S$	60,66	4,53	7,86	60,81	4,50	7,80
7.16	88	>260	$C_{18}H_{16}N_2O_5S$	58,05	4,33	7,52	58,20	4,43	7,56
7.17	81	>260	$C_{18}H_{16}N_2O_3S$	63,51	4,74	8,23	63,70	4,65	8,31
7.18	85	>260	$C_{18}H_{16}N_2O_3S$	63,51	4,74	8,23	63,68	4,70	8,13
7.19	75	>250	$C_{18}H_{16}N_2O_4S$	60,66	4,53	7,86	60,75	4,43	7,92
7.20	80	>250	$C_{23}H_{18}N_2O_3S$	68,64	4,51	6,96	68,75	4,55	7,12
7.21	48	>250	$C_{17}H_{11}F_3N_2O_3S$	53,68	2,92	7,37	53,75	3,01	7,45
7.22	88	248-250	$C_{19}H_{16}N_2O_3S$	64,76	4,58	7,95	64,89	4,67	7,85
7.23	70	246-247	$C_{19}H_{16}N_2O_3S$	64,76	4,58	7,95	64,85	4,62	7,89
7.24	75	>250	$C_{17}H_{12}F_2N_2O_3S$	56,35	3,34	7,73	56,45	3,40	7,78
7.25	81	>250	$C_{17}H_{12}F_2N_2O_3S$	56,35	3,34	7,73	56,22	3,39	7,77

[a] Ресинтезовано відповідно до методики описаної раніше [410]

[b] Ресинтезовано відповідно до методики описаної раніше [402]

7.3. Синтез гібридних молекул на основі індолін-2-карбонових кислот та індолін-2-карбоксилатів як потенційних біологічно активних сполук

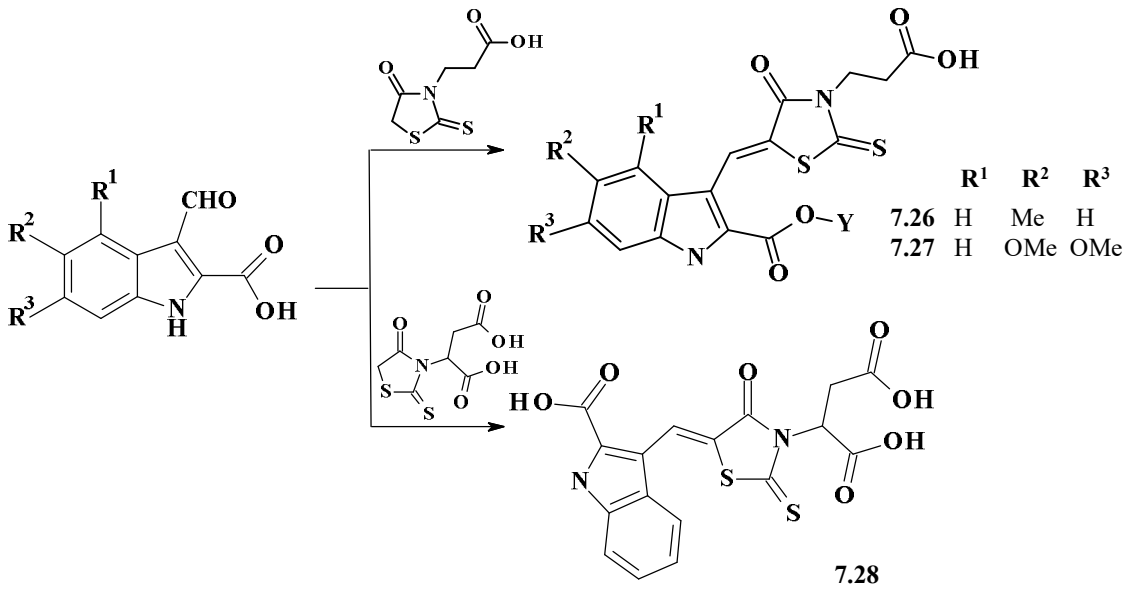
7.3.1. Отримання гібридних 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1*H*-індол-2-карбоксилатів

Базуючись на попередніх результатах вивчення біологічної активності аналогів 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іл)-1*H*-індол-карбонових кислот з одного боку [387] та тіазолідинон/тіазол-феніліндол/імідазотіадіазольних гібридів з іншого [325], метою даної частини синтетичних досліджень став синтез гібридних молекул, що вміщують [6+5]-гетероциклічні фрагменти [388]. Останні комбінувалися з фрагментами роданін-3-карбонових кислот, 5-ен-похідні яких показали високу антибактеріальну та протипухлинну активності [341,342,411].

Таким чином, для диверсифікації бібліотеки 5-іліден-роданінових аддуктів, синтезовано ряд 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.26-7.28** в реакції Кньовенагеля в середовищі ацетатної кислоти із додаванням еквімолярних кількостей ацетату натрію. Отримані сполуки є не тільки потенційними «лікоподібними молекулами», але й легко піддаються модифікації за рахунок наявної карбокисльної групи у С2 положенні та лабільного атому нітрогену в індольній системі. Зважаючи на вкрай низькі виходи цільових продуктів при нагріванні реакційних сумішей протягом 6-8 год, утворення осаду протягом 1-2 днів після необхідності осадження водою, конденсацію Кньовенагеля в даних умовах апробовано під дією мікрохвильового опромінення (850 Вт, 120 °С, час реакції 5 хв), що дозволило несуттєво, але підвищити виходи до 30%. Підвищення температури реакції до 140 °С, та часу нагрівання до 10 хв не збільшувало виходів.

Синтезовані похідні 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.26-7.28** – дрібнокристалічні порошки цегляного та коричневого кольорів, розчинні в етанолі, ізопропанолі, діоксані, ДМСО, нерозчинні у воді, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики наведено у табл. 7.2.

Схема 7.2



7.3.2. Синтез 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот та їх похідних

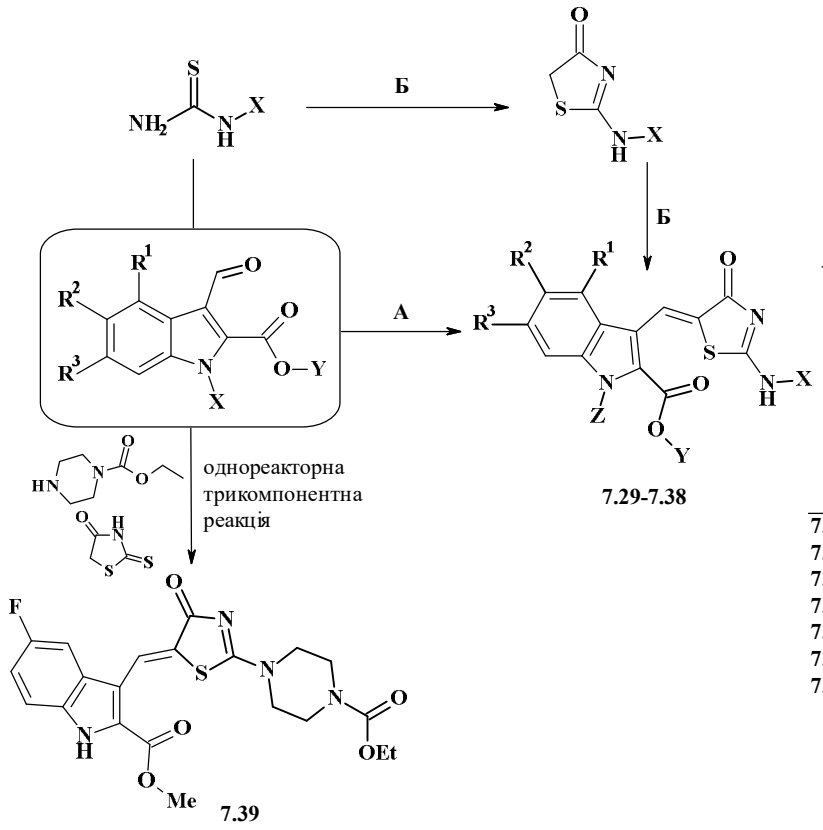
Наступним етапом дизайну гібридних молекул на основі різних фармакофорів, що виявляли виражену біологічну активність став синтез сполук, що вміщують [6+5]-гетероцикли – похідні індол-2-карбонових кислот та фрагмент 2-амінотіазол-4-ону **7.1-7.25**, зважаючи на їх високу протилейкемічну активність (див. Розділ 7.6.1).

Цільові похідні 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.29-7.39** синтезовано в однореакторній трикомпонентній реакції заміщених тіосечовин (S,N-динуклеофіли), хлороацетатної кислоти в ролі електрофілу та відповідної оксосполуки в середовищі ацетатної кислоти. Даний метод включає реакцію [2+3]-циклоконденсації з наступною конденсацією Кньовенагеля (метод А), що дозволяє суттєво зменшити час синтезу цільових сполук та витрату реагентів на відміну від проведення двох незалежних реакцій синтезу 2-гетериліміно-4-тіазолідинонів та отримання їх 5-ен похідних (метод Б) (схема 7.3).

Утилізація різних похідних тіосечовин у такого типу мультикомпонентних реакціях дозволяє синтез тіосемікарбазидів/тіосемікарбазонів, різноманітних

диверсифікованих оксосполук, включно із гетероциклічними сполуками [187,402,412] та їх поліциклічними аналогами [187,413].

Схема 7.3



X = H

	Y	R^1	R^2	R^3	Z
7.29	Me	H	F	H	H;
7.30	H	H	Cl	H	H;
7.31	Me	OMe	H	OMe	H

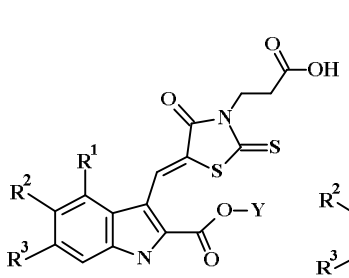
X = 4-C_6H_4-OH

	Y	R^1	R^2	R^3	Z
7.32	Me	H	F	H	H;
7.33	H	H	H	H	H;
7.34	Me	OMe	H	OMe	H;
7.35	H	H	H	OMe	H;
7.36	H	H	OMe	H	H;
7.37	H	H	Me	H	H;
7.38	H	H	OMe	OMe	Me

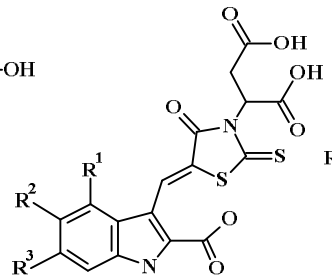
Синтезовані 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонові кислоти, їх карбоксилати та N-ариліден похідні **7.29-7.39** – дрібнокристалічні порошки світло-жовтого та сірого кольорів, розчинні в ацетатній кислоті, діоксані, ДМСО, нерозчинні у воді, етанолі, ізопропанолі, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики наведено у табл. 7.2.

Таблиця 7.2

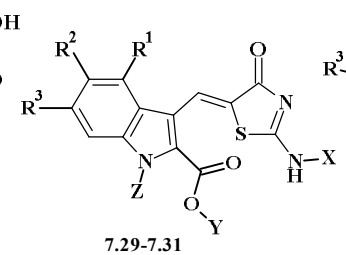
Фізико-хімічні характеристики 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів 7.26-7.28 та 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів 7.29-7.39



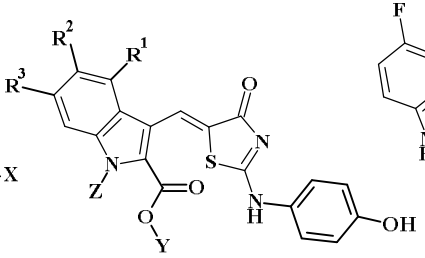
7.26-7.27



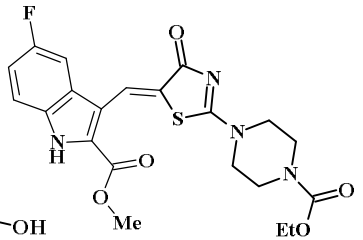
7.28



7.29-7.31



7.32-7.38



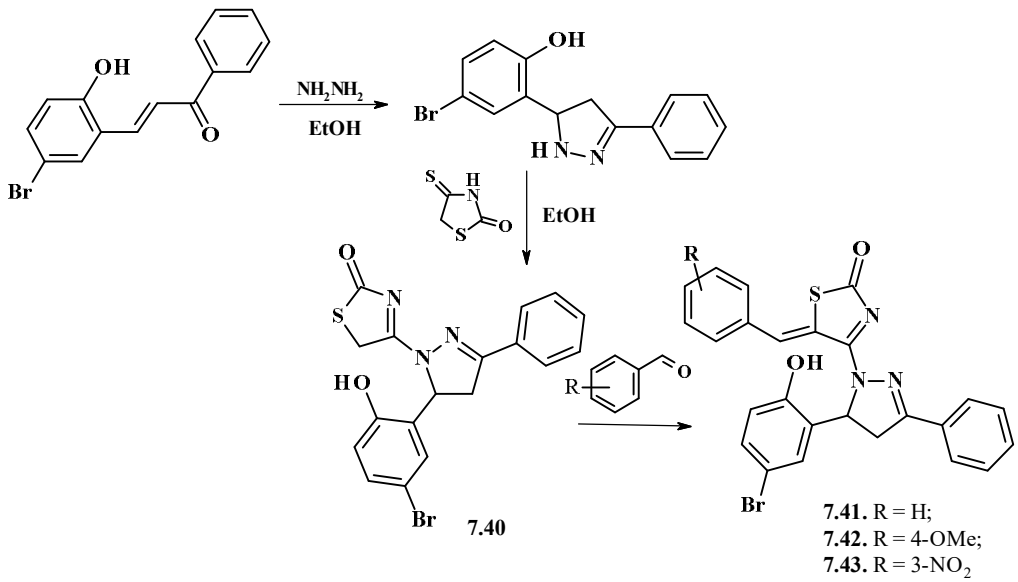
7.39

Сполука	Y	R^1	R^2	R^3	Вихід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
								C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
7.26	H	H	Me	H	35	244-245	$C_{17}H_{14}N_2O_5S_2$	52,30	3,61	7,17	52,16	3,55	7,25
7.27	H	H	OMe	OMe	37	228-230	$C_{18}H_{16}N_2O_7S_2$	49,53	3,69	6,42	49,23	3,75	6,50
7.28	-	-	-	-	25	>260	$C_{17}H_{12}N_2O_7S_2$	48,57	2,88	6,66	48,50	2,92	6,54
7.29	Me	H	F	H	65	258-260	$C_{14}H_{10}FN_3O_3S$	52,66	3,16	13,16	52,60	3,23	13,29
7.30	H	H	Cl	H	74	>255	$C_{13}H_8ClN_3O_3S$	48,53	2,51	13,06	48,68	2,41	13,14
7.31	Me	OMe	H	OMe	70	224-226	$C_{16}H_{15}N_3O_5S$	53,18	4,18	11,63	53,24	4,14	11,67
7.32	Me	H	F	H	75	284-286	$C_{20}H_{14}FN_3O_4S$	58,39	3,43	10,21	58,30	3,36	10,13
7.33	H	H	H	H	72	>255	$C_{19}H_{13}N_3O_4S$	60,15	3,45	11,08	60,30	3,60	10,96
7.34	Me	OMe	H	OMe	70	260-262	$C_{22}H_{19}N_3O_6S$	58,27	4,22	9,27	58,16	4,30	9,16
7.35	H	H	H	OMe	68	258-260	$C_{20}H_{15}N_3O_5S$	58,67	3,69	10,26	58,75	3,74	10,40
7.36	H	H	OMe	H	79	260-262	$C_{20}H_{15}N_3O_5S$	58,67	3,69	10,26	58,70	3,60	10,23
7.37	H	H	Me	H	76	245-247	$C_{20}H_{15}N_3O_4S$	61,06	3,84	10,68	61,20	3,96	10,80
7.38	H	H	OMe	OMe	75	248-250	$C_{22}H_{19}N_3O_6S$	58,27	4,22	9,27	58,40	4,35	9,15
7.39	-	-	-	-	73	239-241	$C_{21}H_{21}FN_4O_5S$	54,77	4,60	12,17	54,86	4,50	12,30

7.4. Синтез 4-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-онів. Комбінація піразольного циклу та 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-карбоксильного циклу

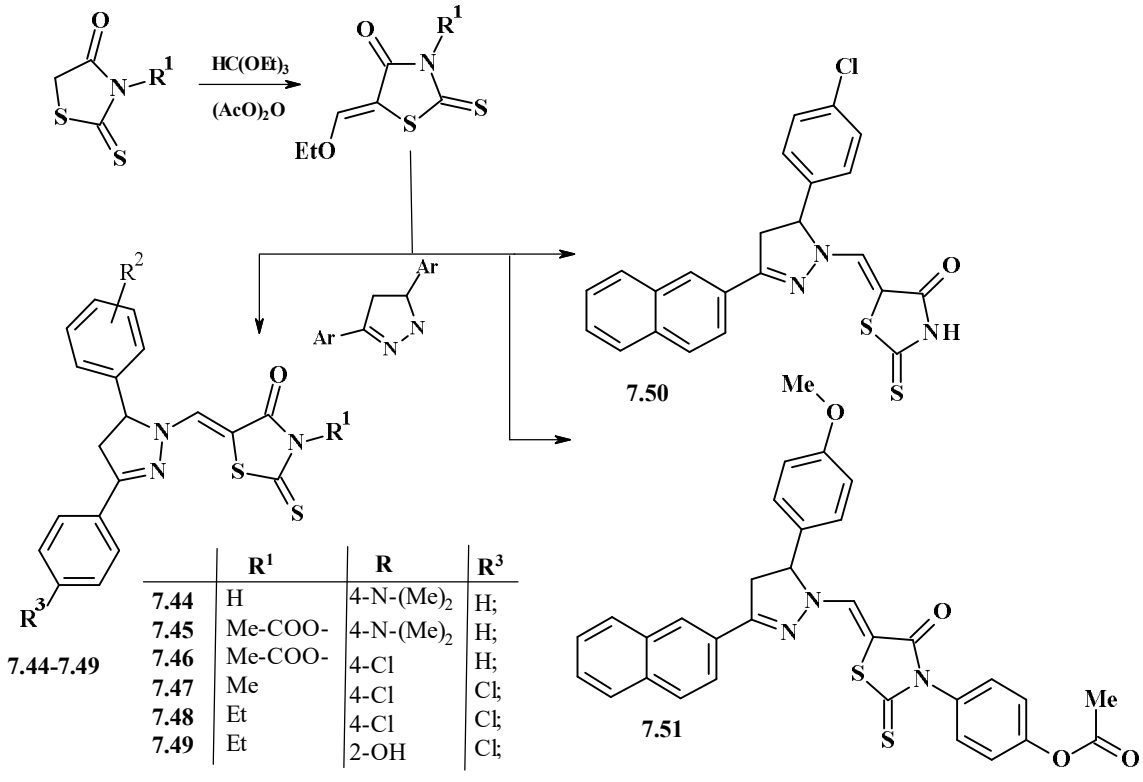
Комбінація піразольного і тіазольного циклів є одним з пріоритетних напрямків «гібрид-фармакофорного підходу», що забезпечує утворення фармакологічно привабливих тіазол/тіазолідон-піразолінових кон'югатів. Так, наприклад, похідне псевдотіогідантоїну з піразольним фрагментом у 5 положенні інгібувало некроптоз [414], піразоліл-4-тіазолідинони селективно інгібували окремі лінії раку молочної залози [415], ряд (5-арил-3-феніл-піразоліл)-тіазол-2-онів та (5-арил-3-феніл-піразоліл)-тіазол-4-онів інгібували ріст клітинних ліній раку легень та лейкемії [150]. Похідні піразолу досліджуються в контексті пошуку нових протипухлинних препаратів. Серед аналогів піразолу є й протипухлинні лікарські засоби, як наприклад, Руксолітініб, що застосовується для лікування первинного мієлофіброзу. Механізм його дії пов'язаний із інгібуванням янус-кіназ ½ [416]. Таким чином, зважаючи на перспективність розробки потенційних біологічно активних гібридів на основі тіазольного та піразольного циклів, у реакції 3,5-діарилпіразоліну із ізороданіном ресинтезовано 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-он **7.40** [417]**.** Його 5-іліден похідні **7.41-7.42** отримано у реакції конденсації Кньовенагеля із відповідними альдегідами [418] (схема 7.4).

Схема 7.4



Піразолін-тіазолідинонові гібриди є перспективними протипаразитарними агентами, для яких встановлено мікромолярні величини IC_{50} щодо *Trypanosoma brucei gambiense*, тому ряд таких гібридних молекул було ресинтезовано за методиками описаними раніше [155] та синтезовано низку нових похідних 5-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-ону **7.44-7.51**. Цільові тіазолідинон-піразольні гібриди **7.44-7.51** отримано в реакції відповідних N3-заміщених 5-етоксиметиліден-роданінів із 3,5-діарил-2-піразолінами (схема 7.5). Фізико-хімічні характеристики 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-ону **7.40**, його 5-іліден-похідних **7.41-7.43** та 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів **7.44-7.51** наведено у табл. 7.3.

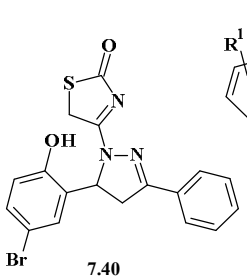
Схема 7.5



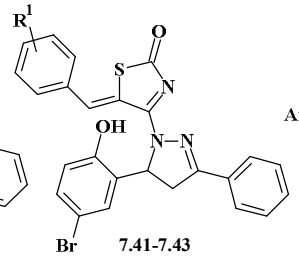
	R^1	R	R^3
7.44	H	4-N-$(Me)_2$	H;
7.45	Me-COO-	4-N-$(Me)_2$	H;
7.46	Me-COO-	4-Cl	H;
7.47	Me	4-Cl	Cl;
7.48	Et	4-Cl	Cl;
7.49	Et	2-OH	Cl;

Таблиця 7.3

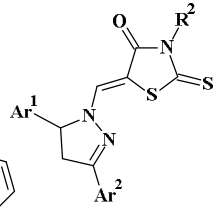
Фізико-хімічні характеристики 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5Н-тіазол-2-онів 7.40-7.43, 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів 7.44-7.51, 2-[5-[(3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]карбоксильних кислот 7.52-7.61 та 2-[5-[[3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-ацетамідів 7.62-7.63



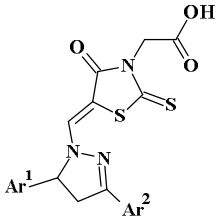
7.40



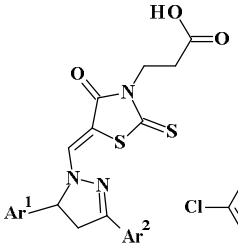
7.41-7.43



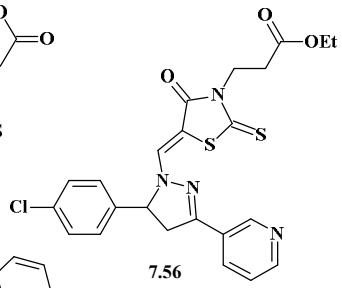
7.44-7.51



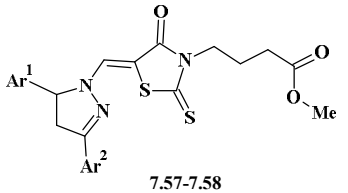
7.52-7.53



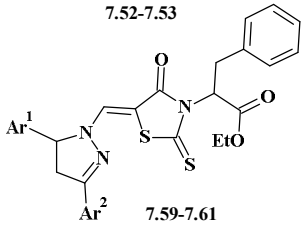
7.54-7.55



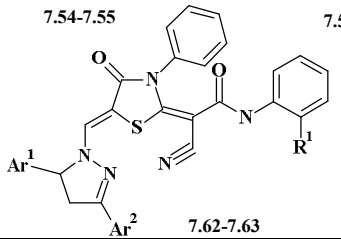
7.56



7.57-7.58



7.59-7.61



7.62-7.63

Спо-лука	R^1	R^2	Ar^1	Ar^2	Ви-хід	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
								C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	7	8	9	10	11	12	13	14	15
7.40	-	-	-	-	65	232-234	$C_{18}H_{14}BrN_3O_2S$	51,93	3,39	10,09	52,05	3,45	9,93
7.41	H	-	-	-	72	242-244	$C_{25}H_{18}BrN_3O_2S$	59,53	3,60	8,33	59,62	3,68	8,29
7.42	4-OMe	-	-	-	78	>250	$C_{28}H_{20}BrN_3O_3S$	58,43	3,77	7,86	58,50	3,85	7,80
7.43	3-NO_2	-	-	-	69	>250	$C_{25}H_{19}BrN_4O_4S$	54,45	3,47	10,16	54,60	3,40	10,03
7.44*	-	H	4-$N(Me)_2$-C_6H_4-	C_6H_5-	70	215-217	$C_{21}H_{20}N_4OS_2$	61,74	4,93	13,71	61,80	4,88	13,84
7.45*	-	Me-COO-	4-$N(Me)_2$-C_6H_4-	C_6H_5-	73	210-211	$C_{23}H_{22}N_4O_3S_2$	59,21	4,75	12,01	59,00	4,80	11,92

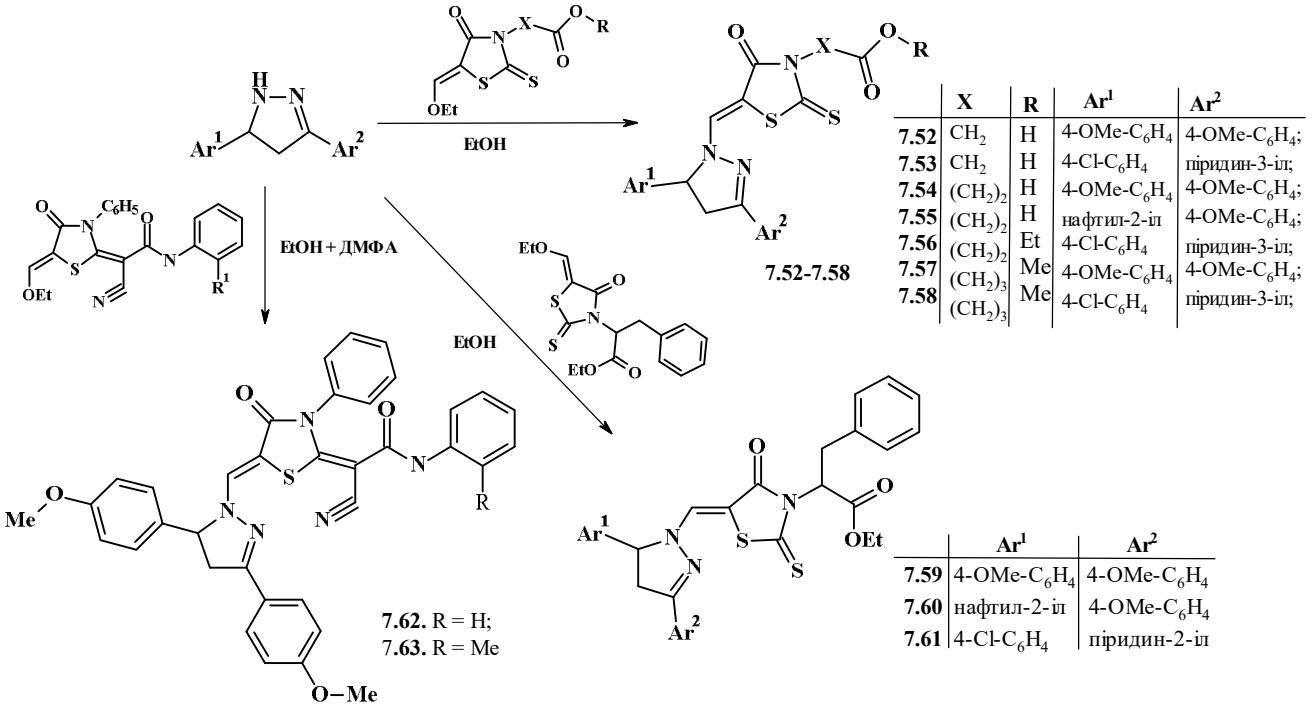
Продовж. табл. 7.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
7.46*	-	Me-COO-	4-Cl-C_6H_4-	C_6H_5-	80	238-240	$C_{21}H_{16}ClN_3O_3S_2$	55,08	3,52	9,18	54,86	3,47	9,13
7.47	-	Me	4-Cl-C_6H_4	4-Cl-C_6H_4-	69	236-238	$C_{20}H_{15}Cl_2N_3OS_2$	53,57	3,37	9,37	53,67	3,46	9,30
7.48	-	Et	4-Cl-C_6H_4	4-Cl-C_6H_4-	73	247-249	$C_{21}H_{17}Cl_2N_3OS_2$	54,55	3,71	9,09	54,63	3,70	9,00
7.49	-	Et	2-OH-C_6H_4-	4-Cl-C_6H_4-	78	255-257	$C_{21}H_{18}ClN_3O_2S_2$	56,81	4,09	9,46	56,74	4,16	9,52
7.50	-	H	4-Cl-C_6H_4	нафтил-2-іл	76	259-261	$C_{23}H_{16}ClN_3OS_2$	61,39	3,58	9,34	61,45	3,60	9,45
7.51	-	Me-COO-	4-OMe-C_6H_4	нафтил-2-іл	75	275-277	$C_{26}H_{21}N_3O_4S_2$	62,01	4,20	8,34	61,83	4,25	8,30
7.52	-		4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4	60	140-142	$C_{23}H_{21}N_3O_5S_2$	57,13	4,38	8,69	57,10	4,42	8,73
7.53	-		4-Cl-C_6H_4	піридин-3-іл	58	260-261	$C_{20}H_{15}ClN_4O_3S_2$	52,34	3,29	12,21	52,40	3,36	12,30
7.54	-		4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4	73	256-257	$C_{24}H_{23}N_3O_5S_2$	57,93	4,66	8,44	60,05	4,60	8,56
7.55	-		нафтил-2-іл	4-OMe-C_6H_4	75	212-214	$C_{27}H_{23}N_3O_4S_2$	62,65	4,48	8,12	62,72	4,53	8,15
7.56	-		4-Cl-C_6H_4	піридин-3-іл	63	245-247	$C_{21}H_{17}ClN_4O_3S_2$	53,33	3,62	11,85	53,43	3,68	11,90
7.57	-		4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4	72	145-146	$C_{26}H_{27}N_3O_5S_2$	59,41	5,18	7,99	59,63	5,20	8,05
7.58	-		4-Cl-C_6H_4	піридин-3-іл	50	>250	$C_{23}H_{21}ClN_4O_3S_2$	55,14	4,22	11,18	55,02	4,20	11,06
7.59	-	-	4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4	52	230-232	$C_{32}H_{31}N_3O_5S_2$	63,87	5,19	6,98	63,90	5,20	6,90
7.60	-	-	нафтил-2-іл	4-OMe-C_6H_4	77	220-222	$C_{35}H_{31}N_3O_4S_2$	67,61	5,03	6,76	67,53	5,00	6,71
7.61	-	-	4-Cl-C_6H_4	піридин-3-іл	48	257-258	$C_{29}H_{25}ClN_4O_3S_2$	60,35	4,37	9,71	60,30	4,41	9,75
7.62	H	-	4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4	82	>270	$C_{36}H_{29}N_5O_4S$	68,88	4,66	11,16	68,93	4,70	11,23
7.63	Me	-	4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4	74	>270	$C_{37}H_{31}N_5O_4S$	69,25	4,87	10,91	69,30	4,82	10,96

*Ресинтезовано відповідно до методики описаної раніше [155]

Логічним продовженням дизайну гібридних молекул на основі біологічно-активних похідних 4-тіазолідинону була комбінація 3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразолу та роданін-3-карбонових кислот. Залежно від природи замісників у N3 положенні вихідних роданінів отримано 5-[(3,5-діарил-3,4-диігдропіразол-2-іл)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]карбонові кислоти або їх метилові чи етилові естери **7.52-7.61** (схема 7.6).

Схема 7.6



	X	R	Ar¹	Ar²
7.52	CH_2	H	4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4;
7.53	CH_2	H	4-Cl-C_6H_4	піридин-3-іл;
7.54	$(CH_2)_2$	H	4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4;
7.55	$(CH_2)_2$	H	нафтил-2-іл	4-OMe-C_6H_4;
7.56	$(CH_2)_2$	Et	4-Cl-C_6H_4	піридин-3-іл;
7.57	$(CH_2)_3$	Me	4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4;
7.58	$(CH_2)_3$	Me	4-Cl-C_6H_4	піридин-3-іл;

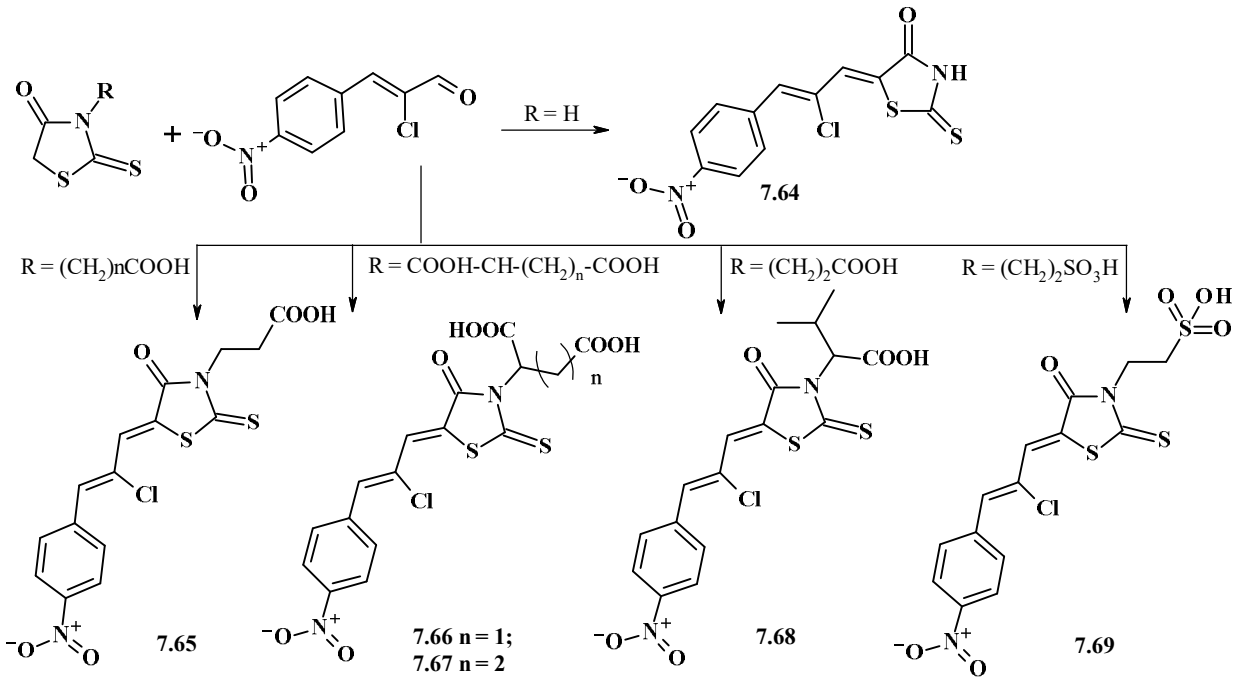
	Ar¹	Ar²
7.59	4-OMe-C_6H_4	4-OMe-C_6H_4
7.60	нафтил-2-іл	4-OMe-C_6H_4
7.61	4-Cl-C_6H_4	піридин-2-іл

Синтезовані 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів **7.52-7.61** та 2-[5-[[3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-ацетаміди **7.62-7.63** – дрібнокристалічні порошки різних відтінків жовтого, помаранчевого, цегляного, коричневого кольорів. Легко розчинні у ДМФА, діоксані, ДМСО, при нагріванні розчинні в етанолі, ацетонітрилі, ацетатній кислоті, нерозчинні у воді, діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів наведено у табл. 7.3.

Зважаючи на факт встановленої протилейкемічної активності бензиліден-роданін-сукцинімідів **4.46-4.62** [341] та інгібування росту клітин ліній Т-клітинного

лейкозу людини, карциноми легень та шийки матки, раку молочної залози, раку яйників та прямої кишки роданін-сукцинімідами із фрагментом циміналю у С5 положенні **4.79** та **4.81**, для розширення ряду малих гібридних молекул на основі роданінового циклу комбінованого із залишком циміналю та встановлення закономірностей структура-активність, синтезовано 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-он та його N-похідні із залишками різних карбонових кислот. Фізико-хімічні характеристики 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів **7.64-7.69** наведено у табл. 7.4.

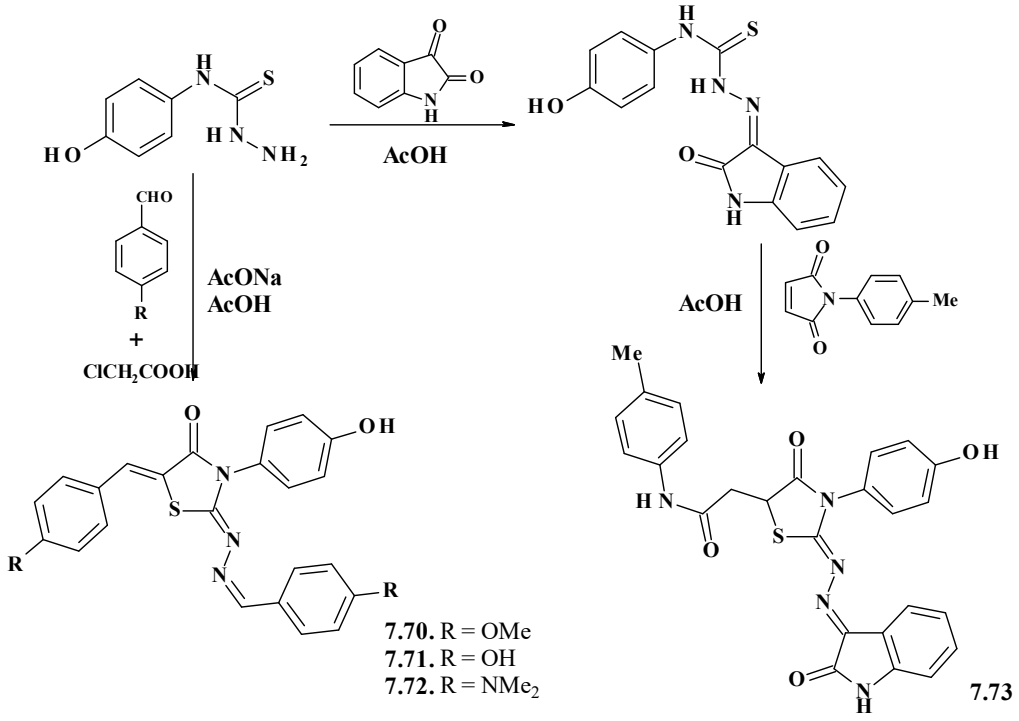
Схема 7.7



Одним з напрямків дослідження протипаразитарних властивостей малих лікоподібних молекул на основі тіазолу є вивчення їх протималярійної активності [219]. Так, наприклад, ряд карбоксімідів амінометилтіазол-піразолів показали добру *in vitro* активність щодо *P falciparum* і були ефективними при пероральному введенні на мишачій моделі *P berghei* [220]. 2-(2-Гідразиніл)тіазоли із фрагментами піридину інігбували кровяні форми *P falciparum* (NF54) у *in vitro* експерименті у субмікромолярних концентраціях [221]. Таким чином, дизайн потенційних протималярійних агентів включав комбінацію 5-ариліден-4-гідроксифеніл-тіазолідону із ариліденовими та ізатиновим фрагментами, приєднаними через

гідразиновий місток у 2 положенні 4-тіазолідинону. 5-Ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинони **7.70-7.72** синтезовано в одно стадійній модифікованій реакції Кньовенагеля 4-(4-гідроксифеніл)тіосемікарбазиду із відповідними ароматичними альдегідами та хлороацетатною кислотою в середовищі ацетатної кислоти у присутності натрію ацетату. 2-[(3-(4-Гідроксифеніл)-4-оксо-2-[(2-оксоіндолін-3-іліден)гідразоно]тіазолідин-5-іл]-N-(*n*-толіл)ацетамід **7.73** отриманий у реакції 1-(2-оксоіндолін-3-іліден)-4-(4-гідроксифеніл)тіосемікарбазону із (*n*-толіл)мілеїнімідом в середовищі ацетатної кислоти (схема 7.8) [365].

Схема 7.8

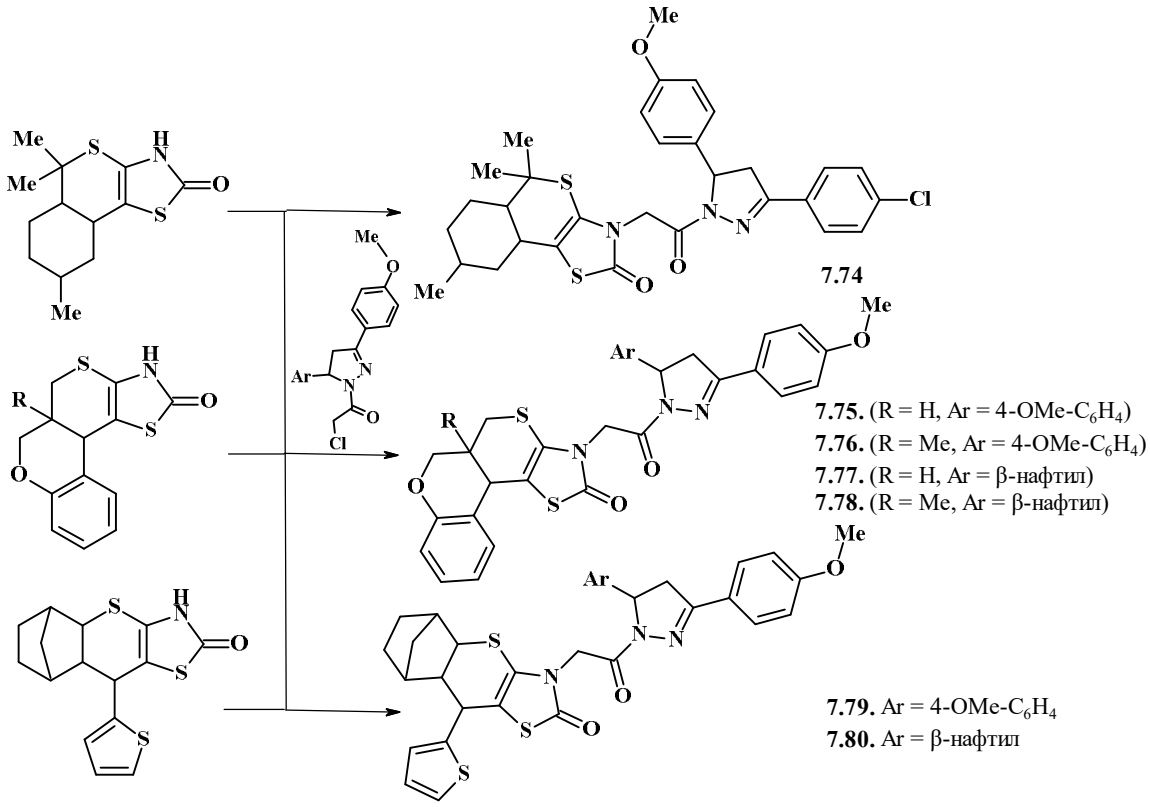


7.5. Комбінація піразольного та тіопіранотіазольного циклів

Похідні тіопіранотіазолів, зокрема хромено[4’,3’:4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазоли, ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-2-он та 9-заміщені 3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-они, функціоналізовані по атому нітрогену у фрагменті тіазолідону показали значну протипухлинну активність на панелі різних ліній ракових клітин [202,204]. Ряд тіопіранотіазолів характеризувався подвійною

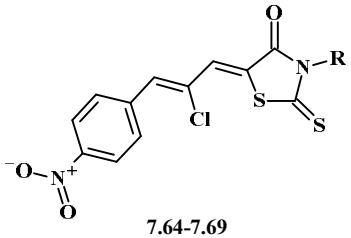
протипухлиною та протипаразитарною активністю щодо *Trypanosoma brucei* [158,305,310,311]. Поєднання 3,5-діарил-3,4-дигідропіразолінового фрагменту та тіопіранотіазольного гетероциклу є одним із шляхів молекулярної оптимізації похідних тіопіранотіазолу, що може сприяти підвищенню антипроліферативних властивостей цього класу сполук, а також виявленню інших типів їх фармакологічної активності. В реакціях алкілювання вихідних ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-2-ону, хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, та 3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-ону 2-хлоро-1-(3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл)етанонами отримано низку N-[2-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-тіопіранотіазолів **7.74-7.80.** Фізико-хімічні характеристики N-[2-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-тіопіранотіазолів **7.74-7.80** наведено у табл. 7.5.

Схема 7.9

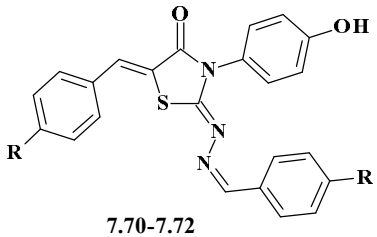


Таблиця 7.4

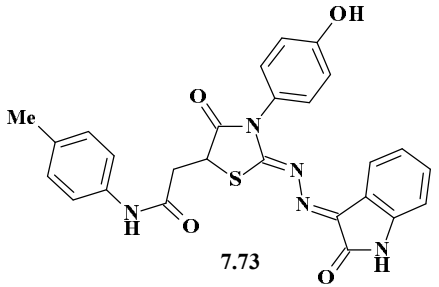
Фізико-хімічні характеристики 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів 7.64-7.69, 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів 7.70-7.72 та 2-[(3-(4-гідроксифеніл)-4-оксо-2-[(2-оксоіндолін-3-іліден)гідразоно]тіазолідин-5-іл]-N-(*n*-толіл)ацетаміду 7.73



7.64-7.69



7.70-7.72



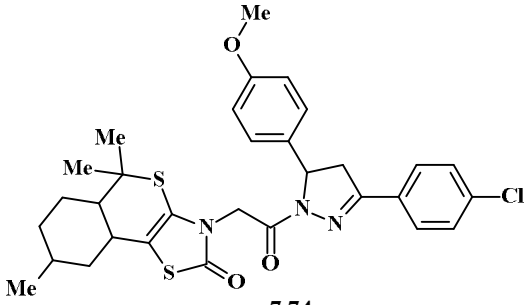
7.73

Спо-лука	R	Вихід, %	$T_{пл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
					C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
7.64	H	81	251-253	$C_{12}H_7ClN_2O_3S_2$	44,11	2,16	8,57	44,25	2,20	8,42
7.65	-$(CH_2)_2$-COOH	75	268-269	$C_{15}H_{11}ClN_2O_5S_2$	45,17	3,53	8,91	45,03	3,70	9,06
7.66	-CH-(COOH)-CH_2-COOH	68	220-222	$C_{15}H_{11}ClN_2O_5S_2$	43,39	2,50	6,33	43,10	2,59	6,42
7.67	-CH-(COOH)-$(CH_2)_2$-COOH	72	205-207	$C_{17}H_{13}ClN_2O_7S_2$	44,69	2,87	6,13	44,81	2,95	6,23
7.68	-CH-CH$(Me)_2$-COOH	81	236-237	$C_{17}H_{15}ClN_2O_5S_2$	47,83	3,54	6,56	47,60	3,68	6,68
7.69	-$(CH_2)_2$-SO_3H	83	> 260	$C_{14}H_{11}ClN_2O_6S_3$	52,42	2,55	6,44	52,60	2,71	6,58
7.70*	OMe	57	> 250	$C_{25}H_{21}N_3O_4S$	65,35	4,61	9,14	65,50	4,50	9,40
7.71*	OH	62	> 250	$C_{23}H_{17}N_3O_4S$	64,03	3,97	9,74	64,20	4,00	9,90
7.72*	$N(Me)_2$	50	252-253	$C_{27}H_{27}N_5O_2S$	66,78	5,60	14,42	66,90	5,70	14,60
7.73*	-	81	212-214	$C_{26}H_{21}N_5O_4S$	62,51	4,24	14,02	62,40	4,10	14,20

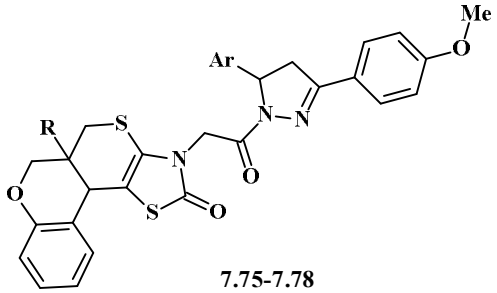
*Ресинтезовано відповідно до методики описаної раніше [307]

Таблиця 7.5

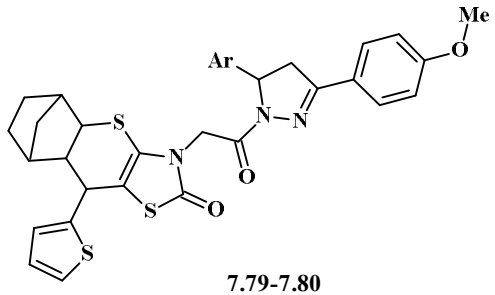
Фізико-хімічні характеристики N-[2-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-тіопіранотіазолів 7.74-7.80



7.74



7.75-7.78



7.79-7.80

Сп-ка	R	Ar	Ви-хід, %	$T_{топл.}$, °C	Брутто-формула	Вирахувано			Знайдено		
						C, %	H, %	N, %	C, %	H, %	N, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7.74	-	-	80	164-165	$C_{31}H_{34}ClN_3O_3S_2$	62,45	5,75	7,05	62,36	5,85	7,00
7.75	H	4-OMe-C_6H_4	63	126-128	$C_{32}H_{29}N_3O_5S_2$	64,09	4,87	6,91	64,15	4,92	7,10
7.76	Me	4-OMe-C_6H_4	67	120-122	$C_{33}H_{31}N_3O_5S_2$	64,58	5,09	6,85	64,73	5,00	6,73
7.77	-	4-OMe-C_6H_4	65	130-132	$C_{35}H_{37}N_3O_4S_3$	63,70	5,65	6,37	63,84	5,59	6,42
7.78	H	β-нафтил	76	210-212	$C_{35}H_{29}N_3O_4S_2$	67,83	4,72	6,78	67,78	4,63	6,65
7.79	Me	β-нафтил	66	148-150	$C_{36}H_{31}N_3O_4S_2$	68,22	4,93	6,63	68,19	4,90	6,70
7.80	-	β-нафтил	82	168-170	$C_{38}H_{37}N_3O_3S_3$	67,13	5,49	6,18	67,20	5,55	6,10

7.6. Спектральні характеристики одержаних сполук

Структура синтезованих речовин підтверджена елементним аналізом, а також методами ^{1}H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, мас-спектрометрії.

^{1}H та ^{13}C ЯМР та LC-MS спектри 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів **7.1-7.25**

Отримані 4-тіазолідинони **7.1-7.25** із NH групою у С2 положенні циклу характеризуються аміно-імінною таутомерією, що полягає у різному положенні подвійного зв'язку C=N у 2-аміно- та 2-іміно таутомерів; при цьому, для таутомерів з екзоциклічним C=N зв'язком можливі Z- та E-ізомери. Подвоєння сигналів у спектрах ЯМР підтверджує наявність останніх. Проте, часто дані спектрального аналізу, при відсутності подвоєння сигналів, не дозволяють точно підтвердити існування певної таутомерної форми. Виходячи із літературних даних, існування певного таутомеру суттєво залежить від характеру замісників у С2 положенні тіазолідинону і синтезовані 2-ариліден-амінотіазол-4-они зазвичай існують в аміно-формі [402,419,420]. Спектральна картина 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів є класичною для класу 5-ен-похідних та підтверджує утворення молекул із цис-розташуванням іліденового фрагменту (Z-ізомер), аналогічно іншим 5-ен-4-азолідинонам, із сигналами протонів CH=C5 в області ~ 7,50-8,50 м.ч. Співіснування таутомерних форм для сполук **7.1-7.25** доведено характеристичним подвоєнням сигналів, як у спектрах ^{1}H ЯМР, так і в спектрах ^{13}C ЯМР [409].

7.1. *(5Z)-(2-Флюоробензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 6,80 (м, 2H, аром.), 6,96 (д, 1H, *J* = 7,1 Гц, аром.), 7,29-7,38, 7,40, 7,56 (3*м, 5H, аром.), 7,64, 7,61 (2*с, 1H, =CH), 9,53, 9,57 (2*с, 1H, OH), 11,48, 12,16 (2*шс, 1H, NH). LCMS (ESI): *m/z* 315 (96,67%, M^{+}+1).

7.2. *(5Z)-(4-Флюоробензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* Спектральні характеристики відповідають наведеним у [402].

7.3. *(5Z)-(4-Хлоробензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 6,80 (т, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 6,94 (д, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,38-7,48 (м, 2H, аром.), 7,50-7,60 (м, 2H, аром.), 7,63 (т, 1H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,78, 7,86 (2*с, 1H, =CH), 9,52, 9,58 (2*с, 1H, OH), 11,49, 12,16 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 116,0, 116,4, 122,9, 124,8, 125,1, 128,5, 129,0, 129,2, 130,6, 130,7, 131,6, 132,7, 134,5, 134,7, 155,5, 162,7, 170,1, 180,2. LCMS (ESI): *m/z* 331/333 (100%, M^++1).

7.4. *(5Z)-(2,6-Дихлоробензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 6,72, 6,80 (2*д, 1H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 6,89 (д, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 7,39-7,53 (м, 4H, аром., =CH), 7,59 (д, 1H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 9,50, 9,58 (2*с, 1H, OH), 11,38, 12,19 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 115,9, 116,3, 123,0, 124,8, 125,1, 129,1, 129,2, 130,4, 131,7, 131,8, 132,7, 133,5, 133,6, 155,6, 169,8, 179,0. LCMS (ESI): *m/z* 365/367 (100%, M^++1).

7.5. *(5Z)-(Бромобензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 6,81 (m, 2H, аром.), 6,95 (м, 1H, аром.), 7,45 (д, 1H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,52-7,60, 7,63-7,68 (2*м, 4H, аром., =CH), 7,45 (д, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 9,52, 9,55 (2*с, 1H, OH), 11,43, 12,10 (2*шс, 1H, NH). LCMS (ESI): *m/z* 375/377 (96.7%, M^++1).

7.6. *(5Z)-(2-Трифлюорометилбензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 6,74 (д, 1H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 6,84 (д, 1H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 6,91 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,53, 7-55-7,63 (т, м, 2,5 H, аром.), 7,67-7,84 (м, 3,5 H, аром., =CH), 9,49, 9,55 (2*с, 1H, OH), 11,50, 12,17 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 115,9, 116,4, 122,9, 124,4 (кв, *J* = 273,5 Гц, CF_3), 127,0, 127,8 (кв, *J* = 32,0 Гц, <u>C</u>-CF_3) 129,2, 129,3, 130,1, 130,5, 130,7, 132,6, 133,4, 155,6, 170,2, 179,7. LCMS (ESI): *m/z* 365 (100.0%, M^++1).

7.7. *(5Z)-(3-Трифлюорометилбензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 6,82 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 6,99 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,59 (д, 1H, *J* = 9,0 Гц, аром.), 7,70-7,76 (м, 1H, аром.), 7,77-7,82 (м, 2H, аром.), 7,88-7,98 (м, 2H, аром., =CH), 9,56, 9,60 (2*с, 1H, OH), 11,48, 12,20 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 116,0, 116,4, 122,7, 125,9, 127,3 (кв, *J* =

293,9 Гц, CF_3), 128,2, 130,6 (кв, *J* = 25,7 Гц, C-CF_3), 130,8, 130,9, 131,1, 132,6, 133,6, 135,7, 155,5, 169,6, 180,4. LCMS (ESI): *m/z* 365 (100.0%, M^++1).

7.8. *(5Z)-(2-Етилбензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 1,06, 1,10 (2*т, 3H, *J* = 7,6 Гц, CH_3), 2,66, 2,70 (2*кв, 2H, *J* = 7,6 Гц, CH_2), 6,74, 6,78 (2*д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 6,89 (д, 1H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,20-7,34, 7,45-7,65 (2*м, 4H, аром.), 7,53 (д, 1H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,71, 7,79 (2*с, 1H, =CH), 9,46, 9,52 (2*с, 1H, OH), 11,35, 12,05 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 16,0, 26,4, 116,0, 116,4, 122,8, 124,1, 127,0, 127,1, 127,3, 127,4, 127,5, 127,7, 129,7, 129,8, 130,2, 130,3, 130,7, 132,6, 133,2, 144,4, 144,6, 155,5, 155,9, 170,7, 180,4. LCMS (ESI): *m/z* 325 (100.0%, M^++1).

7.9. *(5Z)-(2-Метоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,85, 3,89 (2*с, 3H, OCH_3), 6,80 (м, 2H, аром.), 6,94 (д, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,02, 7,05-7,15 (т, м, 2H, аром.), 7,32, 7,35-7,50 (д, м, 2H, аром.), 7,56 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 7,84, 7,91 (2*с, 1H, =CH), 9,49, 9,54 (2*с, 1H, OH), 11,32, 12,04 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 58,2, 112,1, 112,2, 115,9, 116,4, 121,3, 122,6, 122,7, 123,1, 124,1, 124,6, 128,2, 128,4, 130,7, 132,0, 155,3, 155,8, 158,2, 158,3, 170,3, 180,8. LCMS (ESI): *m/z* 327 (100.0%, M^++1).

7.10. *(5Z)-(2-Метоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,75, 3,82 (2*с, 3H, OCH_3), 6,80 (м, 2H, аром.), 6,90-7,10 (м, 3H, аром.), 7,17, 7,19 (2*с, 1H, аром.), 7,39, 7,45 (2*т, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 7,59 (д, 1H, *J* = 9,0 Гц, аром.), 7,56, 7,65 (2*с, 1H, =CH), 9,51, 9,55 (2*с, 1H, OH), 11,38, 12,06 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 55,7, 102,7, 115,1, 115,9, 116,4, 121,7, 122,2, 122,7, 130,1, 130,7, 130,8, 135,9, 157,8, 160,1, 174,5, 180,7. LCMS (ESI): *m/z* 327 (100.0%, M^++1).

7.11. *(5Z)-(4-Гідрокси-3-метоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он*. Спектральні характеристики відповідають наведеним у [410].

7.12. *(5Z)-(3-Гідрокси-4-метоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,78, 3,83 (2*с, 3H, OCH_3), 6,80 (д, 2H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 6,92-7,10 (м, 4H, аром.), 7,46, 7,53 (2*с, 1H, =CH), 7,56 (д, 1H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 9,41 (с, 1H, OH), 9,48, 9,52 (2*с, 1H, OH), 11,29, 11,95 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C

NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 56,1, 112,9, 115,9, 116,4, 122,7, 123,1, 123,5, 126,7, 127,2, 130,2, 130,7, 130,8, 147,3, 149,9, 162,8, 170,9, 178,6, 181,0. LCMS (ESI): *m/z* 343 (100.0%, M^++1).

7.13. *5-(2,3-Диметоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,77, 3,80 (2*с, 3H, OCH_3), 3,83, 3,86 (2*с, 3H, OCH_3), 6,76-6,84 (м, 2H, аром.), 6,90-7,00 (м, 2H, аром.), 7,08-7,30 (м, 2H, аром.), 7,58 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,78, 7,86 (2*с, 1H, =CH), 9,51, 9,56 (2*с, 1H, OH), 11,35, 12,06 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 56,3, 56,4, 61,5, 115,0, 115,1, 115,9, 116,4, 119,8, 119,9, 122,8, 124,0, 124,4, 125,1, 127,8, 128,3, 129,4, 130,7, 148,3, 148,4, 153,1, 153,2, 155,4, 170,4, 180,7. LCMS (ESI): *m/z* 357 (98.8%, M^++1).

7.14. *5-(3,5-Диметоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,75, 3,81 (2*с, 6H, 2*OCH_3), 6,69 (д, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 6,66 (с, 1H, аром.), 6,77-6,86 (м, 3H, аром.), 6,97 (д, 1H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,55, 7,77 (2*с, 1H, аром.), 7,60, 7,62 (2*с, 1H, =CH), 9,53, 9,57 (2*с, 1H, OH), 11,40, 12,10 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 55,8, 101,6, 102,3, 107,8, 108,1, 115,9, 116,3, 122,7, 128,7, 129,6, 130,1, 130,6, 135,9, 136,4, 155,4, 161,2, 161,3, 170,0, 180,6. LCMS (ESI): *m/z* 357 (100.0%, M^++1).

7.15. *5-(3,4-Диметоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,74, 3,79, 3,85, 3,89 (4*с, 6H, 2*OMe), 6,77 (д, 2H, J = 8.1 Гц, аром.), 7,59 (2*d, 2H, J = 8.1 Гц, аром.), 7,03–7.22 (м, 3H, аром.), 7,56, 7,60 (2*с, 1H, =CH), 9.48 (шс, 1H, OH), 11,24 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 56,2, 56,3, 56,3, 56,4, 112,8, 113,3, 114,7, 115,1, 116,1, 116,6, 122,8, 123,9, 130,0, 149,5, 149,6, 150,9, 155,5, 158,4, 170,2, 181,2.

7.16. *5-(4-Гідрокси-3,5-диметоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,76, 3,85 (2*с, 6H, 2*OCH_3), 6,70-6,84 (м, 3H, аром.), 6,90-7,05 (м, 3H, аром.), 7,50-7,65 (м, 2H, =CH, аром.), 9,19, 9,50 (2*с, 1H, OH), 11,31, 11,95 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 56,4, 56,6, 107,9, 108,3, 115,9, 116,3, 122,4, 124,3, 124,5, 124,7, 130,8, 130,9, 131,3, 138,3, 138,5, 148,5, 148,6, 155,2, 155,6, 169,8, 180,9. LCMS (ESI): *m/z* 373 (96.9%, M^++1).

7.17. *(5Z)-(2-Етоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 1,36, 1,39 (2*т, 3H, *J* = 6,8 Гц, CH_3), 4,08-4,16 (м, 2H, CH_2O), 6,80 (т, 2H, *J* = 8,8 Гц, аром.), 6,94 (д, 1H, *J* = 7,8 Гц, аром.), 7,00, 7,08 (2*т, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 7,11 (д, 1H, *J* = 7,9 Гц, аром.), 7,32, 7,47 (2*д, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,36, 7,41 (2*т, 3H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,57 (д, 1H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,86, 7,94 (2*с, 1H, =CH), 9,48, 9,54 (2*с, 1H, OH), 11,32, 12,03 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 15,0, 64,4, 113,0, 115,9, 116,4, 121,2, 122,7, 123,2, 124,0, 124,3, 124,7, 128,0, 128,4, 128,6, 130,7, 132,0, 155,3, 155,8, 157,5, 157,7, 170,4, 180,8. LCMS (ESI): *m/z* 341 (100%, M^++1).

7.18. *5-(3-Етоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 1,32, 1,37 (2*т, 3H, *J* = 7,0 Гц, CH_3), 4,04, 4,07 (2*кв, 2H, *J* = 7,0 Гц, CH_2), 6,82 (д, 2H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 6,95-7,10 (м, 3H, аром.), 7,15-7,20 (м, 1H, аром.), 7,39, 7,44 (2*т, 1H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,58 (д, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,59, 7,66 (2*с, 1H, =CH), 9,53, 9,56 (2*с, 1H, OH), 11,41, 12,14 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 14,9, 15,0, 63,6, 115,4, 115,5, 116,1, 116,4, 116,6, 121,6, 122,2, 122,7, 128,4, 129,7, 130,1, 130,6, 130,7, 135,4, 135,9, 155,4, 159,2, 170,1, 180,7. LCMS (ESI): *m/z* 341 (100%, M^++1).

7.19. *5-(3-Етокси-4-гідроксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 1,42, 1,43 (2*т, 3H, *J* = 6,8 Гц, CH_3), 4,06, 4,08 (2*кв, 2H, *J* = 6,8 Гц, OCH_2), 6,77 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 6,84-6,90 (м, 2H, аром.), 7,03 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,06, 7,11 (2*с, 1H, аром.), 7,57 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,49, 7,55 (2*с, 1H, =CH), 9,32, 9,36, 9,52, 9,54 (4*с, 2H, 2*OH), 11,14, 11,80 (с, шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d6), δ: 15,1, 15,2, 64,3, 64,4, 114,8, 115,9, 116,4, 122,5, 123,1, 124,1, 124,3, 125,4, 125,8, 130,9, 147,4, 147,5, 149,4, 149,5, 155,2, 162,8, 170,0, 181,1. LCMS (ESI): *m/z* 357 (100%, M^++1).

7.20. *5-(2-Бензилоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 5,21, 5,24 (2*с, 2H, CH_2), 6,77-6,82 (м, 2H, аром.), 6,94 (д, 1H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,04, 7,12 (2*т, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,20 (т, 1H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,30-7,53 (м, 7H, аром.), 7,57 (д, 1H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,91, 7,99 (2*с, 1H, =CH), 9,56 (шс, 1H, OH), 11,80 (шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 70,3,

113,5, 113,6, 115,9, 116,3, 121,5, 121,6, 122,7, 123,0, 123,5, 124,4, 128,1, 128,5, 129,0, 130,7, 131,8, 131,9, 137,0, 137,1, 155,3, 157,3, 157,4, 170,3, 180,7. LCMS (ESI): *m/z* 403 (99.0%, M^++1).

7.21. *5-(3-Трифлюорометоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 6,83 (д, 2H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 6,99 (д, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,38-7,50 (м, 1H, аром.), 7,52-7,70 (м, 4H, аром.), 7,74, 7,78 (2*с, 1H, =CH), 9,56, 9,60 (2*с, 1H, OH), 11,49, 12,20 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 115,9, 116,4, 121,7 (кв, *J* = 257,6 Гц, OCF_3), 121,8, 122,2, 122,3, 122,7, 128,0, 128,2, 128,8, 130,3, 130,6, 131,7, 131,8, 136,5, 137,0, 149,1, 149,2, 155,5, 169,7, 180,4. LCMS (ESI): *m/z* 381 (100%, M^++1).

7.22. *5-(2-Алілоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 4,64-4,74 (2*д, 2H, OCH_2), 5,25-5,50 (м, 2H, $=CH_2$), 6,00-6,20 (м, 1H, =CH), 6,80, 6,82 (2*д, 2H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 6,95 (д, 1H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 7,04, 7,13 (2*т, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,30-7,54 (м, 2H, аром.), 7,58 (д, 1H, *J* = 9,0 Гц, аром.), 7,90, 7,98 (2*с, 1H, =CH), 9,51, 9,56 (2*с, 1H, OH), 11,36, 12,01 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 69,2, 113,3, 113,4, 115,9, 116,3, 118,2, 121,5, 122,7, 123,3, 124,0, 128,2, 128,3, 128,5, 130,7, 131,9, 133,7, 133,8, 155,3, 155,8, 157,1, 157,2, 170,3, 180,7. LCMS (ESI): *m/z* 353 (100%, M^++1).

7.23. *5-(3-Алілоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он***.** ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 4,59, 4,64 (2*д, 2H, *J* = 5,2 Гц, OCH_2), 5,20-5,50 (м, 2H, $=CH_2$), 5,95-6,18 (м, 1H, =CH), 6,81 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 6,92-7,12 (м, 3H, аром.), 7,18-7,22 (м, 1H, аром.), 7,37, 7,46 (2*т, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,57 (д, 1H, *J* = 7,0 Гц, аром.), 7,58, 7,66 (2*с, 1H, =CH), 9,52, 9,57 (2*с, 1H, OH), 11,40, 12,11 (2*шс, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 55,7, 115,0, 115,6, 115,9, 116,0, 116,1, 116,4, 121,6, 122,1, 122,7, 128,4, 129,7, 130,0, 130,6, 130,7, 135,9, 155,4, 160,0, 160,1, 170,1, 180,6. LCMS (ESI): *m/z* 353 (100%, M^++1).

7.24. *5-(2-Дифлюорометилоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4(5H)-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 6,77, 6,79 (2*д, 2H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 6,94, 7,07 (2*д, 2H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,27-7,40, 7,41-7,51, 7,52-7,70 (3*м, 6H, аром., $OCHF_2$), 7,71, 7,79 (2*с, 1H, =CH), 9,52, 9,57 (2*с, 1H, OH), 11,44, 12,19 (с, шс, 1H,

NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 115,9, 116,4, 116,6 (т, J = 258,5 Гц, $OCHF_2$), 116,7 (т, J = 258,5 Гц, $OCHF_2$), 118,3, 118,4, 119,7, 120,1, 120,3, 120,5, 122,7, 126,0, 126,7, 128,4, 128,8, 129,7, 130,6, 131,3, 131,4, 136,0, 136,5, 151,7, 155,5, 169,8, 180,5. LCMS (ESI): *m/z* 363 (100%, M^++1).

7.25. *5-(3-Дифлюорометилоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4(5H)-он*.

^{1}H та ^{13}C ЯМР спектри похідних 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.26-7.28.**

7.26 *3-[[3-(2-Карбоксиетил)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліден]метил]-5-метил-1H-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 2,40 (с, 3H, CH_3), 2,62 (м, 2H, CH_2), 4,23 (м, 2H, CH_2) 7,19 (д, 1H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,41 (д, 1H, J = 8,4 Гц, аром.), 8,53 (шс, 1H, CH=), 10,6 (с, 1H, NH), 12,58 (шс, 1H, COOH).

7.27 *3-[[3-(2-Карбоксиетил)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліден]метил]-5,6-диметокси-1H-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 2,62 (т, 2H, J = 7,6 Гц, CH_2), 4,22 (т, 2H, J = 7,6 Гц, CH_2), 3,79 (шс, 6H, 2*OMe), 6,99 (с, 1H, аром.), 7,20 (с, 1H, аром.), 8,86 (шс, 1H, CH=), 10,73 (шс, 1H, NH), 12,25 (шс, 1H, COOH).

7.28. *2-[(5-[(2-Карбокси-1H-індол-3-іл)метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутандіова кислота***.** ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 2,71 (м, 1H, CH_2), 2,87 (м, 1H, CH_2), 5,56 (м, 1H, CH), 7.24 (м, 2H, аром.), 7,52 (д, 1H, J = 7,7 Гц, аром.), 7,81 (д, 1H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,93 (с, 1H, =CH), 9,06 (с, 1H, NH_2).

^{1}H та ^{13}C ЯМР та LC-MS спектри похідних 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.29-7.38**

7.29. *Метил 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-5-флюоро-1H-індол-2-карбоксилат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,89 (с, 3H, Me), 7,29 (дт, 1H, J = 2,3, 9,1 Гц, аром.), 7,48 (дд, 1H, J = 1,4, 10,0 Гц, аром.), 7,54 (дд, 1H, J = 4,6, 8,9 Гц, аром.), 8,12 (с, 1H, =CH), 8,97 (с, 1H, NH_2), 9,32 (шс, 1H, NH_2), 12,58 (шс, 1H, NH).

7.30. *3-[(2-Аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-5-хлоро-1Н-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 7,17 (м, 1Н, аром.), 7,45-7,49 (м, 2Н, аром.), 8,25 (с, 1Н, =СН), 8,99 (с, 2Н, NH_2), 12,43 (шс, 1Н, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 108,9, 116,7, 117,9, 126,8, 132,0, 132,8, 135,6, 158,2, 161,3, 161,3, 164,9, 177,8, 182,8.

7.31. *Метил 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-4,6-диметокси-1Н-індол-2-карбоксилат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,80 (с, 3Н, ОМе), 3,94 (шс, 6Н, ОМе+Ме), 6,43 (с, 1Н, аром.), 7,04 (с, 1Н, аром.), 8,15 (с, 1Н, =СН), 12,15 (шс, 1Н, NH), NH_2 (дейтерообмін). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 23,7, 54,3, 58,5, 91,5, 101,8, 109,1, 115,6, 124,7, 128,9, 129,9, 140,8, 160,1, 160,6, 163,7, 171,7, 175,3.

7.32. *Метил 5-флюоро-3-[(2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1Н-індол-2-карбоксилат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,89 (с, 3Н, Ме), 6,70 (д, 1Н, J = 8,4 Гц, аром.), 6,80 (д, 1Н, J = 8,6 Гц, аром.), 6,87 (д, 1Н, J = 8,4 Гц, аром.), 7,17, 7,28, 7,48 (3*т, 2Н, J = 9,0 Гц, аром.), 7,55 (д, 2Н, J = 8,8 Гц, аром.), 8,24 (с, 1Н, =СН), 9,43, 9,54 (2*с, 1Н, ОН), 11,2, 12,03 (2*шс, 1Н, NH), 12,61 (д, 1Н, NH).

7.33. *3-[[2-(4-Гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-1Н-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 6,70 (д, 1Н, J = 7,8 Гц, аром.), 6,80 (д, 1Н, J = 8,0 Гц, аром.), 6,88 (д, 1Н, J = 7,8 Гц, аром.), 7,12 (дт, 1Н, J = 7,2, 26,2 Гц, аром.), 7,30 (дт, 1Н, J = 7,7, 26,9 Гц, аром.), 7,47-7,55 (м, 3Н, аром., =СН), 7,85 (д, 1Н, J = 7,8 Гц, аром.), 8,25, 8,38 (2*с, 1Н, ОН), 9,53, 11,18 (2*шс, 1Н, NH), 12,37, 12,4 (2*с, 1Н, NH), 13,02 (шс, 1Н, СООН). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 113,8, 115,2, 115,9, 116,3, 121,3, 122,6, 123,9, 124,5, 125,6, 127,7, 128,0, 129,0, 130,8, 136,8, 155,2, 155,6, 162,8, 169,9, 180,6.

7.34. *Метил 3-[[2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-4,6-диметокси-1Н-індол-2-карбоксилат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,82 (шс, 6Н, 2*ОМе), 3,97 (шс, 3Н, ОМе), 6,44, 6,52 (2*с, 1Н, аром.), 6,70-6,79 (м, 2Н, аром.), 6,88 (д, 1Н, J = 8,3 Гц, аром.), 7,08 (д, 1Н, J = 8,8 Гц, аром.), 7,54 (д, 1Н, J = 8,6 Гц, аром.), 7,96, 8,04 (2*с, 1Н, СН=).

7.35. *3-[[2-(4-Гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-6-метокси-1H-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,94 (с, 3H, OMe), 6,70 (д, 1H, J = 8,3 Гц, аром.), 6,80 (д, 1H, J = 8,5 Гц, аром.), 6,86-6,93 (м, 3H, аром.), 7,43, 7,72 (д*2, 1H, J = 9,0 Гц, аром.), 7,55 (д, 1H, J = 8,5 Гц, аром.), 8,07 (д, 1H, J = 8,5 Гц, =CH), 8,14, 8,27 (2*с, 1H, OH), 9,43, 9,53 (2*шс, 1H, NH), 10,54 (с, 1H, NH), 12,26, 12,3 (2*с, 1H, NH), 12,48 12,63 (2*шс, 1H, COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 55,6, 94,9, 112,8, 115,1, 115,9, 116,2, 119,3, 122,5, 123,7, 125,0, 125,3, 129,7, 131,6, 137,5, 138,3, 155,2, 158,9, 161,5, 169,8, 188,0.

7.36. *3-[[2-(4-Гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-5-метокси-1H-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,69, 3,81 (2*с, 3H, OMe), 6,70 (д, 1H, J = 8,4 Гц, аром.), 6,79 (д, 1H, J = 8,6 Гц, аром.), 6,88-7,04 (м, 3H, аром.), 7,22 (с, 1H, аром.), 7,37, 7,43 (д*2, 1H, J = 8,9 Гц, аром.), 7,55 (д, 1H, J = 8,6 Гц, CH=), 8,28, 8,36 (2*с, 1H, OH), 9,42, 9,52 (2*шс, 1H, NH), 11,15 (с, 1H, NH), 12,29 (с, 1H, NH), 12,89 (шс, 1H, COOH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 57,8, 104,7, 116,9, 117,6, 118,1, 118,4, 119,4, 124,7, 126,2, 126,9, 127,9, 130,2, 133,0, 134,0, 156,8, 157,3, 157,8, 164,9, 171,9, 182,9.

7.37. *3-[[2-(4-Гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-5-метил-1H-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 3,38 (шс, 3H, Me), 6,70 (д, 1H, J = 7,8 Гц, аром.), 6,79 (д, 1H, J = 8,1 Гц, аром.), 6,91 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,16 (д, 1H, J = 7,9 Гц, аром.), 7,42-7,54 (м, 2H, аром., CH=), 8,05 (с, 1H, CH=), 8,21,8,35 (2*с, 1H, OH), 9,38, (с, 1H, NH), 9,95 (с, 1H, NH), 12,27 (с, 1H, NH), 12,78 (шс, 1H, COOH).

7.38. *3-[[2-(4-Гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-5,6-диметокси-1-метил-індол-2-карбонова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 1,89 (с, 3H, Me), 3,81 (шс, 3H, OMe), 3,84 (с, 3H, OMe), 6,79, 7,46 (2*д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 6,93 (д, 1H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,03-7,07 (м, 1H, аром.), 7,34-7,48 (м, 2H, аром.), 7,80-7,90 (м, 1H, CH=), 9,25 (шс, 1H, OH), 9,49 (шс, 1H, NH), 10,47 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 23,6, 35,8, 58,4, 96,6, 103,1, 104,8, 112,3, 118,6, 121,6, 122,6, 124,6, 125,9, 131,7, 133,7, 135,5, 148,5, 150,0, 152,2, 157,6. 164,5, 174,7, 190,7.

7.39. *Метил 3-[(Z)-[2-(4-етоксикарбонілпіперазин-1-іл)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-5-флюоро-1H-індол-2-карбоксилат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6+CCl_4), δ: 1,19 (с, 3H, Me), 3,91 (с, 3H, Me), 3,31-3,33 (м, 3H, піпер.), 3,51-3,54 (м, 5H, піпер.), 4,07 (д, 2H, CH_2), 7,58 (т, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,44 (д, 1H, *J* = 9,3 Гц, аром.), 7,55 (шс, 1H, аром.), 8,16 (с, 1H, =CH), 12,63 (д, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ: 179,1, 174,3, 161,3, 159,4, 156,2, 154,9, 133,7, 131,2, 127,7, 124,8, 124,5, 116,3, 115,4, 114,9, 106,6, 61,6, 52,8, 48,4, 47,9, 43,2, 15,0.

^{1}H та ^{13}C ЯМР та LC-MS спектри 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-ону, його 5-іліден-похідних **7.40-7.43,** 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів **7.44-7.61**

7.40. *4-[3-(5-Бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5H-тіазол-2-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,25 (дд, 1H, J_1 = 3,3 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH_2, піразол.), 4,0 (дд, 1H, J_1 = 11,1 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH_2, піразол.), 4,65 (д, 1H, *J* = 16,8 Гц, CH_2, тіазол.), 4,87 (д, 1H, *J* = 16,8 Гц, CH_2, тіазол.), 5,75 (дд, 1H, J_1 = 3,3 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH, піразол.), 6,83 (д, 1H, *J* = 8,2 Гц, аром.), 7,1 (д, 1H, *J* = 2,7 Гц, аром.), 7,24 (дд, 1H, J_1 = 2,7 Гц, J_2 = 8,2 Гц, аром.), 7,47-7,56 (м, 3H, аром.), 7,86 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.).

7.41. *5-Бензиліден-4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]тіазол-2-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,26 дд (1H, J_1 = 3,3 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH_2, піразол.), 3,98 дд (1H, J_1 = 11,1 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH_2, піразол.), 6,04 дд (1H, J_1 = 3,3 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH, піразол.), 6,84 д (1H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,04 д (1H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,19 д (1H, аром.), 7,40-7,55 м (5H, аром., CH=), 7,66 д (4H, аром.), 7,86 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц, аром.).

7.42. *4-[3-(5-Бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5-[(4-метоксифеніл)метилен]тіазол-2-он.* ^{1}H NMR (500 МГц, DMSO-d_6), δ: 1,91 с (3H, CH_3), 3,29 дд (1H, J_1 = 5,0 Гц, J_2 = 10,0 Гц, CH_2, піразол.), 3,98 дд (1H, J_1 = 11,1 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH_2, піразол.), 6,03 дд (1H, J_1 = 3,3 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH, піразол.), 6,83 д (1H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,06 д (3H, *J* = 7,3 Гц, аром.), 7,19 дд (1H, аром.), 7,50-7,54 м

(3H, аром., CH=), 7,64 д (2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,88-7,93 м (2H, аром.), 9,89 с (1H, OH).

7.43. *4-[3-(5-Бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5-[(3-нітрофеніл)метилен]тіазол-2*-он. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,39 дд (1H, J_1 = 5,0 Гц, J_2 = 10,0 Гц, CH_2, піразол.), 4,09 дд (1H, J_1 = 11,1 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH_2, піразол.), 6,02 дд (1H, J_1 = 3,3 Гц, J_2 = 20,0 Гц, CH, піразол.), 6,86 д (1H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 7,2 с (1H, аром.), 7,31 д (1H, аром.), 7,60 м (3H, аром., CH=), 7,98-8,10 м (4H, аром.), 8,36 д (2H, *J* = 8,0 Гц, аром.), 9,16 с (1H), 10,26 с (1H, OH).

7.44. *5-[[3-(4-Диметиламінофеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-он*

7.45. *Метил 5-[[3-(4-диметиламінофеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-карбоксилат.*

7.46. *Метил 5-[[3-(4-[хлорофеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-карбоксилат.*

7.47. *5-[[3,5-Біс(4-хлорофеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-3-метил-2-тіоксо-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,5 (с, 3H, Me), 3,49 (дд, 1H, *J* = 6,1, 18,4 Гц, піраз.), 4,04 (дд, 1H, *J* = 11,3, 18,3 Гц, піраз.), 5,73 (дд, 1H, *J* = 5,5, 11,0 Гц, піраз.), 7,41 (д, 2H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,51 (м, 3H, аром., CH), 7,64 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,85 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.).

7.48. *5-[[3,5-Біс(4-хлорофеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-3-етил-2-тіоксо-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 1,12 (т, 3H, Me, *J* = 7,0, 13,9 Гц), 3,49 (дд, 1H, *J* = 6,3, 18,2 Гц, піраз.), 3,95-4,07 (м, 3H, піраз., CH_2), 5,72 (дд, 1H, *J* = 6,4, 11,8 Гц, піраз.), 7,41 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,51 (м, 3H, аром., CH), 7,64 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,85 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.).

7.49. *5-[[5-(4-Хлорофеніл)-3-(4-гідроксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-3-етил-2-тіоксо-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 1,12 (т, 3H, Me), 3,51 (дд, 1H, *J* = 6,8, 18,6 Гц, піраз.), 3,82-3,99 (м, 3H, піраз., CH_2), 5,74 (дд, 1H, *J* = 6,5, 11,4 Гц, піраз.), 6,88 (т, 2H, *J* = 8,1 Гц), 7,22 (т, 2H, *J* = 7,5 Гц), 7,40 (шс, 1H, CH), 7,65 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц), 7,86 (д, 2H, *J* = 8,2 Гц).

7.50. *5-[[3-(4-Хлорофеніл)-5-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-он.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,53 (дд, 1H, CH_2, піраз., J = 5,9, 18,0 Гц), 4,08-4,17 (дд, 1H, CH_2, J = 11,0, 17,9 Гц піраз.), 5,81 (дд, 1H, J = 5,9, 10,9 Гц, піраз.), 7,43 (м, 3H, аром.), 7,57 (м, 3H, аром.), 7,91-8,04 (м, 5H, аром.), 8,18 (с, 1H, CH).

7.51. *[4-[5-[[3-(4-Метоксифеніл)-5-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]феніл]ацетат.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,3 (с, 3H, OOMe), 3,64 (дд, 1H, CH_2, піраз.), 3,77 (с, 3H, O-Me), 4,14 (дд, 1H, CH_2, піраз.), 5,72 (дд, 1H, J = 6,0, 10,0 Гц, піраз.), 7,01 (д, 2H, J = 9,8 Гц, аром.), 7,26 (д, 2H, J = 7,1 Гц, аром.), 7,32 (д, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,38 (д, 2H, J = 6,8 Гц, аром.), 7,50 (шс, 1H, аром.), 7,62-7,65 (м, 2H, аром.), 8,0-8,04 (м, 2H, аром.), 8,13 (м, 2H, аром.), 8,32 (с, 1H, CH).

7.52. *2-[5-[[3,5-Біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]ацетатна кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,43-3,48 (м, 1H, CH_2, піразол.), 3,75 (с, 3H, OCH_3), 3,83 (с, 3H, OCH_3), 3,94-4,0 (м, 1H, CH_2, піразол.), 4,59 (с, 2H, CH_2), 5,58-5,61 (м, 1H, піразол.), 6,98 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,14 (д, 2H, J = 8,7 Гц, аром.), 7,31 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,41 (с, 1H, CH=), 7,82 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.).

7.53. *2-[5-[[3-(4-Хлорофеніл)-5-(3-піридил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]ацетатна кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,93 (м, 1H, CH_2, піраз.), 3,67-3,74 (м, 1H, CH_2, піразол.), 4,79 (т, 1H, J =11,1 Гц, CH_2,.), 4,92 (д, 1H, J =11,4 Гц, CH_2), 5,48 (с, 1H, піраз.), 6,90-6,94 (м, 1H, аром.), 7,15 (д, 3H, J =8,02 Гц, аром.), 7,23-7,34 (м, 6H, аром.), 7,34 (д, 2H, J =8,4 Гц, аром.), 7,39 (д, 2H, J =8,4 Гц, аром.), 7,55 (д, 2H, J =8,2 Гц, аром.), 7,75 (д, 1H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,96д, 8,2д (1H, CH=), 8,49 (с, 1H, аром.), 11,95 (шс, 1H, COOH).

7.54. *3-[(5-[[3,5-Біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,83 (т, 2H, CH_2), 3,38-3,49 (м, 1H, CH_2, піразол.), 3,74 (с, 3H, OCH_3), 3,81 (с, 3H, OCH_3), 3,87-3,96 (м, 1H, CH_2, піразол.), 4,09 (т, 2H, J = 7,5 Гц, CH_2), 5,51-5,57 (м, 1H, піразол.),

6,97 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,09 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.), 7,30 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,34 (с, 1H, CH=), 7,77 (д, 2H, *J* = 8,5 Гц, аром.).

7.55. *3-[5-[[5-(4-Метоксифеніл)-3-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанова кислота*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,53 (м, 2H, CH_2), 3,52-3,60 (1H, CH_2, піразол.), 3,74 (с, 3H, OCH_3), 3,98-4,02 (м, 1H, CH_2, піразол.), 4,04-4,11 (т, 2H, CH_2), 5,58 (кв, 1H, піразол.), 6,97 (д, 2H, аром.), 7,32-7,37 (м, 3H, аром), 7,57 (м, 2H, аром.), 7,94 (м, 2H, аром.), 8,02 (м, 2H, аром.), 8,20 (шс, 1H, CH=), 12,43 (шс, 1H, COOH).

7.56. *Етил 3-[5-[[3-(4-хлорофеніл)-5-(3-піридил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропаноат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 1,86 (м, 3H, CH_3), 2,94 (т, 1H, CH_2), 3,38 (м, 2H, CH_2, піраз.), 3,72 (м, 1H, CH_2, *J* = 10,2 Гц), 4,01 (т, 1H, CH_2, *J* = 11,2 Гц), 4,81 (т, 2H, CH_2, *J* = 11,0 Гц), 4,94 (д, 1H, CH_2, *J* =11,4 Гц), 5,50 (с, 1H, піраз.), 6,89-6,93 (м, 1H, аром.), 7,15 (д, 1H, *J* = 8,1 Гц, аром.), 7,22-7,29 (м, 2H, аром.), 7,34 (д, 1H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,40 (д, 1H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,57 (д, 1H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,77 (д, 1H, *J* = 7,4 Гц, аром.), 8,47 (шс, 1H, CH=).

7.57. *Метил 4-[5-[[3,5-біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутаноат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 1,82 (т, 2H, CH_2, *J* = 6,9 Гц), 2,27 (т, 2H, CH_2, *J* = 7,2 Гц,), 3,33 (с, 1H, CH_2 піраз.), 3,38-3,47 (м, 1H, CH_2, піразол.), 3,52 (с, 3H, OCH_3), 3,74 (с, 3H, OCH_3), 3,82 (с, 3H, OCH_3), 3,88-3,97 (м, 2H, CH_2), 5,52-5,58 (м, 1H, піразол.), 6,96 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,10 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.),7,31 96 (д, 2H, *J* = 8,4 Гц, аром.), 7,35 (с, 1H, CH=), 7,78 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.).

7.58. *Метил 4-[5-[[3-(4-хлорофеніл)-5-(3-піридил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутаноат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 1,89 (д, 2H, CH_2), 2,94 (т, 2H, CH_2), 3,38 (с, 3H, OCH_3), 3,73 (т, 1H, CH_2, піразол.), 4,01 (т, 1H, CH_2, *J* = 11,2 Гц), 4,81 (т, 1H, CH_2, *J* = 11,1 Гц), 4,94 (д, 1H, *J* =11,4 Гц, піразол), 5,50 (с, 1H, піраз.), 6,91-6,94 (м, 1H, аром.), 7,15 (д, 2H, *J* =8,2 Гц, аром.), 7,22-7,29 (м, 3H, аром.), 7,34 (д, 2H, *J* =8,4 Гц, аром.), 7,40 (д, 2H, *J* =8,4 Гц, аром.), 7,57 (д, 2H, *J* =8,2 Гц, аром.), 7,76 (д, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,95д, 8,19д (1H, CH=), 8,47 (с, 1H, аром.).

7.59. *Етил 2-[5-[[3,5-біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-3-феніл-пропаноат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 1,16 (т, 3H, CH_3), 3,35-3,45м (2H, CH_2; 1H, CH_2, піразол.), 3,75 (с, 3H, OCH_3), 3,82 (с, 3H, OCH_3), 3,86-3,98 (м, 1H, CH_2, піразол.), 4,08 (кв, 2H, CH_2, J = 6,7 Гц), 5,51-5,59 (м, 1H, піразол.), 5,78 (шс, 1H, CH), 6,97 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.), 7,1-7,16 (м, 9H, аром.), 7,3 (д, 1H, CH=), 7,78 (д, 2H, J = 8,2 Гц, аром.).

7.60. *Етил 2-[5-[[5-(4-метоксифеніл)-3-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-3-феніл-пропаноат*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 1,08-1,13 (м, 3H, CH_3), 3,45 (м, 1H, CH_2, піразол), 3,52-3,58 (м, 2H, CH_2), 3,74 (с, 3H, OCH_3), 3,98-4,11 (м, 1H, CH_2, піразол.), 5,58-5,60 (м, 1H, піразол.), 5,86 (шс, 1H, CH), 6,98 (д, 2H, аром.), 7,14 (м, 6H, аром.), 7,32-7,35 (м, 3H, аром.) 7,59 (шс, 1H, CH=), 7,97-8,02 (м, 4H, аром.), 8,23 (шс, 1H, аром.).

7.61. *Етил 2-[5-[[3-(4-хлорофеніл)-5-(3-піридил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-3-феніл-пропаноат*.

7.62. *2-[5-[[3,5-Біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-феніл-ацетамід*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,42-3,47 (м, 1H, CH, піразол.), 3,74 (с, 3H, OCH_3), 3,84 (с, 3H, OCH_3), 3,98 (кв, 1H, CH_2, J = 6,6 Гц, J = 11,6 Гц), 5,57-5,60 (м, 1H, CH_2, піразол.), 6,98 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,06 (т, 2H, J = 7,1 Гц, аром.), 7,10 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,29-7,32 (м, 3H, аром.), 7,36-7,38 (м, 2H, аром.), 7,41 (с, 1H, CH=), 7,47-7,50 (м, 3H, аром.), 7,54 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,83 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 9,11 (с, 1H, NH).

7.63. *2-[5-[[3,5-Біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-N-(о-толіл)-ацетамід*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,13 (с, 3H, CH_3), 3,41-3,46 (м, 1H, CH, піразол.), 3,74 (с, 3H, OCH_3), 3,82 (с, 3H, OCH_3), 3,96 (м, 1H, CH_2), 5,57-5,60 (м, 1H, CH_2, піразол.), 6,98 (д, 2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,08-7,11 (м, 3H, аром.), 7,20 (м, 2H, аром.), 7,29-7,32 (м, 3H, аром.), 7,30 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,38-7,40 (м, 2H, аром., 1H, CH=), 7,47-7,53 (м, 3H, аром.), 7,80 (д, 1H, J = 8,7 Гц, аром.), 9,11 (с, 1H, NH).

^{1}H та ^{13}C ЯМР та LC-MS спектри 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів **7.64-7.69**

7.64. *5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-он*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 7,34, 7,65 (2*с, 2H, CH=CCl-CH), 8,01 (д, 2H, аром., J = 8,7 Гц), 8,23 (д, 2H, аром., J = 8,7 Гц).

7.65. *3-[5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пропанова кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,80 (т, 2H, CH_2, J = 6,8 Гц), 4,12 (т, 2H, CH_2, J = 6,8 Гц), 7,63, 7,9 (2*с, 2H, CH=CCl-CH), 8,07 (д, 2H, аром., J = 8,7 Гц), 8,30 (д, 2H, аром., J = 8,7 Гц).

7.66. *2-[5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]бутандіова кислота*.

7.67. *2-[5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]пентандіова кислота*.

7.68. *2-[5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-3-метилбутанова кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 0,74 (д, 3H, Me, J = 6,6 Гц), 1,19 (д, 3H, Me, J = 6,3 Гц), 2,70 (м, 1H, CH), 5,19 (м, 1H, CH), 7,77 (с, 1H, CH=CCl-CH), 8,02-8,05 (м, 2H, аром., 1H, CH=CCl-CH), 8,32 (д, 2H, аром., J = 8,6 Гц).

7.69. *2-[5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]етансульфонова кислота.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,75 (т, 2H, CH_2, J = 8,0 Гц), 4,27 (т, 2H, CH_2, J = 8,0 Гц), 7,7, 8,0 (2*с, 2H, CH=CCl-CH), 8,03 (д, 2H, аром., J = 8,7 Гц), 8,31 (д, 2H, аром., J = 8,7 Гц).

Спектри ЯМР ^{1}H та ^{13}C 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів **7.70-7.73**

7.70. *5-(Z)-[(4-Метоксифеніл)метилен]-2-[(4-метоксифеніл)-метиленгідразоно]-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинон.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 3,81 (с, 3H, OCH_3), 3,84 (с, 3H, OCH_3), 6,88 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,04 (д, 2H, J = 8,2 Гц, армо.), 7,15 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,25 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 7,67 (д, 2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,69 (с, 1H, CH=), 7,75 (д, 2H, J = 8,3 Гц, аром.), 8,36 (с, 1H, CH=N),

9,81 (с, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 55,9, 114,9, 115,4, 116,0, 119,2, 126,3, 126,7, 126,9, 129,8, 130,2, 130,3, 132,4, 158,1, 158,7, 159,6, 161,0, 162,1, 166,6.

7.71. *5-(Z)-[(4-Гідроксифеніл)метилен]-2-[(4-гідроксифеніл)-метиленгідразоно]-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинон*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 6,81-6,88 (м, 4H, аром.), 6,96 (д, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,23 (д, 2H, J = 7,2 Гц, аром.), 7,57 (д, 2H, J = 7,0 Гц, аром.), 7,63 (с, 1H, CH=), 7,64 (д, 2H, J = 8,0 Гц, ароом.), 8,29 (с, 1H, CH=N), 9,77 (с, 1H, OH), 10,08 (шс, 1H, OH), 10,24 (с, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 116,0, 116,1, 116,2, 116,8, 117,9, 125,1, 125,3, 129,7, 129,8, 130,4, 130,7, 132,7, 158,1, 158,9, 159,8, 160,8, 166,7.

7.72. *5-(Z)-[(4-Диметиламінофеніл)метилен]-2-[(4-диметиламінофеніл)-метиленгідразоно]-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинон*. ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,96 (с, 6H, 2*CH_3), 2,99 (с, 3H, CH_3), 3,03 (с, 3H, CH_3), 6,72 (д, 2H, J = 7,9 Гц, аром.), 6,88 (д, 2H, J = 7,8 Гц, аром.), 7,12 (д, 2H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,22 (д, 2H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,54-7,60 (м, 3H, аром.), 7,62-7,64 (м, 2H, аром., =CH), 8,13 (с, 1H, CH=N), 9,78 (с, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 32,5, 112,2, 116,0, 121,9, 126,4, 126,7, 129,7, 129,8, 129,9, 131,1, 132,4, 132,7, 147,3, 150,2, 152,5, 157,9, 158,2, 172,5.

7.73. *2-[(3-(4-Гідроксифеніл)-4-оксо-2-[(2-оксоіндолін-3-іліден)гідразоно]-тіазолідин-5-іл]-N-(п-толіл)ацетамід.* ^{1}H NMR (DMSO-d_6), δ: 2,24 (с, 3H, CH_3), 3,23 (дд, 1H, CH_2, J = 7,6, 16,8 Гц), 3,28 (м, 1H, CH_2), 4,70 (м, 1H, CH), 6,68 (т, 1H, аром.), 6,79 (д, 2H, J = 8,5 Гц, аром.), 6,93-6,97 (м, 2H, аром.), 7,10 (д, 1H, J = 7,6 Гц, аром.), 7,24-7,37 (м, 4H, аром.), 7,46 (д, 1H, J = 8,2 Гц, аром.), 7,76 (д, 1H, J = 7,3 Гц, аром.), 9,5 (с, 1H, -OH), 10,63 (с, 1H, NH), 11,21 (с, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 МГц, DMSO-d_6), δ: 20,9, 38,8, 43,6, 111,5, 115,3, 116,0, 119,7, 120,5, 121,7, 122,8, 127,8, 129,5, 129,6, 130,2, 131,7, 142,8, 156,1, 158,2, 163,1, 167,9, 174,8, 176,9.

Спектри ЯМР ^{1}H та ^{13}C N-[2-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-тіопіранотіазолів **7.74-7.80**

7.74. *3-[2-[5-(4-Хлорофеніл)-3-(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-5,5,8-триметил-5a,6,7,8,9,9a-гексагідроізотіохромено[3,4-d]тіазол-2-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ:

7.75. *3-[2-[3,5-Біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-(5aR,11bR)-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол-2-он*.

7.76. *3-[2-[3,5-Біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-5a-метил-(5aR,11bR)-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол-2-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 0,69, 0,77 (2*с, 3H, CH_3), 2,75-2,87 (м, 1H, 5-H, тіопіранотіаз.), 2,98-3,03 (д, 1H, 5-H, *J* = 11,2 Гц, тіопіранотіаз.), 3,11, 3,18 (2*т, 1H, 6-H, тіопіранотіаз.), 3,70 (с, 3H, OCH_3), 3,80 (с, 3H, OCH_3), 3,90 (д, *J* = 9,5 Гц, 1H, 6-H, тіопіранотіаз., 1H CH_2, піразол.), 4,05 (с, 1H, 11b тіопіранотіаз.), 4,11-4,16 (м, 1H, 6-H, тіопіранотіаз.), 4,82 (дд, 1H, піраз.), 4,90-4,50 (м, 1H), 5,48-5,51 (м, 1H, піразол.), 6,87 (д, 3H, *J* = 8,3 Гц, аром.), 7,02 (д, 2H, *J* = 8,7 Гц, аром.), 7,12-7,15 (м, 3H, аром.), 7,20 (т, 1H, *J* = 7,5 Гц, аром.), 7,40 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,78 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.).

7.77. *3-[2-[5-(4-Метоксифеніл)-3-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-(5aR,11bR)-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол-2-он*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 1,11 м, 1,15 (д, *J* = 9,7 Гц), 1,29 м, 1,44м, 1,55м, 1,89с, 2,01м, 2,09-2,19м (9H, норборнан. фрагм.), 2,96 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, ArCH), 3,14 (д, 1H, *J* = 16,8 Гц, SCH), 3,70 (д, 1H), 3,80 (с, 6H, 2*OMe), 3,85-3,88 (м, 2H, піразол.), 4,73-5,01 (м, 2H, CH_2CO), 5,49 (кв, 1H, піраз.), 6,84-6,89 (м, 2H, аром.), 7,01-7,04 (м, 3H, аром.), 7,10-7,15 (м, 3H, аром.), 7,50 (д, 1H, *J* = 5,0 Гц, аром.), 7,77 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.).

7.78. *3-[2-[5-(4-Метоксифеніл)-3-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-5a-метил-(5aR,11bR)-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол-2-он.* ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 2,34 (м, 1H, 5a-H, тіопіранотіаз.), 2,99 (т, 1H, *J* = 11,6 Гц, 5-H, тіопіранотіаз.), 3,16-3,20 (м, 1H, 5-H, тіопіранотіаз.), 3,71 (с, 3H, OCH_3), 3,89 (т, 1H, 6-H, тіопіранотіаз.), 3,89-4,00 (м, 1H, піраз.), 4,25, 4,39 (2*м, 1H, тіопіранотіаз.), 4,84-5,00 (м, 2H, CH_2CO), 4,97 (м, 1H), 5,57 (м, 1H, піраз.), 6,88 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 6,96 (т, 1H, *J* = 7,2 Гц, аром.), 7,17 (д, 2H, *J* = 8,6 Гц, аром.), 7,42 (д, 1H, *J* = 7,6 Гц, аром.), 7,6 (м, 2H, аром.), 7,98 (м, 2H, аром.), 8,09 (т, 1H, аром.), 8,25 (м, 1H, аром.).

7.79. *3-[2-[3,5-Біс(4-метоксифеніл)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-5-етил-9-(2-тієніл)-5,6,7,8,8a,9-гексагідро-4aH-тіохромено[2,3-d]тіазол-2-он*. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ: 0,70, 078 (2*с, 3H, Ме, тіопіранотіаз.), 2,78 (д, 1H, J = 11,4 Гц, 5-H, тіопіранотіаз.), 2,87 (д, 1H, J = 11,2 Гц, 5-H, тіопіранотіаз.), 2,99-3,03 (м, 2H, 6-H), 3,70 (с, 3H, OMe), 3,90-3,92 (м, 1H, піраз.), 3,97-4,01 (м, 1H, 11-b, тіопіранот.), 4,07 (м, 1H), 4,14 (т, 1H, J = 10,7 Гц, піраз.), 4,89-4,93 (м, 1H, CH_2CO), 5,0-5,07 (м, 1H, CH_2CO), 5,58-5,63 (м, 1H, піраз.), 6,88 (м, 2H, аром.), 6,98 (т, 1H, аром.), 7,18 (м, 3H, аром.), 7,15 (д, 1H, J = 7,7 Гц, аром.), 7,58 (м, 3H, аром.), 7,97 (м, 3H, аром.), 8,1 (д, 1H, J = 8,4 Гц, аром.), 8,26 (с, 1H, аром.).

7.80. *5-Етил-3-[2-[5-(4-метоксифеніл)-3-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-9-(2-тієніл)-5,6,7,8,8a,9-гексагідро-4aH-тіохромено[2,3-d]тіазол-2-он.*

7.7. Дослідження біологічної активності

7.7.1. Вивчення протипухлинної активності ряду 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів

Скринінг протипухлинної активності 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів здійснювався на лейкемічних лініях: *Ba/F3 parental; Ba/F3-MPL CALR del52*; *Ba/F3-MPL CALR WT*; *Ba/F3-MPL CALR ins5; KBM7-SLF N233; KBM7_WT; Dami; HL-60; Jurkat and K-562* із використанням хлорамбуцилу як позитивного контролю [409]. Результати дослідження, виражені як напівмаксимальна концентрація інгібування IC_{50} представлені у табл. 7.6 і свідчать про достатній рівень інгібування росту всіх ліній ракових клітин майже всіма тестованими сполуками. Вартує виділити, 2 сполуки-хіти, що характеризувалися субмікромолярними активними концентраціями на 4 лініях (*Ba/F3 parental, Ba/F3-MPL CALR del52, Ba/F3-MPL CALR ins5* та *Dami*), а саме 5-(2-метоксибензиліден)-**7.9** та 5-(2-етоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4-они **7.17**. Очевидно, що розмір алкіл(окси)-замісника не впливає критично на активність, на відміну від розташування різних фрагментів у бензиліденовому кільці. Як наприклад, різке

зниження активності сполуки **7.10** щодо ліній *Ba/F3-MPL CALR del52* та *Ba/F3-MPL CALR ins5* (1.19 мкМ та 3,58 мкМ відповідно) порівняно із її структурним ізомером **7.9.** Введення двох метоксильних груп у 2-ге і 3-тє положення бензиліденового фрагменту негативно вплинуло на чутливість лінії *Ba/F3 parental* (IC_{50} = 14,73 мкМ). 5-(3-Етокси-4-гідроксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4-он **7.19** із однією додатковою гідроксильною групою у бензиліденовому кільці інгібував ріст клітинних ліній *Ba/F3-MPL CALR del52* та *Ba/F3-MPL CALR ins5* із IC_{50} = 0,72 мкМ та 0,76 мкМ відповідно і ріст ліній *Ba/F3 parental* та *Dami* у мікромолярних концентраціях. Цікаво, що заміщення етокси-групи на метоксильну у 5-му положенні бензилідену у 5-(4-гідрокси-3-метоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4-ону **7.11** спричиняло збільшення інгібуючої концентрації щодо лінії *Ba/F3-MPL CALR del52* на порядок. Введення атомів галогенів у бензиліденове кільце здебільшого знижувало активність досліджуваних 5-ариліден-2-ариламінотіазол-4(5H)-онів порівняно із відповідними метокси/етокси вмісними аналогами. 5-(2-Хлоробензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4-он **7.3** характеризувався субмікромолярними концентраціями інгібування росту 4 ліній (*Ba/F3 parental, Ba/F3-MPL CALR del52, Ba/F3-MPL CALR ins5* і *Dami*), тоді як активність дихлоробензиліден похідного **7.4** щодо лінії *Ba/F3 parental* була значно нижчою (IC_{50} = 10,66 мкМ). Подібний негативний вплив на активність мав і атом брому у пара-позиції бензилідену у **7.5**.

Лінії хронічної мієлоїдної лейкемії *KBM7-SLF N233* та *KBM7_WT* виявилися найчутливішими до дії 5-(4-флюоробензиліден)- **7.2** та 5-(4-гідрокси-3-метоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-ону **7.11**. Зважаючи на низькі значення IC_{50} для сполук **7.9**, **7.17** і **7.19** та встановлену тенденцію до протилейкемічної дії цілого ряду 5-ен-тіазолідонів [134], ряд 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів додатково досліджено на лейкемічних лініях *HL-60*, *Jurkat* і *K562.* Більшість із 11 тестованих речовин інгібували ріст лінії гострої Т-клітинної лейкемії *Jurkat* із величинами напівмаксимальних концентрацій від 0,10 до 0,98 мкМ. Цікаво, що одні з найактивніших сполук – **7.22, 7.23** містять алілокси групу, а **7.20** містить інший ліпофільний залишок – бензилокси групу в

бензиліденовому фрагменті, що позитивно впливає на протиракову активність. Сполука **7.20** володіла субмікромолярними інгібуючими концентраціями й щодо ліній *HL-60* та *K562.* Зміна положення алілокси групи із орто- у **7.22** на мета- у **7.23** спричинила зниження IC_{50} на порядок в експериментах на всіх лініях, крім *Jurkat.* На відміну від хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазолів функціоналізованих різними фенілацетамідними фрагментами, серед яких тіопіранотіазол із (*м*-трифлорометилфеніл)ацетамідним залишком в N3 – положенні характеризувався високим цитостатичним ефектом щодо всієї панелі ракових клітин [204], трифлюорметил-, як і трифлюорометокси- замісники у бензиліденовому кільці у **7.6**, **7.7** та **7.21** не підвищували антилейкемічну активність 5-ен-2-ариламіно-2-тіазолін-4-онів. В загальному, аналіз взаємозв'язку структура-активність вказує на те, що малі метокси, етокси групи, так, як і гідроксильні радикали у бензиліденовому кільці є сприятливими для виявлення антипроліферативної активності на лінії *Ba/F3 parental, Ba/F3-MPL CALR del52, Ba/F3-MPL CALR ins5*, *KBM7-SLF N233* та *Dami.* З іншого боку, ліпофільніші алілокси-, бензилокси- та алкільні замісники підвищують здатність 5-ариліден-2-ариламінотіазол-4(5*H*)-онів інгібувати ріст лейкемічних ліній *Jurkat*, *HL-60* і *K562* (табл. 7.6).

Для низки 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів проведено ще одну серію досліджень протипухлинної активності щодо ліній: *A549* (рак легень), *CCRF-CEM* (Т-лімфобластна лейкемія), *CEM-DNR* (даунорубіцин резистентна Т-лімфобластна лейкемія), *HCT-116* (рак прямої кишки), *K-562* і *K562-TAX* (мієлоїдна лейкемія і K562 резистентна до паклітакселю), *U2OS* (остеосаркома) (табл. 7.7) [409]. Також досліджувалася цитотоксичність щодо нормальних фібробластів, що дозволило розрахунок терапевтичних індексів для сполук **7.21**, **7.23-7.25**. Диметоксифенільний замісник у сполуках **7.14**, **7.16** суттєво знижував їх цитотоксичність, як щодо ракових, так й щодо нормальних клітин. Натомість, сполука **7.18** із мета-етоксифенільним фрагментом у С5 положенні тіазолідонового циклу характеризувалася мікромолярними величинами IC_{50} на лініях лейкемії, раку прямої кишки та остесаркоми. Введення бензиліденового залишку в ариліденовий фрагмент у сполуці **7.20** також сприяв виявленню антипроліферативних

властивостей, відповідно **7.20** інгібувала ріст на рівні із **7.18**. Критичним для антипроліферативної активності виявився вплив алілокси фрагменту, так як сполуки **7.22** та **7.23** інгібували ріст клітин всіх ліній у мікромолярних концентраціях, крім лінії *A549*. Більш того, навіть, лінія *K562-TAX* резистентна до паклітакселю була чутливою до них, відповідно сполука **7.23** характеризувалася найкращим терапевтичним індексом (табл. 7.7).

Таблиця 7.6

Антипроліферативна активність 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів 7.1-7.25 виражена як напівмаксимальна інгібуюча концентрація IC_{50} (мкМ)

№ п/п	Ba/F3 parental	Ba/F3-MPL CALR del52	Ba/F3 -MPL CALR WT	Ba/F3-MPL CALR ins5	KBM7-SLF N233	KBM7_WT	Dami	HL-60	Jurkat	K562
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
7.1	7,31± 1,76	5,71± 7,33	NA	7,21± 3,46	NA	NA	13,19±6,71	нт	нт	нт
7.2	NA	NA	NA	NA	1,35±1,00	0,74±0,11	NA	нт	нт	нт
7.3	3,62± 1,09	3,80± 2,03	NA	2,34± 0,65	NA	NA	3,80± 1,65	нт	нт	нт
7.4	10,66± 3,57	NA	NA	NA	NA	NA	NA	нт	нт	нт
7.5	8,02±2,18	10,53±1,80	NA	10,12±2,72	NA	NA	12,39±5,83	нт	нт	нт
7.6	нт	нт	нт	нт	нт	нт	15,44±9,25	11,67±8,12	3,55±0,48	9,21±1,84
7.7	нт	нт	нт	нт	нт	нт	NA	NA	NA	NA
7.8	нт	нт	нт	нт	нт	нт	3,74±1,40	0,96±0,20	0,44±0,18	1,00±0,39
7.9	0,24± 0,14	0,12± 0,04	NA	0,10± 0,02	NA	NA	0,87± 1,18	нт	нт	нт
7.10	NA	1,19±0,19	NA	3,58±1,75	NA	NA	NA	нт	нт	нт
7.11	4,10± 3,74	7,42± 6,79	3,86± 1,21	NA	0,74±0,23	0,79± 0,08	NA	нт	нт	нт
7.12	6,01± 3,16	4,89± 2,71	NA	5,63± 5,36	NA	NA	6,04± 3,65	нт	нт	нт
7.13	нт	нт	нт	нт	нт	нт	1,75±0,52	2,15±0,91	1,03±0,16	3,15±0,75
7.14	нт	нт	нт	нт	нт	нт	1,34±1,59	NA	2,47±0,34	NA

Продовж. табл. 7.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
7.15	7,11±3,70	9,39± 9,93	NA	NA	1,41±0,62	1,49±0,06	2,31±1,47	1,96±0,55	0,90±0,22	2,08±0,53
7.16	нт	нт	нт	нт	нт	нт	NA	NA	5,64±2,62	NA
7.17	0,43± 0,35	0,81± 0,77	нт	0,44± 0,35	нт	нт	0,60± 0,38	нт	нт	нт
7.18	нт	нт	нт	нт	нт	нт	NA	5,68±1,40	1,69±0,12	4,50±0,58
7.19	1,22± 0,35	0,72± 0,11		0,76± 0,13	нт	нт	4,82± 1,98	нт	нт	нт
7.20	нт	нт	нт	нт	нт	нт	5,57±2,45	0,50±0,04	0,45±0,12	0,44±0,07
7.21	нт	нт	нт	нт	нт	нт	14,11±4,62	NA	NA	NA
7.22	нт	нт	нт	нт	нт	нт	0,95±0,66	0,17±0,01	0,10±0,07	0,18±0,03
7.23	нт	нт	нт	нт	нт	нт	8,50±4,33	1,41±0,39	0,35±0,04	2,73±0,88
7.24	нт	нт	нт	нт	нт	нт	4,99±1,94	1,80±0,88	0,98±0,14	2,73±0,57
Хлорамбуцил	25,56± 14,63	47,14± 15,71	-	29,68± 16,05	-	-	12,49± 25,24	-	-	-

Таблиця 7.7

Розраховані значення IC_{50} (мкМ) та терапевтичні індекси для ряду 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів

Спо-лука	CCRF-CEM	CEM-DNR	K562	K562-TAX	A549	HCT116	HCT116 p53-/-	U2OS	BJ	MRC5	TI*
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7.6	4,29±0,81	нт	2,92±0,47	6,93±1,05	50,00±0,00	нт	нт	13,04±2,53	>50	50,00±0,00	-
7.7	3,08±0,26	нт	4,81±0,78	7,84±0,65	13,86±2,34	10,89±0,95	11,72±1,29	10,10±1,52	>50	25,49±3,16	-
7.8	0,59±0,097	нт	0,57±0,077	1,23±0,21	нт	0,66±0,052	0,90±0,15	нт	>50	50,00±0,00	-
7.13	1,05±0,15	нт	0,85±0,14	1,77±0,31	6,25±1,68	2,65±0,15	2,59±0,22	2,46±0,37	>50	>50	-
7.14	2,25±0,27	>50	2,21±0,10	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	-
7.16	12,52±3,97	>50	10,36±1,60	>50	>50	>50	>50	46,41±6,64	>50	>50	-
7.18	0,36±1,04	нт	0,58±0,019	0,75±0,092	нт	0,67±0,058	0,97±0,14	0,91±0,18	42,37±6,26	нт	-
7.20	0,37±0,02	нт	0,40±0,03	0,43±0,061	нт	0,53±0,011	0,57±0,019	0,61±0,053	33,96±8,19	нт	-
7.21	1,86±0,35	3,36±0,74	2,19±0,37	3,15±0,83	29,02±7,58	4,44±1,30	3,13±0,68	9,38±2,01	>50	>50	> 7,08
7.22	0,10±0,009	нт	0,11±0,012	0,34±0,032	нт	0,18±0,023	0,22±0,031	0,22±0,032	34,11±7,61	нт	-
7.23	0,36±0,012	0,56±0,08	0,60±0,16	0,75±0,21	8,84±0,88	0,92±0,21	0,79±0,19	0,71±0,11	40,65±9,78	20,82±6,37	18,18

Продовж. табл. 7.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7.24	0,53±0,093	2,12±0,36	0,50±0,12	1,75±0,34	25,64±6,69	0,65±0,05	0,84±0,16	0,85±0,20	>50	>50	>12,17
7.25	1,86±0,35	3,36±0,74	2,19±0,37	3,15± 0,83	29,02± 7,58	4,44± 1,30	3,13± 0,68	9,38± 2,01	>50	>50	> 7,08

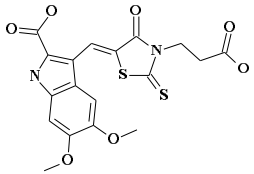
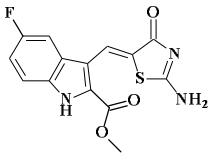
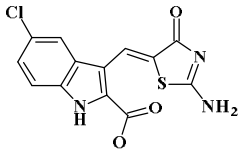
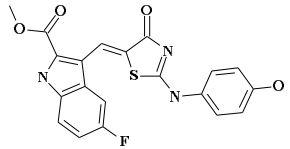
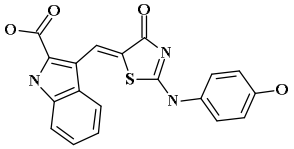
*терапевтичний індекс обчислено як відношення значення $IC_{50,}$ обчислених для ліній нормальних клітин (BJ, MRC5) до таких для ліній ракових кліти

7.7.2. Дослідження протипухлинної активності гібридних молекул, що вміщують індольний та тіазолідиноновий цикли

Логічним продовженням пошуку потенційних протипухлинних агентів стало дослідження гібридних молекул, що вміщують фрагмент 2-аміно-4-тіазолідону із серії 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів, що проявили достатньо високу протилейкемічну активність, і фрагмент [5+6]-гетероциклу – індол-2-карбонової кислоти чи індол-2-карбоксилату (фармакофор сполуки-лідера **6.47**): похідних 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.29, 7.30, 7.32, 7.33.** Ще однією сполукою відібраною для тестування на клітинах ліній гепатокарциноми людини (*HepG2*), гліобластоми людини (*U251*), аденокарциноми молочної залози (*MCF-7*) та промієлоцитарного лейкозу людини (*HL-60*) була 3-[3-(2-карбоксиетил)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліден]метил]-5,6-диметокси-1*H*-індол-2-карбонова кислота **7.27,** як приклад поєднання фармакофорів індольного циклу та роданін-3-карбонової кислоти (табл. 7.8). Загалом, досліджувані ракові лінії не характеризувалися високою чутливістю до дії зазначених сполук. Обчислені напівмаксимальні інгібуючі концентрації IC_{50} для сполук **7.29** і **7.32** були нижчими і становили 64,43 мкМ і 63,49 мкМ відповідно щодо лінії *HepG2.* Цікаво, що ріст лінії промієлоцитарного лейкозу людини (*HL-60*), котра була зовсім нечутливою до дії сполук **7.27, 7.29, 7.30, 7.33,** селективно інгібувався метил 5-флюоро-3-[2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-1*H*-індол-2-карбоксилатом **7.32** із IC_{50} = 9,39 мкМ співмірною із величиною IC_{50} для препарату порівняння доксорубіцину. Антипроліферативна активність сполуки **7.32** досліджувалася у концентрації 10 мкМ відповідно до протоколу NCI (табл. 7.9, додаток Д.1). Цікаво, що найчутливішими до її дії були клітинні лінії лейкемії, ріст більшості яких вона інгібувала більше, ніж на 50%. Майже повністю пригнічувався ріст лінії меланоми *MDA-MB-435,* також чутливою була лінія раку яйників *OVCAR*-3 та раку молочної залози *MCF7.* Загалом 5-флюоро-3-[2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-1*H*-індол-2-карбоксилат **7.32** пригнічувава ріст 21 лінії пухлинних клітин більше, ніж на 50 %.

Таблиця 7.8

Дослідження ряду 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот 7.30, 7.33, їх карбоксилатів 7.29, 7.32 та 3-[3-(2-карбоксиетил)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліден]метил]-5,6-диметокси-1*H*-індол-2-карбонової кислоти 7.27

Сполука	Структура	Інгібування росту ліній ракових клітин, IC_{50}, мкМ			
		HepG2	U251	MCF-7	HL-60
7.27		92,81	79,82	78,81	>100
7.29		64,43	>100	>100	>100
7.30		89,86	91,89	97,79	>100
7.32		63,49	>100	>100	9,39
7.33		89,05	74,23	90,19	>100
Доксорубіцин		0,55	0,82	3,42	1,65

Таблиця 7.9

Дослідження інгібування росту ракових клітин 5-флюоро-3-[2-(4-гідроксианіліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден]метил]-1*H*-індол-2-карбоксилатом 7.32 (10 мкМ)

Сер. знач. росту %	Діапазон росту, %	Найчутливіші клітинні лінії	GI, % найчутливіших кліт. ліній	Позит. цитост. ефект[a]
1	2	3	4	5
61,85	0,95 до 106,28	Лейкемії		21/60
		CCRF-CEM	28,17	
		HL-60	54,79	
		K-562	23,19	
		MOLT-4	30,43	
		SR	24,19	
		Недрібноклітинний рак легень		
		HOP-92	42,69	
		NCI-H522	47,41	
		Рак товстого кишківника		
		KM12	49,49	
		Рак ЦНС		
		SNB-19	45,70	
		SNB-75	33,83	
		U251	46,45	
		Меланома		
		MALME-3M	45,64	
		MDA-MB-435	0,95	
		UACC-62	34,30	
		Рак яйників		
		OVCAR-3	19,82	
		Рак нирок		
		A498	42,37	
		RXF 393	43,64	
		Рак молочної залози		
		MCF7	22,03	
		HS 578T	46,11	
		BT-549	35,01	

[a] Відношення кількості клітинних ліній із відсотком росту від 0 до 50 до загального числа ліній.

7.7.3. Дослідження протипухлинної та протипаразитарної активності тіазолідон-піразолінових гібридних молекул

Комбінація 3,5-діарилового і тіазолідонового циклів часто забезпечує утворення високоактивних протипухлинних та протипаразитарних агентів [150].

4-[3-(5-Бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-он **7.40** досліджувався на 55 лініях ракових клітин відповідно до протоколу NCI і характеризувався високою антипроліферативною активністю щодо більшості ліній (табл. 7.9). Найменші ефективні значення інгібуючих концентрацій для **7.40** спостерігалися щодо панелі лейкемії. Найчутливішою лейкемічною клітинною лінією до дії сполуки **7.40** була лінія *SR* (GI_{50} = 0,0351 мкМ), також 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-он повністю пригнічував ріст ліній лейкемії CCRF-CEM, HL-60, MOLT-4 та SR при субмікромолярних значеннях концентрації (TGI). Сполука **7.40** характеризувався високою протипухлинною активністю щодо лінії недрібноклітинного раку легень *NCI-H322M* та *EKVX*, а також відносно ліній раку товстого кишківника *HCT-116*, раку яйників *OVCAR-3* та раку молочної залози *MCF7* (табл. 7.10, додаток Д.2) [417,418].

Таблиця 7.10

Показники протипухлинної активності 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-ону 7.40 *in vitro* у градієнті концентрацій (10^{-4}–10^{-8}М)

Лінії ракових клітин	GI_{50}, мкМ	TGI, мкМ	LC_{50}, мкМ
1	2	3	4
Лейкемії			
CCRF-CEM	0,339	2,70	>100,0
HL-60	0,306	0,923	>100,0
K-562	0,959	>100,0	>100,0
MOLT-4	0,397	17,7	>100,0
SR	0,0351	0,282	>100,0
Недрібноклітинний рак легень			
A549/ATCC	6,55	>100,0	>100,0
EKVX	0,382	>100,0	>100,0

1	2	3	4
NCI-H23	0,819	>100,0	>100,0
NCI-H322M	0,306	15,3	>100,0
NCI-H460	0,619	>100,0	>100,0
Рак товстого кишківника			
HCC-2998	1,94	8,58	>100,0
HCT-116	0,302	>100,0	>100,0
HCT-15	0,767	>100,0	>100,0
SW-620	0,694	>100,0	>100,0
Рак ЦНС			
SF-268	0,805	>100,0	>100,0
SF-295	0,636	>100,0	>100,0
Меланома			
MALME-3M	0,843	22,3	>100,0
M14	0,907	28,4	>100,0
MDA-MB-435	1,92	>100,0	>100,0
SK-MEL-5	1,18	20,8	>100,0
Рак яйників			
OVCAR-3	0,248	0,682	>100,0
OVCAR-4	0,464	>100,0	>100,0
NCI/ADR-RES	0,830	20,7	>100,0
SK-OV-3	1,84	36,0	>100,0
Рак нирок			
ACHN	1,44	>100,0	>100,0
CAKI-1	0,723	4,06	>100,0
TK-10	1,62	>100,0	>100,0
Рак простати			
DU-145	2,24	>100,0	>100,0
Рак молочної залози			
MCF7	0,301	-	>100,0
T-47D	0,377	>100,0	>100,0
MDA-MB-468	0,631	67,6	>100,0

Гібридизація піразолінового та тіазолідинового циклів в одній молекулі не тільки сприяють виявленню протиракових ефектів, а й підвищують протипаразитарну активність. Так, сполука **7.40** інгібувала ріст *Trypanosoma brucei brucei* в *in vitro* експерименті на 98,8 % у концентрації 10 мкг/мл та на 11,87 % у концентрації 1 мкг/мл.

Також серію 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів **7.44-7.51** досліджено щодо протипухлинної активності на лініях раку шлунку *AGS*, товстої кишки людини *DLD-1* та карциноми молочної залози

MCF-7. Зважаючи, що встановленими сполуками-хітами з протипухлинними властивостями серед похідних 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів були похідні із фрагментом циміналю в С5 положенні **4.79** та **4.81** (див. табл. 4.17), іншими об'єктами вивчення на вище зазначених ракових лініях були гібридні молекули роданін-3-карбонових кислот із 2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліденовим залишком **7.64-7.69** (рис. 7.2). Лінія колоректального раку *DLD-1* була найменш чутливою до дії даних сполук, за виключенням деяких [5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-роданін-3-іл]-карбонових кислот із мікромолярними значеннями IC_{50}. Загалом, фрагмент циміналю у С5 положенні тіазолідону позитивно впливав на антипроліферативні властивості і сполуки **7.64-7.69** характеризувалися нижчими значеннями напівмаксимальних інгібуючих концентрацій щодо тестованих 3-х ліній, ніж піразолін-тіазолідонові аналоги **7.44-7.51**. Сполуками-хітами, що інгібували на однаковому рівні ріст всіх трьох ракових ліній із найнижчими значеннями IC_{50} були 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-роданіни із залишками пропанової **7.65** та ізобутанової **7.68** кислот (табл. 7.11). Дослідження проводилося МТТ методом відповідно до методики описаної раніше [421].

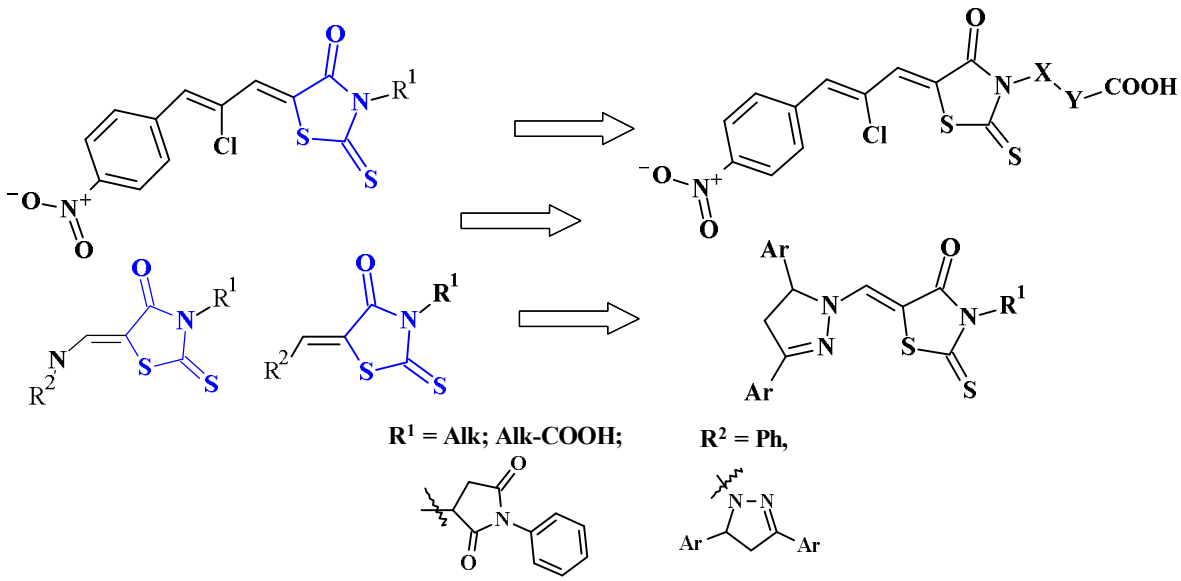


Рис. 7.2. Фармакофор-гібридний підхід для дизайну потенційних протипухлинних 5-іліден-роданінів із фрагментами циміналю та 3,5-діарилпіразоліновими субституентами у С5 положенні основного гетероциклу.

Таблиця 7.11

Значення напівмаксимальних концентрацій інгібування росту клітин ракових ліній *AGS*, *DLD-1, MCF-7* піразолін/тіазолідоновими гібридами та 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онами 7.64-7.69

Сп-ка	Інгібування росту ліній ракових клітин, IC_{50}, мкМ		
	AGS	***DLD-1***	***MCF-7***
7.44	15,94	27,84	4,34
7.45	8,60	18,12	5,44
7.46	7,59	19,86	4,70
7.47	9,80	26,51	10,64
7.48	14,90	23,89	18,31
7.49	9,66	24,57	15,97
7.50	11,22	23,63	4,83
7.51	8,79	24,20	6,84
7.64	7,86	8,39	4,79
7.65	2,69	3,67	3,62
7.66	13,05	10,00	18,08
7.67	12,57	9,19	21,23
7.68	3,94	3,73	1,74
7.69	17,99	27,49	26,40

7.7.4. Дослідження протималярійної активності 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів

Протималярійна активність 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів **7.70-7.73** щодо *Plasmodium falciparum* (штам *FcB1/colombia*) вивчалася в *in vitro* експерименті на людських еритроцитах. На першому етапі досліджень 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинони інгібували ріст плазмодіїв у концентрації 10 мг/мл більше, ніж на 80%. Наступним стало обчислення напівмаксимальних інгібуючих концентрацій, величини яких для сполук **7.70-7.73** знаходилися на мікромолярному рівні (Табл. 7.12) [365]. Отримані дані підтверджують факт протипаразитарної аткивності даного класу гетероциклів, при поєднанні у молекулах тіазолідонового циклу з гідразоновим фрагментом [56].

Таблиця 7.12

Результати *in vitro* скринінгу протималярійної активності 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів 7.70-7.73 (щодо *Plasmodium falciparum*)

Сп-ка	Інгібування, % (10 мг/мл)	IC_{50} мг/мл	IC_{50}, мкМ
7.70	82,19	1,10±0,10	2,39±0,22
7.71	96,00	1,00±0,10	2,32±0,23
7.72	83,07	1,70±0,10	3,50±0,21
7.73	83,77	3,50±0,10	7,01±0,20
Хлорохін	-	-	0,065±0,001

7.8. Експериментальна частина

*Загальний метод синтезу 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5H)-онів **7.1-7.25***

Суміш 0,01 моль 4-гідроксифенілтіосечовини. 0,011 моль відповідного ароматичного альдегіду, 0,01 моль (0,94 г) хлороацетатної кислоти та 0,02 моль (1,64 г) натрію ацетату кип'ятять у 20 мл ацетатної кислоти протягом 3 год. Кристалічний осад, що утворюється відфільтровують, промивають ацетатною кислотою, водою, етанолом та діетиловим етером та перекристалізовують із суміші ДМФА-ацетатна кислота (1:2) або ацетатної кислоти.

*Загальний метод синтезу 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1H-індол-2-карбоксилатів **7.26-7.28***

Метод А. Суміш 0,01 моль відповідної 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонової кислоти, 0,01 моль роданін-3-карбонової кислоти, 0,01 моль натрію ацетату кип'ятять у 30 мл ацетатної кислоти. Кристалічний осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, етанолом та перекристалізовують із етанолу. Аналогічно отримують 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-они **7.64-7.69** у реакції Кньовенагеля при взаємодії роданіну (7.64) чи віповідних роданін-3-карбонових кислот із циміналем.

Метод Б. Суміш 0,001 моль відповідної 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонової кислоти, 0,001 моль роданін-3-карбонової кислоти, 0,001 моль натрію ацетату та 5 мл ацетатної кислоти нагрівають до 120°С протягом 1 хв (850 W, 300 об/хв), час утримання 5 хв, час охолодження 1 хв. Отриманий кристалічний осад відфільтровують, промивають водою, етанолом та перекристалізовують із етанолу.

Загальний метод синтезу 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1H-індол-2-карбонових кислот, їх карбоксилатів та N-ариліден похідних ***7.29-7.39***

Метод А: Суміш 0,1 моль відповідного 2-арил-амінотіазол-4(5*H*)-ону, 0,1 моль натрію ацетату, 0,11 моль відповідної 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонової кислоти чи 3-форміл-1*H*-індол-2-карбоксилату кип'ятять у 100 мл ацетатної кислоти протягом 3-5 год. Кристалічний осад, що утворився, відфільтровують, промивають ацетатною кислотою, водою, етанолом, діетиловим етером та перекристалізовують із суміші ДМФА-ацетатна кислота (1:2) або ацетатної кислоти.

М*етод Б.* Суміш 0,1 моль відповідної арилтіосечовини, 0,11 моль відповідної 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонової кислоти чи 3-форміл-1*H*-індол-2-карбоксилату, 0,1 моль хлороацетатної кислоти та 0,2 моль ацетату натрію кип'ятять у 100 мл ацетатної кислоти протягом 3-5 год. Кристалічний осад, що утворився, відфільтровують, промивають ацетатною кислотою, водою, етанолом, діетиловим етером та перекристалізовують із суміші ДМФА-ацетатна кислота (1:2) або ацетатної кислоти.

Загальний метод синтезу 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5H-тіазол-2-ону ***7.40*** *та його 5-бензиліден похідних* ***7.41-7.43***

У круглодонну колбу поміщають по 0,01 моль 3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-1-феніл-проп-2-ен-1-ону та 0,011 моль розчину гідразингідрату (50%), додають 20 мл етанолу та кип'ятять протягом 30 хв. Після охолодження реакційної суміші утворений осад 4-бромо-2-(3-феніл-4,5-дигідро-1*H*-піразол-5-іл)фенолу відфільтровують і перекристалізовують з діоксану. На другому етапі синтезу власне 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5H-тіазол-2-ону, **с**уміш 4-тіоксо-2-тіазолідинону (0,01 моль) та 4-бромо-2-(3-феніл-4,5-дигідро-1*H*-піразол-5-іл)фенолу (0,01 моль) кип'ятять у 100 мл етанолу протягом 1,5 год. Після

охолодження реакційної суміші до кімнатної температури утворений осад відфільтровують, промивають метанолом і перекристалізовують із суміші ДМФА:етанол (1:2).

Для синтезу 5-бензиліден-4-[3-(5-бромо-2-гідрокси-феніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]тіазол-2-онів (**7.41-7.43**) еквімолярні кількості 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-ону **7.40** (0,01 моль), відповідного ароматичного альдегіду (0,01 моль) та ацетату натрію (0,01 моль) кип'ятять із зворотнім холодильником протягом 3-4 год. Утворений осад після охолодження відфільтровують та перекристалізовують із суміші ДМФА-етанол (1:3).

Аналогічно в умовах реакції Кньовенагеля синтезують *5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-они* ***7.64-7.69.*** Суміш 0,01 моль 2-тіоксо-4-тіазолідинону чи 0,01 моль відповідної (4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-карбонової кислоти, 0,01 моль циміналю та 0,01 моль безводного ацетату натрію кип'ятять в ацетатній кислоті протягом 2-3 год. Утворений осад після охолодження відфільтровують та перекристалізовують із суміші ДМФА-етанол (1:5) або ацетатної кислоти.

Загальний метод синтезу 5-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів ***7.44-7.51*** *та 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів* ***7.52-7.63***

Суміш 0,05 моль відповідного 5-етоксиметилен-2-тіоксотіазолідин-4-ону та 0,05 моль відповідного 3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразолу кип'ятять у 10-15 мл етанолу протягом 1,5 год. Кристалічний осад, що утворився після охолодження відфільтровують, промивають етанолом та перекристалізовують після висушування із суміші ДМФА-етанол (1:1).

Суміш 0,05 моль відповідної 2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]карбонової кислоти/естеру (у випадку **7.52-7.61)** чи відповідного 2-ціано-2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-феніл-ацетаміду (для **7.62-7.63**) та 0,05 моль відповідного 3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразолу кип'ятили в 10-15 мл етанолу протягом 2-3,5 год. Кристалічний осад, що утворився,

відфільтровували, промивали етанолом і висушували. Перекристалізовували із етанолу (**7.59),** ізопропанолу (**7.52**), ацетатної кислоти (**7.57, 7.60**), чи суміші ацетатна кислота/вода (1:1) (**7.53, 7.61**), суміші ДМФА/етанол (1:5) (**7.54-7.56, 7.58**), ДМФА (**7.62-7.63**).

Аналогічно отримували 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-они **7.44-7.51**, взаємодією відповідних N-заміщених 5-етоксимтиліден-2-тіоксо-4-тіазолідонів та 3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразолів. Кристалічний осад, що утворився, відфільтровували, промивали етанолом, діетиловим етером, висушували і перекристалізовували із відповідного розчинника.

*Загальний метод синтезу 5-(Z)-аріліден-2-аріліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів **7.70-7.72***

Суміш 0,01 моль 3-(4-гідроксифеніл)тіосемікарбазиду, 0,01 моль хлороацетатної кислоти, 0,02 моль натрію ацетату та 0,03 моль відповідної оксосполуки в суміші 5 мл ДМФА та 10 мл ацетатної кислоти кип’ятили протягом 2 год. Після охолодження, утворений кристалічний осад відфільтровували та перекристалізовували із суміші ДМФА/ацетатна кислота чи ДМФА/етанол.

*Загальний метод синтезу 2-[(3-(4-гідроксифеніл)-4-оксо-2-[(2-оксоіндолін-3-іліден)гідразоно]тіазолідин-5-іл]-N-(n-толіл)ацетаміду **7.73***

Еквімолярні кількості (0,01 моль) 1-(2-оксоіндолін-3-іліден)-4-(4-гідроксифеніл)-тіосемікарбазону, (*n*-толіл)малеїніміду та ацетатної кислоти (20 мл) нагрівалися із зворотнім холодильником протягом 2 год. Після охолодження реакційної суміші до кімнатної температури, утворений осад відфільтровували та перекристалізовували із суміші ДМФА/етанол.

Загальна методика синтезу N-[2-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-тіопіранотіазолів **7.74-7.80**

До попередньо нагрітої суспензії 0,01 моль вихідного ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-2-ону, хромено[4’,3’:4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазолу чи 3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-ону в етанолі (25-30 мл) додають етанольний розчин калію гідроксиду (0,01 моль), премішують протягом 5 хв, додають 0,01 моль відповідного 2-хлоро-1-(3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-

іл)етанону, каталітичну кількість калію йодиду та калію карбонату. Реакційну суміш кип’ятять протягом 3-3,5 год (ТШХ-контроль проходження реакції), після чого реакційну суміш заливають водою і залишають на добу. Утворений осад відфільтровують, промивають водою, етанолом та перекристалізовують із етанолу (**7.74-7.77**), ацетатної кислоти (**7.78**), бутанолу (**7.79**), ізопропанолу (**7.80**).

ВИСНОВКИ

1. Отримано ряд 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів в однореакторній реакції арилтіосечовини, хлороацетатної кислоти та відповідного ароматичного аміну в присутності натрію ацетату в середовищі ацетатної кислоти. Вивчення їх антипроліферативної активності щодо панелі лейкемічних клітин виявило мікро- та субмікромолярні рівні концентрації IC50, співмірні із такою для препарату порівняння Хлорамбуцилу.

2. На основі індолін-2-карбонових кислот та їх карбоксилатів вперше синтезовано низку гібридних 3-[(4-оксо-3-карбокси-2-тіоксо-тіазолідин-5-іл)]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.26-7.28**, а також 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот, їх карбоксилатів та N-ариліден похідних **7.29-7.39.** Вперше апробовано метод однореакторної трикомпонентної реакції заміщених тіосечовин (S,N-динуклеофіли), хлороацетатної кислоти та 3-форміл-1*H*-індол-2-карбонових кислот і їх карбоксилатів, що дозволив із високими виходами отримання цільових сполук **7.29-7.39.**

3. В рамках гібрид-фармакофорного підходу синтезовано 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-он та його 5-іліден-похідні **7.40-7.43,** а також ряд інших піразол вмісних гібридів, таких, як 5-[3,5-диарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-они **7.44-7.51.** Вперше отримано цікаві гібридні молекули, що поєднують 3,5-діарил-3,4-дигідропіразольний цикл та 2-тіоксо-4-тіазолідон-3-карбонові кислоти **7.52-7.61,** 2-[5-[[3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-ціано-ацетаміди **7.62-7.63.**

4. Синтезовано тіопіранотіазол-піразольні гібридні молекули на основі хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-2-ону та 3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-ону **7.74-7.80,** що вміщують два фармакофори і є потенційними лікоподібними молекулами. Структури та чистоту синтезованих сполук підтверджено методами елементного аналізу, ^{1}H, ^{13}C ЯМР спектроскопії та мас-спектрометрії.

5. Досліджено протипухлинну активність похідних 3-[(2-аміно-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбонових кислот **7.29, 7.30, 7.32, 7.33** та 3-[3-(2-карбоксиетил)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліден]метил]-5,6-диметокси-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **7.27,** серед яких виділено сполуку-хіт **7.32** активну щодо лінії лейкозу людини (*HL-60*) із IC_{50} = 9,39 мкМ.

6. Доведено подвійну протипаразитарну та протипухлинну активності 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-ону **7.40,** що виявляв високу антипроліфеартивну дію щодо панелі ракових клітин у градієнті концентрацій та інгібував ріст *Tb brucei* більш, ніж на 90% (10 мкг/мл).

7. Ряд 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів **7.44-7.51** та гібридних молекул роданін-3-карбонових кислот із 2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліденовим залишком **7.64-7.69** досліджено щодо протипухлинної активності на лініях раку шлунку *AGS*, товстої кишки людини *DLD-1* та карциноми молочної залози *MCF-7*. Сполуками-хітами, що інгібували ріст всіх трьох ліній із найнижчими значеннями IC_{50} були 5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)проп-2-еніліден]-роданіни із залишками пропанової **7.65** та ізобутанової **7.68** кислот.

8. Вперше встановлено високу протималярійну активність ряду 5-ариліден-2-ариліденгідразоно-3-(4-гідроксифеніл)-4-тіазолідинонів **7.70-7.73** щодо *Plasmodium falciparum.*

Результати дослідження даного розділу наведено в публікаціях: [348, 370, 393, 394, 396, 399, 400, 409, 411, 417, 418].

РОЗДІЛ 8
РОЗРОБКА QSAR- ТА ФАРМАКОФОРНИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ ПРОТИПАРАЗИТРАНОЇ АКТИВНОСТІ РІЗНОМАНІТНИХ ТІАЗОЛІДИНОНІВ. ПОГЛИБЛЕНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ РЕАЛІЗАЦІЇ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ЕФЕКТІВ ВИЯВЛЕНИХ СПОЛУК-ХІТІВ

Підсумовуючи отримані результати вивчення протитрипаносомної активності різних груп тіазолідинону, включно із гібридними молекулами, що містять інші гетероциклічні фрагменти, такі як ядра піразоліну, індолу та поліциклічними молекулами на основі тіазолу/тіазолідону проведено QSAR-аналіз і встановлено кількісні закономірності структура-протипаразитарна активність для зазначеного класу сполук. Іншим напрямком поглибленого аналізу даних біологічної активності досліджуваних похідних тіазолідинону стало вивчення цитотоксичності сполук-хітів **5.27**, **5.28**, **6.46**, **7.32** та **7.40** із високими рівнями інгібування росту пухлинних клітин і паразитів на мишачих фібробластах Balb/c3T3. Дослідження цитотоксичності щодо нормальних клітин проводилося у чотирьох біохімічних експериментах: мітохондріальна (МТТ-тест) та лізосомальна (NRU-аналіз) активність клітин, загальний вміст білку (аналіз ТРС) та цілісності клітинної мембрани (аналіз LDH) після 24, 48 та 72 год експозиції.

Для однієї із найактивніших сполук – метилового естру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.46** також досліджувалася інгібуюча активність щодо клітин раку молочної залози (лінії MCF-7), раку прямої кишки (лінії HCT116), аденокарциноми шийки матки (лінії HeLa), карциноми легень (лінії A549) та цитотоксичність щодо людських кератиноцитів HaCaT. З метою встановлення механізмів дії сполуки-лідера **6.46**, на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2, методом Вестерн-блот аналізу досліджувалися протеїни задіяні в регуляції процесів апоптозу та ефекти індолкарбоксилату **6.46** на протеїни задіяні в пошкодженні ДНК за допомогою методу ДНК-комет (Comet assay) [422].

8.1 Розробка QSAR-моделей для прогнозування антитрипаносомної активності.

З метою встановлення закономірностей структура-активність, на основі отриманих результатів дослідження протитрипаносмоної активності похідних тіазолідонів з груп 5-єнамін-роданін-3-карбонових кислот, тіопіранотіазолів, тіазол/тіазолідон-феніліндол/імідазотіадіазольних гібридів проведено QSAR-аналіз [423,424]. Для підвищення достовірності та прогностичної здатності обчислюваних QSAR-моделей, до вибірки також включили ряд похідних піразоліну із встановленою протипаразитарною активністю із бази даних кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького [155].

В актуальних наукових джерелах знайдено ряд QSAR досліджень антитрипаносомної активності, що включають різні підходи комп'ютерної хімії [425]. Так наприклад, описано CoMFA дослідження активності 26 біфософонатів щодо *Tb rhodesiense* [426] та COMFA дослідження інгібіторів трипанотіон редуктази *Trypanosoma brucei* [427]. При моделюванні антитрипаносомних властивостей ряду сесквітерпенових лактонів застосовувався метод найменших квадратів (МНК) [428] Більшість інших досліджень були мультитаргеними, коли до вибірки включалися результати інших видів протипаразитарних активностей [429–431]. Таким чином, з метою розробки моделей для прогнозування здатності інших сполук інгібувати ріст *Tb brucei*, порівнювалася ефективність 4 сучасних алгоритмів машинного навчання: метод *Random Forest*, метод стохастичного підвищення градієнта (Stochastic Gradient Boosting, SGB), сплайни багатовимірної адаптивної регресії (Multivariate Adaptive Regression Splines, MARS) та регресія Гаусівських процесів (Gaussian Processes regression).

Для дослідження відібрано 206 речовин (додаток Е.1) із встановленими рівнями інгібування росту паразитів *Tb brucei* (%) у концентрації 1 мг/мл [120,133,310,325]. При цьому до вибірки включалися дані щодо *Tb brucei* (171 сполука) та відносно *Tb gambiense* (35 сполук). Зважаючи на об'єднання величин

інгібуючої активності щодо двох видів Трипаносом, для виявлення можливих відмінностей в активності, у прогностичну модель було включено відповідні бінарні змінні. Оптимізацію геометрії досліджуваних сполук проводили у силовому полі MMFF94x; близько 1600 молекулярних дескрипторів обчислено за допомогою он-лайн сервісу E-Dragon [432] та MOPAC6. Після відсіювання постійних змінних та змінних, які виразно корелюють (| r |> 0,95), залишено 774 дескриптори.

Метод регресії *Random Forest* базується на ансамблях дерев рішень та був вперше запропонований для QSAR-аналізу Свєтніком В. та співавт. [433]. У цьому алгоритмі кожне дерево регресії створюється за допомогою випадкової субвибірки з навчального набору, а розбиття на кожному вузлі дерева здійснюється шляхом пошуку за випадковою підмножиною ознак. Кількість змінних, які слід апробувати в кожному вузлі, є головним параметром налаштування алгоритму *Random Forest* [434]. Така схема побудови відповідає головному принципу ансамблювання (побудови алгоритму машинного навчання на базі кількох, в даному випадку вирішальних дерев), а найважливішими параметрами налаштування є кількість дерев, глибина взаємодії та швидкість навчання.

Іншим використовуваним алгоритмом, що дає можливість описати нелінійні зв'язки між структурою та активністю став метод багатовимірних адаптивних регресійних сплайнів (MARS), що виражені адитивною нелінійною моделлю наступного вигляду:

$$\hat{y} = a_0 + \sum_{m=1}^{M} a_m B_m(x) \qquad (8.1),$$

де $\hat{y}$ – передбачуване значення моделі, a_0 - зсув моделі, M – число базисних функцій, а B_m та a_m є *m*-ою базовою функцією та її коефіцієнтом відповідно [435]. Кожна базисна функція є двосторонньою ступеневою функцією, описана наступними рівняннями:

$$\begin{aligned} \left[+(x-t)\right]_+^q &= \begin{cases} (t-x)^q, & if\ x \geq t, \\ 0, & otherwise \end{cases} \\ \left[-(x-t)\right]_+^q &= \begin{cases} (t-x)^q, & if\ x < t, \\ 0, & otherwise \end{cases} \end{aligned} \qquad (8.2)$$

де t – координата вузла (або точки спряження), а $q(\geq 0)$ – ступінь сплайну. Цей ступінь сплайну, а також максимальна кількість базових функцій після усічення є параметрами налаштування. Регресія Гаусівських процесів (крікінг) є потужним інструментом нелінійної інтерполяції [436]. Замість того, щоб намагатися вписати дані в якусь певну модель, цей метод дозволяє даним "говорити" самим за себе. Гаусівський процес розглядає будь-яку довільну підмножину даних як єдину точку, відібрану з багатовимірного гаусівського розподілу. Таким чином, завдання регресії полягає в пошуку правильної функції коваріації за допомогою радіальної базисної функції Гауса:

$$\phi(r) = e^{-(\frac{r}{\lambda})}, \tag{8.3}$$

де r – це відстань між даною точкою та іншими спостереженнями ($r = \| x - x_i \|$), що використовується як ядрова функція. Параметром налаштування цього методу є зворотна ширина ядра λ.

Перед власне QSAR-моделюванням, вивчався розподіл експериментальних помилок, можливий завдяки наявності величин інгібуваня росту для кожної сполуки в декількох експериментах, що виявив значну гетероскедастичність (рис. 8.1). Також помічено, що дисперсія помилок сильно корелює з відсотками інгібування росту. Висока дисперсія пов'язана з низькими значеннями активності, тоді як низька дисперсія відповідає високій антитрипаносомній активності. Цільові функції, мінімізовані під час побудови регресійних моделей, розглядають залишки як незалежні та некорельовані. Тому при таких результатах, регресія швидше підганяє помилки неактивних сполук, ніж справжні значення активності високо-активних сполук. Щоб подолати цю умову, відсотки інгібування росту конвертовано у відсотки росту GP (віднімаючи значення інгібування росту від 100%), а потім взято натуральний логарифм. В результаті помилки стали некорельованими, і їх розподіл наблизився до нормального (рис. 8.2). Крім того, в масиві даних знайдено один викид та видалено з подальшого аналізу.

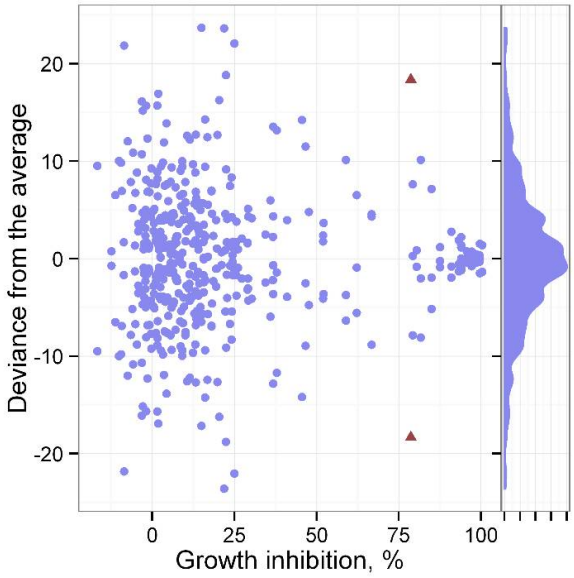


Рис.8.1. Розподіл експериментальних помилок та їх кореляція із відсотками інгібування росту *T brucei* *

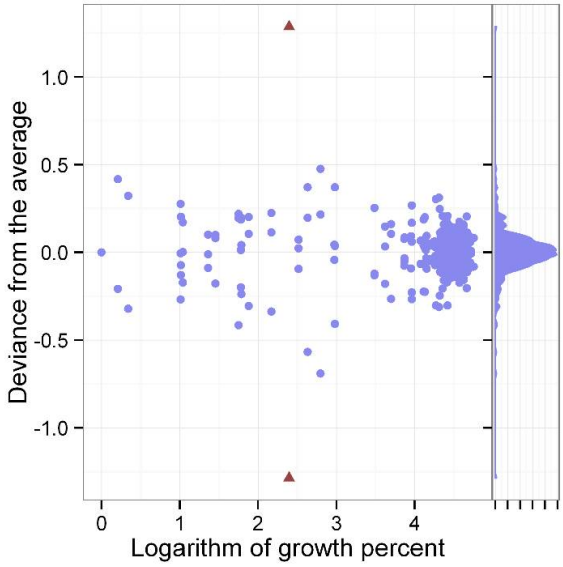


Рис.8.2. Розподіл експериментальних омилок та їх кореляція із логарифмом відсотків росту *T brucei* *

*Одна із сполук неочікувано мала велику помилку, тому була ідентифікована як викид та позначена трикутником.

Для розділення даних на навчальний і тестовий набори, необхідно вибрати правильну пропорцію між наборами та метод розділення. Із рис. 8.1 та 8.2 видно, що число активних сполук є відносно малим, тоді як є значна кількість неактивних сполук, що свідчить про незбалансованість даних. Тому, навчальний набір повинен бути якомога більшим для того, щоб забезпечувати кількість активних сполук достатню для достовірної оцінки взаємозв'язку структура-активність. Таким чином, кількість сполук у навчальному наборі становила 165, а у тестовому – 40. З іншого боку, застосовуючи випадкове розділення незбалансованих даних та малий тестовий набір, є ймовірність взагалі пропустити активні сполуки у ньому. Крім того, активні сполуки з тестового набору можуть не потрапляти до області застосування (знаходячись далеко від інших сполук у просторі дескрипторів). Ось чому ми контролювали випадкове розщеплення за допомогою візуалізації просторового розподілу тестових і навчальних наборів, використовуючи техніку включення т-стохастичного сусіда (t-SNE) [437]. Така візуалізація показує наявність однієї групи високоактивних сполук разом із декількома окремими сполуками-хітами (рис. 8.3).

Розщеплення дає задовільні результати, включаючи до тестового набору достатню кількість активних сполук, зберігаючи окремо стоячі сполуки-хіти у навчальному наборі.

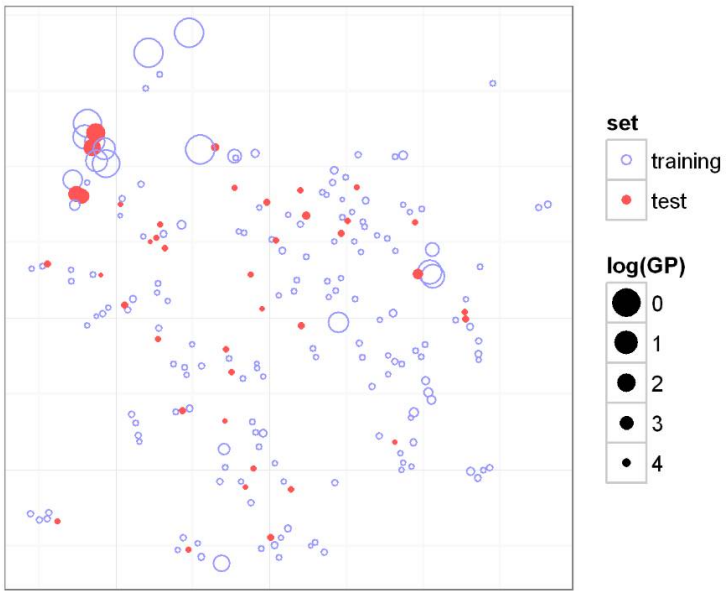


Рис. 8.3. Просторовий розподіл навчальної та тестової вибірки, отриманий за допомогою алгоритму включення т-стохастичного сусіда (t-SNE)

Оптимізація параметрів налаштування для кожного алгоритму була здійснена шляхом пошуку мінімального значення середньоквадратичної помилки (RMSE) 20-кратної перехресної перевірки в сітці можливих значень параметрів. Для забезпечення більш точних значень, статистику перехресної валідації для кінцевих моделей було оцінено за допомогою 5 ітерацій 20-кратної перехресної перевірки. Статистичні характеристики отриманих моделей узагальнені у табл. 8.1.

Таблиця 8.1

Параметри налаштування та прогнозуючої здатності QSAR-моделей

	Random Forest	*SGB*	*MARS*	*Gaussian processe regression*
Параметри налаштуваннння	mtry=20	ntree=70, глибина взаємодії=2, стиснення=0,1	nprune=11, degree=1	lambda=0,007
R^2	0,862	0,842	0,656	0,789

Q^2_{CV}	0,426	0,366	0,270	0,436
Q^2_{ext}	0,752	0,524	0,205	0,547

Найкраща прогнозуюча здатність обчислена для алгоритму *Random Forest,* що підтверджено трьома статистичними обчисленнями. Трохи гіршими є результати регресії *Гаусівських процесів* (Gaussian Processes regression); найнижчою прогнозуючою здатністю характеризувалася модель сплайнів багатовимірної адаптивної регресії. Варто відзначити, що крос-валідація є достатньо низькою для всіх методів. Така ситуація спричинена наявністю у навчальному наборі окремих сполук із відмінною хімічною структурою, що володіють високою антитрипаносомною активністю (Рис. 8.3). Саме тому ми стверджуємо, що низькі значення Q^2_{CV} - це показники низької стійкості моделей, а не низької прогнозованої здатності. Щоб збільшити прогнозуючу ефективність моделей, ми спробували роботу тих самих алгоритмів після попереднього вибору дескрипторів на основі методу *Random Forest*. Вибір методу відбору дескрипторів зумовлений перевагами алгоритму *Random Forest* для поточного QSAR-аналізу (табл. 8.1). З цією метою додатково використано пакет "Boruta" [438]. Таким чином, із 774 наявних було відібрано ряд дескрипторів (32) із підтвердженим або орієнтовним впливом на протитрипаносомну активність. Варто зазначити, що фіктивна змінна, відповідальна за досліджувані підвиди (*Tb brucei* або *Tb gambiense*), не була обрана методом «Boruta» як релевантна. Таким чином, можна зробити висновок, що обидва підвиди характеризуються схожими результатами біологічного скринінгу. Повторний запуск всіх алгоритмів з цією скороченою матрицею даних відповідно до описаної вище методики дає кращі значення Q^2 (за винятком Q^2_{ext} для методу стохастичного підвищення градієнта, що має менше значення 0,483, табл. 8.2). Такий аргумент в цілому підтверджує гіпотезу, що попередній вибір дескрипторів може покращити результат QSAR-моделювання.

Алгоритм *Random Forest* показав найкращу стабільність (Q^2_{CV}=0,526), тоді як *регресія Гаусівських процесів* перевищує інші методи у прогнозуючій здатності (Q^2_{ext}=0,830). Ділянки розподілу фактичних значень проти прогнозованих для обох методів є достатньо подібними (рис.8.4). В обох випадках значення високої

активності (низькі значення логарифмів відсотків росту) недооцінені на користь правильного прогнозування неактивних сполук. Така ситуація є проблемою регресії дисбалансу, і, наскільки нам відомо, наразі не існує ефективного рішення для неї. Таким чином, на нашу думку, як метод *Random Forest*, так і метод *регресії Гаусівських процесів* валідні для скринінгу завдяки своїм задовільним прогнозуючим властивостям, показаним на тестовому наборі.

Таблиця 8.2

Параметри налаштування та прогнозуючої здатності QSAR-моделей, розроблені після вибору дескрипторів методом «Boruta»

	Random Forest	*SGB*	*MARS*	*Gaussian processes regression*
Параметри налаштування	mtry=3	ntree=90, глибина взаємодії=2, стиснення=0,07	nprune=15, degree=1	lambda=0,08
R^2	0,855	0,752	0,583	0,797
Q^2_{CV}	0,526	0,469	0,318	0,464
Q^2_{ext}	0,812	0,483	0,461	0,830

Метою будь-якого QSAR дослідження є не лише виявлення взаємозв'язків між молекулярною структурою та біологічною активністю, а й пояснення її в межах теоретичних міркувань. Таким чином, ретельний аналіз отриманих моделей є вирішальним і важливим кроком. Оцінка важливості змінних для моделі за методом *Random Forest* проводилася за внутрішнім механізмом, запропонованим автором цього методу Л. Брейманом [439]. Оцінка важливості змінних з *регресії Гаусівських процесів* здійснювалося за допомогою пакету "caret" М. Куна [440]. Топ-5 найбільш релевантних дескрипторів наведено у табл. 8.3 (додаток Е. 2).

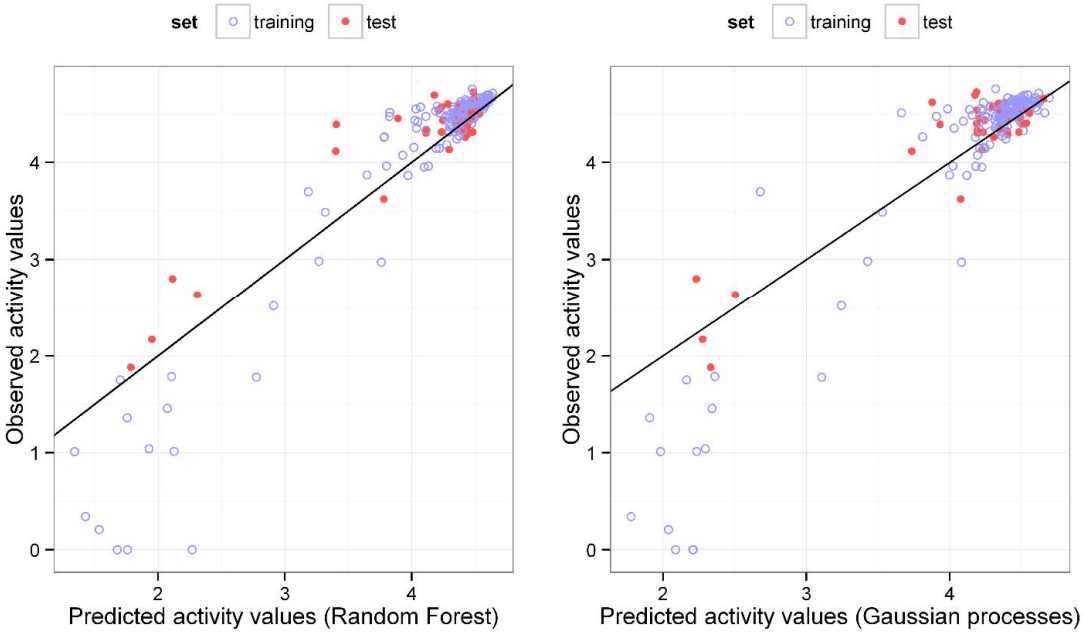


Рис. 8.4. Фактичні значення проти прогнозованих (логарифми відсотків росту)

Таблиця 8.3

Найважливіші дескриптори методів *Random Forest* та *регресії Гаусівських процесів*

N	Дескриптори моделі *Random Forest* *	Відносна важливість		Дескриптори моделі *регресії Гаусівських процесів**	Відносна важливість
1	GATS5e	100		HOMO	100
2	BEHv1	98,34		BEHv1	97,34
3	HOMO	80,55		HATS5m	95,66
4	Mor18u	77,29		GATS5e	87,85
5	HATS5m	77,04		C,034	76,52

*GATS5e - коефіцієнт автокореляції Гірі з відставанням 5, зважений атомними електронегативностями Сандерсона

BEHv1 це найвище власне значення матриці Бердена, зважене атомними об'ємами ван дер Ваальса

HOMO – енергія найвищої зайнятої атомної орбіталі

Mor18u - це 3D-MoRSE дескриптор із параметром розсіювання 17 Å^{-1}, незважений

HATS5m – це важільно-зважена автокореляція із відставанням 5, зважена атомними масами

C.034 – це число R--C(R)..X фрагментів, де R та R є будь-якими замісниками, що утворюють з нодальним атомом C, C-C зв'язок, X – будь-який гетероатом, -- позначає ароматичний зв'язок у напрямку атома C, та .. означає ароматичний зв'язок із гетероциклічним атомом

Матриця попарної кореляції між цими дескрипторами показує відсутність помітних взаємозв'язків з найвищим коефіцієнтом кореляції r = 0,521 між BEHV1 та HOMO.

Опис впливу прогнозуючого чинника на результат складних моделей є достатньо складним завданням, оскільки такі чинники можуть взаємодіяти між собою. Таким чином, нас цікавить не лише загальний взаємозв'язок між активністю та дескриптором, але й умовний вплив дескриптора на інші. Для оцінки умовного ефекту робимо спрощення, розділяючи сполуки на «активний» клас та «неактивний». Межу між класами було встановлено шляхом мінімізації розбіжності Кульбека-Лейблера між емпіричним розподілом значень активності потенційно неактивних сполук та теоретичним нормальним розподілом з тим же середнім значенням та дисперсією, як описано у [441]. Ця межа досягла значення 4,33. Крім того, прогнозування моделей було записано в мережі досліджуваних значень дескриптора, тоді як інші дескриптори були встановлені за фіксованими середніми значеннями і) "активних" сполук та іі) "неактивних" сполук класу. Оскільки кількість «неактивних» молекул значно більша (154 проти 51 у «активному» класі), умовний вплив на «неактивний» клас буде близьким до абсолютного ефекту. Якщо графіки умовних ефектів різняться між двома класами, то в досліджуваній моделі відбувається значна взаємодія між дескрипторами.

Діаграма умовних ефектів для дескриптора GATS5e зображено на рис. 8.5. Перш за все, слід відмітити, що дана діаграма ілюструє відмінність між двома алгоритмами. Хоча вплив дескриптора в моделі *Random Forest* описується ступеневою функцією, той самий ефект у моделі Гаусівських процесів представлений згладженою кривою. Аналіз впливу GATS5e показує, що низькі значення коефіцієнта Гірі пов'язані з вищими рівнями активності щодо *T brucei*. Модель *Random Forest* прогнозує нижчі значення *log (відсоток росту)*, якщо GATS5e є нижчим, ніж 0,77. Спостерігаємо, що можливе зниження *log (відсотку росту)*, за рахунок дослідженого дескриптора в «активній» групі сполук, є більш ніж у два рази вищим, ніж для «неактивної групи». Це є ознакою взаємодії

дескрипторів: дескриптор GATS5e проявляє свій вплив лише, коли інший дескриптор «запускає» його в дію. У випадку *регресії Гаусівських процесів*, форма кривої впливу відрізняється для двох груп сполук: для «активного» класу ефект представлений монотонно зростаючою функцією (підтверджуючи, що нижчі значення дескриптора сприятливі), тоді як для "неактивного" класу крива має максимум на рівні 1,13. Це також підтримує істотну роль взаємодій дескрипторів. Щоб детальніше ознайомитись, що є передумовами низьких значень дескрипторів GATS5e, ми знайшли та порівняли структури сполук з найнижчими та найвищими значеннями GATS5e та протиставили ці структури одній із найактивніших сполук у наборі даних (рис. 8.6). За визначенням, коефіцієнт Гірі обчислюється наступним чином:

$$GATS_k = \frac{\frac{1}{2\Delta_k} \times \sum_{i=1}^{A}\sum_{j=1}^{A}(w_i - w_j)^2 \times \delta(d_{ij};k)}{\frac{1}{A-1} \times \sum_{i=1}^{A}(w_i - \overline{w})^2}, \qquad (8.4)$$

де w_i є будь-якою властивістю атома (електронегативністю Сандерсона у випадку GATS5e), $\overline{w}$ - середнє значення цієї властивості на молекулу, A - кількість атомів, k – враховане відставання, d_{ij} - топологічна відстань між атомами i-го та j-го, а $\delta(d_{ij}; k)$ - дельта Кронекера, що дорівнює 1, якщо $d_{ij} = k$, в іншому випадку – нуль, Δ_k - кількість пар вершин на відстані, рівній k [442]. Звідси випливає, що значення GATS5e <1 означають позитивну автокореляцію, а значення >1 означають негативну автокореляцію. Є два способи отримати позитивну автокореляцію GATS5e: зменшити чисельник рівняння (4), роблячи атоми на відстані в 5 зв'язків однаковими, і зменшуючи кількість атомів на відстані 5-зв'язків, або збільшити знаменник шляхом введення атомів, які зміщуються середню електронегативність далеко від значення Карбону (найчастішого члена молекулярного графіка). Останній варіант може бути реалізований, розміщуючи електронегативні атоми в пара-положенні 6-членних кілець безпосередньо або через одноатомний лінкер. Дане твердження чітко доводиться структурами Les -3416 та Les -3120 (рис. 8.6). На відміну, від цих сполук, Les-3801 містить багато гетероатомів локалізованих на

топологічних відстанях, коротших за 5 зв'язків. Таким чином, наявність взаємодії дескрипторів спричиняє ситуацію, коли присутність електронегативних атомів у пара-положенні 6-членних кілець є сприятливою, але недостатньою для виявлення помітного впливу на *T brucei*.

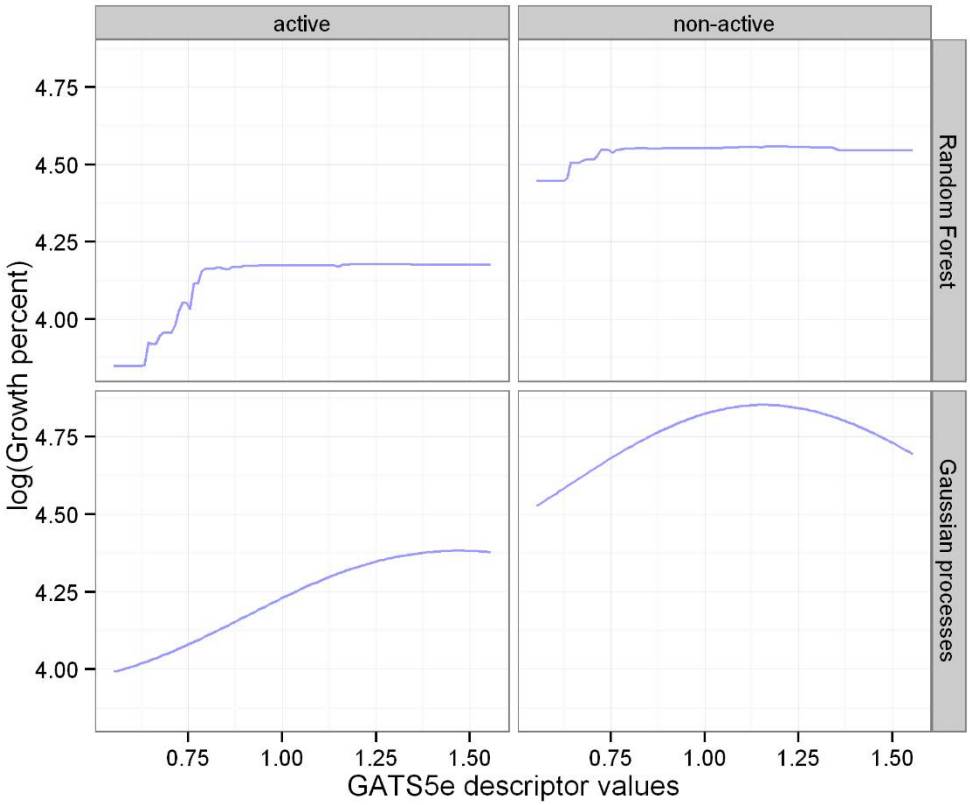
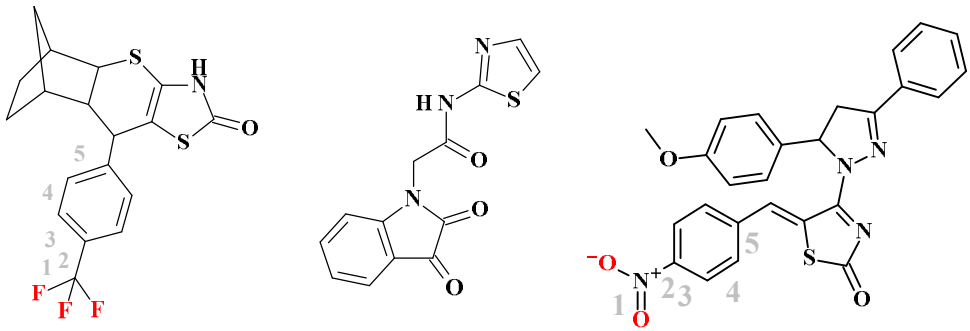


Рис. 8.5. Умовний ефект дескриптора GATS5e на активність щодо *T. brucei*



Les-3416
GATS5e = 0,552,
log (% росту) = 4,45

Les-3801
GATS5e = 1,555,
log (% росту) = 4,62

Les-3120
GATS5e = 0,707,
log (% росту) = 0

Рис. 8.6. Сполуки із найвищим та найнижчим значенням GATS5e у порівнянні із однією з найактивніших молекул

Другим за значимістю дескриптором у двох моделях є BEHv1 – найвище власне значення матриці Бердена, зважене атомними об’ємами Ван дер Ваальса. Діаграма умовного ефекту вказує, що більш високі значення BEHv1 пов'язані з кращою активністю (рис. 8.7). Взаємодія дескрипторів є значною лише в моделі *Гаусівських процесів*.

Матриця Бердена, зважена атомними об’ємами Ван дер Ваальса визначається наступним чином: діагональними елементами B_{ii} є атомні об’єми Ван дер Ваальса; поза-діагональні елементи B_{ij}, що представляють два зв’язані атоми i та j дорівнюють 0,1, 0,2, 0,3 та 0,15 для одинарного, подвійного, потрійного та ароматичного зв’язку відповідно; поза-діагональні елементи B_{ij}, що репрезентують термінальні зв’язки збільшуються на 0,01; та всі інші елементи матриці встановлюються на 0,001 [442]. Зважаючи на те, що більші об’єми Ван дер Ваальса у досліджуваних сполуках спостерігаються для атомів брому, хлору та карбону, більша частка цих атомів веде до вищих значень BEHv1. Значного збільшення значення цього дескриптора можна досягти також шляхом введення в структуру подвійних та ароматичних зв’язків, особливо C=S та C=C.

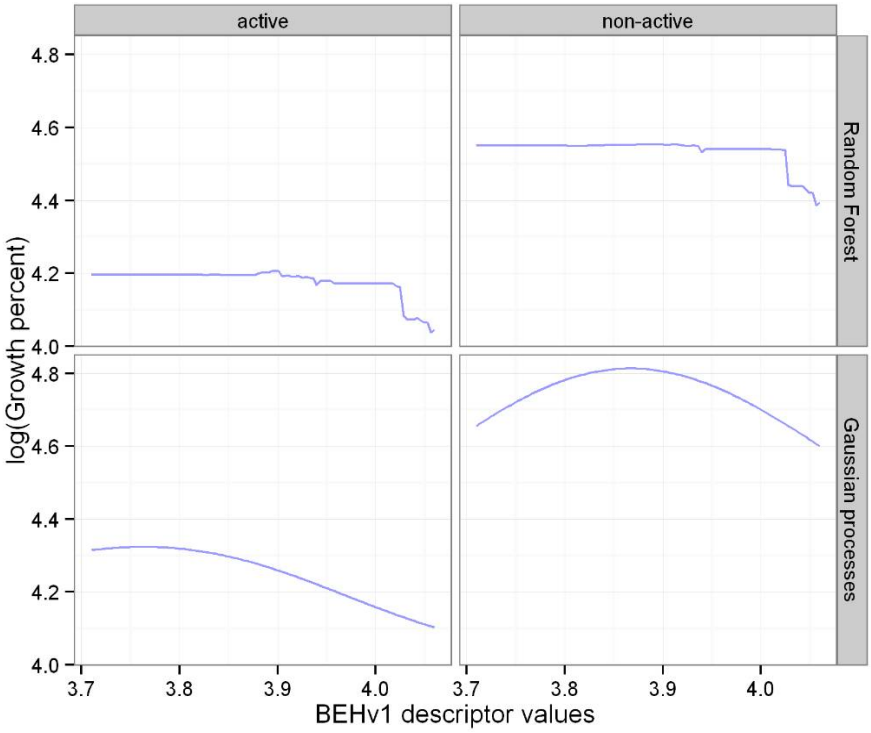
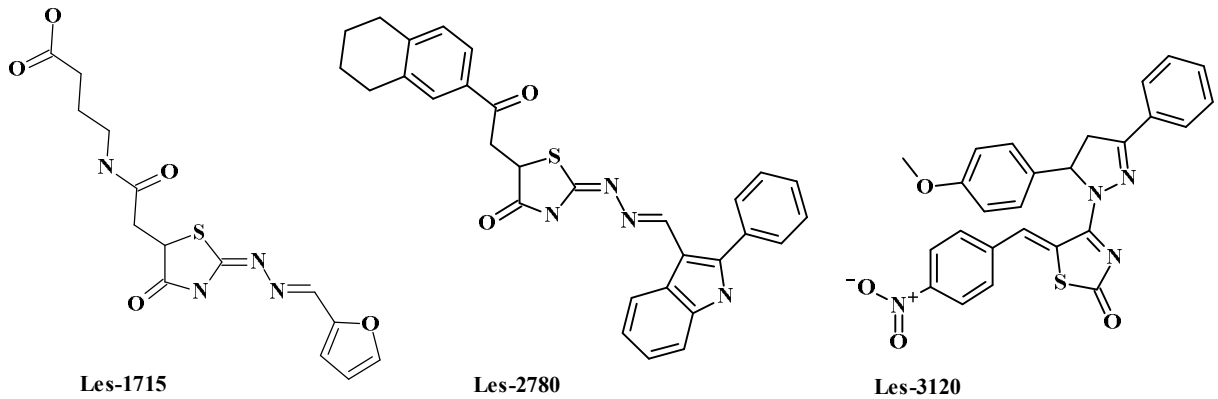


Рис. 8.7. Умовний ефект дескриптора BEHv1 на активність щодо *T brucei*

Також сприятливою є вища розгалуженість молекули. Це підтверджено структурою сполуки Les-1715, що містить багато гетероатомів, декілька подвійних зв’язків, тільки три ароматичні зв’язки між атомами карбону та низьку розгалуженість і відповідно найнижче значення BEHv1=3,71 (рис. 8.8). З іншого боку, сполуки Les-2780 та Les-3120 містять більше ароматичних зв’язків, є розгалуженими молекулами та мають вищу частку карбону. Однак, як видно з графіку умовного ефекту (рис. 8.7), високі значення лише дескриптора BEHv1 не свідчать про високу активність молекули



Les-1715
BEHv1 = 3,71,
log (% росту) = 4,62

Les-2780
BEHv1 = 4,06,
log (% росту) = 4,57

Les-3120
BEHv1 = 3,94,
log (% росту) = 0

Рис. 8.8. Сполуки із найвищим та найнижчим значеннями дескриптора BEHv1 у порівнянні із однією з найактивніших сполук

Енергія HOMO в цілому характеризує здатність молекули взаємодіяти з електрофілами. У навчальній вибірці є високоактивні сполуки з високою та низькою енергією HOMO (це зображено двома низхідними хвостами на рис. 8.9. Низька енергія HOMO зумовлюється слабкою нуклеофільністю і може бути досягнута шляхом введення у молекулу електроноакцепторних груп, як, наприклад, нітрогрупа в Les-3120 (рис. 8.8.). Однак ароматична нітрогрупа присутня у всіх трьох високо-активних молекулах з низькими значеннями дескриптора HOMO. Такий факт викликає підозру, що анти-трипаносомна активність первинно зумовлена не низькою енергією HOMO, а наявністю ароматичної нітрогрупи, що підвищує цитотоксичність молекули. З іншого боку, висока енергія HOMO робить молекулу

більш нуклеофільною і є бажаною у взаємодії ліганд-мішень як акцептор водневого зв'язку. Одна з таких сполук представлена на рис. 8.10.

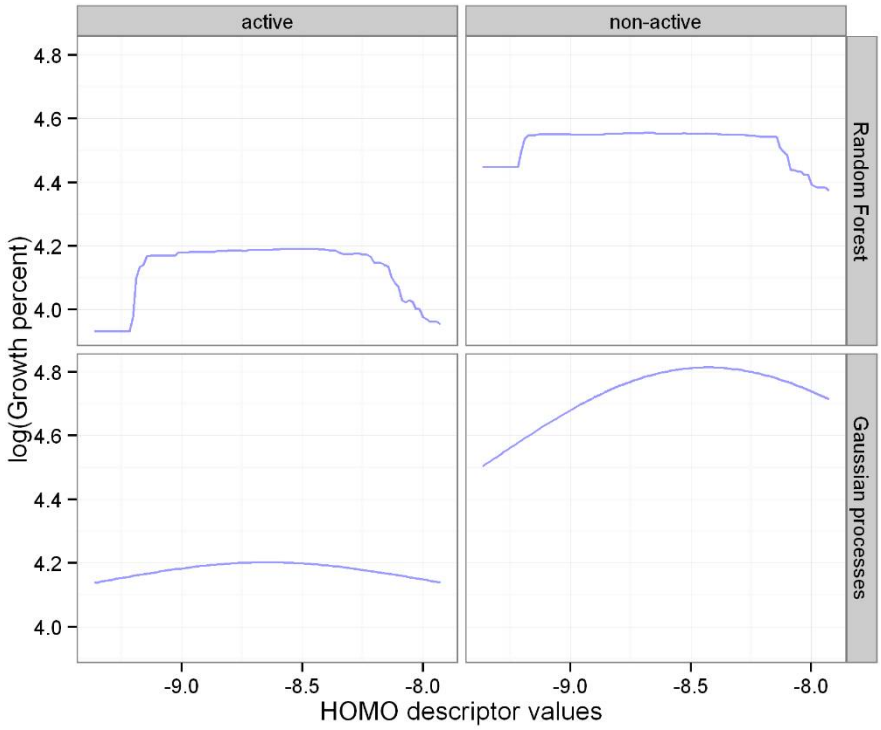


Рис. 8.9. Умовний ефект дескриптора HOMO на активність щодо *T brucei*

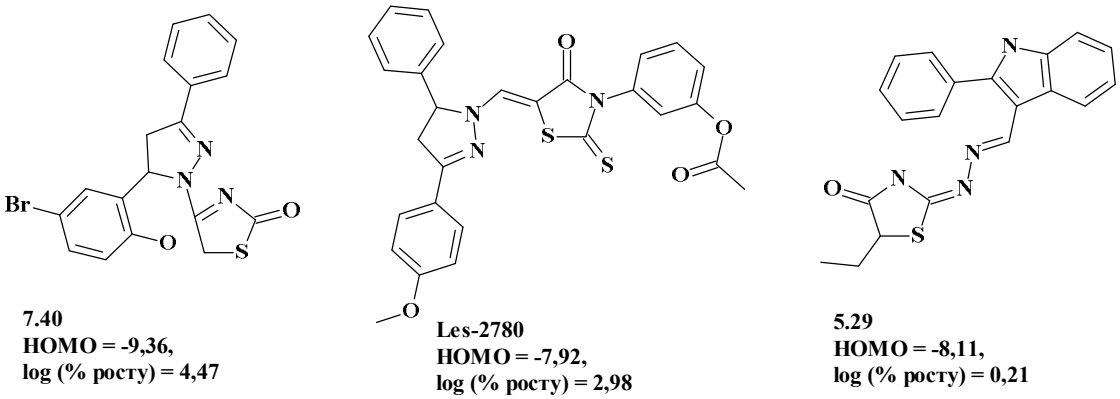


Рис. 8.10. Сполуки із найвищим та найнижчим значеннями енергії HOMO у порівнянні із однією з найактивніших молекул **5.29**

Дескриптор Mor18u належить до 3D-MoRSE дескрипторів (Molecule Representation of Structures based on Electron diffraction - дескриптори 3D-молекулярного представлення структури на основі дифракції електронів). Розрахунок 3D-MoRSE дескрипторів базується на отриманні інформації із 3D-атомних координат шляхом перетворень, що використовуються у дослідженні дифракції електронів [443]. Вони обчислюються як значення функції радіального розподілу:

$$I(s) = \sum_{i=2}^{N} \sum_{j=1}^{i-1} A_i A_j \frac{\sin sr_{ij}}{sr_{ij}}, \qquad (8.5)$$

де s – параметр розсіювання, що набуває цілих значень від 0 до 31 Å^{-1}, r_{ij} - евклідова відстань між i-им та j-им атомами, N – загальна кількість атомів, а A_i і A_j – різні атомні властивості. Дескриптор Mor18u відповідає параметру розсіювання s=17 Å^{-1} (оскільки нумерація параметрів починається з нуля) і є не зважена (всі A дорівнюють 1). Хоча цей дескриптор є важливим для алгоритму *Random Forest*, діаграма умовного впливу цього методу свідчить про його незначний вплив (рис. 8.11). Так як вплив дескрипторів не може бути поставлений під сумнів, ми припускаємо, що ефект сильно залежить від (тобто взаємодіє з) деяких інших дескрипторів. Однак напрям цього ефекту можна чітко визначити у діаграмі умовного впливу для моделі Гаусівських процесів. Зокрема, низькі значення Mor18u є сприятливими для антитрипаносомної активності.

Значення дескрипторів 3D-MoRSE пов'язані з довжиною зв’язків у молекулі, а основні від’ємні значення у функції радіального розподілу відповідають ароматичним та π зв’язкам між атомами карбону. Як наслідок, збільшення кількості ароматичних кілець та зв'язків C = C сприяє активності. Цей факт також підтверджується структурами сполук з найвищими та найнижчими значеннями дескриптора Mor18u порівняно з однією з найбільш активних сполук (рис. 8.12).

HATS5m належить до родини дескрипторів GETAWAY (Geometry, Topology, Atom-Weights Assembly) і є зваженим атомними масами коефіцієнтом автокореляції, із відставанням 5. Аналіз діаграми умовного ефекту показав, що як низькі, так і високі значення HATS5m підвищують анти-трипаносомну активність (рис. 8.13).

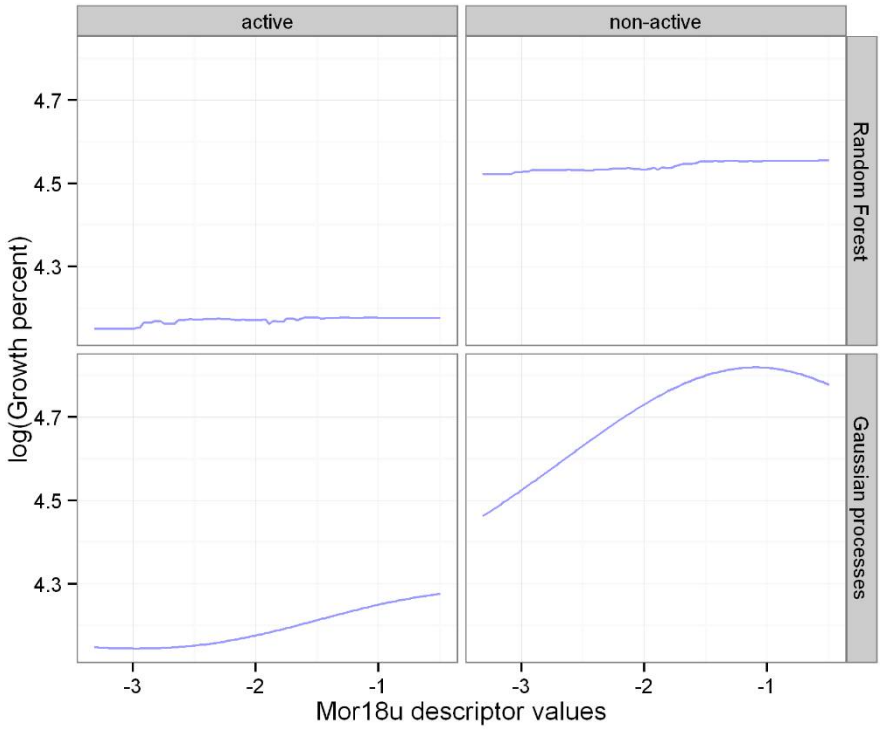
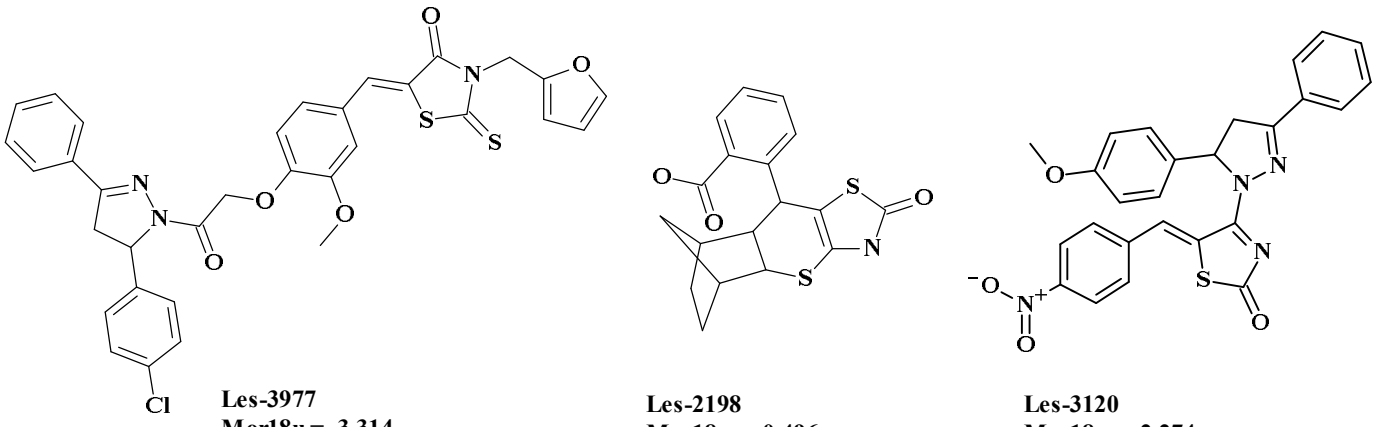


Рис. 8.11. Умовний ефект дескриптора Mor18u на активність щодо *T brucei*



Les-3977
Mor18u = -3,314,
log (% росту) = 4,66

Les-2198
Mor18u = -0,496,
log (% росту) = 4,69

Les-3120
Mor18u = -2,274,
log (% росту) = 0

Рис. 8.12. Сполуки із найвищим та найнижчими значеннями дескриптора Mor18u у порівнянні із однією з найактивніших сполук

Значення дескрипторів HATS розраховуються як сума фізико-хімічних влстивостей поєднаних із діагональними елементами матриці молекулярного впливу:

$$HATS_k(w) = \sum_{i=1}^{A}\sum_{j\geq i}^{A}(w_i \times h_i) \times (w_j \times h_j) \times \delta(d_{ij}; k), \quad (8.6)$$

де w представляє схему зважування, $\delta(d_{ij}; k)$ є дельта-функцією Дірака і дорівнює 1, коли топологічні відстані d_{ij} між атомами i та j дорівнюють k або – 0 в інших випадках. У випадку дескриптора HATS5m k=5 і зважування базується на атомних масах і градується по атому карбону (напр., m(C)=1) [442]. Важелі h, які є діагональними елементами матриці молекулярного впливу H, в основному залежать від відстані атома до геометричного центру молекули. Крайні атоми, які не мають сусідніх атомів поблизу, показують найвищі значення h, тому вони є найбільш впливовими членами рівняння (8.6). Зважування за атомними масами фактично виключає вплив Гідрогену, робить ролі карбону, азоту та кисню однаковими та збільшує роль сульфуру, хлору та брому (найважчих атомів досліджуваних сполук). Низькі значення HATS5m демонструються сполуками з вираженою круглою або сферичною геометричною симетрією, як Les-4376 або Les-3120 (рис. 8.14). Це означає негативний вплив довгих вуглецевих ланцюгів і позитивний вплив збільшення кількості конденсованих циклів на анти-трипаносомну активність.

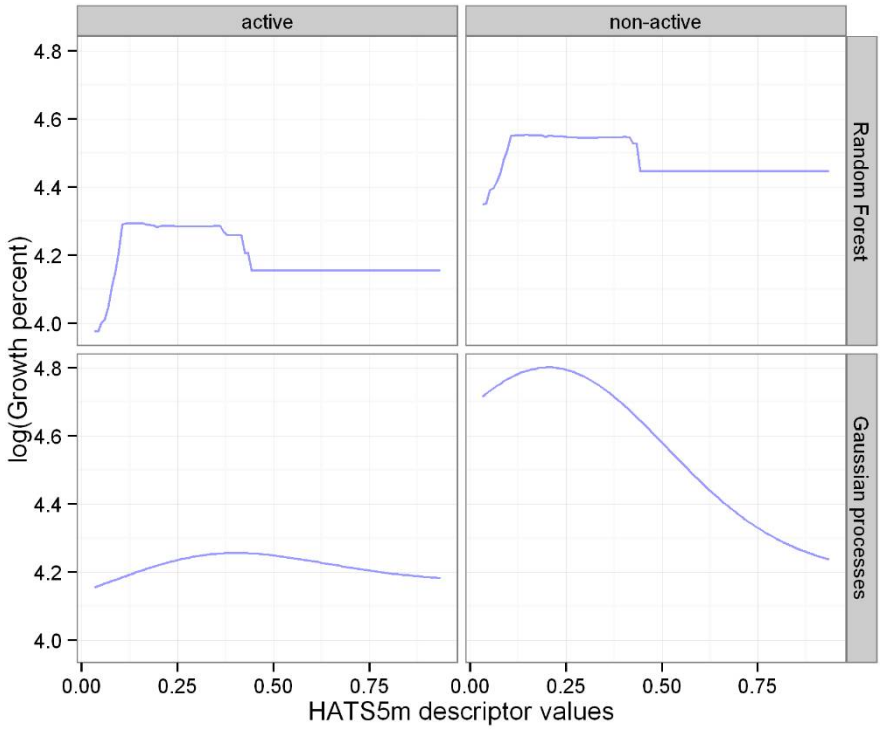
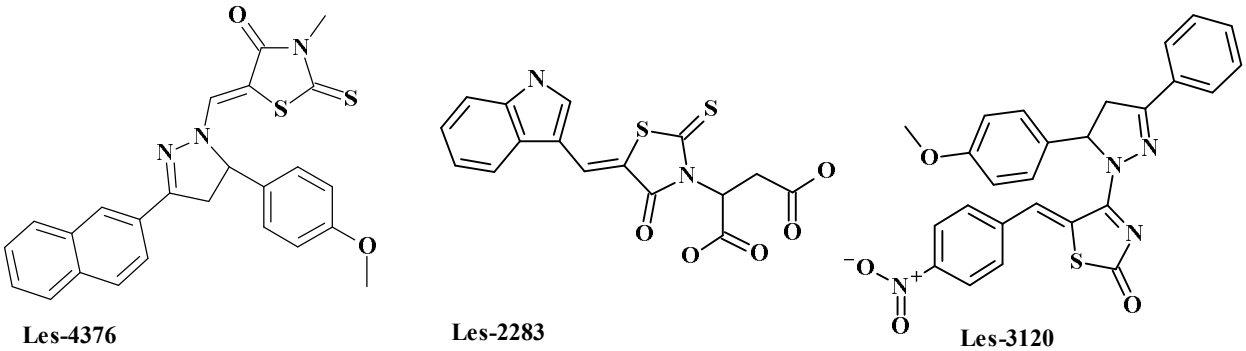


Рис. 8.13. Умовні ефекти дескриптора HATS5m на активність щодо *T brucei.*



Les-4376
HATS5m = 0,046,
log (% росту) = 1,01

Les-2283
HATS5m = 0,935,
log (% росту) = 4,58

Les-3120
HATS5m = 0,099,
log (% росту) = 0

Рис. 8.14. Сполуки із найвищим та найнижчими значеннями дескриптора HATS5m у порівнянні із однією з найактивніших сполук

C.034 є атомно-центрованим фрагментним дескриптором Хосе-Кріпена, який зображає кількість R--C(R)..X фрагментів, де R є будь-якими замісниками, що утворюють C-C зв'язок із нодальним атомом C, X – будь-який гетероатом, -- позначає ароматичний зв’язок із атомом C, .. означає одинарний ароматичний зв'язок із гетероциклічним атомом.

Хоча це значення дескриптора є цілим за своєю природою, регресія Гаусівських процесів трактує його як інші безперервні змінні. Ось чому графік умовного ефекту для цього алгоритму є також згладженою кривою (рис. 8.15). Цей графік також пропонує групову активність сполук з двома визначеними вище фрагментами у структурі молекули. Серед досліджуваних сполук така умова виконується лише при введенні 1-заміщеного 2-індолільного фрагменту як у **5.29** (рис. 8.16). З всіх тестованих сполук, що містять цей фрагмент 13 класифікують як "активні", використовуючи згаданий вище поріг. Це дає можливість розглядати 1-заміщений 2-індоліл як перспективний каркас для розробки нових анти-трипаносоманих засобів. Варнто зазначити, що жоден із виділених дескрипторів не має достатнього впливу для гарантування біологічної активності. Зовсім навпаки, ті сполуки, які виявляють високу протипаразитарну активність відповідають вимогам майже всіх релевантних дескрипторів.

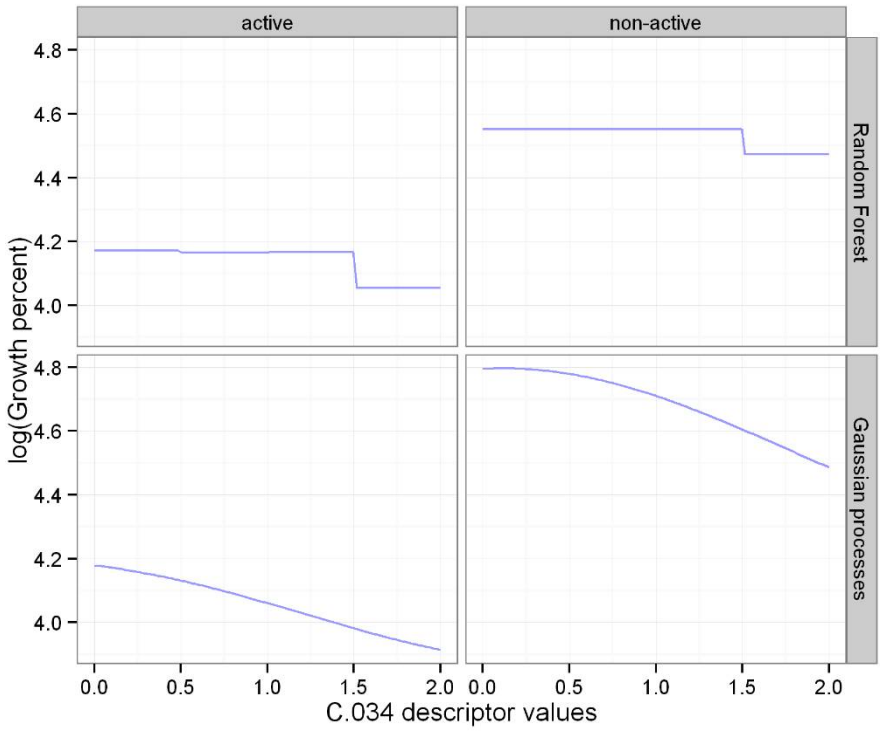
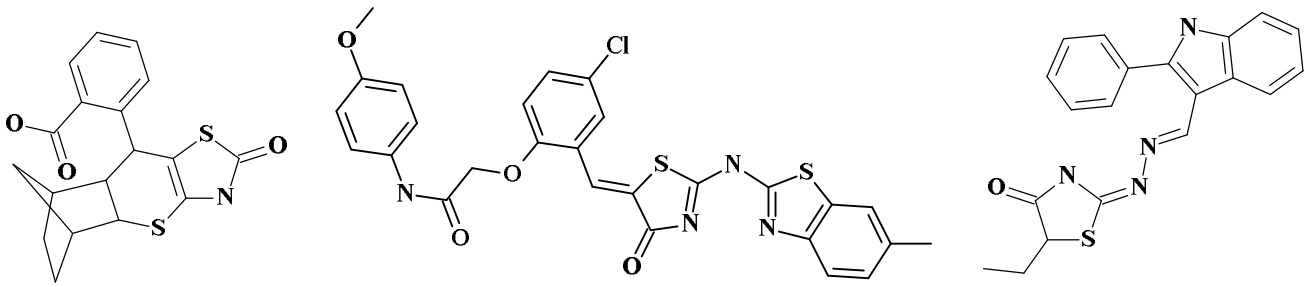


Рис. 8.15. Умовний вплив дескриптора C.034 на активність щодо *T brucei*



Les-2198
C.034 = 0,
log (% росту) = 4,69

Les-3605
C.034 = 1,
log (% росту) = 4,45

5.29
C.034 = 2,
log (% росту) = 0,21

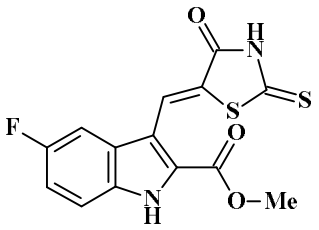
Рис. 8.16. Довільні сполуки із значеннями дескриптора C.034 рівними 0, 1 і 2

Таким чином, на основі даних про протитрипаносомну активність більш, ніж 200 сполук порівнювали ефективність чотирьох алгоритмів машинного навчання: методу *Random Forest*, методу *стохастичного підвищення градієнта* (Stochastic Gradient Boosting, SGB), *сплайнів багатовимірної* адаптивної *регресії* (Multivariate Adaptive Regression Splines, MARS) та *регресії Гаусівських процесів* (Gaussian Processes regression). Результати методів регресії *Random Forest* та *Гаусівських процесів* є співмірними та перевершують інші досліджені методи. Попередній відбір

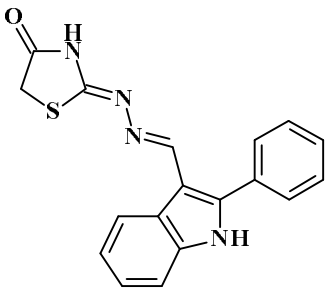
дескрипторів за допомогою методу *Boruta* (який, у свою чергу, ґрунтується на підборі функції *Random Forest*), покращив результати методів машинного навчання. Дві нові QSAR-моделі, розроблені за допомогою алгоритмів регресії *Random Forest* та *Гаусівських процесів*, описують анти-трипаносомну активність та володіють хорошою прогностичною здатністю, що було доведено зовнішньою оцінкою на тестовому наборі з відповідними Q2ext = 0,812 та Q2ext = 0,830. Отримані моделі можна додатково використовувати для *in silico* скринінгу віртуальних бібліотек з метою пошуку нових сполук з перспективною протитрипаносомною активністю. Ретельний аналіз впливу дескрипторів у QSAR-моделях та інтерпретація їх хімічного значення дозволяє виділити ряд взаємозв'язків структура-активність. Доведено, що наявність фенільних кілець з електроноакцепторними атомами або групами у пара-положенні, збільшена кількість ароматичних кілець, висока розгалуженість, але короткі ланцюги, висока енергія HOMO та введення 1-заміщеного 2-індолільного фрагменту у молекули є передумовами високої проти-трипаносомної активності [424].

8.2. Поглиблене вивчення цитотоксичності сполук-хітів до нормальних клітин та клітин ряду пухлинних ліній та встановлення їх індексів селективності

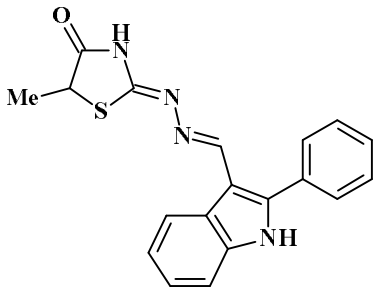
В результаті проведених досліджень біологічної активності синтезованих сполук із різних груп похідних тіазолу та тіазолідинону ідентифіковано декілька сполук-хітів, що характеризувалися високою протипухлинною та протитрипаносомною активністю. Гібридні молекули, що вміщують [6+5]-гетероциклічну систему індолу та ядро 4-тіазолідинону виявилися найперспективнішим класом із всіх досліджених похідних тіазолідинону. При чому, дані сполуки характеризувалися, як високою протипаразитарною, так і високою антипроліферативною активністю.



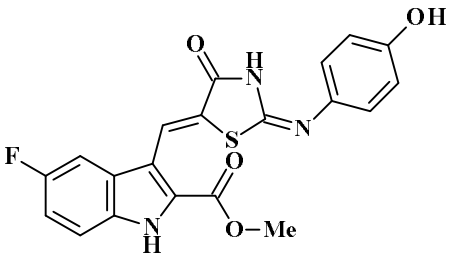
6.47
GI_{50} = 0,041-11,1 мкМ (*NCI protocol*)



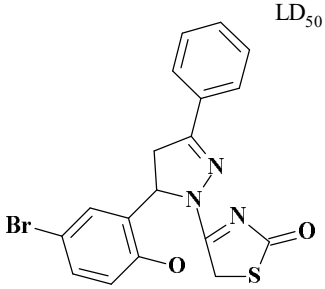
5.27
IC_{50} = 0,23 мкМ (*Tb gambiense*);
IC_{50} = 1,72 мкМ (*Leishmania major*)



5.28
IC_{50} = 0,21 мкМ (*Tb gambiense*);
IC_{50} = 1,04 мкМ (*Leishmania major*);
LD_{50} = 220 мг/кг



7.32
IC_{50} = 9,39 мкМ (*лінія Лейкемії HL-60*)



7.40
GI_{50} = 0,035-14,7 мкМ (*NCI protocol*);
Інгіб. росту *Tb brucei* 98% (10 мкг/мл)

Рис. 8.17. Сполуки-хіти із високою протипухлинною та/або протитрипаносомною активністю відібрані для поглибленого вивчення цитотоксичності на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3

В рамках концепції ліків із поліфармакологічним профілем, для сполук-хітів 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів **5.27** та **5.28** [325], із найкращими показниками інгібування росту паразитів *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei rhodesiense* досліджувалася антипроліферативна активність *in vitro* на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2. Також, інгібування росту клітин цієї лінії вивчалося для сполук **6.47** [387] і **7.40** [417], що показали суттєвий вплив на панель ліній ракових клітин в експерименті згідно протоколу NCI та сполуки **7.32**, що характеризувалася високою антипроліферативною активністю щодо лінії HL-60 промієлоцитарного лейкозу людини та суттєво інгібувала ріст ряду лейкемічних клітинних ліній згідно протоколу NCI (див. п. 7.6.2).

Цитотоксичність вищезазначених сполук (рис. 8.17) досліджувалася на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2 людини та нормальних мишачих фібробластах Balb/c 3T3 у 4 біохімічних експериментах: мітохондріальний (MTT) та

лізосомний (NRU) тести, дослідження загального вмісту білку (TPC тест) та цілісності клітинної мембрани (LDH тест) після експозиції тестованих речовин протягом 24, 48 та 72 год.

Позитивним результатом досліджень для всіх сполук-хітів є те, що клітини гепатоцелюлярної карциноми HepG2 людини виявилися чутливішими до їх дії, ніж нормальні клітини Balb/c 3T3. Метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.47** спричиняв зниження концентрації досліджуваних об'єктів на 20% у концентрації 0,01мкМ у всіх експериментах на клітинах лінії HepG2 після експозиції у 3 часових точках.

Значення цитотоксичних концентрацій (CC_{20}, CC_{50} та CC_{80}) для гепатоцелюлярних та нормальних клітин представлено у табл. 8.1 (додаток Е.3). Цитотоксичність досліджуваної сполуки **6.47** спостерігалася вже після 24-годинної експозиції на клітини HepG2 в тестах MTT, NRU та LDH. Варто зазначити, що найнижчі субмікромолярні концентрації (CC_{20} та CC_{50}) були виявлені в аналізі на LDH. Сполука **6.47** діяла на клітинні мембрани, що призводило до розпаду клітин гепатоми HepG2 людини. З іншого боку, це гальмувало клітинний метаболізм й нормальних фібробластів Balb/c 3T3, хоча й у вищих концентраціях, ніж пухлинних клітин. Загалом метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.47** характеризувався низькими значеннями цитотоксичних концентрацій на клітинах гепатоми людини HepG2, що підтверджує дані отримані в Національному інституті раку (США) у дослідженні на панелі 60 ліній різних ракових клітин.

Таблиця 8.1

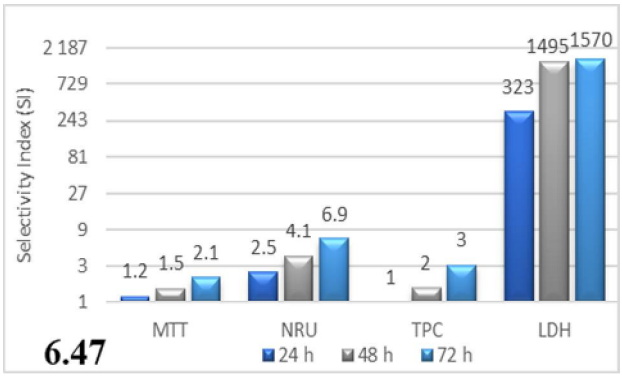
Значення цитотоксичних концентрацій (CC_{20}; CC_{50}; CC_{80})[a] для сполуки 6.47 в тестах на клітинах HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3

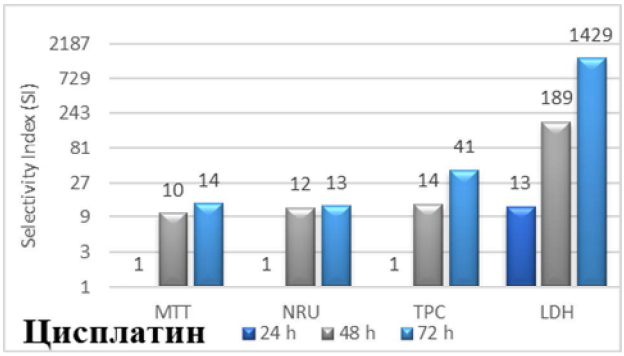
Клітинна лінія	Метод	Час (год)	CC_{20}, мкМ	CC_{50}, мкМ	CC_{80}, мкМ
Balb/c 3T3	MTT	24	7,9±1,1	54,3±2,9	-
		48	0,8±0,4	25,0±2,3	84,8±1,6
		72	0,6±0,4	24,0±2,7	77,6±1,6
	NRU	24	5,4±1,9	-	-

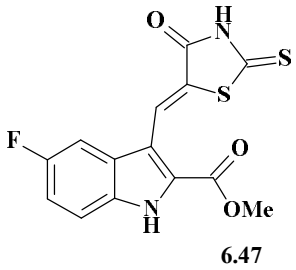
		48	2,4±1,1	-	-
		72	0,7±0,3	51,5±3,8	-
	TPC	24	6,1±1,8	-	-
		48	3,7±1,3	-	-
		72	1,6±0,7	48,3±3,7	
	LDH	24	-	-	-
		48	16,4±2,5	89,7±3,1	-
		72	2,9±1,2	62,8±3,4	-
HepG2p	MTT	24	3,0±1,3	44,7±0,9	95,6±1,9
		48	0,3±0,2	16,3±2,4	79,4±1,2
		72	-	11,4±0,5	67,9±0,8
	NRU	24	2,4±1,0	40,1±0,9	80,7±1,2
		48	0,06±0,03	24,5±2,7	73,5±2,0
		72	-	7,5±1,0	59,6±1,3
	TPC	24	3,7±1,2	-	-
		48	1,6±0,3	63,9±3,1	-
		72	0,08±0,01	35,6±3,3	-
	LDH	24	-	0,31±0,1	20,3±2,8
		48	-	0,06±0,01	16,2±2,4
		72	-	0,04±0,02	3,6±1,3

CC_{20}, CC_{50} та CC_{80} (мкМ) представляють концентрації досліджуваних сполук, необхідні для інгібування 20, 50 та 80 % у MTT, NRU, TPC та ЛДГ тестах. Дані бралися, виражені як середнє значення±СВ із дозо-залежних кривих у мінімум 3-ох експериментах.

Для встановлення терапевтичного потенціалу сполуки **6.47,** на основі різниці цитотоксичної концентрації щодо клітинної лінії HepG2 та відповідної псевдо-нормальної клітинної лінії, для кожного з проведених тестів обчислено індекси селективності (ІС) (рис. 8.18). ІС - важливий фармацевтичний параметр, який полегшує оцінку можливого майбутнього клінічного розвитку; більш високі значення ІС вказують на вищу селективність протипухлинної дії, а сполуки, із ІС вище 3,0, вважаються високо-селективними агентами [285]. Результати нашого дослідження довели, що нормальні клітини менш чутливі до досліджуваної сполуки, ніж пухлинні. Найвищі значення ІС були отримані у LDH тесті, цей ефект посилювався із часом експозиції і був вищим, ніж для препарату порівняння цисплатину. На основі проведених досліджень можна зробити висновок, не тільки про достатньо високу протиракову дію сполуки **6.47**, а й про селективність такої.







6.47

Рис. 8.18. Індекси селективності (ІС) обчислені для сполуки **6.47** та препарату порівняння цисплатину щодо клітин HepG2

Цитотоксичність сполуки **6.47** додатково вивчалися у МТТ тесті на клітинах карциноми молочної залози (MCF-7), прямої кишки (HCT116), шийки матки (HeLa), легень (A549), лінії псевдо-нормальних клітин (кератиноцитів HaCaT людини). Найвища цитотоксичність спостерігалася на лінії раку молочної залози та прямої кишки. Сполука **6.47** інгібувала ріст клітин лінії MCF-7 у концентрації CC_{50} – 0,6 мкМ та лінії HCT116 при CC_{50} – 0,7 мкМ (рис. 8.19, табл. 8.2). Клітини лінії раку легень A549 виявилися менш чутливими до дії **6.47**, концентрація CC_{50} була на порядок вищою – 9,4 мкМ, тоді як клітини шийки матки HeLa були взагалі нечутливими до **6.47** із CC_{50} >10 мкМ. Слід відмітити, що у концентрації 10 мкМ сполука **6.47** інгібувала ріст псевдо-нормальних клітин HaCaT всього на 18,6% (рис. 8.19, табл. 8.2).

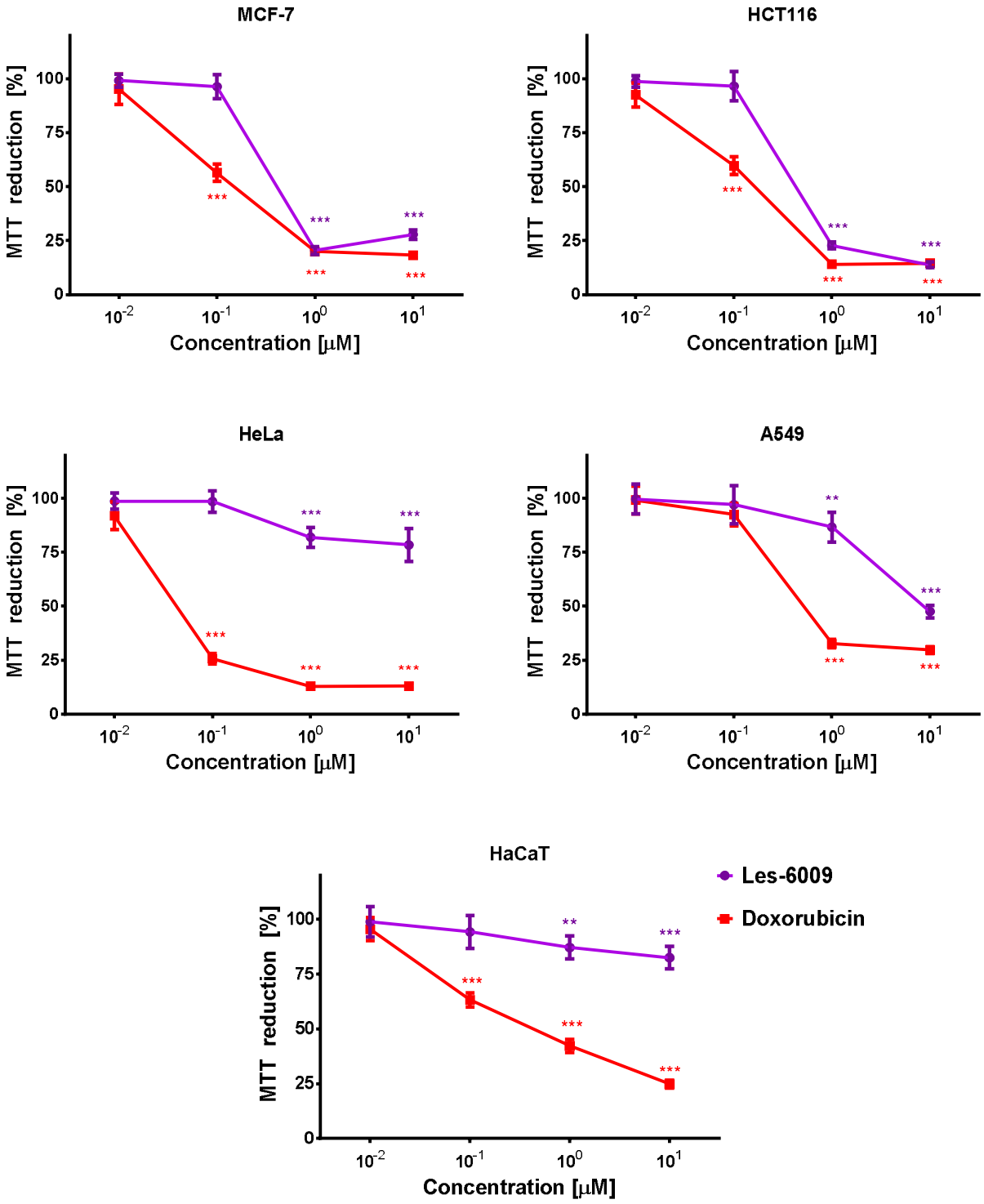


Рис. 8.19. Концентраціє-залежна відповідь клітин карциноми молочної залози (MCF-7), прямої кишки (HCT116), шийки матки (HeLa), легень (A549) та лінії кератиноцитів HaCaT людини у МТТ тесті після 72 год експозиції сполуки **6.47** та доксорубіцину. Дані представлені як середнє значення ± СВ.

Таблиця 8.2

Значення цитотоксичних концентрацій (CC_{20}; CC_{50}; CC_{80})[a] для сполуки 6.47 в МТТ на 72 год експозиції.

Клітинна лінія	CC_{20}, мкМ	CC_{50}, мкМ	CC_{80}, мкМ
MCF-7	0,9±0,07	0,6±0,02	1,0±0,06
HCT116	0,3±0,02	0,7±0,04	3,5±0,23
HeLa	9,4±0,72	>10	>10
A549	2,5±0,2	9,4±0,5	>10
HaCaT	>10	>10	>10

[a] Дані представлені як середнє значення щонайменше 3-ьох незалежних експериментів із дозо-залежних кривих ± СВ.

*Дослідження потенційних механізмів реалізації протипухлинного ефекту сполуки **6.47** на клітинах HepG2.* Гепатоцелюлярна карцинома – генетично складна, гетерогенна пухлина. Це другий за поширеністю вид раку, який зустрічається більш ніж у 90% випадків серед первинного раку печінки. Крім того, важливою проблемою в терапії гепатоцелюлярної карциноми є резистентність її клітин до лікарських засобів [444]. З метою дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі протипухлинних ефектів сполуки **6.47**, проведено вивчення її впливу на каспазу 3 та PARP1 протеїн. Вибір PARP1 протеїну як ймовірної мішені реалізації біологічних ефектів сполуки **6.47**, зумовлене успішними дослідженнями рецепторів активації проліферації пероксисом як потенційних біо-мішеней, задіяних у механізмах фармакологічної дії різних похідних тіазолідонів [445]. Апоптоз – це складний процес, одна з форм загибелі клітини, що проявляється у зменшенні її розміру, конденсації і фрагментації хроматину, ущільненні цитоплазматичної мембрани без виходу вмісту клітини в навколишнє середовище та регулюється величезною кількістю генів та факторів [446].

У клітинах HepG2 під дією сполуки **6.47** спостерігалася активація каспази 3 шляхом розщеплення неактивної форми прокаспази 3. Речовина **6.47** зумовлювала розщеплення (деактивацію) PARP1 (полі[АДФ-рибозо]полімерази 1), білка залученого у репарації ДНК. Подібні зміни у кількості розщеплених каспази 3 і PARP1 спостерігали і під дією доксорубіцину у клітинах HepG2 (рис. 8.20). Каспаза 3 є одним із ключових регуляторів апоптичного шляху клітинної смерті, а також

сигнальних шляхів запалення [446]. Протеїн PARP1 бере участь у відновленні ДНК і є субстратом для каспазного розщеплення [447]. Таким чином, розщеплення каспази 3 та PARP1 пов'язане з пошкодженням ДНК клітин-мішеней.

Рівень фосфорильованого p44/42 MAPK (Erk1/2) не відрізнявся від такого для контрольної групи HepG2 клітин без додавання досліджуваної сполуки (рис. 8.20). Є твердження, що модуляція сигнального каскаду мітоген-активованих протеїнкіназ (MAPK) або шляху позаклітинних сигнал-регульованих протеїнкіназ (ERK) може спричинити антипроліферативний, антиметастатичний та антиангіогенний вплив протиракових агентів [448]. Під дією **6.47** на HepG2 клітини спостерігалося підвищення рівня Bax протеїну (належить до Bcl-2 родини про-апоптичних білків), активація якого може призвести до вивільнення цитохрому С та наступної активації каспази 9 в апоптосомі. Крім того, каспаза 9 активує каспазу 3, спричиняючи апоптоз [449]. Препарат порівняння доксорубіцин також індукував активацію Bax протеїну (рис. 8.20). Таким чином, досліджувана сполука-хіт індукувала апоптоз у HepG2 клітинах через каспаз 3-, PARP1- та Bax-протеїн-залежні шляхи.

Клітини із затримкою прогресування клітинного циклу можуть бути більш чутливими до хіміотерапевтичних засобів [450]. Різні фази клітинного циклу регулюються специфічними протеїнами, як наприклад, циклін-залежними кіназами (CDKs), холестерол-залежними цитолізинами (CDC) та циклінами [451]. Під дією сполуки **6.47** у клітинах HepG2 було виявлено збільшену кількість Cdk2. Проходження фази G1 регулюється циклін-залежними кіназами 2, 4 і 6, циклінами D1, 2, 3 та цикліном E. Зниження рівнів експресії Cdk2 призводить до зупинки переходу G1/S [452]. Також повідомлялося про підвищення активності Cdk2 протягом пізньої фази G1 [450]. Встановлено, що сполука **6.47** не індукувала зміни рівнів фосфорильованої чек-поінт кінази Chk2 та фосфорильованих білків Rb у клітинах HepG2 (Рис. 8.20). Серин/треонін-кіназа Chk2 є одним із ключових компонентів відповіді на пошкодження ДНК (процеси відновлення ДНК) та регулятором прогресування клітинного циклу [453]. За допомогою різних механізмів, кіназа Chk2 зупиняє клітинний цикл на фазах G1/S або G2/M.

.

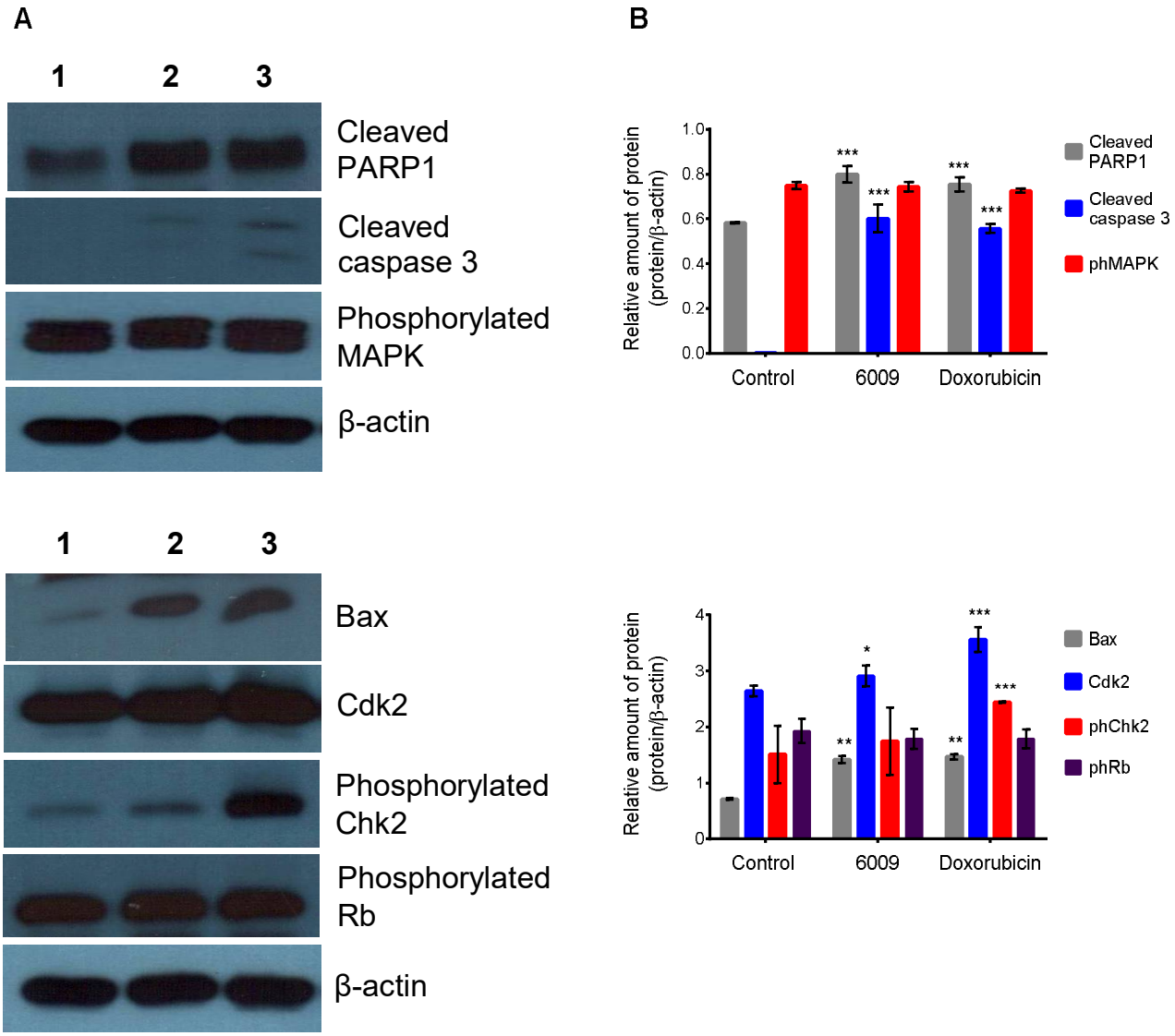


Рис. 8.20. Ефекти досліджуваної сполуки-хіта **6.47** та препарату порівняння доксорубіцину на рівні проапоптичних білків та білків, що регулюють клітинний цикл у клітинах HepG2: Вестерн-блот аналіз потеїнів (**A**); денситометрія вмісту білків (**B**). Експозиція досліджуваної сполуки 24 год. 1 – контроль (клітини без додавання **6.47**), 2 – клітини з додаванням **6.47** (45,0 мкМ), 3 – дія доксорубіцину (1,6 мкМ). PhMAPK – фосфрильована MAPK (p44/42, Erk1/2); phChk2 – фосфорильована Chk2; phRb – фосфорильований пухлинний супресор ретинобластоми (Rb); * – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$; *** – $P < 0.001$ порівняння із контрольними клітинами.

Зупинка G1/S фази включає фосфорилювання та подальшу деградацію фосфатази Cdc25A протеасомою, що попереджує активацію Cdk2, фосфорилювання

p53 та підвищення рівня p21. Затримка GK/M залежна від Chk2 є пов'язана із фосфорилюванням Cdc25C, що впливає на активність комплексу циклін B1/Cdk1. Повідомлялося, що Chk2 може фосфорилювати білок Rb, що призводить до утворення транскрипційно неактивного комплексу pRb/E2F-1, що в свою чергу, спричиняє зупинку фази G1/S [453]. Показано, що сполука **6.47** не впливала на фосфорилювання білка Rb у клітинах HepG2. Доксорубіцин значно підвищував рівень Cdk2, фосфорильованої форми Chk2, однак не модулював фосфорилювання білка Rb у клітинах HepG2 (рис. 8.20)

Пошкодження ДНК – одна з біохімічних ознак апоптозу [422]. Методом ДНК-комет в лужному середовищі досліджено вплив сполуки **6.47** на пошкодження ДНК у клітинах HepG2 (відображений як відсоток пошкодження ДНК у хвості комети та olive tail moment чи «момент оливкового хвоста» у клітинах із досліджуваною сполукою). Сполука **6.47** індукує значне збільшення ДНК у «хвості» комети у клітинах HepG2 (P <0,001, рис. 8.21). Також сполука **6.47** спричиняла пошкодження ДНК у клітинах HepG2 (ДНК у «хвості» = 26,2%, Olive tail moment = 13,2) порівняно з контрольними клітинами (ДНК у «хвості» = 5,76%, OTM (Olive tail moment) = 1,55). Доксорубіцин спричиняв менше пошкоджень ДНК у клітинах HepG2 (ДНК у «хвості» = 23,40%, OTM (Olive tail moment) = 6,92) порівняно із досліджуваною сполукою (рис. 8.21).

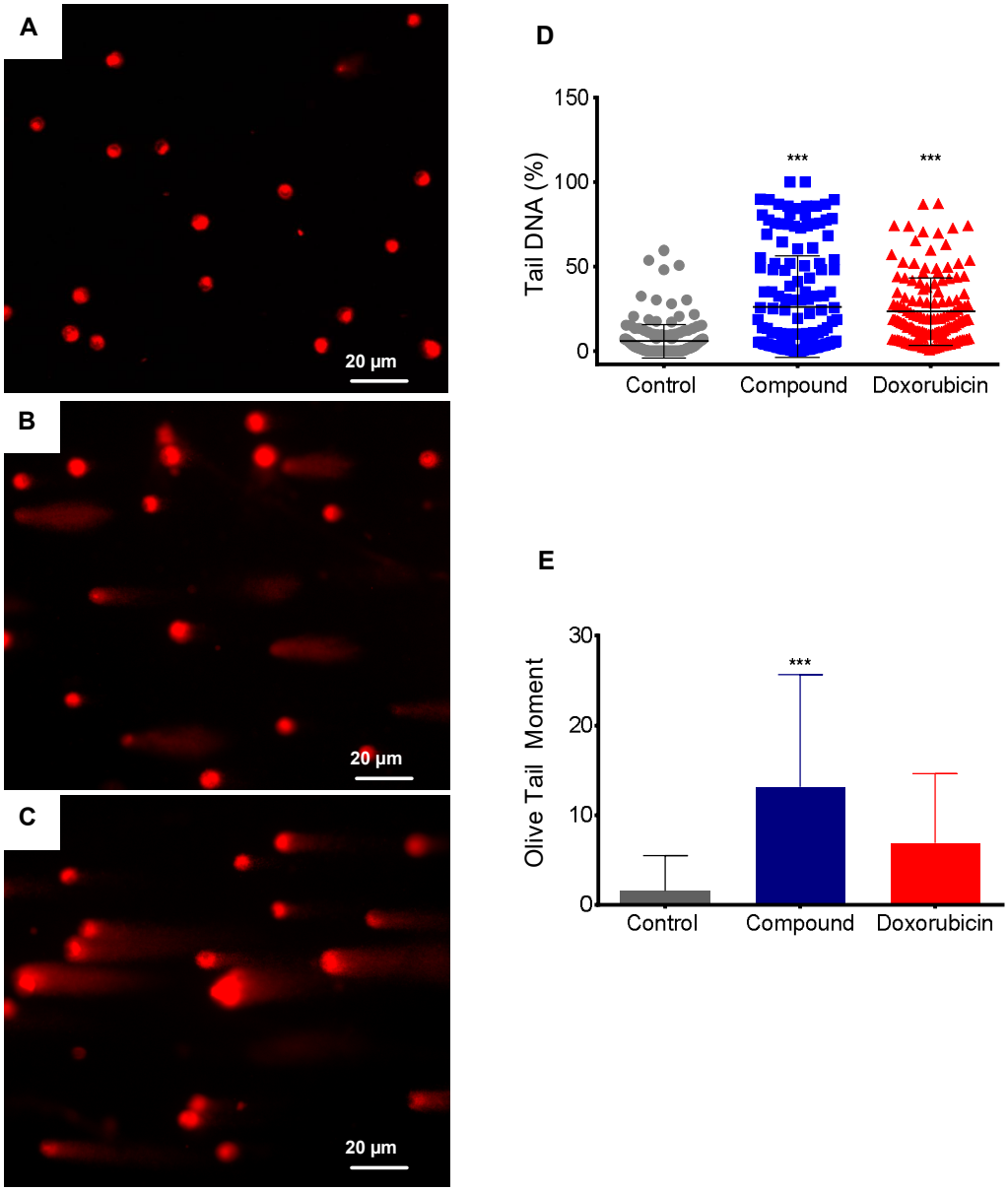


Рис. 8.21. Дані аналізу ДНК-комет для визначення пошкодження ДНК у клітинах HepG2 із додаванням сполуки **6.47** та доксорубіцину. Знимок комет у контролі (A); знимок комет після експозиції **6.47** у концентрації 45,0 мкМ (B); додавання доксорубіцину (1,6 мкМ) (C); відсоток ДНК у хвості комет (D), момент оливкового хвоста (olive tail moment) (E). *** – $P < 0.001$ у порівнянні із контрольними клітинами.

Іншими структурно подібними до **6.47** індол-тіазолідоновими гібридами із високою протитрипаносомною активністю, для яких вивчалася цитотоксичність на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2 та нормальних клітинах Balb/c 3T3

були 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-они **5.27** та **5.28** (рис. 8.17). Цитотоксичність для них досліджувалася в аналогічних *in vitro* експериментах, як і для **6.47**, концентрації CC_{20}, CC_{50} та CC_{80} обчислювалися після експозиції речовин **5.27** і **5.28** через 24, 48 та 72 год. Життєздатність клітин після експозиції сполук **5.27** і **5.28** залежала від часу, концентрації та клітинної лінії (додтки Е.4, Е.5). Чутливість клітин HepG2 до дії **5.27**, як і **5.28** була вищою, ніж нормальних Balb/c 3T3 фібробластів. Антипроліферативна активність сполуки **5.27** виявлялася на 24 год експозиції при концентрації 0,0001 мкМ, тоді як токсичний вплив на нормальні клітини спостерігався при вищій концентрації – 0,1 мкМ (табл. 8.3).

Таблиця 8.3

Значення цитотоксичних концентрацій (CC_{20}; CC_{50}; CC_{80})[a] для сполуки 5.27 в тестах на клітинах HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3

Клітинна лінія	Метод	Час (год)	CC_{20}, мкМ	CC_{50}, мкМ	CC_{80}, мкМ
1	2	3	4	5	6
Balb/c 3T3	MTT	24	29,1±5,4	74,2±8,6	
		48	17,6±1,6	53,7±1,0	89,9±1,1
		72	5,2±1,4	42,9±1,9	87,6±1,6
	NRU	24	23,3±2,0	70,0±1,6	
		48	12,4±1,4	59,3±2,0	
		72	0,6±0,1	17,5±2,9	89,8±2,6
	TPC	24	20,1±2,8	91,0±3,0	
		48	2,6±1,1	75,9±2,1	
		72	0,7±0,5	34,4±3,1	
	LDH	24			
		48	84,6±3,3		
		72	0,009±0,002	0,7±0,2	64,4±4,4
HepG2	MTT	24	0,6±0,04	61,1±0,9	
		48	0,2±0,1	40,1±1,7	84,7±0,9
		72	0,03±0,01	35,4±1,8	80,9±1,3
	NRU	24	13,2±3,6	61,0±0,9	89,1±1,6
		48	0,5±0,1	34,5±2,3	77,8±2,0
		72	0,3±0,1	9,4±0,6	75,9±0,8
	TPC	24	16,8±2,3	82,1±1,5	
		48	1,5±0,4	69,7±0,8	

		72	0,6±0,1	24,9±1,9	
	LDH	24	0,00001±0,000004	0,004±0,0003	0,9±0,1
		48	0,00002±0,000004	0,004±0,0005	0,6±0,2
		72	0,00004±0,00001	0,006±0,0002	0,2±0,07

CC_{20}, CC_{50} та CC_{80} (мкМ) представляють концентрації досліджуваних сполук, необхідні для інгібування 20, 50 та 80 % у MTT, NRU, TPC та LDH тестах. Дані бралися, виражені як середнє значення±СВ із дозо-залежних кривих у мінімум 3-ох експериментах.

Протиракова активність сполуки **5.28** також спостерігалася вже на 24 год при концентрації 0,0004 мкМ у NRU тесті, та при вищих концентраціях 0,004 мкМ та 0,006 мкМ у TPC та LDH експериментах відповідно (табл. 8.4). Слід відмітити мікромолярні рівні CC_{50} концентрацій для **5.28** на 72 год експозиції у NRU та TPC тестах на клітинах HepG2.

Таблиця 8.4

Значення цитотоксичних концентрацій (CC_{20}; CC_{50}; CC_{80})[a] для сполуки 5.28 в тестах на клітинах HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3

Клітинна лінія	Метод	Час (год)	CC_{20}, мкМ	CC_{50}, мкМ	CC_{80}, мкМ
Balb/c 3T3	MTT	24	9,1±3,0	58,8±7,7	
		48	8,2±2,9	49,2±1,2	94,1±2,1
		72	6,3±2,5	44,9±1,2	89,3±0,9
	NRU	24	23,5±4,8	64,3±1,1	
		48	6,9±2,6	46,4±2,0	91,1±1,8
		72	2,4±1,6	8,7±0,9	66,6±2,8
	TPC	24	28,7±1,8	69,3±0,9	
		48	0,8±0,6	24,4±3,2	99,4±0,5
		72	0,6±0,3	6,5±0,7	42,7±3,0
	LDH	24			
		48	8,8±0,9		
		72	6,3±1,1	44,1±2,4	95,7±3,3
HepG2	MTT	24	5,6±2,4	47,7±2,2	
		48	5,5±0,8	45,4±1,4	94,2±0,9
		72	0,8±0,2	26,7±2,2	84,3±0,9
	NRU	24	0,0004±0,0002	39,9±3,2	
		48	0,006±0,003	28,7±1,9	89,3±0,8
		72	0,0063±0,004	5,5±0,7	50,6±2,4
	TPC	24	0,004±0,001	52,6±2,4	
		48	0,07±0,04	9,9±2,8	92,0±1,0

		72	0,007±0,002	4,4±0,2	27,6±1,3
	LDH	24	0,006±0,001	0,68±0,11	33,1±3,52
		48	0,00006±0,00001	0,0006±0,00002	2,77±0,80
		72	0,00006±0,00001	0,0006±0,0001	0,002±0,001

CC_{20}, CC_{50} та CC_{80} (мкМ) представляють концентрації досліджуваних сполук, необхідні для інгібування 20, 50 та 80 % у MTT, NRU, TPC та LDH тестах. Дані бралися, виражені як середнє значення±СВ із дозо-залежних кривих у мінімум 3-ох експериментах.

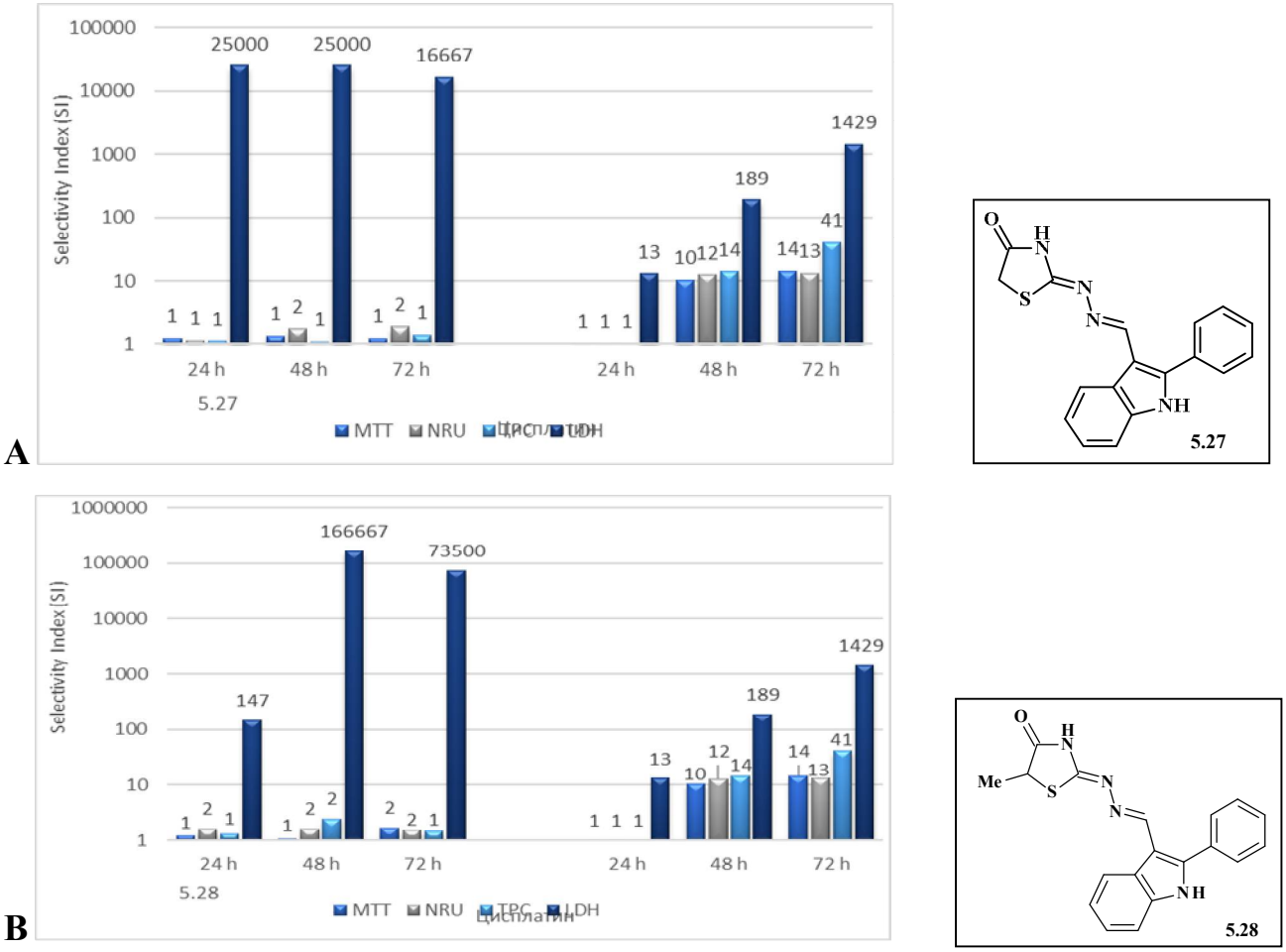


Рис. 8.22. Розраховані індекси селективності (IC) для **5.27** (A) та **5.28** (B) у порівнянні з IC для цисплатину щодо клітин HepG2

Найнижчі наномолярні цитотоксичні концентрації для сполук **5.27** та **5.28** на пухлинні клітини HepG2 обчислено в LDH тесті незалежно від часу експозиції, що свідчить про пошкодження клітинної стінки та наступних біохімічних порушень в ракових клітинах. Натомість, токсична дія сполуки **5.27** на нормальні фібробласти (Balb/c 3T3) здійснювалася в більшій мірі через порушення їх лізосомної та

мітохондіральної активності та інгібування проліферації клітин. Цитотоксична дія (CC_{20}) **5.28** на нормальні фібробласти спостерігалася від 10 мкМ (табл. 8.4) і не включала пошкодження їх клітинної стінки. Проведене дослідження сполук **5.27** та **5.28** свідчить, що високі значення індексів селективності, вищі, ніж для препарату порівняння цисплатину спостерігалися у тестах LDH у всіх часових точках. Значення IC в тесті LDH були суттєво вищими для обох зазначених сполук, ніж такі для цисплатину (рис. 8.22).

Ще однією сполукою-хітом – гібридом індольного та 4-тіазолідинонового циклів, для якої вивчалася цитотоксичність став метил 5-флюоро-3-[[2-(4-гідроксифеніл)іміно-4-оксо-тіазолідин-5-іліден]метил]-1*H*-індол-2-карбоксилат **7.32**. Антипроліферативна активність сполуки **7.32** виявлялася після 24 год інкубації при концентрації 0,0001 мкМ, тоді як токсичний вплив на нормальні клітини спостерігався при вищій концентрації – 0,1 мкМ (додаток Е.6).

Таблиця 8.5

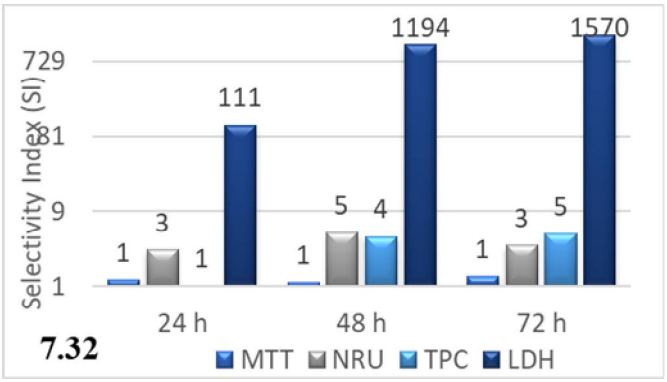
Значення цитотоксичних концентрацій (CC_{20}; CC_{50}; CC_{80})[a] для сполуки 7.32 в тестах на клітинах HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3

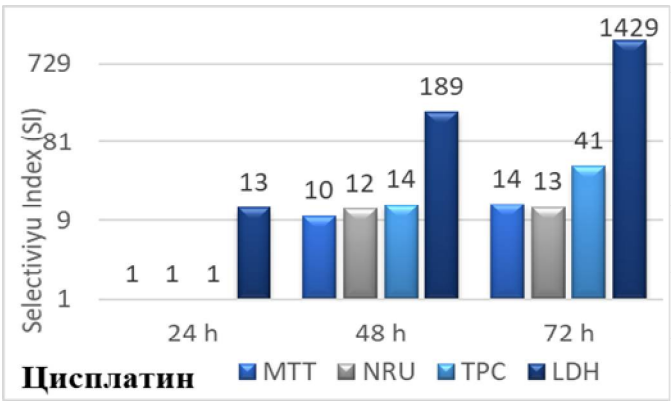
Клітинна лінія	Метод	Час (год)	CC_{20}, мкМ	CC_{50}, мкМ	CC_{80}, мкМ
Balb/c 3T3	MTT	24	3,3±0,3	9,7±0,2	
		48	2,8±0,4	7,5±0,6	
		72	2,5±0,8	7,4±0,8	
	NRU	24	6,3±1,1		
		48	5,4±1,2		
		72	2,5±0,9	27,8±3,8	
	TPC	24	72,2±6,0		
		48	0,07±0,02		
		72	0,06±0,01	44,4±3,4	
	LDH	24			
		48	21,6±2,6	83,6±3,2	
		72	0,4±0,1	9,6±0,5	
HepG2	MTT	24	2,1±0,9	8,0±0,4	
		48	1,6±0,5	6,7±0,3	
		72	0,4±0,3	5,5±0,3	16,5±2,4
	NRU	24	0,8±0,05	34,4±2,6	87,3±2,3
		48	0,07±0,03	20,9±1,0	76,1±1,4

		72	0,0007±0,0001	8,4±1,1	64,4±2,2
	TPC	24	15,4±2,5		
		48	0,05±0,001	23,4±2,5	
		72	0,01±0,0003	9,6±0,2	
	LDH	24	0,07±0,01	0,9±0,05	12,5±3,1
		48	0,0005±0,00003	0,07±0,01	6,8±0,6
		72	0,0002±0,00004	0,0009±0,0001	6,3±1,4

CC_{20}, CC_{50} та CC_{80} (мкМ) представляють концентрації досліджуваних сполук, необхідні для інгібування 20, 50 та 80 % у MTT, NRU, TPC та ЛДГ тестах. Дані бралися, виражені як середнє значення±СВ із дозо-залежних кривих у мінімум 3-ох експериментах.

Слід відмітити, що на 48 та 72 год експозиції, активні концентрації щодо ракових клітин спостерігалися вже від 0,00001 мкМ у всіх дослідженнях. Розраховані цитотоксичні концентрації (CC_{20}, CC_{50} та CC_{80}) щодо клітин HepG2 та нормальних клітин наведено у табл. 8.5. Найнижчі субмікромолярні концентрації (CC_{20}) спостерігалися у LDH та NRU тестах у всіх часових точках. Початковим етапом цитотоксичної дії сполуки **7.32** була дезінтеграція клітинної мембрани ракових клітин, що призводить до пригнічення їх лізосомальної активності.





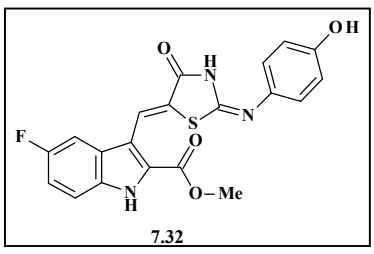
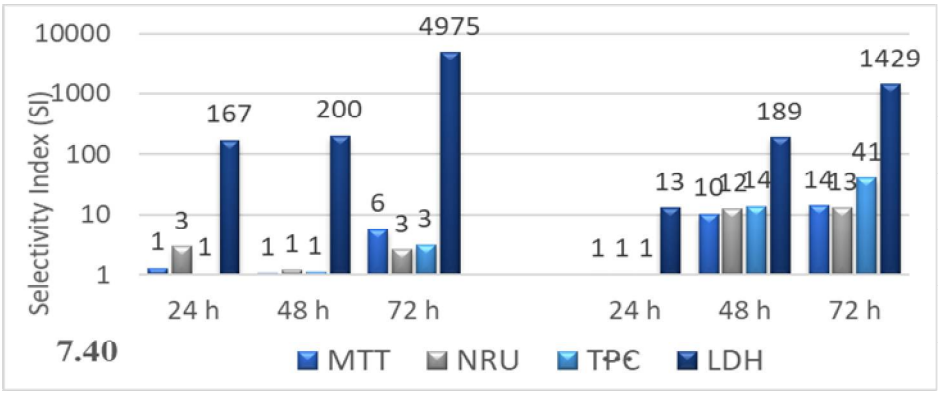


Рис. 8.23. Розраховані індекси селективності (IC) для **7.32** у порівнянні з IC для цисплатину щодо клітин HepG2

Важливо відзначити, що сполука виявляє низьку токсичність щодо нормальної клітинної лінії фібробластів мишачого ембріона (Balb/c3T3), а механізм цитотоксичність щодо них може реалізовуватися через мітохондріальну дисфункцію. На відміну від вище-описаних сполук-хітів із групи індол-тіазольних гібридів, сполука **7.32** характеризувалася високими значеннями IC (> 3,0) не тільки у тесті LDH, але й у NRU у всіх часових точках, а також у тесті TPC через 48 та 72 год експозиції. Значення IC у LDH тесті були вищими порівняно з такими для цисплатину на 11%, 16% та 9% через 24, 48 та 72 год відповідно (рис 8.23).

Представником іншого класу похідних тіазолідону, що показав високу протипухлинну активність, а також інгібував ріст *Trypanosoma brucei* був 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-он **7.40**. Хоча активна протипухлинна концентрація була найнижчою серед всіх тестованих речовин (рис. 8.17) для сполуки-хіта **7.40** – 0,00001 мкМ на 24 год експозиції, цитотоксична концентрація щодо нормальних фібробластів була вищою – 0,001 мкМ; механізм реалізації цитотоксичності здебільшого реалізовувався шляхом інгібування мітохондріальних функцій (додаток Е.7).



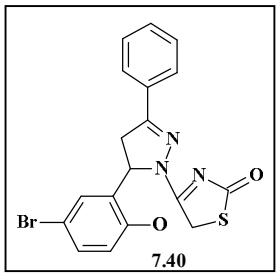


Рис. 8.24. Розраховані індекси селективності (IC) для **7.40** у порівнянні з IC для цисплатину щодо клітин HepG2.

Варто відзначити, що найнижчі субмікромолярні концентрації (CC_{20}) обчислено для всіх тестів, незалежно від часу експозиції (табл. 8.6). Відповідно до значень CC_{50}, першим етапом протипухлинної дії сполуки було пошкодження клітинних мембран, що призводить до інгібування мітохондріальної активності, з послідовним інгібуванням проліферації та лізосомальної активності клітин. Як і

для інших досліджуваних сполук-хітів, високі значення IC (> 3,0) відзначалися для тесту LDH у всіх часових точках, що були, навіть, вищими, ніж такі для препарату порівняння цисплатину (рис. 8.24). Хоча, IC = 3 для NRU та TCP досліджень на 24 год та 72 год відповідно, а також IC = 6 у MTT експерименті на 72 год.

Таблиця 8.6

Значення цитотоксичних концентрацій (CC_{20}; CC_{50}; CC_{80})[a] для сполуки 7.40 в тестах на клітинах HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3

Клітинна лінія	Метод	Час (год)	CC_{20}, мкМ	CC_{50}, мкМ	CC_{80}, мкМ
Balb/c 3T3	MTT	24	0,9±0,3	8,9±0,9	
		48	0,8±0,2	5,8±0,6	52,1±5,2
		72	0,1±0,1	2,5±0,8	7,4±0,5
	NRU	24	2,4±1,1		
		48	0,2±0,1	7,1±1,5	
		72	0,05±0,002	2,1±1,0	7,1±0,3
	TPC	24	2,3±1,0		
		48	0,6±0,3	6,0±0,5	
		72	0,006±0,002	2,8±0,7	6,5±0,9
	LDH	24			
		48	9,2±0,6		
		72	0,5±0,1	19,9±2,6	92,9±2,5
HepG2	MTT	24	0,9±0,09	6,9±0,5	
		48	0,1±0,04	5,5±0,2	42,1±2,5
		72	0,03±0,01	0,44±0,02	0,97±0,04
	NRU	24	0,07±0,02	34,2±1,7	
		48	0,04±0,01	5,9±0,7	
		72	0,001±0,0003	1,3±0,1	6,6±0,1
	TPC	24	0,7±0,2	95,5±0,5	
		48	0,05±0,02	5,4±0,4	
		72	0,001±0,0002	0,9±0,04	6,2±0,1
	LDH	24	0,06±0,01	0,6±0,02	
		48	0,006±0,001	0,5±0,07	47,9±4,9
		72	0,0003±0,0001	0,004±0,001	0,3±0,07

CC_{20}, CC_{50} та CC_{80} (мкМ) представляють концентрації досліджуваних сполук, необхідні для інгібування 20, 50 та 80 % у MTT, NRU, TPC та LDH тестах. Дані бралися, виражені як середнє значення±СВ із дозо-залежних кривих у мінімум 3-ох експериментах.

В загальному, можна стверджувати, що тестований (3,4-дигідропіразол-2-іл)-5*H*-тіазол-2-он **7.40** спричиняв дезінтеграцію клітинної мембрани, інгібування мітохондріальної, лізосомальної активності та проліферації ракових клітин.

8.3. Дослідження механізмів дії сполуки-хіта **7.32** через PPARγ-залежні шляхи та її вплив на Cyp450 ензими

Серед описаних механізмів реалізації біологічних ефектів 4-тіазолідинонів, одним з основних є афінність до рецепторів активації проліферації пероксисом (PPAR) – членів родини ядерних рецепторів, що активуються різними природніми жирними кислотами та іншими ксенобіотиками [279,445,454,455]. Після активації PPARs зв'язуються з ретиноїдним X рецептором (RXR) та утворюють PPARs/RXR гетеродимери, що регулюють транскрипцію генів задіяних в різних метаболічних шляхах [456]. Подібно, для активації експресії гену арил-гідрокарбонового рецептора (AhR) необхідне задіяння ретиноїдних X рецепторів [457]. Більш того, Wójtowicz із співавт. описали перехресну взаємодію між AhR та PPARγ рецепторами в нейронах миші [458]. Також, описано вплив троглітазону (PPARγ агоніст) на індукцію Cyp1a1, експресія якого, в свою чергу залежить від AhR у мишачих клітинах гепатоми Hepa-1c1c7 [459].

Відомо, що жирова тканина може акумулювати ксенобіотики, але й у невеликій мірі, може їх метаболізувати із включенням цитохрому p450 [460], а також Cyp1A1, що широко досліджується як активатор сполук із канцерогенними властивостями [461]. Вважається, що хімічні сполуки та канцерогени навколишнього середовища підвищують рівень експресії Cyp1A1 в екстрагепатичних тканинах через арил-гідрокарбонові рецептори, а дизрегуляція цих шляхів може бути задіяна в розвитку пухлин [461]. Таким самим чином Cyp1B1 експресований в печінці та екстрагепатичних тканинах, бере участь в метаболізмі численних ксенобіотиків, включно із метаболічною активацією поліциклічних ароматичних вуглеводнів [462]. Також, доведено, що Cyp1B1 є важливим в регуляції ендогенних метаболічних шляхів, включно із метаболізмом стероїдних гормонів,

жирних кислот, мелатоніну та вітамінів [463]. Численні дані вказують на те, що модуляція Cyp1B1 може знижувати адипогенез та канцерогенез, та попереджати ожиріння, гіпертонію, атеросклероз і рак [463,464].

Таким чином, для поглибленого вивчення механізмів дії 2-іміно-4-тіазолідинон-індольного гібриду **7.32,** найчутливішими лініями до якої були лінії лейкемії – досліджено дію на цитохром-залежну детоксикацію, а саме вплив на експресію та/або активність Cyp1a1, Cyp1b1, Cyp1a2 та Cyp2b10 на лінії клітин 3T3-L1 [465]. Проведені дослідження показали, що після 24 год експозиції сполуки **7.32** у концентраціях 100 нМ, 1 та 10 мкМ, тестована речовина не спричиняла значне відновлення резазурину (рис. 8.25 а) та не впливала на активність каспази-3 у клітинах 3T3-L1 (рис. 8.25 б). Таким чином, можна зробити висновок, що сполука **7.32** не є токсичною та не ініціює апоптоз у нормальних фібробластах.

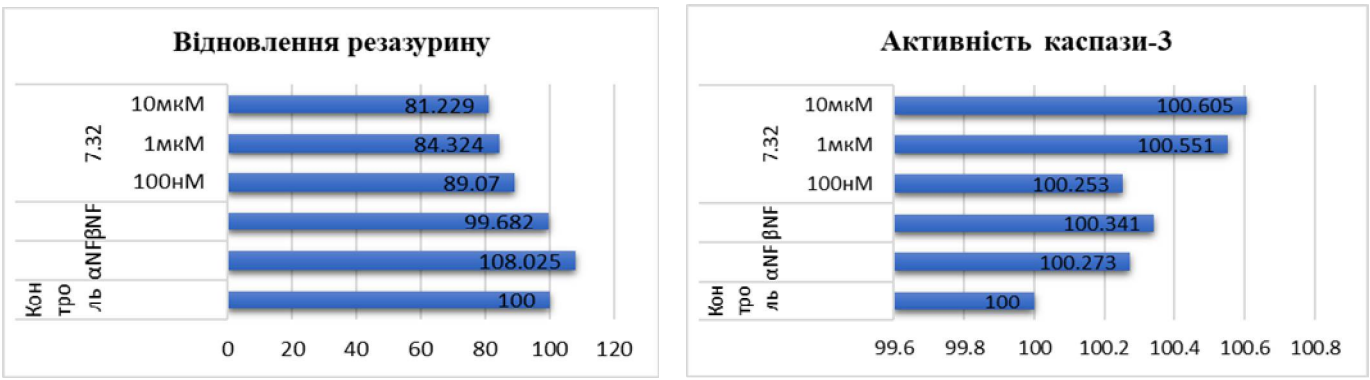


Рис. 8.25. Вплив сполуки **7.32** у концентраціях 100 нМ, 1 мкМ, та 10 мкМ на відновлення резазурину та на активність каспази-3 при експозиції протягом 24 год на 3T3-L1 фібробластах

З іншого боку, інше похідне тіазолідинону – N-заміщений хромено[2,3-*d*]тіазол підвищував вироблення реактивних форм кисню (ROS) у лінії SCC-15 та діяв через PPARγ-залежний шлях [279,466]. Доведено, що резвератрол, відомий PPARγ агоніст, інгібує індуковану AhR активність цитохрому Cyp1A1 та експресію [467]. На основі вище викладеного, наступним кроком нашого дослідження стало вивчення впливу **7.32** на експресію Cyp1a1, Cyp1b1 мРНК у клітинах 3T3-L1 (рис. 8.26). 1 мкМ βNF будучи агоністом AhR рецептора, використовувався як

позитивний контроль і прогнозовано знижував експресію мРНК AhR рецептора, підвищуючи експресію AhR залежних генів Cyp1a1 та Cyp1b1. Результати проведених досліджень свідчать, що сполука **7.32** знижує експресію мРНК тільки AhR рецептора (рис. 8.26).

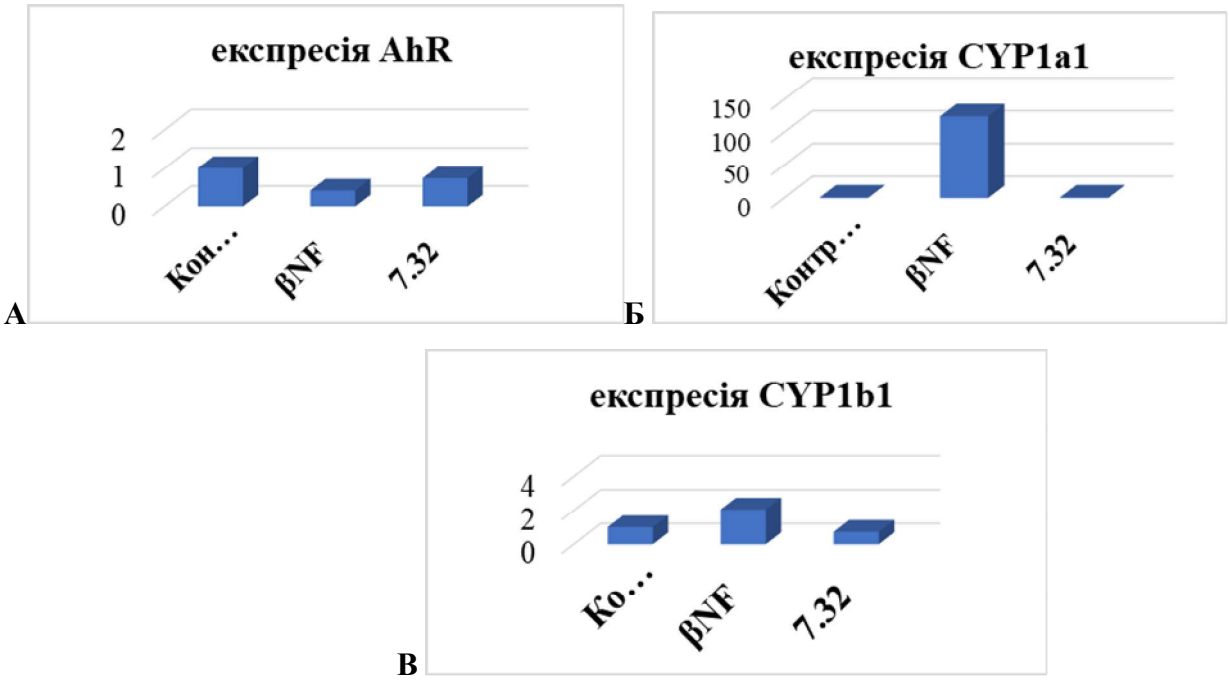


Рис. 8.26. Вплив сполуки **7.32** (1 мкМ) та β-нафтовлавону (1 мкМ) на експресію мРНК AhR, Cyp1a1 та Cyp1b1 генів після експозиції протягом 6 год на 3T3-L1 фібробластах

У дослідженнях на SCC-15 клітинах доведено, що хромено[2,3-*d*]тіазол діє PPARγ-залежним шляхом подібно до відомих PPARγ агоністів (Розіглітазону та Піоглітазону) [279]. Більш того, є дані, що PPARγ агоністи можуть активувати *in vitro* експресію CYP1a1 в мишей та людських клітинах [458,459], що ймовірно є можливим завдяки перехресним зв'язкам шляхів PPARγ та AhR рецептора [458]. На жаль, дані щодо ролі PPARγ агоністів в експресії мРНК Cyp1a1, Cyp1b1 або Cyp2b1 (Cyp2b10 у мишей) є дуже обмежені. Ймовірно, зважаючи на контроль AhR рецепторами експресії Cyp1a1, Cyp1a2, Cyp1b1 [468], ми можемо припускати, що PPARγ агоністи можуть також впливати на експресію цих генів. З іншого боку, на сьогодні добре вивчено, що PPARα агоніст ципрофібрат може інгібувати експресію

Cyp1a1 та Cyp1a2 мРНК та ензимів, взаємодіючи із AhR-залежним шляхом в печінці щурів [469]. Таким чином, **7.32** може бути слабким агоністом PPARα. Наступним стала оцінка впливу **7.32** на активність Cyp1a1, Cyp1b1, Cyp1a2 та Cyp2b10 у клітинах лінії 3T3-L1 в експериментах ЕРОД, МРОД та ПРОД (рис. 8.27). Отримані дані свідчать, що після 24 та 48 год експозиції сполуки **7.32** у концентрації 1 мкМ на клітинах лінії 3T3-L1, спостерігається підвищення активності етоксирезоруфін-О-деетилази (ЕРОД). Підвищена активність ЕРОД активність внаслідок дії сполуки **7.32** може бути пояснена підвищеною експресією мРНК Cyp1a1. βNF та **7.32** знижували активність 7-метоксирезоруфін-О-деметилази (МРОД). Сучасні дані свідчать про кореляцію МРОД активності із експресією CYP1A2.

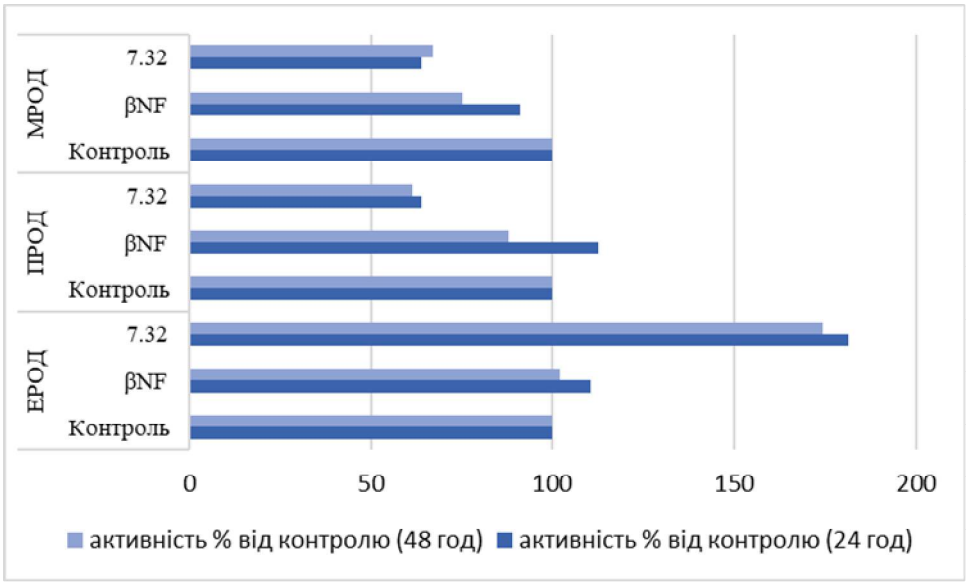


Рис. 8.27. Ефект сполуки **7.32** (1 мкМ) та β-нафтофлавону (βNF, 1 мкМ) на ЕРОД, МРОД та ПРОД активність після 24 та 48 год експозиції на 3T3-L1 фібробластах

Також **7.32** знижує активність пентоксирезоруфін О-деалкілази (ПРОД) в обох досліджуваних часових інтервалах. Цікаво, що проведені експерименти не виявили експресії Cyp2b10 у 3T3-L1. У людей описаний тільки один Cyp2B ген – Cyp2B6, тоді як у мишей 5 таких – Cyp2b9, Cyp2b10, Cyp2b13, Cyp2b19 та Cyp2b23,

найважливішим серед яких є Cyp2b10. А отже, не можна, виключати, що досліджувана сполука впливає на експресію інших, крім мРНК Cyp2b10 [465].

На сьогодні добре відомо, що Cyp1A1, Cyp1A2 та Cyp1B1 відіграють важливу роль у детоксикації канцерогенів навколишнього середовища, а також в метаболічній активації дієтичних сполук із превентивним протипухлинним ефектом [470]. Ступінь впливу зазначених цитохромів Р на розвиток та попередження раку залежить від балансу активації/детоксикації проканцерогенів та позапечінкового метаболізму ліків, в тому числі [461]. Однак, для пояснення чітких механізмів метаболізму та детоксикації при дії **7.32** необхідне проведення додаткових досліджень.

8.4. Поглиблене дослідження токсичності та інтеркаляції в ДНК сполук-хітів з групи 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів

Для 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів **4.67**, **4.79** та **4.81,** що інгібували ріст ракових ліній з мікромолярними значеннями IC_{50}, крім токсичності щодо нормальних кератиноцитів людини *HaCaT* (табл. 4.11), досліджено токсичність речовин щодо лімфоцитів крові здорових донорів (табл. 8.7). Найвищу – рівнозначну токсичності доксорубіцину проявила сполука **4.79.** Сполука **4.81** була менш токсичною і на 48 год експозиції (рис. 8.28).

Таблиця 8.7

Результати вивчення токсичності
5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів 4.67, 4.79 та 4.81 щодо лімфоцитів крові здорових донорів

Час дії	IC_{50} (мкМ) щодо лімфоцитів			
	4.67	**4.79**	**4.81**	Доксорубіцин
24 год	>100	4,2	67,1	5,6
48 год	9,2	0,9	5,4	0,7

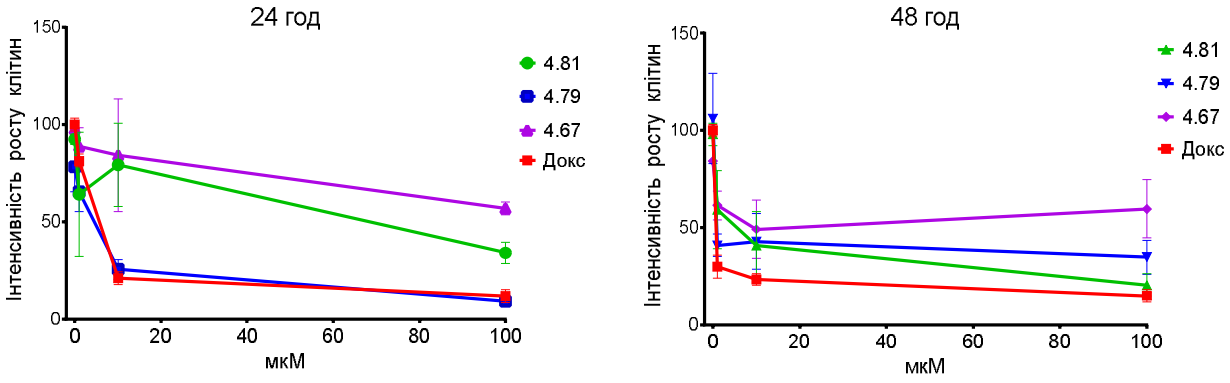


Рис. 8.28. Порівняння токсичності 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів **4.67**, **4.79**, **4.81** та доксорубіцину щодо лімфоцитів крові здорових донорів

Вивчення інтеркаляції сполук **4.67, 4.79** та **4.81** у ДНК проводилося методом заміщення досліджуваними речовинами метилового зеленого із комплексу ДНК-метиловий зелений і показало, що досліджувані речовини не інтеркалюють в ДНК, відповідно цей механізм дії виключений для даної групи сполук (рис. 8.29, табл. 8.8).

Таблиця 8.8

Результати дослідження інтеркаляції 5-іліден-3-(1-арил-піролідин-2,5-діон)-роданінів 4.67, 4.79 та 4.81 в ДНК

	Витіснення метилового зеленого із комплексу ДНК-метиловий зелений, %				
Концентрація	**4.67**	**4.79**	**4.81**	Доксорубіцин	Етидію бромід
1 мкг/мл	0,69	1,81	1,67	19,16	34,87
10 мкг/мл	2,11	2,72	3,10	68,68	84,08

Електрофорез плазмідної ДНК pEGFPc-1 проводився у присутності різних концентрацій речовин **4.67**, **4.79** і **4.81** – 0,1, 1 та 10 мкМ і також довів, відсутність їх впливу на ДНК, так як досліджувані сполуки не затримували рух плазмідної ДНК pEGFPc-1 (рис. 8.30).

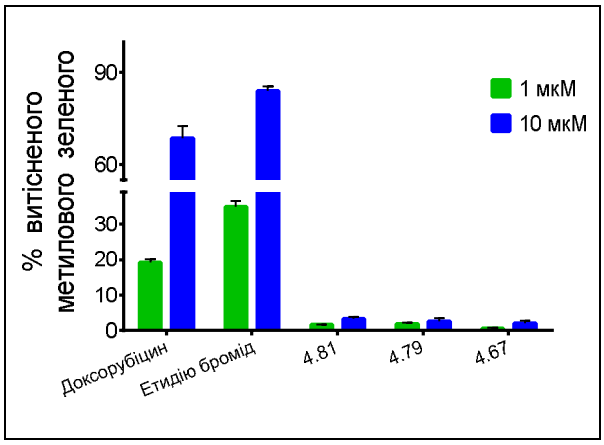


Рис. 8.29. Результати заміщення метилового зеленого із комплексу ДНК-метиловий зелений досліджуваними сполуками **4.67**, **4.79** та **4.81**

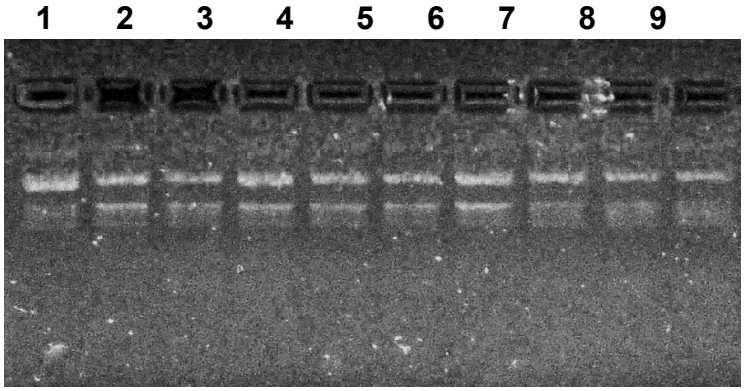


Рис. 8.30. Електрофореграма плазмідної ДНК за присутності **4.67**, **4.79** і **4.81**: **1** – вільна плазмідна pEGFPc-1; **2** – пДНК + **4.81** (0,1 мкМ); **3** – пДНК + **4.81** (1 мкМ); **4** – пДНК + **4.81** (10 мкМ); **5** – пДНК + **4.79** (0,1 мкМ); **6** – пДНК + **4.79** (1 мкМ); **7** – пДНК + **4.79** (10 мкМ); **8** – пДНК + **4.67** (0,1 мкМ); **9** – пДНК + **4.67** (1 мкМ); **10** – пДНК + **4.67** (10 мкМ)

Методом комет-аналізу в лужному середовищі досліджено вплив сполук **4.67**, **4.79** і **4.81** на ДНК у клітинах Т лейкемії людини лінії *Jurkat* на 24 год експозиції. За дії **4.81** у концентрації 1,5 мкМ (що відповідає IC_{50} речовини) виявлено 53,38% ДНК у хвості комети, за дії **4.79** у концентрації 3,5 мкМ виявлено 48,35% ДНК у хвості комети, за дії **4.67** у концентрації 55 мкМ виявлено 40,55% ДНК у хвості комети. Доксорубіцин спричиняє вивільнення 40,91% ДНК у хвіст комети. Незначний рівень пошкодження ДНК (7,7%) виявлено у контролі (необроблених клітинах) (рис. 8.31, рис. 8.32).

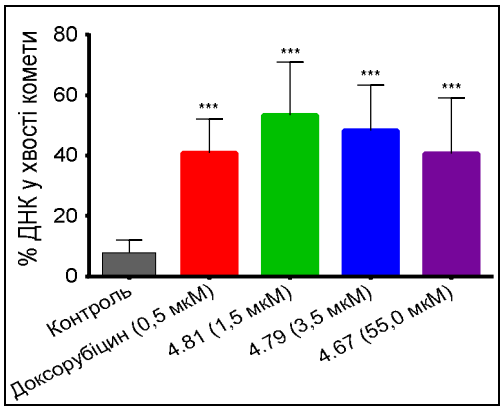


Рис. 8.31. Кількісне пошкодження ДНК (хвіст ДНК, %).

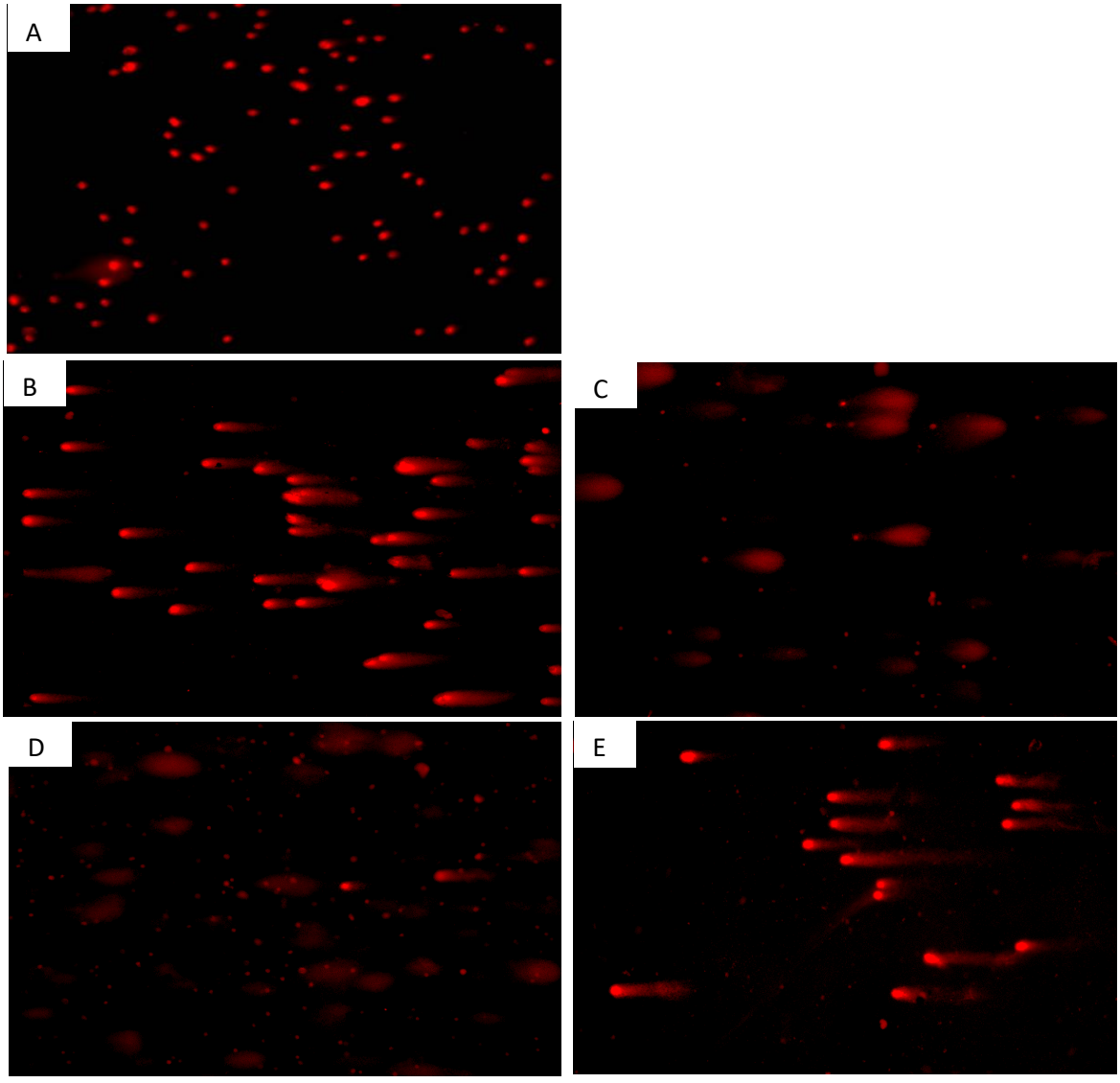
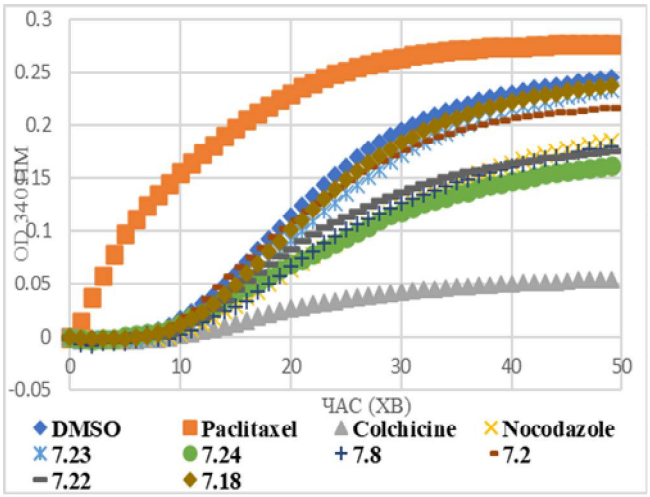


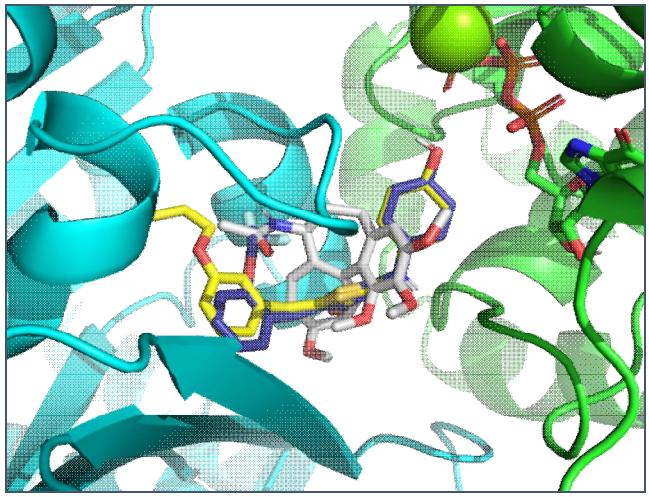
Рис. 8.32. Ефекти пошкодження ДНК клітин лінії Jurkat сполуками **4.67**, **4.79** і **4.81.** A – Контроль, B – Доксорубіцин, 0,5 мкМ, C – **4.81**, 1,5 мкМ, D – **4.79**, 3,5 мкМ, E – **4.67**, 55 мкМ.

8.5. Дослідження впливу 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-оні на полімеризацію тубуліну.

Висока протиракова активність низки 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів щодо лейкемічних ліній *HL-60*, *Jurkat* і *K562* та ряду інших була аргументом для поглибленого вивчення механізмів її реалізації. Оцінку впливу найактивніших 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів (із найкращими показниками IC_{50} щодо різних ліній лейкемії) на полімеризацію тубуліну проводили в *in vitro* (неклітинному) тесті полімеризації тубулін на чистому тубуліні (99%) при концентрації досліджуваних речовин 10 мкМ. (5)-(2-етилбензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он **7.8,** 5-(2-бензилоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он **7.20**, 5-(2-алілоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-он **7.22** та 5-(2-дифлюорометилоксибензиліден)-2-(4-гідроксифеніламіно)-тіазол-4(5H)-он **7.24** володіли інгібуючою активністю на рівні із відомим інгібітором полімеризації тубуліну нокодазолом (рис. 8.33), тоді як 2-(4-гідроксифеніламіно)тіазол-4(5H)-они із 3-етоксибензиліденовим **7.18** та 3-алілоксибензиліденовим **7.23** замісниками у С5 положенні показали вищий рівень інгібування.



а)



б)

Рис. 8.33. а) полімеризація тубуліну *in vitro* при дії 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів **7.8**, **7.18**, **7.20**, **7.22**, **7.23** та **7.24**; б) візуалізація зв'язування сполук **7.23** та **7.24** із тубуліном (pdb:4O2B).

In silico методи встановлення ймовірних механізмів дії деяких сполук-хітів [471] включали розробку фармакофорних моделей на снові лігандів CA074 до Cathepsin B із *T brucei* (pdb ID: 3HHI) та лігандів до протеїнів MCL-1 із Bcl-2 родини – (pdb ID: 6FS1 та 6FS2).

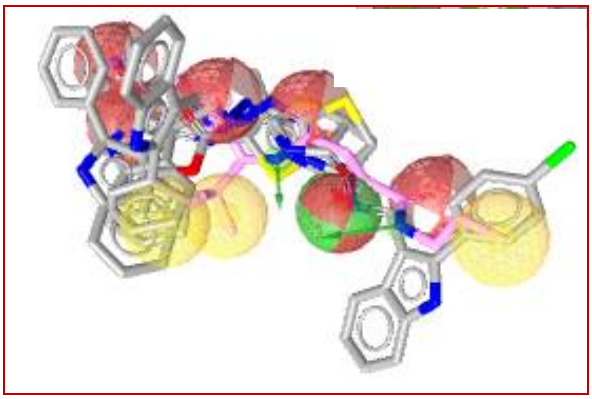
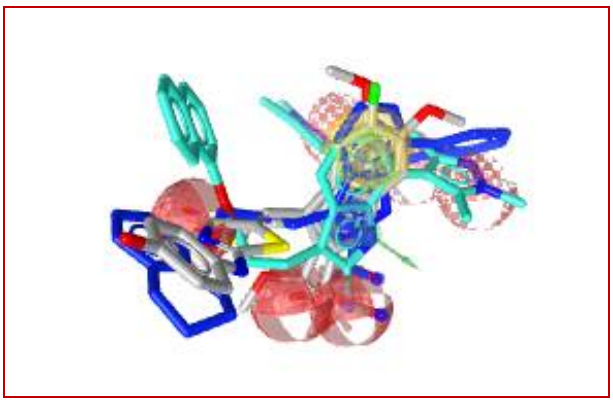
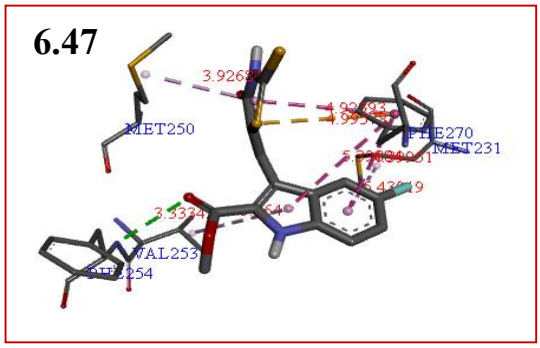
а)  б) 

Рис. 8.34 Фармакофорні моделі розроблені а) на основі ліганду CA074 до Cathepsin B (3HHI); б) на основі лігандів до протеїнів MCL-1 (6FS1 та 6FS2).

Серед тестованих тіазолідон/тіазол-феніліндольних гібридів, сполуки **5.27**, **5.28, 5.41, 5.43** сумісні із фармакофорною моделлю за 5-ма ознаками, **5.73** сполука – за 6-ма ознаками (рис. 8.34 а)**.** Серед досліджуваних 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметилен)-1H-індол-карбонових кислот, сполуки **6.53** та **7.32** співпадали із фармакофорною моделлю на основі лігандів до 6FS1 та 6FS2 за 7-ма ознаками, **6.47** – за 6-ма (рис. 8.34 б)**.**



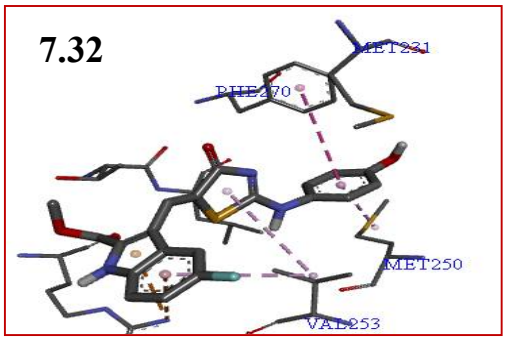


Рис. 8.35. Візуалізація області зв’язування 6FS1 із сполуками **6.47** та **7.32.**

В процедурі молекулярного докінгу для сполук **6.47** та **7.32** до протеїну MCL-1 (6FS1) обчислено енергії зв’язування з біо-мішенню [471], що становлять -7,7ккал/моль і -8,7 ккал/моль відповідно і є співмірними із такою для встановленого

ліганду E4Q (- 9,1 ккал/моль) (рис. 8.35), що опосередковано може свідчити про можливий механізм реалізації їх протипухлинних ефектів.

In silico прогнозування можливих метаболітів для сполук **5.27, 5.28, 6.47, 7.32** та **7.40** здійснювалося за допомогою програми GLORYx [303], перелік структур прогнозованих метаболітів наведено у додатку Е. 8.

8.6. Дослідження протимікробної та протигрибкової активності серії 5-іліден-роданін-3-сукцинімідів, 2-іліден-4-тіазолідонів та піразолідин-тіазолідинонових гібридних молекул

Поліфармакологічний підхід базується на властивості однієї речовини діяти на різні біо-мішені задіяні в одній патології. З іншого боку, така стратегія пошуку нових агентів передбачає визначення нових шляхів реалізації біологічних ефектів, як існуючих лікарських засобів, так і сполук-хітів/лідерів, з метою встановлення інших, відмінних від первинного призначення чи спрямованої розробки, областей застосування [472,473]. В рамках поліфармакологічного підходу 45 сполук з різних класів похідних тіазолідонів описаних у Розділах 4-7, тестовано на предмет протимікробної та протигрибкової активності: ряду 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-(ті)оксо-4-тіазолідинонів, похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл-ацетаміду та 2-ціано-N-(*о*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетаміду та 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів (табл. 8.9). N-[2-[3,5-Діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-2-оксо-етил]-тіопіранотіазол **7.75** відібрано для дослідження протимікробних властивостей, оскільки такі конденсованітіопіранотіазоли характеризуються поліфамракологічним профілем і виявляють різнопланові біологічні ефекти, в тому числі протипухлинну дію та анаболічну і андрогенну активності [474]. Аргументами на користь пошуку протимікробних властивостей 5-бензиліден- та 5-єнамін-2-іліден-4-тіазолідинонів є встановлена антибактеріальна дія для подібних 2-алкілідентіазолідин-4,5-діонів [475] та похідних 3-оксо-2-(5-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-пропіонітрилу [476]. Серед численних 5-ен-4-тіазолідинонів, роданін-3-карбонові кислоти є також

перспективними скафолдами для розробки нових протимікробних агентів. Так, 3-α-карбокси-етил-5-бензиліден роданіни були активними проти метицилін-резистентного штаму *S. aureus* [477]; ряд 5-(2-гідроксибензиліден)-роданінів характеризувався помірною та високою антибактеріальною активністю щодо *S. aureus*, *E. faecalis* та *H. influenza* [478]; *n-N,N*-бензилідендифеніламін заміщені роданін-3-карбонові кислоти інгібували ріст грам позитивних патогенів [479].

Протимікробну та протигрибкову дію визначали методом дифузії в агар (метод «колодязів») та методом серійних розведень (розщеплення резазурину в бульйоні), використовуючи референс-культури та клінічні ізоляти мікроорганізмів, виділених від пацієнтів з інфекціями пов'язаними з наданням медичної допомоги. Референс-культури: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (F-51), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 26923 (F-49), *Candida albicans* ATCC 885/653, *Aspergillus neger* муз. №162; клінічні ізоляти: *Pseudomonas aeruginosa* №7, *Escherichia coli* №5, *Raoultella terrigena* №1, *Staphylococcus lentus* №21, *Staphylococcus lugnuniensis* №142, *Staphylococcus simulans* №151, *Candida albicans* №60, *Candida dubliniensis* №67, *Candida membranifaciens* №117.

Загалом всі класи досліджуваних сполук виявляли високу протигрибкову активність, інгібуючи ріст, як референс-, так і клінічних штамів *Candida.* Щодо грам-негативних бактерій, найактивнішим класом сполук були похідні 2-ціано-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-N-феніл-ацетамідів **4.94**, **4.108**, **4.121**, **4.129**, **4.133**, при чому 2-ціано-2-[5-(етоксиметилен)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-N-(*o*-толіл)ацетамід **4.88** без феніл-єнамінового чи бензиліденового замісника у С5 положенні тіазолідону показав найвищу активність щодо клінічного штаму *Pseudomonas aeruginosa* №7 (табл. 8.9). Грам-позитивні бактерії були найбільш чутливими до дії похідних роданін-3-N-фенілсукцинімідів **4.61, 4.71, 4.81, 4.83** із фрагментами коричного альдегіду, ізатину, алілоксифенілу та циміналю та у С5 положенні тіазолідону відповідно**.** Цікаво, що одними з найактивніших сполук в даному дослідженні виявилися гібридні молекули 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів на основі роданін-3-карбонових кислот **7.54**, **7.57**.

Таблиця 8.9

Результати дослідження протимікробної та протигрибкової дії ряду 5-іліден-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-2-(ті)оксо-4-тіазолідинонів, похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл-ацетаміду та 2-ціано-N-(*о*-толіл)-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)ацетаміду та 5-[[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-онів (d затримки росту (мм))

		Грам-негативні бактерії					Грам-позитивні бактерії				Гриби				
		Референс штами		Клінічні штами		Рідкісні клінічні штами	Референс штами	Клінічні штами		Рідкісні клінічні штами	Референс штами	Клінічні штами		Рідкісні клінічні штами	Референс штами
	С, мг/мл	*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 (F-51))	*Escherichia coli* (ATCC 25922)	*Pseudomonas aeruginosa* (№7)	*Escherichia coli* (№ 5)	*Raoultella teriigena* №1	*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49))	*Staphylococcus lentus* (№ 21)	*Staphylococcus lugnuniensis* (№ 142)	*Staphylococcus simulans* (№ 151)	*Candida. albicans (ATCC 885-653)*	*Candida albicans* (№ 60)	*Candida dubliniensis* (№ 67)	*Candida membranifaciens* 117	*Aspergillus neger муз* (№ 162)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4.35	0,4	9	0	нт	0	0	0	0	0	10	8	12	0	10	нт
4.39	0,33	0	0	нт	0	0	0	10	0	0	7	15	11	10	0
4.41	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	нт
4.42	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	10	0	0	нт
4.43	0,4	0	0	нт	0	0	0	0	0	0	0	10	0	10	нт
4.61	0,47	9	0	нт	8	0	0	0	0	12	10	8	0	0	нт
4.62	0,53	9	0	нт	0	0	0	0	0	12	12	12	12	10	9

Продовж. табл. 8.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4.62	0,53	9	0	нт	0	0	0	0	0	12	12	12	12	10	9
4.67	0,64	0	0	0	8	0	0	0	0	0	10	12	11	0	нт
4.68	0,47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	0	10	нт
4.70	0,47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	14	0	0	0
4.71	0,53	9	0	0	0	0	0	10	0	12	12	8	12	15	0
4.72	0,56	0	0	нт	8	0	0	0	0	0	10	10	11	0	нт
4.73	0,43	8	0	нт	0	0	0	10	0	0	10	12	0	10	нт
4.74	0,67	9	7	0	0	7	0	0	10	7	12	9	10	нт	8
4.77	0,53	0	0	нт	0	0	0	0	10	10	10	10	0	10	нт
4.79	0,71	0	7	10	7	0	10	7	0	0	8	9	10	нт	нт
4.81	0,67	9	0	0	0	7	13	11	11	0	11	13	12	нт	0
4.82	0,4	9	0	нт	8	0	8	11	10	10	10	10	0	10	нт
4.83	0,47	10	0	нт	0	0	0	12	0	14	12	10	0	0	0
4.88	0,7	9	11	15	0	0	0	0	0	7	11	10	10	нт	14
4.90	0,6	9	0	0	0	7	0	0	0	0	8	11	12	нт	нт
4.93	0,6	0	7	11	0	0	0	7	0	0	10	8	10	нт	нт
4.94	0,67	9	11	9	7	0	0	0	0	0	13	10	10	нт	0
4.95	0,67	0	7	9	7	0	7	7	0	0	9	9	12	нт	нт
4.99	0,6	9	7	0	0	0	7	0	0	0	12	8	15	нт	10
4.101	0,65	0	0	0	0	0	9	0	0	0	12	8	15	нт	нт
4.102	0,6	0	8	0	0	0	7	0	0	0	9	10	11	нт	нт
4.108	0,6	0	11	13	0	0	0	7	0	0	12	0	10	нт	нт
4.110	0,64	0	0	0	8	0	0	0	0	0	9	8	12	нт	нт
4.117	0,73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	8	15	нт	14
4.121	0,61	9	0	0	8	0	0	0	0	0	8	9	12	нт	нт
4.129	0,6	10	7	0	0	0	7	0	0	0	8	9	10	нт	нт
4.133	0,67	нт	9	14	0	0	8	7	0	0	12	8	12	нт	нт

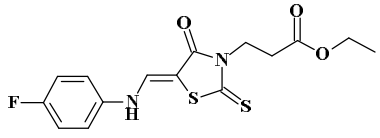
Продовж. табл. 8.9

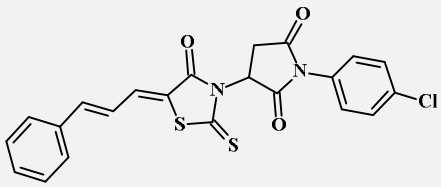
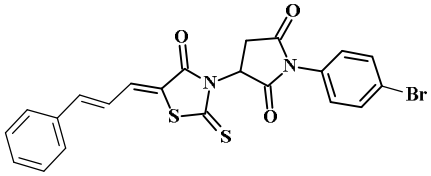
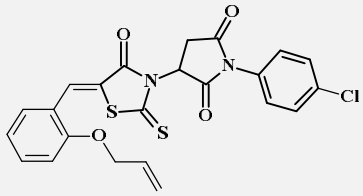
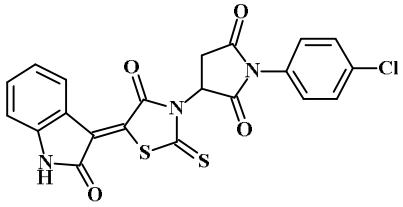
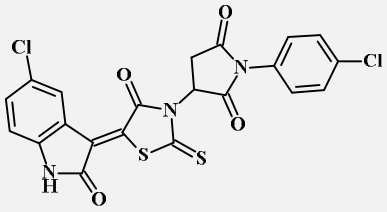
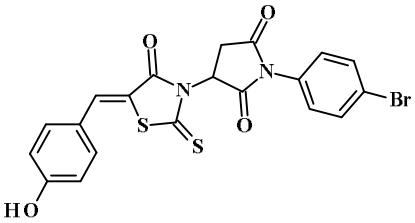
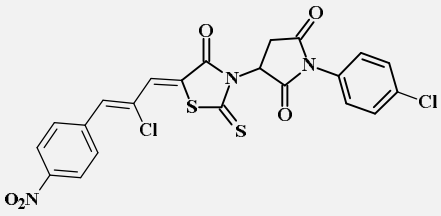
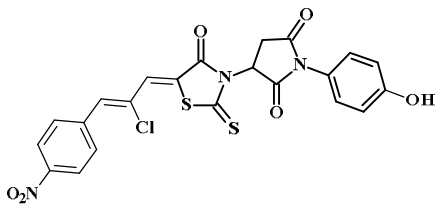
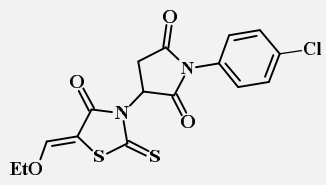
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4.134	0,69	9	0	0	0	0	0	0	0	0	12	8	15	нт	15
4.135	0,59	0	11	11	0	7	7	8	0	7	12	8	10	нт	нт
7.54	0,47	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	13	12	0	0
7.55	0,47	8	0	0	0	0	10	0	0	0	8	10	0	0	нт
7.57	0,7	8	0	0	0	0	0	0	0	0	11	10	10	нт	10
7.59	0,8	0	12	0	0	0	22	17	16	0	11	11	10	нт	0
7.60	0,8	0	7	0	0	0	13	13	11	0	11	9	15	нт	нт
7.62	0,87	9	7	0	0	0	0	0	0	0	11	8	10	нт	нт
7.63	0,85	0	10	9	0	0	7	0	0	0	12	8	10	нт	нт
7.75	0,6	8	0	0	0	0	8	0	0	0	10	12	12	0	нт
ДМСО		0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	7	10	10	0

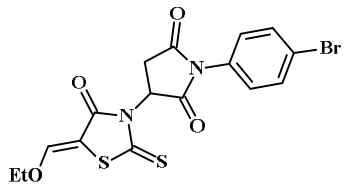
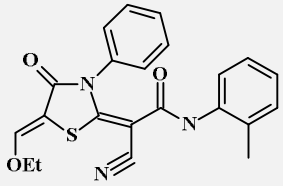
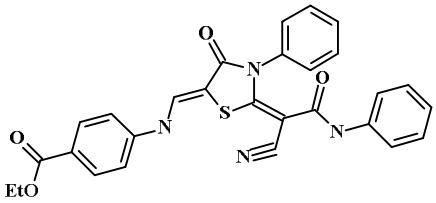
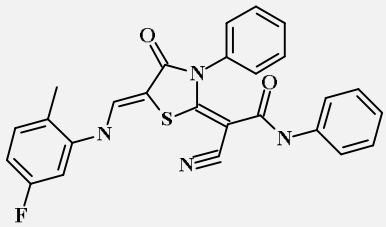
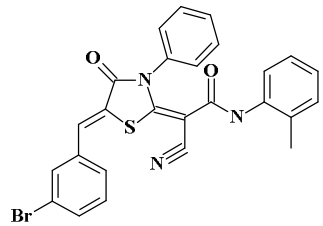
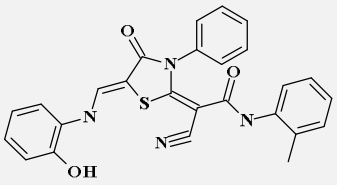
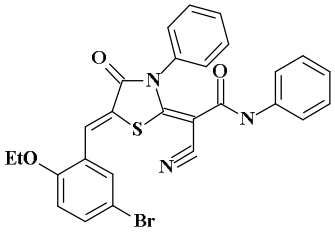
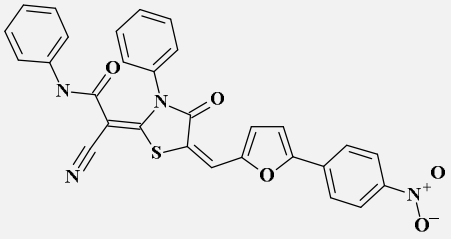
Зони інгібування росту Грам-позитивних клінічних штамів *Staphylococcus lentus* і *Staphylococcus lugnuniensis* етиловими естрами 2-[5-(3,4-дигідропіразол-2-ілметилен)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-3-феніл-пропіонової кислоти **7.59**, **7.60** становили від 11 до 17 мм. Для них, а також для 5-амінометиліден та 5-іліден похідних 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-1-феніл-піролідин-2,5-діонів **4.61**, **4.62**, **4.67**, **4.70**, **4.71**, **4.74**, **4.79**, **4.81**, **4.82**, **4.83** та похідних 2-ціано-2-(4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден)-*N*-феніл-ацетамідів **4.88**, **4.94**, **4.99**, **4.108**, **4.117**, **4.134**, **4.135** і етилового естру 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти **4.39** обчислено величини мінімальних інгібуючих концентрацій в експерименті на *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49)) та *Candida albicans* № 60 (табл. 8.10). Загалом, найчутливішими до дії всіх груп тестованих речовин є *Candida albicans* із величинами MIC в межах 0,33-1,33 мкМ. Найнижчі мінімальні інгібуючі концентрації розраховано для етилового естру 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти **4.39** та етил 4-[[[2-(2-аніліно-1-ціано-2-оксо-етиліден)-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-5-іліден]метил]аміно]бензоату **4.94.** 5-Іліден похідні 3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-1-феніл-піролідин-2,5-діони інгібували ріст *Staphylococcus aureus*, найнижче значення MIC обчислено для сполуки **4.79** (0,33 мкМ) із фрагментом циміналю у С5 положенні. Значення MIC для *Escherichia coli* були дещо вищими, в межах 0,64-1,73 мкМ.

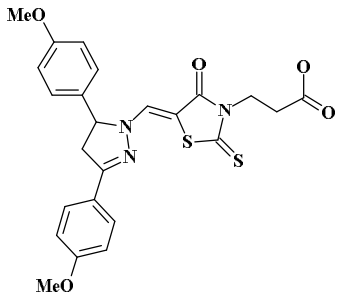
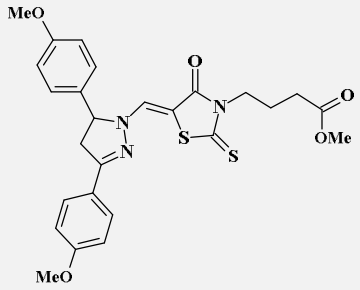
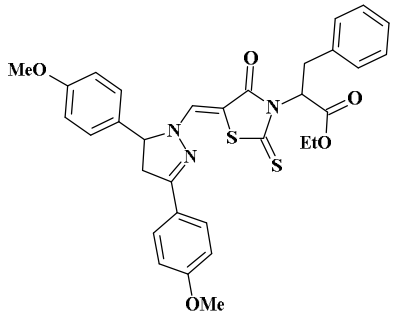
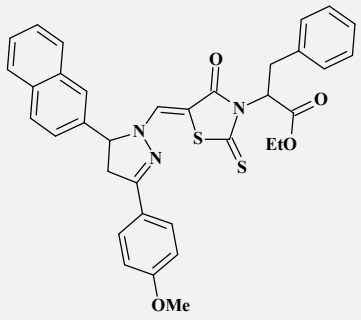
Таблиця 8.10

Мінімальні інгібуючі концентрації (MIC) розраховані для 22 сполук-хітів

		Мінімальна інгібуюча концентрація (MIC) мкМ		
		Escherichia coli (ATCC 25922)	*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49))	*Candida albicans* № 60
4.39		нт	нт	0,47

4.61		1,03	0,52	НТ
4.62		1,06	НТ	0,53
4.67		НТ	НТ	0,66
4.70		НТ	НТ	1,00
4.71		1,05	НТ	1,05
4.74		НТ	НТ	0,68
4.79		1,33	0,33	НТ
4.81		1,30	НТ	0,65
4.82		1,01	0,50	НТ

4.83		1,06	1,06	1,06
4.88		1,73	0,86	0,86
4.94		НТ	НТ	0,33
4.99		НТ	НТ	0,64
4.134		НТ	НТ	0,67
4.108		1,28	0,64	НТ
4.117		НТ	НТ	0,67
4.135		1,1	0,55	НТ

7.54		нт	нт	0,47
7.57		нт	нт	1,33
7.59		1,33	1,33	0,66
7.60		0,64	нт	нт

ВИСНОВКИ

1. Вивчення ефективності чотирьох алгоритмів машинного навчання: методу *Random Forest*, методу стохастичного підвищення градієнта (*Stochastic Gradient Boosting*, SGB), сплайнів багатовимірної адаптивної регресії (*Multivariate Adaptive Regression Splines*, MARS) та регресії Гаусівських процесів (Gaussian Processes regression), використовуючи дані про протитрипаносомну активність більш, ніж 200 сполук дозволило виділити методи регресії *Random Forest* та Гаусівських процесів як оптимальні, на основі яких розроблено дві нові QSAR-моделі, що описують анти-

трипаносомну активність та володіють хорошою прогностичною здатністю з відповідними Q2ext = 0,812 та Q2ext = 0,830. Аналіз впливу дескрипторів у QSAR-моделях та інтерпретація їх хімічного значення дозволив виділити ряд взаємозв'язків структура-активність: і) наявність фенільних кілець з електроноакцепторними атомами або групами у пара-положенні, іі) збільшена кількість ароматичних кілець, ііі) висока розгалуженість, але короткі ланцюги, іv) висока енергія HOMO та введення 1-заміщеного індолільного фрагменту у молекули є передумовами високої проти-трипаносомної активності.

2. Поглиблене *in vitro* вивчення цитотоксичності для сполук-хітів **5.27**, **5.28**, **6.47**, **7.32** та **7.40** проводилося на клітинах гепатоцелюлярної карциноми HepG2 та нормальних фібробластах Balb/c 3T3 у MTT, лізосомному (NRU), LDH тестах та дослідженні загального вмісту білку. Позитивним результатом досліджень для всіх сполук-хітів є те, що клітини гепатоцелюлярної карциноми HepG2 людини виявилися чутливішими до їх дії, ніж нормальні клітини Balb/c 3T3. Метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.47** спричиняв зниження концентрації досліджуваних об’єктів на 20% у концентрації 0,01мкМ. Сполуки **5.27** та **5.28** характеризувалися вищими, ніж для препарату порівняння цисплатину, індексами селективності у тестах LDH, у всіх часових точках. Найнижчі субмікромолярні концентрації (CC_{20}) для індол-тіазолідинонового гібриду **7.32** спостерігалися у LDH та NRU тестах у всіх часових точках. Таким чином, стартовим етапом цитотоксичної дії **7.32** є дезінтеграція клітинної мембрани ракових клітин, що призводить до пригнічення їх лізосомальної активності. При цьому **7.32** виявляє низьку токсичність щодо нормальної клітин Balb/c 3T3 та характеризувалася високими значеннями IC (> 3,0) не тільки у тесті LDH, але й у NRU у всіх часових точках, а також у тесті TPC через 48 та 72 год експозиції. Піразоліл-тіазолідоновий гібрид **7.32** характеризувався найнижчою активною протипухлинною концентрацією 0,00001 мкМ та IC = 3 для NRU та TCP досліджень на 24 год та 72 год відповідно, а також IC = 6 у MTT експерименті на 72 год. В загальному, можна стверджувати, що тестований (3,4-дигідропіразол-2-іл)-5*H*-тіазол-2-он **7.32,** в основному, призводив до дезінтеграції клітинної мембрани,

інгібування мітохондріальної, лізосомальної активності та проліферації ракових клітин. Наведені дані показали, що тестовані сполуки була токсичними щодо клітин гепатоми людини (HepG2) у субмікромолярних концентрціях і в основному призводила до розпаду клітинної мембрани ракових клітин.

3. Додаткове вивчення антипроліферативних властивостей сполуки **6.47** у МТТ тесті на клітинах карциноми молочної залози (MCF-7), прямої кишки (HCT116), шийки матки (HeLa), легень (A549), та лінії псевдо-нормальних клітин (кератиноцитів HaCaT людини) виявили селективне інгібування росту клітин лінії MCF-7 (CC_{50} – 0,6 мкМ) та лінії HCT116 (CC_{50} – 0,7 мкМ). Вестерн-блот аналіз білків, що беруть участь у регуляції процесів ініціювання, здійснення апоптозу, та стадіях клітинного циклу на клітинах HepG2. У клітинах HepG2 сполука **6.47** індукувала апоптоз через каспаз 3-, PARP1- та Bax-протеїн-залежні шляхи. На основі результатів Вестерн-блот аналізу протеїнів, що беруть участь у регуляції клітинного циклу, можемо зробити висновок, що досліджувана сполука-хіт **6.47** не впливає на проходження G1/S фази у клітинах HepG2. Ймовірно **6.47** реалізує антипроліфеартивний ефект через зупинку фази G2/M в пухлинних клітинах. Дослідження впливу сполуки **6.47** на пошкодження ДНК у клітинах HepG2 методом ДНК-комет в лужному середовищі, показало, що **6.47** спричиняє пошкодження ДНК у клітинах HepG2 (ДНК у «хвості» = 26,2%, Olive tail moment = 13,2) порівняно з контрольними клітинами та доксорубіцином (ДНК у «хвості» = 23,40%, OTM (Olive tail moment) = 6,92).

4. Проведені дослідження впливу сполуки **7.32** на експресію та активність Cyp1a1, Cyp1b1, Cyp1a2 та Cyp2b10 на лінії клітин 3T3-L1 показали, що вона знижує експресію мРНК AhR рецептора та знижує експресію *Cyp1b1* мРНК. Також **7.32** інгібувала активність МРОД і ПРОД, але індукувала ЕРОД у клітинах 3T3-L1.

5. Вивчення інтеркаляції сполук **4.67, 4.79** та **4.81** у ДНК методом заміщення досліджуваними речовинами метилового зеленого із комплексу ДНК-метиловий зелений показало, що досліджувані речовини не інтеркалюють в ДНК, відповідно не мають прямого впливу на ДНК. Відсутність впливу зазначених речовин на ДНК доведено й методом електрофорезу плазмідної ДНК pEGFPc-1. Натомість, методом

ДНК-комет в лужному середовищі на клітинах лінії лейкемії *Jurkat,* довів*, що* сполуки **4.67**, **4.79** і **4.81** спричиняють пошкодження ДНК, співмірне із таким для препарату порівняння Доксорубіцину.

6. Пошук протимікробних агентів серед різних неконденсованих поліциклічних похідних тіазолідинону-4 дозіволив ідентифікувати ряд високоактивних протигрибкових сполук-лідерів, що інгібували ріст *Candida albicans* із величинами MIC в межах 0,33-1,33 мкМ, при цьому найактивнішими були похідні 5-амінометиліден-роданін-3-пропіонової кислоти **4.39** та 5-амінометиліден-2-іліден-3-феніл-4-тіазолідинону **4.94.** Найактивнішою щодо *Staphylococcus aureus* була група 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-сукцинімідів із найнижчим значення MIC (0,33 мкМ) для сполуки **4.79** із фрагментом циміналю у С5 положенні.

Результати досліджень даного розділу наведені в таких публікаціях: [120, 279, 325, 423, 424, 445, 465, 466, 471, 474]

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Розроблено ефективні методи синтезу і одержано 333 нових похідних 4-тіазолідинонів та гетероциклічних систем на їх основі, встановлена будова, вивчені фізико-хімічні параметри та біологічна активність. На основі комплексу досліджень кореляції "структура – біологічна дія", який включав віртуальний, традиційний та високоефективний фармакологічний скринінг, QSAR-аналіз, молекулярне та математичне моделювання, виділено 100 «лікоподібних» молекул з високою протираковою, протитрипаносомною, антилейшманіозною та антимікробною активностями для поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних сульфур- та нітрогенвмісних гетероциклів, а також обґрунтовано механізми реалізації фармакологічної активності нових «кандидатів у лікарський засіб».

2. Методом множинної регресії вперше розроблено математичну модель для прогнозування протипухлинної дії тіазолідинонів щодо різних ліній раку на основі встановленої їх протитрипаносомної активності та ряду запропонованих і обчислених дескрипторів; виділено 8 ліній ракових клітин, показники інгібування росту яких найкраще корелюють значеннями IC_{50} щодо *Trypanosoma brucei brucei* та розроблено відповідні рівняння регресії, що може бути використано для раціонального дизайну нових тіазолідин-споріднених молекул з поліфармакологічними властивостями як прототипів нових лікарських засобів.

3. На основі проведеного аналізу кількісного взаємозв’язку «структура-активність» серій ізотіокумаринів, тіопіранотіазолів, імідазотіадіазолів та піразоло-тіазол/тіазолідинонів із протитрипаносомною дією, методами *асоціативних нейронних мереж* (ASNN) та регресії *Random Forest* (RFR), виділені молекулярні дескриптори, які критично впливають на реалізацію протипухлинної та/або протитрипаносомної активності даних похідних , що дозволяє реалізувати дизайн та синтез спрямованих суб-бібліотек гетероциклічних сполук для сфокусованого фармакологічного скринінгу.

4. Розроблено методи отримання та структурної функціоналізації похідних 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонових кислот, що дозволило одержати серії

неописаних в науковій літературі різноманітних 5-арил(гетерил)амінометилен похідних, 5-арил(гетерил)іліден- та 5-єнамін-3-(1-арилпіролідин-2,5-діон)-роданінів, які проявляють суттєву протитрипаносомну, антилейшманіозну і протипухлинну активність з високою селективністю щодо ліній лейкемії *DAMI* та *HL-60*, а також низькі токсикометричні показники щодо людських первинних фібробластів *in vitro* та невисоку гостру токсичність *in vivo*.

5. Синтезовано нові 2-ціано-*N*-арил-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-ацетаміди та їх іліденпохідні, для яких встановлено протипухлинну дію, що розширює напрямки пошуку потенційних протиракових агентів серед 4-тіазолідинон-споріднених гетероциклів.

6. Вперше спрямовано одержано групи 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]- та 2-[(6-фенілімідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-онів, 2-{*N*'-[2-(феніл)-1*H*-індол-3-ілметилен]-гідразино}- та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів та 2-[6-феніл-імідазо[2,1-*b*][1,3,4]тіадіазол-5-ілметилен)-гідразино]-тіазолів, для яких встановлено високу протипаразитарну активність *in vitro* на субмікромолярному рівні щодо *Trypanosoma brucei brucei* та *Trypanosoma brucei gambiense* на фоні несуттєвої цитотоксичності на людських первинних фібробластах (лінія *AB943*) *in vitro* та низької гострої токсичності *in vivo*, що є важливим аргументом на предмет ефективності гібрид-фармакорного підходу в дизайні трипаноцидів для фармакотерапії сонної хвороби.

7. Вперше встановлено, шо результати протилейшманіозної дії тіазолідинон/тіазол-індол/імідазотіадіазольних гібридних молекул щодо *Leishmania major* корелюють із їх протитрипаносомною та протималярійною активностями, що відкриває нові можливості для спрямованого синтезу протипаразитарних агентів.

8. З метою диверсифікації суб-бібліотек тіапіранотіазолів отримано нові *N*-заміщені похідні ізотіохроменотіазолів, опрацьовано методи синтезу 9-арил(гетерил)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-онів-6 та їх *N*-заміщених похідних. Для синтезованих сполук вперше встановлено протитрипаномний ефект щодо *Trypanosoma brucei brucei* та протилейшманіозну

активність на промастиготах *Leishmania major* (штам Friedlin V1), що дозволило запропонувати ряд високоактивних агентів для поглиблених досліджень та підтвердити гіпотезу про збереження виду та рівня біологічної дії гетероциклічних молекул при переході від 5-ен-4-тіазолідинонів до структурно-споріднених тіопіранотіазолів.

9. Шляхом реалізації гібрид-фармакофорного підходу запропоновано нові напрямки дизайну «лікоподібних молекул», що вміщують азолідиноновий та індольний гетероцикли. Вперше одержано 1-оксо-1,9-дигідро-2-тіа-9-аза-флуорен-3-карбонові кислоти на основі гідролізу та рециклізації 3-(роданін-5-іліденметилен)-1*H*-індол-карбонових кислот, тетрациклічні 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло[3,4-*b*]карбазол-3,10-діони, 5-[(1*H*-індол-3-іл)метилен]-2-тіоксо-тіа(міда)золідин-4-они та 2-[1-карбокси-2-(4-карбокси-1*H*-3-індоліл)-1-етенілдісульфаніл]-3-(4-карбокси-1*H*-3-індоліл)-2-пропенові кислоти. Системне вивчення протипухлинної дії синтезованих азолідинон-індольних гібридних молекул дозволило встановити ряд нових особливостей кореляції «структура-дія» та запропонувати для поглиблених досліджень метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти, для якого доведено протипухлинну активність щодо більшості ліній лейкемії, меланоми, раку легень, кишківника, ЦНС, яєчників, нирок, простати та молочної залози на субмікромолярному рівні (GI_{50} = 0,452-0,649 мкМ).

10. Проведено спрямований синтез та поглиблене вивчення протиракового потенціалу нових 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів, що дозволило достовірно встановити селективну протилейкемічну активність зазначеного класу гетероциклів, запропонувати прогностичні характеристики для дизайну нових агентів та виділити «сполуки-лідери», для яких встановлено механізм дії, що полягає в інгібуванні полімеризації тубуліну.

11. Запропоновано нові напрямки дизайну тіазолідинон- та тіопіранотіазол-піразолінових гібридних молекул, що дозволило одержати 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-он та його 5-іліденпохідні, 5-[3,5-діарил-3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-2-тіоксо-тіазолідин-4-они, 2-[5-[[3,4-дигідропіразол-2-іл]метилен]-4-оксо-3-феніл-тіазолідин-2-іліден]-2-

ціано-ацетаміди, 3-піразолілзаміщені ізотіохромено[3,4-*d*]тіазол-2-они, хромено[4',3':4,5]тіопірано[2,3-*d*]тіазоли та 3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.$0^{2,10}$.$0^{4,8}$]тетрадецен-4(8)-они. Доведено подвійну протипаразитарну та протипухлинну активності синтезованих сполук, що є фундаментальною основою для дизайну нових поліфармакологічних молекул або висококселективних агентів на основі біфармакофорних сполук.

12. На основі системного опрацювання експериментальних даних протитрипаносомної активності більше ніж 200 сполук алгоритмами машинного навчання розроблено нові QSAR-моделі, що описують антитрипаносомну активність та володіють необхідною прогностичною здатністю. Запропоновані QSAR-моделі можуть бути використані для *in silico* прогнозування протитрипаносомної дії та оптимізації процесу пошуку нових сполук-хітів.

13. Поглиблене *in vitro* вивчення цитотоксичності для сполук-хітів 2-[(2-феніл-1*H*-індол-3-ілметилен)-гідразоно]-тіазолідин-4-ону **5.27** та його 5-метилпохідного **5.28**, метилового естеру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти **6.47**, метил 5-флюоро-3-[(2-(4-гідроксіаніліно)-4-оксо-тіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбоксилату **7.32** та 4-[3-(5-бромо-2-гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5*H*-тіазол-2-ону **7.40** на клітинах гепатоцелюлярної карциноми *HepG2* та нормальних фібробластах *Balb/c3T3* довело високу селективність їх дії до пухлинних клітин у субмікромолярних концентраціях порівняно із нормальними клітинами. Одержані результати свідчать про те, що початковим етапом цитотоксичної дії сполук-хітів є дезінтеграція клітинної мембрани ракових клітин, що призводить до пригнічення їх лізосомальної та мітохондріальної активності.

14. Встановлено селективну дію у субмікромолярних концентраціях метилового естеру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти щодо клітинних ліній *MCF-7*, *HCT116* та *HepG2*, яка реалізується індукцією апоптозу через каспаз 3-, PARP1- та Bax-протеїн-залежні шляхи, що є суттєвим аргументом для поглиблених досліджень даної сполуки-лідера як потенційного протиракового засобу.

15. Показано, що метил 5-флюоро-3-[(2-(4-гідроксианіліно)-4-оксотіазол-5-іліден)метил]-1*H*-індол-2-карбоксилат проявляє тропність до *Cyp1a1* та *Cyp1b1* генів лінії клітин *3T3-L1* знижуючи експресію мРНК AhR рецептора та *Cyp1b1* мРНК, що зумовлює вплив на активність протеїнів родини CYP450, ендогенні метаболічні шляхи, екстрагепатичний метаболізм ксенобіотиків та опосередковано на канцерогенез і є важливим аргументом для поглибених досліджень індол-тіазолідинонів як потенційних протиракових агентів.

16. Вивчення інтеркаляції протипухлинних 3-[4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл]-1-(феніл)піролідин-2,5-діонів у ДНК методами заміщення метилового зеленого із комплексу ДНК-метиловий зелений та електрофорезу плазмідної ДНК pEGFPc-1 показало, що досліджувані речовини не мають прямого впливу на ДНК. Методом ДНК-комет в лужному середовищі на клітинах лінії лейкемії *Jurkat* встановлено, що сполуки-лідери спричиняють пошкодження ДНК на рівні доксорубіцину.

17. Вперше ідентифіковано похідні 5-амінометиліден-роданін-3-пропанової кислоти, 2-(5-іліден-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-сукцинімідів та 5-амінометиліден-2-іліден-3-феніл-4-тіазолідинону як високоактивні протигрибкові (*Candida albicans*, MIC = 0,33-1,33 мкМ) та протимікробні (*Staphylococcus aureus*, MIC = 0,33 мкМ) агенти, що обґрунтовує продовження системних досліджень протимікробного потенціалу 5-ен-4-тіазолідинонів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Mohs RC, Greig NH. Drug discovery and development: Role of basic biological research. Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv. 2017; 3(4):651–7.

2. Ying Hong Li, Chun Yan Yu, Xiao Xu Li, Peng Zhang, Jing Tang, Qingxia Yang, Tingting Fu, Xiaoyu Zhang, Xuejiao Cui, Gao Tu, Yang Zhang, Shuang Li, Fengyuan Yang, Qiu Sun, Chu Qin, Xian Zeng, Zhe Chen, Yu Zong Chen FZ. Therapeutic target database update 2018: enriched resource for facilitating bench-to-clinic research of targeted therapeutics. Nucleic Acids Res. 2017; 46(D1):D1121–D1127.

3. Valent P, Groner B, Schumacher U, Superti-Furga G, Busslinger M, Kralovics R, et al. Paul Ehrlich (1854-1915) and His Contributions to the Foundation and Birth of Translational Medicine. J Innate Immun. 2016; 8(2):111–20.

4. Janzen WP. Screening Technologies for Small Molecule Discovery: The State of the Art. Chem Biol. 2014; 21(9):1162–70.

5. David J. Powell; Robert P. Hertzberg; Ricardo Macarrón. Design and Implementation of High-Throughput Screening Assays. In: High Throughput Screening. New York, NY: Humana Press; 2016. p. 1–32.

6. Gangadharan, N. T., Venkatachalam, A. B., & Sugathan S. High-Throughput and In Silico Screening in Drug Discovery. In: Bioresources and Bioprocess in Biotechnology. Singapore: Springer; 2017. p. 247–73.

7. Longwell CK, Labanieh L, Cochran JR. High-throughput screening technologies for enzyme engineering. Curr Opin Biotechnol. 2017; 48:196–202.

8. Macarron R, Banks MN, Bojanic D, Burns DJ, Cirovic DA, Garyantes T, et al. Impact of high-throughput screening in biomedical research. Nat Rev Drug Discov. 2011; 10(3):188–95.

9. Zhuang C, Sheng C. High-Throughput Screening in the Discovery of Small-Molecule Inhibitors of Protein-Protein Interactions. In: Targeting Protein-Protein Interactions by Small Molecules. Singapore: Springer; 2018. p. pp 29-51.

10. Brown C. Targeted therapy: An elusive cancer target. Nature. 2016; 537(7620):S106–8.

11. Medina-Franco JL, Giulianotti MA, Welmaker GS, Houghten RA. Shifting from the single to the multitarget paradigm in drug discovery. Drug Discov Today. 2013; 18(9–10):495–501.

12. Tao L, Zhu F, Xu F, Chen Z, Jiang YY, Chen YZ. Co-targeting cancer drug escape pathways confers clinical advantage for multi-target anticancer drugs. Pharmacol Res. 2015; 102:123–31.

13. Müller G. Medicinal chemistry of target family-directed masterkeys. Drug Discov Today. 2003; 8(15):681–91.

14. Bansal Y, Silakari O. Multifunctional compounds: Smart molecules for multifactorial diseases. Eur J Med Chem. 2014; 76:31–42.

15. Adl SM, Simpson AGB, Lane CE, Lukeš J, Bass D, Bowser SS, et al. The Revised Classification of Eukaryotes. J Eukaryot Microbiol. 2012; 59(5):429–514.

16. Büscher P, Cecchi G, Jamonneau V, Priotto G. Human African trypanosomiasis. Lancet. 2017; 390(10110):2397–409.

17. Filardy AA, Guimarães-Pinto K, Nunes MP, Zukeram K, Fliess L, Pereira L, et al. Human Kinetoplastid Protozoan Infections: Where Are We Going Next? Front Immunol. 2018; 9.

18. Https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/trypanosomiasis-human-african-(sleeping-sickness). Trypanosomiasis, human African (sleeping sickness) [Internet].

19. Simarro PP, Diarra A, Ruiz Postigo JA, Franco JR, Jannin JG. The Human African Trypanosomiasis Control and Surveillance Programme of the World Health Organization 2000–2009: The Way Forward. Aksoy S, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(2):e1007.

20. Neglected tropical Diseases. https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/ [Internet].

21. Echeverria LE, Morillo CA. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). Infect Dis Clin North Am. 2019; 33(1):119–34.

22. Bern C, Montgomery SP. An Estimate of the Burden of Chagas Disease in the United States. Clin Infect Dis. 2009; 49(5):e52–4.

23. Https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis). Chagas disease (American trypanosomiasis).

24. Tzizik DM, Borchardt RA. Chagas disease. J Am Acad Physician Assist. 2018; 31(12):30–3.

25. Tarleton RL. Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. Int J Parasitol. 2001; 31(5–6):550–4.

26. Coura JR, Borges-Pereira J. Chagas disease: What is known and what should be improved: a systemic review. Rev Soc Bras Med Trop. 2012; 45(3):286–96.

27. Rassi A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. Lancet. 2010; 375(9723):1388–402.

28. Nunes MCP, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Chagas Disease. J Am Coll Cardiol. 2013; 62(9):767–76.

29. Simarro PP, Franco J, Diarra A, Postigo JAR, Jannin J. Update on field use of the available drugs for the chemotherapy of human African trypanosomiasis. Parasitology. 2012.

30. Kennedy PGE. Clinical features, diagnosis, and treatment of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). Lancet Neurol. 2013; 12(2):186–94.

31. Fairlamb AH. Chemotherapy of human African trypanosomiasis: current and future prospects. Trends Parasitol. 2003; 19(11):488–94.

32. Brun R, Blum J, Chappuis F, Burri C. Human African trypanosomiasis. Lancet. 2010; 375(9709):148–59.

33. Kennedy PGE. Human African trypanosomiasis of the CNS: current issues and challenges. J Clin Invest. 2004; 113(4):496–504.

34. de Atouguia, J. L. M. and Kennedy PGE. Neurological aspects of human African trypanosomiasis. In: David, L E and Kennedy, P G E (eds) Infectious Diseases of the Nervous System. Oxford: Butterworth-Heinemann; 2000. p. 321–72.

35. Simarro PP, Franco J, Diarra A, Postigo JAR, Jannin J. Update on field use of the available drugs for the chemotherapy of human African trypanosomiasis. Parasitology. 2012; 139(7):842–6.

36. Kennedy PGE. The continuing problem of human African trypanosomiasis

(sleeping sickness). Ann Neurol. 2008; 64(2):116–26.

37. Pepin, J ; Milord F. The treatment of human African Trypanosomiasis. Adv Parasitol. 1994; 33:1–47.

38. Kuepfer I, Schmid C, Allan M, Edielu A, Haary EP, Kakembo A, et al. Safety and Efficacy of the 10-Day Melarsoprol Schedule for the Treatment of Second Stage Rhodesiense Sleeping Sickness. Ndung'u JM, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2012; 6(8):e1695.

39. Fairlamb AH, Henderson GB, Cerami A. Trypanothione is the primary target for arsenical drugs against African trypanosomes. Proc Natl Acad Sci. 1989; 86(8):2607–11.

40. Mesu VKBK, Kalonji WM, Bardonneau C, Mordt OV, Blesson S, Simon F, et al. Oral fexinidazole for late-stage African Trypanosoma brucei gambiense trypanosomiasis: a pivotal multicentre, randomised, non-inferiority trial. Lancet. 2018; 391(10116):144–54.

41. https://www.ema.europa.eu/en/documents/medicine-outside-eu/fexinidazole-winthrop-assessment-report_en-0.pd. European Medicines Agency Committee for Medicinal Products for Human Use. Assessment report fexinidazole winthrop. 2018 [Internet].

42. Pelfrene E, Harvey Allchurch M, Ntamabyaliro N, Nambasa V, Ventura F V., Nagercoil N, et al. The European Medicines Agency's scientific opinion on oral fexinidazole for human African trypanosomiasis. Brun R, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2019; 13(6):e0007381.

43. Lindner AK, Lejon V, Chappuis F, Seixas J, Kazumba L, Barrett MP, et al. New WHO guidelines for treatment of gambiense human African trypanosomiasis including fexinidazole: substantial changes for clinical practice. Lancet Infect Dis. 2020; 20(2):e38–46.

44. Croft SL, Barrett MP, Urbina JA. Chemotherapy of trypanosomiases and leishmaniasis. Trends Parasitol. 2005; 21(11):508–12.

45. Tzizik DM, Borchardt RA. Chagas disease. J Am Acad Physician Assist. 2018; 31(12):30–3.

46. Edwards DI. Nitroimidazole drugs-action and resistance mechanisms I. Mechanism of action. J Antimicrob Chemother. 1993; 31(1):9–20.

47. Maya JD, Cassels BK, Iturriaga-Vásquez P, Ferreira J, Faúndez M, Galanti N, et al. Mode of action of natural and synthetic drugs against Trypanosoma cruzi and their interaction with the mammalian host. Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol. 2007; 146(4):601–20.

48. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Alvarez MG, Petti M, Bertocchi G, et al. Side effects of benznidazole as treatment in chronic Chagas disease: fears and realities. Expert Rev Anti Infect Ther. 2009; 7(2):157–63.

49. Bern C. Chagas' Disease. Longo DL, editor. N Engl J Med. 2015; 373(5):456–66.

50. Apt W. Current and developing therapeutic agents in the treatment of Chagas disease. Drug Des Devel Ther. 2010; 4:243–53.

51. Tarleton RL, Reithinger R, Urbina JA, Kitron U, Gürtler RE. The Challenges of Chagas Disease— Grim Outlook or Glimmer of Hope? PLoS Med. 2007; 4(12):e332.

52. Pierce RJ, MacDougall J, Leurs R, Costi MP. The Future of Drug Development for Neglected Tropical Diseases: How the European Commission Can Continue to Make a Difference. Trends Parasitol. 2017; 33(8):581–3.

53. Jean-Robert Ioset, Chatelain. Drug discovery and development for neglected diseases: the DNDi model. Drug Des Devel Ther. 2011; 5:175–81.

54. Werbovetz KA. Target-Based Drug Discovery for Malaria, Leishmaniasis, and Trypanosomiasis. Curr Med Chem. 2000; 7(8):835–60.

55. Chatelain E, Ioset J-R. Phenotypic screening approaches for Chagas disease drug discovery. Expert Opin Drug Discov. 2018; 13(2):141–53.

56. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Grellier P, Lesyk R. Trends in research of antitrypanosomal agents among synthetic heterocycles. Eur J Med Chem. 2014; 85:51-64.

57. Wermuth C, Aldous D, Raboisson P, Rognan D. The practice of medicinal chemistry [Internet]. 4th ed. Academic Press; 2015. 902 p.

58. Paliwal SK, Verma AN, Paliwal S. Neglected disease-African sleeping sickness: Recent synthetic and modeling advances. Sci Pharm. 2011; 79(3):389–428.

59. Nwaka S, Hudson A. Innovative lead discovery strategies for tropical diseases. Nat Rev Drug Discov. 2006; 5(11):941–55.

60. Gilbert IH. Drug Discovery for Neglected Diseases: Molecular Target-Based and Phenotypic Approaches. J Med Chem. 2013; 56(20):7719–26.

61. Nwaka S, Ramirez B, Brun R, Maes L, Douglas F, Ridley R. Advancing Drug Innovation for Neglected Diseases—Criteria for Lead Progression. Geary TG, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2009; 3(8):e440.

62. Magarinos MP, Carmona SJ, Crowther GJ, Ralph SA, Roos DS, Shanmugam D, et al. TDR Targets: a chemogenomics resource for neglected diseases. Nucleic Acids Res. 2012; 40(D1):D1118–27.

63. Https://tdrtargets.org/. The TDR Targets [Internet].

64. Beatriz Vermelho A, Giovanni De Simone S, Masini d'Avila-Levy C, Luis Souza do Santos A, Cristina Nogueira de Melo A, Paes Silva F, et al. Trypanosomatidae Peptidases: A Target for Drugs Development. Curr Enzym Inhib. 2007; 3(1):19–48.

65. Duschak V, Couto A. Cruzipain, the Major Cysteine Protease of Trypanosoma cruzi: A Sulfated Glycoprotein Antigen as Relevant Candidate for Vaccine Development and Drug Target. A Review. Curr Med Chem. 2009; 16(24):3174–202.

66. Beatriz Vermelho A. Trypanosoma cruzi Peptidases: An Overview. Open Parasitol J. 2010; 4(1):120–31.

67. Morty RE, Shih AY, Fülöp V, Andrews NW. Identification of the reactive cysteine residues in oligopeptidase B from Trypanosoma brucei. FEBS Lett. 2005; 579(10):2191–6.

68. Motta FN, Azevedo C dos S, Neves BP, Araújo CN de, Grellier P, Santana JM de, et al. Oligopeptidase B, a missing enzyme in mammals and a potential drug target for trypanosomatid diseases. Biochimie. 2019; 167:207–16.

69. Morty RE, Lonsdale-Eccles JD, Mentele R, Auerswald EA, Coetzer THT. Trypanosome-Derived Oligopeptidase B Is Released into the Plasma of Infected Rodents, Where It Persists and Retains Full Catalytic Activity. Infect Immun. 2001; 69(4):2757–61.

70. Santana JM, Grellier P, Schrevel J, Teixeira ARL. A Trypanosoma cruzi-secreted 80 kDa proteinase with specificity for human collagen types I and IV. Biochem J.

1997; 325(1):129–37.

71. Grellier P, Vendeville S, Joyeau R, Bastos IMD, Drobecq H, Frappier F, et al. Trypanosoma cruzi Prolyl Oligopeptidase Tc80 Is Involved in Nonphagocytic Mammalian Cell Invasion by Trypomastigotes. J Biol Chem. 2001; 276(50):47078–86.

72. Bivona AE, Sánchez Alberti A, Matos MN, Cerny N, Cardoso AC, Morales C, et al. Trypanosoma cruzi 80 kDa prolyl oligopeptidase (Tc80) as a novel immunogen for Chagas disease vaccine. Dutra WO, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2018; 12(3):e0006384.

73. Hall BS, Bot C, Wilkinson SR. Nifurtimox Activation by Trypanosomal Type I Nitroreductases Generates Cytotoxic Nitrile Metabolites. J Biol Chem. 2011; 286(15):13088–95.

74. Smith TK, Young BL, Denton H, Hughes DL, Wagner GK. First small molecular inhibitors of T. brucei dolicholphosphate mannose synthase (DPMS), a validated drug target in African sleeping sickness. Bioorganic Med Chem Lett. 2009; 19(6):1749–52.

75. Gangjee A, Jain H, Kurup S. Recent Advances in Classical and Non-Classical Antifolates as Antitumor and Antiopportunistic Infection Agents: Part I. Anticancer Agents Med Chem. 2007; 7(5):524–42.

76. Dewar S, Sienkiewicz N, Ong HB, Wall RJ, Horn D, Fairlamb AH. The Role of Folate Transport in Antifolate Drug Action in Trypanosoma brucei. J Biol Chem. 2016; 291(47):24768–78.

77. Ma Y, Weiss LM, Huang H. Inducible suicide vector systems for Trypanosoma cruzi. Microbes Infect. 2015; 17(6):440–50.

78. Cullia G, Tamborini L, Conti P, De Micheli C, Pinto A. Folates in Trypanosoma brucei : Achievements and Opportunities. ChemMedChem. 2018; 13(20):2150–8.

79. Gilbert IH. Inhibitors of dihydrofolate reductase in leishmania and trypanosomes. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis. 2002; 1587(2–3):249–57.

80. Krieger S, Schwarz W, Ariyanayagam MR, Fairlamb AH, Krauth-Siegel RL, Clayton C. Trypanosomes lacking trypanothione reductase are avirulent and show increased sensitivity to oxidative stress. Mol Microbiol. 2002; 35(3):542–52.

81. Spinks D, Shanks EJ, Cleghorn LAT, McElroy S, Jones D, James D, et al. Investigation of Trypanothione Reductase as a Drug Target in Trypanosoma brucei. ChemMedChem. 2009; 4(12):2060–9.

82. Beig M, Oellien F, Garoff L, Noack S, Krauth-Siegel RL, Selzer PM. Trypanothione Reductase: A Target Protein for a Combined In Vitro and In Silico Screening Approach. Pollastri MP, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2015; 9(6):e0003773.

83. Parsons M, Worthey EA, Ward PN, Mottram CJ. Comparative analysis of the kinomes of three pathogenic trypanosomatids: Leishmania major, Trypanosoma brucei and Trypanosoma cruzi. BMC Genomics. 2005; 6(1):127.

84. Soares-Silva M, Diniz FF, Gomes GN, Bahia D. The Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathway: Role in Immune Evasion by Trypanosomatids. Front Microbiol. 2016; 7.

85. Naula C, Parsons M, Mottram JC. Protein kinases as drug targets in trypanosomes and Leishmania. Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics. 2005; 1754(1–2):151–9.

86. Du X, Guo C, Hansell E, Doyle PS, Caffrey CR, Holler TP, et al. Synthesis and Structure−Activity Relationship Study of Potent Trypanocidal Thio Semicarbazone Inhibitors of the Trypanosomal Cysteine Protease Cruzain. J Med Chem. 2002; 45(13):2695–707.

87. Fujii N, Mallari JP, Hansell EJ, Mackey Z, Doyle P, Zhou YM, et al. Discovery of potent thiosemicarbazone inhibitors of rhodesain and cruzain. Bioorg Med Chem Lett. 2005; 15(1):121–3.

88. Pizzo C, Saiz C, Talevi A, Gavernet L, Palestro P, Bellera C, et al. Synthesis of 2-Hydrazolyl-4-Thiazolidinones Based on Multicomponent Reactions and Biological Evaluation Against Trypanosoma Cruzi. Chem Biol Drug Des. 2011; 77(3):166–72.

89. Moreira DRM, Costa SPM, Hernandes MZ, Rabello MM, de Oliveira Filho GB, de Melo CML, et al. Structural Investigation of Anti- Trypanosoma cruzi 2-Iminothiazolidin-4-ones Allows the Identification of Agents with Efficacy in Infected Mice. J Med Chem. 2012; 55(24):10918–36.

90. Hernandes MZ, Rabello MM, Leite ACL, Cardoso MVO, Moreira DRM,

Brondani DJ, et al. Studies toward the structural optimization of novel thiazolylhydrazone-based potent antitrypanosomal agents. Bioorganic Med Chem. 2010; 18(22):7826–35.

91. Papadopoulou M V., Bloomer WD, Rosenzweig HS, Chatelain E, Kaiser M, Wilkinson SR, et al. Novel 3-Nitro-1 H -1,2,4-triazole-Based Amides and Sulfonamides as Potential Antitrypanosomal Agents. J Med Chem. 2012; 55(11):5554–65.

92. Walton JGA, Jones DC, Kiuru P, Durie AJ, Westwood NJ, Fairlamb AH. Synthesis and Evaluation of Indatraline-Based Inhibitors for Trypanothione Reductase. ChemMedChem. 2011; 6(2):321–8.

93. Ochiana SO, Pandarinath V, Wang Z, Kapoor R, Ondrechen MJ, Ruben L, et al. The human Aurora kinase inhibitor danusertib is a lead compound for anti-trypanosomal drug discovery via target repurposing. Eur J Med Chem. 2013; 62:777–84.

94. Katiyar S, Kufareva I, Behera R, Thomas SM, Ogata Y, Pollastri M, et al. Lapatinib-Binding Protein Kinases in the African Trypanosome: Identification of Cellular Targets for Kinase-Directed Chemical Scaffolds. Li Z, editor. PLoS One. 2013; 8(2):e56150.

95. Mercer L, Bowling T, Perales J, Freeman J, Nguyen T, Bacchi C, et al. 2,4-Diaminopyrimidines as Potent Inhibitors of Trypanosoma brucei and Identification of Molecular Targets by a Chemical Proteomics Approach. Büscher P, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(2):e956.

96. Téllez-Valencia A, Ávila-Ríos S, Pérez-Montfort R, Rodríguez-Romero A, Tuena de Gómez-Puyou M, López-Calahorra F, et al. Highly specific inactivation of triosephosphate isomerase from Trypanosoma cruzi. Biochem Biophys Res Commun. 2002; 295(4):958–63.

97. Gabelli SB, McLellan JS, Montalvetti A, Oldfield E, Docampo R, Amzel LM. Structure and mechanism of the farnesyl diphosphate synthase from Trypanosoma cruzi: Implications for drug design. Proteins Struct Funct Genet. 2006; 62(1):80–8.

98. de Koning HP, Gould MK, Sterk GJ, Tenor H, Kunz S, Luginbuehl E, et al. Pharmacological Validation of Trypanosoma brucei Phosphodiesterases as Novel Drug Targets. J Infect Dis. 2012; 206(2):229–37.

99. Spinks D, Ong HB, Mpamhanga CP, Shanks EJ, Robinson DA, Collie IT, et al.

Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Inhibitors of Trypanosoma brucei Pteridine Reductase 1. ChemMedChem. 2011; 6(2):302–8.

100. Olivares-Illana V, Pérez-Montfort R, López-Calahorra F, Costas M, Rodríguez-Romero A, Tuena de Gómez-Puyou M, et al. Structural Differences in Triosephosphate Isomerase from Different Species and Discovery of a Multitrypanosomatid Inhibitor †. Biochemistry. 2006; 45(8):2556–60.

101. Aguilera E, Varela J, Birriel E, Serna E, Torres S, Yaluff G, et al. Potent and Selective Inhibitors of Trypanosoma cruzi Triosephosphate Isomerase with Concomitant Inhibition of Cruzipain: Inhibition of Parasite Growth through Multitarget Activity. ChemMedChem. 2016; 11(12):1328–38.

102. Minini L, Álvarez G, González M, Cerecetto H, Merlino A. Molecular docking and molecular dynamics simulation studies of Trypanosoma cruzi triosephosphate isomerase inhibitors. Insights into the inhibition mechanism and selectivity. J Mol Graph Model. 2015; 58:40–9.

103. Verlinde CLMJ, Hannaert V, Blonski C, Willson M, Périé JJ, Fothergill-Gilmore LA, et al. Glycolysis as a target for the design of new anti-trypanosome drugs. Drug Resist Updat. 2001; 4(1):50–65.

104. Ostoa-Saloma P, Garza-Ramos G, Ramirez J, Becker I, Berzunza M, Landa A, et al. Cloning, Expression, Purification and Characterization Of Triosephosphate Isomerase from Trypanosoma Cruzi. Eur J Biochem. 1997; 244(3):700–5.

105. Aripirala S, Szajnman SH, Jakoncic J, Rodriguez JB, Docampo R, Gabelli SB, et al. Design, Synthesis, Calorimetry, and Crystallographic Analysis of 2-Alkylaminoethyl-1,1-bisphosphonates as Inhibitors of Trypanosoma cruzi Farnesyl Diphosphate Synthase. J Med Chem. 2012; 55(14):6445–54.

106. Kunz S, Beavo JA, D'Angelo MA, Flawia MM, Francis SH, Johner A, et al. Cyclic nucleotide specific phosphodiesterases of the kinetoplastida: A unified nomenclature. Mol Biochem Parasitol. 2006; 145(1):133–5.

107. Haasen D, Schopfer U, Antczak C, Guy C, Fuchs F, Selzer P. How Phenotypic Screening Influenced Drug Discovery: Lessons from Five Years of Practice. Assay Drug Dev Technol. 2017; 15(6):239–46.

108. Moffat JG, Vincent F, Lee JA, Eder J, Prunotto M. Opportunities and challenges in phenotypic drug discovery: an industry perspective. Nat Rev Drug Discov. 2017; 16(8):531–43.

109. Swinney DC. Phenotypic vs. Target-Based Drug Discovery for First-in-Class Medicines. Clin Pharmacol Ther. 2013; 93(4):299–301.

110. Peña I, Pilar Manzano M, Cantizani J, Kessler A, Alonso-Padilla J, Bardera AI, et al. New Compound Sets Identified from High Throughput Phenotypic Screening Against Three Kinetoplastid Parasites: An Open Resource. Sci Rep. 2015; 5(1):8771.

111. Donelson JE, Gardner MJ, El-Sayed NM. More surprises from Kinetoplastida. Proc Natl Acad Sci. 1999; 96(6):2579–81.

112. Stuart K, Brun R, Croft S, Fairlamb A, Gürtler RE, McKerrow J, et al. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. J Clin Invest. 2008; 118(4):1301–10.

113. Barrett MP, Croft SL. Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. Br Med Bull. 2012; 104(1):175–96.

114. Https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis. Leishmaniasis [Internet].

115. Sangshetti JN, Kalam Khan FA, Kulkarni AA, Arote R, Patil RH. Antileishmanial drug discovery: comprehensive review of the last 10 years. RSC Adv. 2015; 5(41):32376–415.

116. Blasco B, Leroy D, Fidock DA. Antimalarial drug resistance: linking Plasmodium falciparum parasite biology to the clinic. Nat Med. 2017; 23(8):917–28.

117. Sharma M, Chauhan K, Srivastava RK, Singh S V., Srivastava K, Saxena JK, et al. Design and Synthesis of a New Class of 4-Aminoquinolinyl- and 9-Anilinoacridinyl Schiff Base Hydrazones as Potent Antimalarial Agents. Chem Biol Drug Des. 2014; 84(2):175–81.

118. Burrows JN, Burlot E, Campo B, Cherbuin S, Jeanneret S, Leroy D, et al. Antimalarial drug discovery – the path towards eradication. Parasitology. 2014; 141(1):128–39.

119. Calogeropoulou T, Magoulas GE, Pöhner I, Wade RC, Panecka-Hofman J,

Linciano P, et al. Hits and Lead Discovery in the Identification of New Drugs against the Trypanosomatidic Infections. In: Medicinal Chemistry of Neglected and Tropical Diseases: Advances in the Design and Synthesis of Antimicrobial Agents. Ltd, Taylor & Francis; 2019. p. 185–231.

120. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Grellier P, Lesyk R. Thiazolidinone-Related Heterocyclic Compounds as Potential Antitrypanosomal Agents. In: Azoles - Synthesis, Properties, Applications and Perspectives [Working Title]. IntechOpen; 2020.

121. Silva-Júnior EF, Silva EPS, França PHB, Silva JPN, Barreto EO, Silva EB, et al. Design, synthesis, molecular docking and biological evaluation of thiophen-2-iminothiazolidine derivatives for use against Trypanosoma cruzi. Bioorg Med Chem. 2016; 24(18):4228–40.

122. Scarim CB, Jornada DH, Machado MGM, Ferreira CMR, dos Santos JL, Chung MC. Thiazole, thio and semicarbazone derivatives against tropical infective diseases: Chagas disease, human African trypanosomiasis (HAT), leishmaniasis, and malaria. Eur J Med Chem. 2019; 162:378–95.

123. Linciano P, Moraes CB, Alcantara LM, Franco CH, Pascoalino B, Freitas-Junior LH, et al. Aryl thiosemicarbazones for the treatment of trypanosomatidic infections. Eur J Med Chem. 2018; 146:423–34.

124. Espíndola JWP, Cardoso MV de O, Filho GB de O, Oliveira e Silva DA, Moreira DRM, Bastos TM, et al. Synthesis and structure–activity relationship study of a new series of antiparasitic aryloxyl thiosemicarbazones inhibiting Trypanosoma cruzi cruzain. Eur J Med Chem. 2015; 101:818–35.

125. Rettondin AR, Carneiro ZA, Gonçalves ACR, Ferreira VF, Oliveira CG, Lima AN, et al. Gold(III) complexes with ONS-Tridentate thiosemicarbazones: Toward selective trypanocidal drugs. Eur J Med Chem. 2016; 120:217–26.

126. Rodríguez Arce E, Machado I, Rodríguez B, Lapier M, Zúñiga MC, Maya JD, et al. Rhenium(I) tricarbonyl compounds of bioactive thiosemicarbazones: Synthesis, characterization and activity against Trypanosoma cruzi. J Inorg Biochem. 2017; 170:125–33.

127. Fatondji HR, Kpoviessi S, Gbaguidi F, Bero J, Hannaert V, Quetin-Leclercq J,

et al. Structure-activity relationship study of thiosemicarbazones on an African trypanosome: Trypanosoma brucei brucei. Med Chem Res. 2013; 22(5):2151–62.

128. Vital DG, Damasceno FS, Rapado LN, Silber AM, Vilella FS, Ferreira RS, et al. Application of bioisosterism in design of the semicarbazone derivatives as cruzain inhibitors: a theoretical and experimental study. J Biomol Struct Dyn. 2017; 35(6):1244–59.

129. Rocha DA, Silva EB, Fortes IS, Lopes MS, Ferreira RS, Andrade SF. Synthesis and structure-activity relationship studies of cruzain and rhodesain inhibitors. Eur J Med Chem. 2018; 157:1426–59.

130. Greenbaum DC, Mackey Z, Hansell E, Doyle P, Gut J, Caffrey CR, et al. Synthesis and Structure−Activity Relationships of Parasiticidal Thiosemicarbazone Cysteine Protease Inhibitors against Plasmodium falciparum , Trypanosoma brucei , and Trypanosoma cruzi. J Med Chem. 2004; 47(12):3212–9.

131. Ferreira LG, Andricopulo AD. Targeting cysteine proteases in trypanosomatid disease drug discovery. Pharmacol Ther. 2017; 180:49–61.

132. Bhongade BA, Talath S, Gadad RA, Gadad AK. Biological activities of imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole derivatives: A review. J Saudi Chem Soc. 2016; 20:S463–75.

133. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Nektegayev I, Vasylenko O, Grellier P, Lesyk R. Isothiocoumarin-3-carboxylic acid derivatives: Synthesis, anticancer and antitrypanosomal activity evaluation. Eur J Med Chem. 2014; 75:57–66.

134. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Lesyk R. 5-Ene-4-thiazolidinones – An efficient tool in medicinal chemistry. Eur J Med Chem. 2017; 140:542–94.

135. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Lesyk R. Recent developments with rhodanine as a scaffold for drug discovery. Expert Opin Drug Discov. 2017; 12(12):1233–52.

136. Leite ACL, Espíndola JWP, de Oliveira Cardoso MV, de Oliveira Filho GB. Privileged Structures in the Design of Potential Drug Candidates for Neglected Diseases. Curr Med Chem. 2019; 26(23):4323–54.

137. de Oliveira Filho GB, Cardoso MV de O, Espíndola JWP, Oliveira e Silva DA,

Ferreira RS, Coelho PL, et al. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against Trypanosoma cruzi. Eur J Med Chem. 2017; 141:346–61.

138. de Moraes Gomes PAT, de Oliveira Barbosa M, Farias Santiago E, de Oliveira Cardoso MV, Capistrano Costa NT, Hernandes MZ, et al. New 1,3-thiazole derivatives and their biological and ultrastructural effects on Trypanosoma cruzi. Eur J Med Chem. 2016; 121:387–98.

139. Scarim CB, Jornada DH, Chelucci RC, de Almeida L, dos Santos JL, Chung MC. Current advances in drug discovery for Chagas disease. Eur J Med Chem. 2018; 155:824–38.

140. Álvarez G, Varela J, Cruces E, Fernández M, Gabay M, Leal SM, et al. Identification of a New Amide-Containing Thiazole as a Drug Candidate for Treatment of Chagas' Disease. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59(3):1398–404.

141. Moreira DRM, Lima Leite AC, Cardoso MVO, Srivastava RM, Hernandes MZ, Rabello MM, et al. Structural design, synthesis and structure-activity relationships of thiazolidinones with enhanced anti-Trypanosoma cruzi activity. ChemMedChem. 2014; 9(1):177–88.

142. Erian A, Sherif S, Gaber H. The Chemistry of α-Haloketones and Their Utility in Heterocyclic Synthesis. Molecules. 2003; 8(11):793–865.

143. Zhang D-N, Li J-T, Song Y-L, Liu H-M, Li H-Y. Efficient one-pot three-component synthesis of N-(4-arylthiazol-2-yl) hydrazones in water under ultrasound irradiation. Ultrason Sonochem. 2012; 19(3):475–8.

144. Salhi L, Achouche-Bouzroura S, Nechak R, Nedjar-Kolli B, Rabia C, Merazig H, et al. Synthesis of functionalized dihydroimidazo[1,2- A]pyridines and 4-thiazolidinone derivatives from maleimide, as new class of antimicrobial agents. Synth Commun. 2020; 50(3):412–22.

145. Leite ACL, Moreira DRDM, Cardoso MVDO, Hernandes MZ, Alves Pereira VR, Silva RO, et al. Synthesis, cruzain docking, and in vitro studies of aryl-4-oxothiazolylhydrazones against Trypanosoma cruzi. ChemMedChem. 2007; 2(9):1339–45.

146. Irwin JJ, Sterling T, Mysinger MM, Bolstad ES, Coleman RG. ZINC: A Free

Tool to Discover Chemistry for Biology. J Chem Inf Model. 2012; 52(7):1757–68.

147. Leite ACL, de Lima RS, Moreira DR de M, Cardoso MV de O, Gouveia de Brito AC, Farias dos Santos LM, et al. Synthesis, docking, and in vitro activity of thiosemicarbazones, aminoacyl-thiosemicarbazides and acyl-thiazolidones against Trypanosoma cruzi. Bioorganic Med Chem. 2006; 14(11):3749–57.

148. Seebacher W, Brun R, Weis R. New 4-aminobicyclo[2.2.2]octane derivatives and their activities against Plasmodium falciparum and Trypanosoma b. rhodesiense. Eur J Pharm Sci. 2004; 21(2–3):225–33.

149. Гаврилюк ДЯ, Зіменковський БС, Зеліско НІ, Грельє Ф, Лесик РБ. Антипротозойна активність неконденсованих систем з тіазолідиновим та піразоліновим фрагментами у молекулах. Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. 2010; 3–4:62–6.

150. Havrylyuk D, Roman O, Lesyk R. Synthetic approaches, structure activity relationship and biological applications for pharmacologically attractive pyrazole/pyrazoline–thiazolidine-based hybrids. Eur J Med Chem. 2016; 113:145–66.

151. Meunier B. Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action: Dream or Reality? †. Acc Chem Res. 2008; 41(1):69–77.

152. Agarwal D, Gupta RD, Awasthi SK. Are Antimalarial Hybrid Molecules a Close Reality or a Distant Dream? Antimicrob Agents Chemother. 2017; 61(5).

153. Ivasiv V, Albertini C, Gonçalves AE, Rossi M, Bolognesi ML. Molecular Hybridization as a Tool for Designing Multitarget Drug Candidates for Complex Diseases. Curr Top Med Chem. 2019; 19(19):1694–711.

154. Shaveta, Mishra S, Singh P. Hybrid molecules: The privileged scaffolds for various pharmaceuticals. Eur J Med Chem. 2016; 124:500–36.

155. Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Karpenko O, Grellier P, Lesyk R. Synthesis of pyrazoline-thiazolidinone hybrids with trypanocidal activity. Eur J Med Chem. 2014; 85:245–54.

156. Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Day CW, Smee DF, Grellier P, et al. Synthesis and biological activity evaluation of 5-pyrazoline substituted 4-thiazolidinones. Eur J Med Chem. 2013; 66:228–37.

157. Zhang X, Li X, Li D, Qu G, Wang J, Loiseau PM, et al. Ionic liquid mediated and promoted eco-friendly preparation of thiazolidinone and pyrimidine nucleoside-thiazolidinone hybrids and their antiparasitic activities. Bioorganic Med Chem Lett. 2009; 19(22):6280–3.

158. Крищишин АП, Камінський ДВ, Зеліско НІ, Хилюк ДВ, Грельє Ф, Лесик РБ. Вивчення протитрипаносомної активності тіазолідинонів та споріднених гетероциклічних систем. Журнал органічної і фармацевтичної хімії. 2013; 11(2):57–62.

159. Kaminskyy D, Khyluk D, Vasylenko O, Lesyk R. An efficient method for the transformation of 5-ylidenerhodanines into 2,3,5-trisubstituted-4-thiazolidinones. Tetrahedron Lett. 2012; 53(5):557–9.

160. Kaminskyy D. A Facile Synthesis and Anticancer Activity Evaluation of Spiro[Thiazolidinone-Isatin] Conjugates. Sci Pharm. 2011; 79(4):763–77.

161. Leite FHA, Santiago PBG da S, Froes TQ, da Silva Filho J, da Silva SG, Ximenes RM, et al. Structure-guided discovery of thiazolidine-2,4-dione derivatives as a novel class of Leishmania major pteridine reductase 1 inhibitors. Eur J Med Chem. 2016; 123:639–48.

162. da Silva EB, Oliveira e Silva DA, Oliveira AR, da Silva Mendes CH, dos Santos TAR, da Silva AC, et al. Desing and synthesis of potent anti - Trypanosoma cruzi agents new thiazoles derivatives which induce apoptotic parasite death. Eur J Med Chem. 2017; 130:39–50.

163. Diaz R, Luengo-Arratta SA, Seixas JD, Amata E, Devine W, Cordon-Obras C, et al. Identification and Characterization of Hundreds of Potent and Selective Inhibitors of Trypanosoma brucei Growth from a Kinase-Targeted Library Screening Campaign. Geary TG, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2014; 8(10):e3253.

164. Caputto ME, Ciccarelli A, Frank F, Moglioni AG, Moltrasio GY, Vega D, et al. Synthesis and biological evaluation of some novel 1-indanone thiazolylhydrazone derivatives as anti-Trypanosoma cruzi agents. Eur J Med Chem. 2012; 55:155–63.

165. Vega MC, Rolón M, Montero-Torres A, Fonseca-Berzal C, Escario JA, Gómez-Barrio A, et al. Synthesis, biological evaluation and chemometric analysis of

indazole derivatives. 1,2-Disubstituted 5-nitroindazolinones, new prototypes of antichagasic drug. Eur J Med Chem. 2012; 58:214–27.

166. Aguilera-Venegas B, Olea-Azar C, Arán VJ, Speisky H. Indazoles: a new top seed structure in the search of efficient drugs against Trypanosoma cruzi. Future Med Chem. 2013; 5(15):1843–59.

167. Smithson DC, Lee J, Shelat AA, Phillips MA, Guy RK. Discovery of Potent and Selective Inhibitors of Trypanosoma brucei Ornithine Decarboxylase. J Biol Chem. 2010; 285(22):16771–81.

168. Woodland A, Grimaldi R, Luksch T, Cleghorn LAT, Ojo KK, Van Voorhis WC, et al. From On-Target to Off-Target Activity: Identification and Optimisation of Trypanosoma brucei GSK3 Inhibitors and Their Characterisation as Anti- Trypanosoma brucei Drug Discovery Lead Molecules. ChemMedChem. 2013; 8(7):1127–37.

169. Gomes PAT de M, Oliveira AR, Cardoso MV de O, Santiago E de F, Barbosa M de O, de Siqueira LRP, et al. Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of Trypanosoma cruzi. Eur J Med Chem. 2016; 111:46–57.

170. Bailey S, Smith K, Fairlamb AH, Hunter WN. Substrate interactions between trypanothione reductase and N1-glutathionylspermidine disulphide at 0.28-nm resolution. Eur J Biochem. 1993; 213(1):67–75.

171. Sienkiewicz N, Ong HB, Fairlamb AH. Trypanosoma brucei pteridine reductase 1 is essential for survival in vitro and for virulence in mice. Mol Microbiol. 2010; 77(3):658–71.

172. Benaim G, Sanders JM, Garcia-Marchán Y, Colina C, Lira R, Caldera AR, et al. Amiodarone Has Intrinsic Anti- Trypanosoma c ruzi Activity and Acts Synergistically with Posaconazole †. J Med Chem. 2006; 49(3):892–9.

173. Benaim G, Hernandez-Rodriguez V, Mujica-Gonzalez S, Plaza-Rojas L, Silva ML, Parra-Gimenez N, et al. In Vitro Anti-Trypanosoma cruzi Activity of Dronedarone, a Novel Amiodarone Derivative with an Improved Safety Profile. Antimicrob Agents Chemother. 2012; 56(7):3720–5.

174. Benaim G, Paniz-Mondolfi AE, Sordillo EM, Martinez-Sotillo N. Disruption of Intracellular Calcium Homeostasis as a Therapeutic Target Against Trypanosoma cruzi.

Front Cell Infect Microbiol. 2020; 10:46.

175. Lourenço AM, Faccini CC, Costa CA de J, Mendes GB, Fragata Filho AA. Evaluation of in vitro anti-Trypanosoma cruzi activity of medications benznidazole, amiodarone hydrochloride, and their combination. Rev Soc Bras Med Trop. 2018; 51(1):52–6.

176. Pinto-Martinez A, Hernández-Rodríguez V, Rodríguez-Durán J, Hejchman E, Benaim G. Anti-Trypanosoma cruzi action of a new benzofuran derivative based on amiodarone structure. Exp Parasitol. 2018; 189:8–15.

177. Thévenin M, Thoret S, Grellier P, Dubois J. Synthesis of polysubstituted benzofuran derivatives as novel inhibitors of parasitic growth. Bioorg Med Chem. 2013; 21(17):4885–92.

178. Wring S, Gaukel E, Nare B, Jacobs R, Beaudet B, Bowling T, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics utilizing unbound target tissue exposure as part of a disposition-based rationale for lead optimization of benzoxaboroles in the treatment of Stage 2 Human African Trypanosomiasis. Parasitology. 2014; 141(1):104–18.

179. Jacobs RT, Nare B, Wring SA, Orr MD, Chen D, Sligar JM, et al. SCYX-7158, an Orally-Active Benzoxaborole for the Treatment of Stage 2 Human African Trypanosomiasis. Keiser J, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(6):e1151.

180. Wall RJ, Rico E, Lukac I, Zuccotto F, Elg S, Gilbert IH, et al. Clinical and veterinary trypanocidal benzoxaboroles target CPSF3. Proc Natl Acad Sci. 2018; 115(38):9616–21.

181. Jones DC, Foth BJ, Urbaniak MD, Patterson S, Ong HB, Berriman M, et al. Genomic and Proteomic Studies on the Mode of Action of Oxaboroles against the African Trypanosome. Pollastri MP, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2015; 9(12):e0004299.

182. Https://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/scyx-1330682/. DNDi: oxaborole SCYX-7158 (human African trypanosomiasis) [Internet].

183. Ding D, Meng Q, Gao G, Zhao Y, Wang Q, Nare B, et al. Design, Synthesis, and Structure−Activity Relationship of Trypanosoma brucei Leucyl-tRNA Synthetase Inhibitors as Antitrypanosomal Agents. J Med Chem. 2011; 54(5):1276–87.

184. Qiao Z, Wang Q, Zhang F, Wang Z, Bowling T, Nare B, et al. Chalcone–

Benzoxaborole Hybrid Molecules as Potent Antitrypanosomal Agents. J Med Chem. 2012; 55(7):3553–7.

185. Plevachuk NE, Komaritsa ID. A study of azolidones and their derivatives. Chem Heterocycl Compd. 1970; 6(2):144–5.

186. Unangst PC, Connor DT, Cetenko WA, Sorenson RJ, Kostlan CR, Sircar JC, et al. Synthesis and biological evaluation of 5-[[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methylene]oxazoles, -thiazoles, and -imidazoles: novel dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors with antiinflammatory activity. J Med Chem. 1994; 37(2):322–8.

187. Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Gzella A, Lesyk R. Synthesis of New 4-Thiazolidinone-, Pyrazoline-, and Isatin-Based Conjugates with Promising Antitumor Activity. J Med Chem. 2012; 55(20):8630–41.

188. Sing WT, Lee CL, Yeo SL, Lim SP, Sim MM. Arylalkylidene rhodanine with bulky and hydrophobic functional group as selective HCV NS3 protease inhibitor. Bioorg Med Chem Lett. 2001; 11(2):91–4.

189. El-Sherif HAH, Mahmoud AM, Sarhan AAO, Hozien ZA, Habib OMA. One pot synthesis of novel thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoles: A useful synthetic application of the acidified acetic acid method. J Sulfur Chem. 2006; 27(1):65–85.

190. Brown FC, Jones RS, Kent M. The aldol condensation with 2,3-diphenyl-4-thiazolidinone. Can J Chem. 1963; 41(4):817–20.

191. Riyaz S, Naidu A, Dubey PK. L-Proline-Catalyzed Synthesis of Novel 5-(1H-Indol-3-yl-methylene)-thiazolidine-2,4-dione Derivatives as Potential Antihyperglycemic Agents. Synth Commun. 2011; 41(18):2756–62.

192. Azizi N, Hasani M, Khajeh M, Edrisi M. A straightforward and sustainable one-pot, four-component synthesis of rhodanine derivatives. Tetrahedron Lett. 2015; 56(10):1189–92.

193. Lidström P, Tierney J, Wathey B, Westman J. Microwave assisted organic synthesis—a review. Tetrahedron. 2001; 57(45):9225–83.

194. Guiheneuf S, Paquin L, Carreaux F, Durieu E, Roisnel T, Meijer L, et al. New 5-ylidene rhodanine derivatives based on the dispacamide A model. Mol Divers. 2014;

18(2):375–88.

195. Forino M, Johnson S, Wong TY, Rozanov D V., Savinov AY, Li W, et al. Efficient synthetic inhibitors of anthrax lethal factor. Proc Natl Acad Sci. 2005; 102(27):9499–504.

196. Ohishi Y, Mukai T, Nagahara M, Yajima M, Kajikawa N, Miyahara K, et al. Preparations of 5-alkylmethylidene-3-carboxymethylrhodanine derivatives and their aldose reductase inhibitory activity. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1990; 38(7):1911–9.

197. Ravi S, Chiruvella KK, Rajesh K, Prabhu V, Raghavan SC. 5-Isopropylidene-3-ethyl rhodanine induce growth inhibition followed by apoptosis in leukemia cells. Eur J Med Chem. 2010; 45(7):2748–52.

198. Moorthy BT, Ravi S, Srivastava M, Chiruvella KK, Hemlal H, Joy O, et al. Novel rhodanine derivatives induce growth inhibition followed by apoptosis. Bioorg Med Chem Lett. 2010; 20(21):6297–301.

199. Xia Z, Knaak C, Ma J, Beharry ZM, McInnes C, Wang W, et al. Synthesis and Evaluation of Novel Inhibitors of Pim-1 and Pim-2 Protein Kinases. J Med Chem. 2009; 52(1):74–86.

200. Bruno G, Costantino L, Curinga C, Maccari R, Monforte F, Nicolò F, et al. Synthesis and aldose reductase inhibitory activity of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones. Bioorg Med Chem. 2002; 10(4):1077–84.

201. Baell JB, Nissink JWM. Seven Year Itch: Pan-Assay Interference Compounds (PAINS) in 2017—Utility and Limitations. ACS Chem Biol. 2018; 13(1):36–44.

202. Kryshchyshyn A, Roman O, Lozynskyi A, Lesyk R. Thiopyrano[2,3-d]thiazoles as new efficient scaffolds in medicinal chemistry. Sci Pharm. 2018; 86(2).

203. Atamanyuk D, Zimenkovsky B, Lesyk R. Synthesis and anticancer activity of novel thiopyrano[2,3- d]thiazole-based compounds containing norbornane moiety. J Sulfur Chem. 2008; 29(2):151–62.

204. Kryshchyshyn A, Atamanyuk D, Lesyk R. Fused thiopyrano[2,3-d]thiazole derivatives as potential anticancer agents. Sci Pharm. 2012; 80(3):509–30.

205. Atamanyuk D, Zimenkovsky B, Atamaniuk V, Nektegaev I, Lesyk R. Synthesis and Biological Activity of New Thiopyrano[2,3-d]thiazoles Containing a

Naphthoquinone Moiety. Sci Pharm. 2013; 81(2):423–36.

206. Atamanyuk D, Zimenkovsky B, Atamanyuk V, Lesyk R. 5-Ethoxymethylidene-4-thioxo-2-thiazolidinone as Versatile Building Block for Novel Biorelevant Small Molecules with Thiopyrano[2,3- d][1,3]thiazole Core. Synth Commun. 2014; 44(2):237–44.

207. Zelisko N, Atamanyuk D, Vasylenko O, Grellier P, Lesyk R. Synthesis and antitrypanosomal activity of new 6,6,7-trisubstituted thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazoles. Bioorganic Med Chem Lett. 2012; 22(23):7071–4.

208. Rodrigues CA, dos Santos PF, da Costa MOL, Pavani TFA, Xander P, Geraldo MM, et al. 4-Phenyl-1,3-thiazole-2-amines as scaffolds for new antileishmanial agents. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2018; 24(1):26.

209. Ibrar A, Zaib S, Khan I, Jabeen F, Iqbal J, Saeed A. Facile and expedient access to bis-coumarin–iminothiazole hybrids by molecular hybridization approach: synthesis, molecular modelling and assessment of alkaline phosphatase inhibition, anticancer and antileishmanial potential. RSC Adv. 2015; 5(109):89919–31.

210. Bhuniya D, Mukkavilli R, Shivahare R, Launay D, Dere RT, Deshpande A, et al. Aminothiazoles: Hit to lead development to identify antileishmanial agents. Eur J Med Chem. 2015; 102:582–93.

211. Dar AA, Shadab M, Khan S, Ali N, Khan AT. One-Pot Synthesis and Evaluation of Antileishmanial Activities of Functionalized S -Alkyl/Aryl Benzothiazole-2-carbothioate Scaffold. J Org Chem. 2016; 81(8):3149–60.

212. Manzano JI, Cochet F, Boucherle B, Gómez-Pérez V, Boumendjel A, Gamarro F, et al. Arylthiosemicarbazones as antileishmanial agents. Eur J Med Chem. 2016; 123:161–70.

213. Pervez H, Manzoor N, Yaqub M, Khan KM. 5-Nitroisatin-derived thiosemicarbazones: potential antileishmanial agents. J Enzyme Inhib Med Chem. 2014; 29(5):628–32.

214. Taha M, Ismail NH, Ali M, Khan KM, Jamil W, Kashif SM, et al. Synthesis of indole-2-hydrazones in search of potential leishmanicidal agents. Med Chem Res. 2014; 23(12):5282–93.

215. Taha M, Uddin I, Gollapalli M, Almandil NB, Rahim F, Farooq RK, et al. Synthesis, anti-leishmanial and molecular docking study of bis-indole derivatives. BMC Chem. 2019; 13(1):102.

216. Sharma R, Pandey AK, Shivahare R, Srivastava K, Gupta S, Chauhan PMS. Triazino indole–quinoline hybrid: A novel approach to antileishmanial agents. Bioorg Med Chem Lett. 2014; 24(1):298–301.

217. Manda S, Khan SI, Jain SK, Mohammed S, Tekwani BL, Khan IA, et al. Synthesis, antileishmanial and antitrypanosomal activities of N-substituted tetrahydro-β-carbolines. Bioorg Med Chem Lett. 2014; 24(15):3247–50.

218. Corman HN, Shoue DA, Norris-Mullins B, Melancon BJ, Morales MA, McDowell MA. Development of a target-free high-throughput screening platform for the discovery of antileishmanial compounds. Int J Antimicrob Agents. 2019; 54(4):496–501.

219. Branowska D, Farahat AA, Kumar A, Wenzler T, Brun R, Liu Y, et al. Synthesis and antiprotozoal activity of 2,5-bis[amidinoaryl]thiazoles. Bioorg Med Chem. 2010; 18(10):3551–8.

220. González Cabrera D, Douelle F, Feng T-S, Nchinda AT, Younis Y, White KL, et al. Novel Orally Active Antimalarial Thiazoles. J Med Chem. 2011; 54(21):7713–9.

221. Makam P, Thakur PK, Kannan T. In vitro and in silico antimalarial activity of 2-(2-hydrazinyl)thiazole derivatives. Eur J Pharm Sci. 2014; 52:138–45.

222. Hameed P S, Chinnapattu M, Shanbag G, Manjrekar P, Koushik K, Raichurkar A, et al. Aminoazabenzimidazoles, a Novel Class of Orally Active Antimalarial Agents. J Med Chem. 2014; 57(13):5702–13.

223. Kuhen KL, Chatterjee AK, Rottmann M, Gagaring K, Borboa R, Buenviaje J, et al. KAF156 Is an Antimalarial Clinical Candidate with Potential for Use in Prophylaxis, Treatment, and Prevention of Disease Transmission. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58(9):5060–7.

224. Leong FJ, Jain JP, Feng Y, Goswami B, Stein DS. A phase 1 evaluation of the pharmacokinetic/pharmacodynamic interaction of the anti-malarial agents KAF156 and piperaquine. Malar J. 2018; 17(1):7.

225. Koller R, Mombo-Ngoma G, Grobusch MP. The early preclinical and clinical

development of ganaplacide (KAF156), a novel antimalarial compound. Expert Opin Investig Drugs. 2018; 27(10):803–10.

226. Chakka SK, Kalamuddin M, Sundararaman S, Wei L, Mundra S, Mahesh R, et al. Identification of novel class of falcipain-2 inhibitors as potential antimalarial agents. Bioorg Med Chem. 2015; 23(9):2221–40.

227. White NJ, Pukrittayakamee S, Phyo AP, Rueangweerayut R, Nosten F, Jittamala P, et al. Spiroindolone KAE609 for Falciparum and Vivax Malaria. N Engl J Med. 2014; 371(5):403–10.

228. Takada H, Kumagai N, Shibasaki M. Stereoselective Total Synthesis of KAE609 via Direct Catalytic Asymmetric Alkynylation to Ketimine. Org Lett. 2015; 17(19):4762–5.

229. Goldgof GM, Durrant JD, Ottilie S, Vigil E, Allen KE, Gunawan F, et al. Comparative chemical genomics reveal that the spiroindolone antimalarial KAE609 (Cipargamin) is a P-type ATPase inhibitor. Sci Rep. 2016; 6(1):27806.

230. Vaidya AB, Morrisey JM, Zhang Z, Das S, Daly TM, Otto TD, et al. Pyrazoleamide compounds are potent antimalarials that target Na+ homeostasis in intraerythrocytic Plasmodium falciparum. Nat Commun. 2014; 5(1):5521.

231. Luth MR, Gupta P, Ottilie S, Winzeler EA. Using in Vitro Evolution and Whole Genome Analysis To Discover Next Generation Targets for Antimalarial Drug Discovery. ACS Infect Dis. 2018; 4(3):301–14.

232. McCarthy JS, Lotharius J, Rückle T, Chalon S, Phillips MA, Elliott S, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and activity of the novel long-acting antimalarial DSM265: a two-part first-in-human phase 1a/1b randomised study. Lancet Infect Dis. 2017; 17(6):626–35.

233. Bekhit AA, Hassan AMM, Abd El Razik HA, El-Miligy MMM, El-Agroudy EJ, Bekhit AE-DA. New heterocyclic hybrids of pyrazole and its bioisosteres: Design, synthesis and biological evaluation as dual acting antimalarial-antileishmanial agents. Eur J Med Chem. 2015; 94:30–44.

234. Oryan A, Bemani E, Bahrami S. Emerging role of amiodarone and dronedarone, as antiarrhythmic drugs, in treatment of leishmaniasis. Acta Trop. 2018;

185:34–41.

235. Chappuis F, Udayraj N, Stietenroth K, Meussen A, Bovier PA. Eflornithine Is Safer than Melarsoprol for the Treatment of Second-Stage Trypanosoma brucei gambiense Human African Trypanosomiasis. Clin Infect Dis. 2005; 41(5):748–51.

236. Jansson-Löfmark R, Na-Bangchang K, Björkman S, Doua F, Ashton M. Enantiospecific Reassessment of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Oral Eflornithine against Late-Stage Trypanosoma brucei gambiense Sleeping Sickness. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59(2):1299–307.

237. Gerner EW, Meyskens FL. Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. Nat Rev Cancer. 2004; 4(10):781–92.

238. Levin VA, Ictech SE, Hess KR. Clinical importance of eflornithine (α-difluoromethylornithine) for the treatment of malignant gliomas. CNS Oncol. 2018; 7(2):CNS16.

239. Levin VA. Compositions and methods for use of eflornithine and derivatives and analogs thereof to treat cancers, including gliomas. USA; US20170273926A1.

240. Otero L, Vieites M, Boiani L, Denicola A, Rigol C, Opazo L, et al. Novel Antitrypanosomal Agents Based on Palladium Nitrofurylthiosemicarbazone Complexes: DNA and Redox Metabolism as Potential Therapeutic Targets †. J Med Chem. 2006; 49(11):3322–31.

241. Pollastri MP, Campbell RK. Target repurposing for neglected diseases. Future Med Chem. 2011; 3(10):1307–15.

242. Patel G, Karver CE, Behera R, Guyett PJ, Sullenberger C, Edwards P, et al. Kinase Scaffold Repurposing for Neglected Disease Drug Discovery: Discovery of an Efficacious, Lapatanib-Derived Lead Compound for Trypanosomiasis. J Med Chem. 2013; 56(10):3820–32.

243. Steverding D, Wang X. Trypanocidal activity of the proteasome inhibitor and anti-cancer drug bortezomib. Parasites and Vectors. 2009; 2(1):1–4.

244. Masaki RI. Mechanism of action of bortezomib in multiple myeloma therapy. Int J Myeloma. 2016; 6(1):1–6.

245. Deterding A, Dungey FA, Thompson K-A, Steverding D. Anti-trypanosomal

activities of DNA topoisomerase inhibitors. Acta Trop. 2005; 93(3):311–6.

246. de Siqueira LRP, de Moraes Gomes PAT, de Lima Ferreira LP, de Melo Rêgo MJB, Leite ACL. Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues. Eur J Med Chem. 2019; 170:237–60.

247. Kaminskyy D, Zimenkovsky B, Lesyk R. Synthesis and in vitro anticancer activity of 2,4-azolidinedione-acetic acids derivatives. Eur J Med Chem. 2009; 44(9):3627–36.

248. Szychowski KA, Leja ML, Kaminskyy D V., Binduga UE, Pinyazhko OR, Lesyk RB, et al. Study of novel anticancer 4-thiazolidinone derivatives. Chem Biol Interact. 2017; 262:46–56.

249. Chandrappa S, Kavitha CV, Shahabuddin MS, Vinaya K, Ananda Kumar CS, Ranganatha SR, et al. Synthesis of 2-(5-((5-(4-chlorophenyl)furan-2-yl)methylene)-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)acetic acid derivatives and evaluation of their cytotoxicity and induction of apoptosis in human leukemia cells. Bioorg Med Chem. 2009; 17(6):2576–84.

250. Reddy AT, Lakshmi SP, Reddy RC. PPAR γ as a Novel Therapeutic Target in Lung Cancer. PPAR Res. 2016; 2016:1–7.

251. Fanale D, Amodeo V, Caruso S. The Interplay between Metabolism, PPAR Signaling Pathway, and Cancer. PPAR Res. 2017; 2017:1–2.

252. Yousefnia S, Momenzadeh S, Seyed Forootan F, Ghaedi K, Nasr Esfahani MH. The influence of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) ligands on cancer cell tumorigenicity. Gene. 2018; 649:14–22.

253. Mirza AZ, Althagafi II, Shamshad H. Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: Physiological importance and clinical implications. Eur J Med Chem. 2019; 166:502–13.

254. Lu W, Che P, Zhang Y, Li H, Zou S, Zhu J, et al. HL005—A new selective PPARγ antagonist specifically inhibits the proliferation of MCF-7. J Steroid Biochem Mol Biol. 2011; 124(3–5):112–20.

255. Cutshall NS, O'Day C, Prezhdo M. Rhodanine derivatives as inhibitors of JSP-1. Bioorg Med Chem Lett. 2005; 15(14):3374–9.

256. Fu H, Hou X, Wang L, Dun Y, Yang X, Fang H. Design, synthesis and biological evaluation of 3-aryl-rhodanine benzoic acids as anti-apoptotic protein Bcl-2 inhibitors. Bioorg Med Chem Lett. 2015; 25(22):5265–9.

257. Senkiv J, Finiuk N, Kaminskyy D, Havrylyuk D, Wojtyra M, Kril I, et al. 5-Ene-4-thiazolidinones induce apoptosis in mammalian leukemia cells. Eur J Med Chem. 2016; 117:33–46.

258. Kryshchyshyn AP, Lesyk RB, Zimenkovsky BS. Synthesis and anticancer activity in vitro of isothiochromeno[3,4-d]thiazole derivarives. Ann Univ Mariae Curie-Sklodowska Sect DDD. 2008; 44(1):247–51.

259. Зеліско НІ, Атаманюк ДВ, Лесик РБ. Синтез нових похідних тіопірано[2,3-d]тіазолів на основі ітаконової кислоти як потенційних біологічно активних сполук. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2010; 2(30):69–73.

260. Farrugia LJ. WinGX and ORTEP for Windows : an update. J Appl Crystallogr. 2012; 45(4):849–54.

261. Dolomanov O V., Bourhis LJ, Gildea RJ, Howard JAK, Puschmann H. OLEX2 : a complete structure solution, refinement and analysis program. J Appl Crystallogr. 2009; 42(2):339–41.

262. Spek AL. Structure validation in chemical crystallography. Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr. 2009; 65(2):148–55.

263. Sheldrick GM. SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. Acta Crystallogr Sect A Found Adv. 2015; 71(1):3–8.

264. Bastos IMD, Motta FN, Charneau S, Santana JM, Dubost L, Augustyns K, et al. Prolyl oligopeptidase of Trypanosoma brucei hydrolyzes native collagen, peptide hormones and is active in the plasma of infected mice. Microbes Infect. 2010; 12(6):457–66.

265. Lethu S, Bosc D, Mouray E, Grellier P, Dubois J. New protein farnesyltransferase inhibitors in the 3-arylthiophene 2-carboxylic acid series: diversification of the aryl moiety by solid-phase synthesis. J Enzyme Inhib Med Chem. 2013; 28(1):163–71.

266. Sharlow ER, Close D, Shun T, Leimgruber S, Reed R, Mustata G, et al.

Identification of Potent Chemotypes Targeting Leishmania major Using a High-Throughput, Low-Stringency, Computationally Enhanced, Small Molecule Screen. Ghedin E, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2009; 3(11):e540.

267. Trager W, Jensen J. Human malaria parasites in continuous culture. Science (80-). 1976; 193(4254):673–675.

268. Desjardins RE, Canfield CJ, Haynes JD, Chulay JD. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique. Antimicrob Agents Chemother. 1979; 16(6):710–8.

269. Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemaker R, Paull K, Vistica D, et al. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. JNCI J Natl Cancer Inst. 1991; 83(11):757–66.

270. Boyd MR, Paull KD. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen. Drug Dev Res. 1995; 34(2):91–109.

271. Boyd MR. The NCI in vitro anticancer drug discovery screen. In: Anticancer Drug Development Guide. Totowa, NJ: Humana Press; 1997. p. 23–42.

272. Shoemaker RH. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. Nat Rev Cancer. 2006; 6(10):813–23.

273. Https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/methodology.htm. NCI-60 Screening Methodology [Internet].

274. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983; 65(1–2):55–63.

275. Al-Nasiry S, Geusens N, Hanssens M, Luyten C, Pijnenborg R. The use of Alamar Blue assay for quantitative analysis of viability, migration and invasion of choriocarcinoma cells. Hum Reprod. 2007; 22(5):1304–9.

276. Tichý M, Smoleń S, Tloušťová E, Pohl R, Ožd ian T, Hejtmánková K, et al. Synthesis and Cytostatic and Antiviral Profiling of Thieno-Fused 7-Deazapurine Ribonucleosides. J Med Chem. 2017; 60(6):2411–24.

277. Nowikow C, Fuerst R, Kauderer M, Dank C, Schmid W, Hajduch M, et al.

Synthesis and biological evaluation of cis-restrained carbocyclic combretastatin A-4 analogs: Influence of the ring size and saturation on cytotoxic properties. Bioorg Med Chem. 2019; 27(19):115032.

278. Nicholson DW, Ali A, Thornberry NA, Vaillancourt JP, Ding CK, Gallant M, et al. Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis. Nature. 1995; 376(6535):37–43.

279. Szychowski KA, Leja ML, Kaminskyy DV, Kryshchyshyn AP, Binduga UE, Pinyazhko OR, et al. Anticancer properties of 4-thiazolidinone derivatives depend on peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ). Eur J Med Chem. 2017; 141:162–8.

280. Kennedy SW, Lorenzen A, James CA, Collins BT. Ethoxyresorufin-O-deethylase and Porphyrin Analysis in Chicken Embryo Hepatocyte Cultures with a Fluorescence Multiwell Plate Reader. Anal Biochem. 1993; 211(1):102–12.

281. Radko L, Stypuła-Trębas S, Posyniak A, Żyro D, Ochocki J. Silver(I) Complexes of the Pharmaceutical Agents Metronidazole and 4-Hydroxymethylpyridine: Comparison of Cytotoxic Profile for Potential Clinical Application. Molecules. 2019; 24(10):1949.

282. Borenfreund E, Puerner JA. Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. Toxicol Lett. 1985; 24:119–24.

283. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72(1–2):248–54.

284. Korzeniewski C, Callewaert DM. An enzyme-release assay for natural cytotoxicity. J Immunol Methods. 1983; 64(3):313–20.

285. Badisa RB, Darling-Reed SF, Joseph P, Cooperwood JS, Latinwo LM, Goodman CB. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. Anticancer Res. 2009; 29:2993–2996.

286. Yang P-C, Mahmood T. Western blot: Technique, theory, and trouble shooting. N Am J Med Sci. 2012; 4(9):429.

287. Hwang D-J, Wang J, Li W, Miller DD. Structural Optimization of Indole

Derivatives Acting at Colchicine Binding Site as Potential Anticancer Agents. ACS Med Chem Lett. 2015; 6(9):993–7.

288. Liao W, McNutt MA, Zhu W-G. The comet assay: A sensitive method for detecting DNA damage in individual cells. Methods. 2009; 48(1):46–53.

289. Końca K, Lankoff A, Banasik A, Lisowska H, Kuszewski T, Góźdź S, et al. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay. Mutat Res Toxicol Environ Mutagen. 2003; 534(1–2):15–20.

290. Filak LK, Mühlgassner G, Jakupec MA, Heffeter P, Berger W, Arion VB, et al. Organometallic indolo[3,2-c]quinolines versus indolo[3,2-d]benzazepines: synthesis, structural and spectroscopic characterization, and biological efficacy. JBIC J Biol Inorg Chem. 2010; 15(6):903–18.

291. EUCAST. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method Version 8.0 January. Eur Soc Clin Microbiol Infect Deseases. 2020; (January):1–21.

292. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012; 18(3):268–81.

293. EUCAST. EUCAST reading guide for broth microdilution. EUCAST Read Guid broth microdilution. 2020; 1.0(January).

294. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal. 2016; 6(2):71–9.

295. Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmacol Exp Ther. 1949; 96:99–113.

296. Smith WG, Ellis GP, West GB. Pharmacological Screening Tests. In: Progress in Medicinal Chemistry. Butterworths; 1961. p. 1–33.

297. Team Rs. RStudio: Integrated Development [Internet]. Boston, MA: RStudio, PBC; 2020.

298. Fox J, Bouchet-Valat M. Rcmdr: R Commander. R package version 2.4-4. 2018.

299. Sushko I, Novotarskyi S, Körner R, Pandey AK, Rupp M, Teetz W, et al.

Online chemical modeling environment (OCHEM): web platform for data storage, model development and publishing of chemical information. J Comput Aided Mol Des. 2011; 25(6):533–54.

300. Sausville EA, Johnson JI. Molecules for the millennium: how will they look? New drug discovery year 2000. Br J Cancer. 2000; 83(11):1401–4.

301. Monks A, Scudiero DA, Johnson GS, K.D. P, Sausville EA. The NCI anti-cancer drug screen: a smart screen to identify effectors of novel targets. Anti-Cancer Drug Des. 1997; 12:533–41.

302. Https://dtp.cancer.gov/databases_tools/compare.htm. COMPARE Analysis [Internet].

303. de Bruyn Kops C, Šícho M, Mazzolari A, Kirchmair J. GLORYx: Prediction of the Metabolites Resulting from Phase 1 and Phase 2 Biotransformations of Xenobiotics. Chem Res Toxicol. 2020; :acs.chemrestox.0c00224.

304. Stork C, Embruch G, Šícho M, de Bruyn Kops C, Chen Y, Svozil D, et al. NERDD: a web portal providing access to in silico tools for drug discovery. Ponty Y, editor. Bioinformatics. 2019; 36(4):1291–2.

305. Kryshchyshyn A, Grellier P, Lesyk R. Dual anticancer and antitrypanosomal activity as a tool in new drug-like molecules design. In: Mat of the IX Internat Meet “From molecular to Cellular Events in Human Pathologies.” Lviv, Ukraine; 2016. p. 307.

306. Mishchenko M, Shtrygol S, Kaminskyy D, Lesyk R. Thiazole-Bearing 4-Thiazolidinones as New Anticonvulsant Agents. Sci Pharm. 2020; 88(1):16.

307. Лесик РБ. Синтез та біологічна активність конденсованих і неконденсованих гетероциклічних систем на основі 4-азолідонів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора фарм. наук: спец. 15.00.02 “Фармацевтична хімія і фармакогнозія.” Львів; 2004.

308. Havrylyuk D, Kovach N, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Lesyk R. Synthesis and Anticancer Activity of Isatin-Based Pyrazolines and Thiazolidines Conjugates. Arch Pharm (Weinheim). 2011; 344(8):514–22.

309. Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Zaprutko L, Gzella A, Lesyk R. Synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety and

evaluation of their anticancer activity. Eur J Med Chem. 2009; 44(4):1396–404.

310. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Nektegayev I, Grellier P, Lesyk R. Isothiochromenothiazoles—a class of fused thiazolidinone derivatives with established anticancer activity that inhibits growth of Trypanosoma brucei brucei. Sci Pharm. 2018; 86(4).

311. Kryshchyshyn AP, Atamanyuk DV, Kaminskyy DV, Grellier P, Lesyk RB. Investigation of anticancer and anti-parasitic activity of thiopyrano[2,3-d]thiazoles bearing norbornane moiety. Biopolym Cell. 2017; 33(3).

312. Крищишин А, Драпак І, Зіменковський Б, Огурцов В, Лесик Р. In silico підходи для раціонального дизайну потенційних протиракових агентів з групи поліциклічних тіопірано[2,3-d]тіазолів. Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. 2011; 1–2:190–8.

313. Камінський ДВ, Крищишин АП, Драпак ІВ, Хилюк ДВ, Лесик РБ. Пошук нових протитрипаносомних агентів серед 4-тіазолідинонів та споріднених гетероциклічних систем. In: XXX Всеукр Наук-практ конф з міжнародною участю «Ліки-людині Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» 23 травня 2013. Харків; 2013. p. 65–6.

314. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv Drug Deliv Rev. 1997; 23(1–3):3–25.

315. Oprea TI. Property distribution of drug-related chemical databases. J Comput Aided Mol Des. 2000; 14:251–64.

316. Walters WP, Murcko MA. Prediction of ‘drug-likeness.’ Adv Drug Deliv Rev. 2002; 54(3):255–71.

317. Chen G, Zheng S, Luo X, Shen J, Zhu W, Liu H, et al. Focused Combinatorial Library Design Based on Structural Diversity, Druglikeness and Binding Affinity Score. J Comb Chem. 2005; 7(3):398–406.

318. Zheng S, Luo X, Chen G, Zhu W, Shen J, Chen K, et al. A New Rapid and Effective Chemistry Space Filter in Recognizing a Druglike Database. J Chem Inf Model. 2005; 45(4):856–62.

319. Rishton GM. Nonleadlikeness and leadlikeness in biochemical screening. Drug Discov Today. 2003; 8(2):86–96.

320. Veber DF, Johnson SR, Cheng H-Y, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. J Med Chem. 2002; 45(12):2615–23.

321. Talete. dProperties user's manual. http://www.talete.mi.it/help/dproperties_help/index.html?drug_like_ind [Internet].

322. Congreve M, Carr R, Murray C, Jhoti H. A 'Rule of Three' for fragment-based lead discovery? Drug Discov Today. 2003; 8(19):876–7.

323. Monge A, Arrault A, Marot C, Morin-Allory L. Managing, profiling and analyzing a library of 2.6 million compounds gathered from 32 chemical providers. Mol Divers. 2006; 10(3):389–403.

324. Lesyk R, Zimenkovsky B, Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Havrylyuk D, Zelisko N, et al. Prospects of the thiopyrano[2,3-d]thiazole heterocyclic system exploration in structure-based drug design. In: Abstaract book "XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceut. 2013. p. 175.

325. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Karpenko O, Gzella A, Grellier P, Lesyk R. Thiazolidinone/thiazole based hybrids – New class of antitrypanosomal agents. Eur J Med Chem. 2019; 174:292–308.

326. Гаврилюк ДЯ, Зіменковський БС, Роман ОМ, Грельйе Ф, Лесик РБ. Синтез та антитрипаносомна активність піразоло-тіазолідинонів. Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. 2013; 2(171–177).

327. Гаврилюк ДЯ. Синтез нових піразолін-тіазолів та їх біологічна активність. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2014; 2:59–64.

328. Зіменковський, Б.С. Камінський, Д.В. Крищишин АП, Лесик РБ. Досвід викладання ІТ-суміжних дисциплін на прикладі «Комп'ютерних технологій у фармації». In: Матеріали X ювілейної Всеукраїнської навчально-наук конф з міжнародною участю «Кредитно-модульна система організації навчального процесу у вищих медичних (фарм) навчальних закладах України на новому етапі». Тернопіль, 18-19 квіт; 2013.

329. Kryshchyshyn-Dylevych AP. QSAR-Аналіз бібліотек 4-тіазолідинон-споріднених гетероциклів для прогнозування протитрипаносомних властивостей нових похідних. Med Clin Chem. 2021; (4):39–46.

330. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Lozynskyi A, Zelisko N, Lesyk R. 5-Ene-4-thiazolidinone core in drug design: efficient tool for structure-based design. In: XXIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 19-22 sep 2017. Kraków; 2017. p. 95.

331. Lesyk R, Zimenkovsky B, Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Havrylyuk D, Zelisko N, et al. 4-Thiazolidinone-based Michael acceptors as tool for anticancer agents design. In: Novikov ed. V, editor. "Modern Directions in Chemistry, Biology, Pharmacy and Biotechnology." Lviv: Lviv Polytechnic Publishing House; 2015. p. 102–9.

332. Kryshchyshyn A, Grellier P, Lesyk R. Hybrid-pharmacophore approach – an efficient tool in novel antitrypanosomal agents' development. In: XXIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 19-22 sep 2017. 2017. p. 307.

333. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Lesyk R. 5-Ene-thiazolidinones: medicinal chemistry aspects. In: International Weigl Conference September 26-29, 2017. Lviv; 2017. p. 55.

334. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Havrylyuk D, Zelisko N, Devinyak O, Subtel'na I, et al. Search of new anticancer thiazolidinones within structure-based design. In: Bridges in Life Sciences 8th Annual Scientific Conference RECOOP HST April 5-7, 2013. Prague, Czech Republic: Biopol Cell. 29, Suppl.; 2013. p. 81.

335. Lesyk R, Zimenkovsky B. 4-Thiazolidones: Centenarian History, Current Status and Perspectives for Modern Organic and Medicinal Chemistry. Curr Org Chem. 2004; 8(16):1547–77.

336. Xing C, Wang L, Tang X, Sham YY. Development of selective inhibitors for anti-apoptotic Bcl-2 proteins from BHI-1. Bioorg Med Chem. 2007; 15(5):2167–76.

337. Nagahara M, Ohishi Y, Yajima M, Nogimori K, Kurokawa S, Kajikawa N. Rhodanines useful as a therapeutic agent for diabetic complications [Internet]. Japan; US4606860A, 1986.

338. Holota S, Kryshchyshyn A, Derkach H, Trufin Y, Demchuk I, Gzella A, et al.

Synthesis of 5-enamine-4-thiazolidinone derivatives with trypanocidal and anticancer activity. Bioorg Chem. 2019; 86:126–36.

339. Kryshchyshyn-Dylevych AP. 5-Ene-rhodanine-3-carboxylic acids as potential antimicrobial and antiparasitic agents. Biopolym Cell. 2020; 36(3):229–41.

340. Kaminskyy D V., Lesyk RB. Structure–anticancer activity relationships among 4-azolidinone-3-carboxylic acids derivatives. Biopolym Cell. 2010; 26(2):136–45.

341. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Roman O, Kralovics R, Karpenko O, Lesyk R. Synthesis and anti-leukemic activity of pyrrolidinedione-thiazolidinone hybrids. Ukr Biochem J. 2020; 92(2):108–19.

342. Крищишин-Дилевич АП. Синтез і протипухлинна активність 2-ціано-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-іліден)-N-арилацетамідів. Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. 2020; 13(2):194–201.

343. Chebanov VA, Desenko SM, Gurley TW. Azaheterocycles Based on α,β-Unsaturated Carbonyls. Springer; 2008. 212 p.

344. Попов-Пергал К, Чекович Ж, Пергал М. Конденсация 2,4-тетрагидро-1,3-тиазола с ароматическими альдегидами. Журнал органической химии. 1994; 61(9):2112–6.

345. Baell JB. Feeling Nature’s PAINS: Natural Products, Natural Product Drugs, and Pan Assay Interference Compounds (PAINS). J Nat Prod. 2016; 79(3):616–28.

346. Kryshchyshyn A, Kaminskyy A, Golota S, Trufin Y, Derkach H, Grellier P, et al. Study of 5-aminomethylene-4-thiazolidinones as potential trypanocidals. In: 25th Wilhelm Bernard Workshop on the cell Nucleus 19-22 June, 2017. Nizhny Novgorod; 2017. p. 96.

347. Деркач ГО, Голота СМ, Труфін ЯО, Роман ОМ, Семенців ГМ, Демчук ІЛ, et al. Синтез та біологічна активність нових похідних 5-амінометилен-2-тіоксотіазолідин-4-онів. Фармацевтичний часопис. 2017; (2):5–11.

348. Lesyk RB, Zimenkovsky BS, Kaminskyy D V., Kryshchyshyn AP, Havryluk DY, Atamanyuk D V., et al. Thiazolidinone motif in anticancer drug discovery. Experience of DH LNMU medicinal chemistry scientific group. 2011; 27(2):107–17.

349. Lesyk R, Zimenkovsky B, Kaminskyy D, Havrylyuk D, Kryshchyshyn A,

Zelisko N, et al. 5-Ene-4-thiazolidinones: Promiscous or Polyfunctional Compounds in Drug Design. In: Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles, CNCH-2015 9-13 November, 2015. Kharkiv; 2015. p. O3.

350. Rostom SAF. Synthesis and in vitro antitumor evaluation of some indeno[1,2-c]pyrazol(in)es substituted with sulfonamide, sulfonylurea(-thiourea) pharmacophores, and some derived thiazole ring systems. Bioorg Med Chem. 2006; 14(19):6475–85.

351. Andersson LC, Nilsson K, Gahmberg CG. K562—A human erythroleukemic cell line. Int J Cancer. 1979; 23(2):143–7.

352. Greenberg SM, Rosenthal DS, Greeley TA, Tantravahi R, Handin RI. Characterization of a new megakaryocytic cell line: the Dami cell. Blood. 1988; 72:1968–77.

353. Saito H. 3 Megakaryocytic cell lines. Bailliere Clin Haem. 1997; 10:47–63.

354. Collins SJ. The HL-60 promyelocytic leukemia cell line: proliferation, differentiation, and cellular oncogene expression. Blood. 1987; 70:1233–44.

355. Abraham RT, Weiss A. Jurkat T cells and development of the T-cell receptor signalling paradigm. Nat Rev Immunol. 2004; 4(4):301–8.

356. Schadich E, Kryshchyshyn-Dylevych A, Holota S, Polishchuk P, Džubak P, Gurska S, et al. Assessing different thiazolidine and thiazole based compounds as antileishmanial scaffolds. Bioorg Med Chem Lett. 2020; 30(23):127616.

357. Kaminskyy D, Havrylyuk D, Kryshchyshyn A, Zelisko N, Leliuch M, Grellier P, et al. Design of new antitrypanosomal agents bearing 4-thiazolidinone core. In: Scientific Congress of the Austrian Pharmaceutical Society (OPhG)12-14 September 2015. Vienna, Austria; 2015. p. 38.

358. Kaminskyy D, Havrylyuk D, Kryshchyshyn A, Zelisko N, Leliuch M, Grellier P, et al. Search for new antitrypanosomal agents among 4-thiazolidinones. In: The 6th International Pharmaceutical conference Science and Practice 2015 5-6 November, 2015. Kaunas, Lithuania; 2015. p. 14.

359. Kolavi G, Hegde V, Khazi I ahmed, Gadad P. Synthesis and evaluation of antitubercular activity of imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole derivatives. Bioorg Med Chem. 2006; 14(9):3069–80.

360. Parrilha GL, Dias RP, Rocha WR, Mendes IC, Benítez D, Varela J, et al. 2-Acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones and their antimony(III) complexes exhibit high anti-trypanosomal activity. Polyhedron. 2012; 31(1):614–21.

361. Bečka M, Vilková M, Šoral M, Potočňák I, Breza M, Béres T, et al. Synthesis and isomerization of acridine substituted 1,3-thiazolidin-4-ones and 4-oxo-1,3-thiazolidin-5-ylidene acetates. An experimental and computational study. J Mol Struct. 2018; 1154:152–64.

362. Groom CR, Bruno IJ, Lightfoot MP, Ward SC. The Cambridge Structural Database. Acta Crystallogr Sect B Struct Sci Cryst Eng Mater. 2016; 72(2):171–9.

363. Kryshchyshyn A, Grellier P, Lesyk R. Summarizing recent advances in the search for new antitrypanosomals among the thiazolidine-based compounds. In: 8th RECOOP Annual Project Review Meeting October 19 – 21, 2017. Zagreb Croatia; 2017. p. 91.

364. Крищишин А, Грельє Ф, Щадіч Е, Джубак П, Гайдук М, Лесик Р. Тіазолідинон/тіазол-феніліндол/імідазотіадіазольні гібриди – новий клас протипаразитарних агентів. In: XVII наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2019» 2019, 2-5 червня. Львів: Львів: Видавничий центр Львівського національного університету імені Івана Франка; 2019. p. У34.

365. Kryshchyshyn-Dylevych AP, Zelisko NI, Grellier P, Lesyk RB. Preliminary evaluation of thiazolidinone- and pyrazoline-related heterocyclic derivatives as potential antimalarial agents. Biopolym Cell. 2020; 36(1):48–60.

366. Крищишин А, Грельє Ф, Лесик Р. Похідні тіазолідинону – потенційні протипаразитарні агенти. Результати досліджень та майбутні перспективи. In: Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку" 19-20 вересня 2019. Харків; 2019. p. Т1, 30–2.

367. Kaminskyy D, Vasylenko O, Atamanyuk D, Gzella A, Lesyk R. Isorhodanine and Thiorhodanine Motifs in the Synthesis of Fused Thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazoles. Synlett. 2011; 2011(10):1385–8.

368. Zelisko N, Atamanyuk D, Ostapiuk Y, Bryhas A, Matiychuk V, Gzella A, et al.

Synthesis of fused thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazoles via hetero-Diels–Alder reaction related tandem and domino processes. Tetrahedron. 2015; 71(50):9501–8.

369. Lozynskyi AV, Kaminskyy DV, Romanchyshyn KB, Semenciv NG, Ogurtsov VV, Nektegayev IO, et al. Screening of antioxidant and anti-inflammatory activities among thiopyrano[2,3-d]thiazoles. Biopolymers Cell. 2015; 31(2):131–7.

370. Крищишин АП, Лесык РБ. (5aRS,11bSR)-3,5a,6,11b-Тетрагидро-2H,5H-хромено[4',3':4,5]тиопирано[2,3-d][1,3]тиазол-2-тион. In: Карцев. ВГ, editor. "Химия гетероциклических соединений Современные аспекты." Том 2. М.: Международ. Благотворител. фонд "Научное Партнерство", МБФНП (International charitable foundation "Scientific Partnership Foundation", ICSPF); 2014. p. 237–8.

371. Атаманюк ДВ, Крищишин АП, Зименковский БС, Лесык РБ. Синтез и фармакологические свойства конденсированных полициклических соединений на основе тиазолидинонов. In: Броварец В, Зябрев В, editors. "Химия и биологическая активность азолов Избранные обзоры." LAP Lambert Academic Publishing; 2014. p. 339–90.

372. Matiychuk VS, Lesyk RB, Obushak MD, Gzella A, Atamanyuk DV, Ostapiuk YV, et al. A new domino-Knoevenagel-hetero-Diels-Alder reaction. Tetrahedron Lett. 2008; 49(31).

373. Bhat BA, Ponnala S, Sahu DP, Tiwari P, Tripathi BK, Srivastava AK. Synthesis and antihyperglycemic activity profiles of novel thiazolidinedione derivatives. Bioorg Med Chem. 2004; 12(22):5857–64.

374. Зіменковський БС, Лесик РБ, Крищишин АП, Камінський ДВ, Нєктєгаєв ІО. 5-(1-Феніл-2-меркапто-1,3,4-триазоліл-метилен)-9-(4'-хлорофеніл)-3,7-дитіа-5-азатетрацикло-[9.2.1.02,10.04,8]тетрадецен-4(8)-он-6, що проявляє протипухлинну активність. UA; 98037, 2014.

375. Bommagani S, Ponder J, Penthala NR, Janganati V, Jordan CT, Borrelli MJ, et al. Indole carboxylic acid esters of melampomagnolide B are potent anticancer agents against both hematological and solid tumor cells. Eur J Med Chem. 2017; 136:393–405.

376. Li S-M. Prenylated indole derivatives from fungi: structure diversity, biological activities, biosynthesis and chemoenzymatic synthesis. Nat Prod Rep. 2010;

27(1):57–78.

377. O'Connor SE, Maresh JJ. Chemistry and biology of monoterpene indole alkaloid biosynthesis. Nat Prod Rep. 2006; 23(4):532.

378. Kaushik N, Kaushik N, Attri P, Kumar N, Kim C, Verma A, et al. Biomedical Importance of Indoles. Molecules. 2013; 18(6):6620–62.

379. Patil R, Patil SA, Beaman KD, Patil SA. Indole molecules as inhibitors of tubulin polymerization: potential new anticancer agents, an update (2013–2015). Future Med Chem. 2016; 8(11):1291–316.

380. Kumar D, Kumar NM, Akamatsu K, Kusaka E, Harada H, Ito T. Synthesis and biological evaluation of indolyl chalcones as antitumor agents. Bioorg Med Chem Lett. 2010; 20(13):3916–9.

381. Brancale A, Silvestri R. Indole, a core nucleus for potent inhibitors of tubulin polymerization. Med Res Rev. 2007; 27(2):209–38.

382. Granchi C, Roy S, De Simone A, Salvetti I, Tuccinardi T, Martinelli A, et al. N-Hydroxyindole-based inhibitors of lactate dehydrogenase against cancer cell proliferation. Eur J Med Chem. 2011; 46(11):5398–407.

383. Wu F, Jiang H, Zheng B, Kogiso M, Yao Y, Zhou C, et al. Inhibition of Cancer-Associated Mutant Isocitrate Dehydrogenases by 2-Thiohydantoin Compounds. J Med Chem. 2015; 58(17):6899–908.

384. Wang G, Wang Y, Wang L, Han L, Hou X, Fu H, et al. Design, synthesis and preliminary bioactivity studies of imidazolidine-2,4-dione derivatives as Bcl-2 inhibitors. Bioorg Med Chem. 2015; 23(23):7359–65.

385. Font M, Monge A, Cuartero A, Elorriaga A, Martínez-Irujo JJ, Alberdi E, et al. Indoles and pyridazino[4,5-b]indoles as nonnucleoside analog inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. Eur J Med Chem. 1995; 30(12):963–71.

386. Yoshikawa K, Yokomizo A, Naito H, Haginoya N, Kobayashi S, Yoshino T, et al. Design, synthesis, and SAR of cis-1,2-diaminocyclohexane derivatives as potent factor Xa inhibitors. Part I: Exploration of 5–6 fused rings as alternative S1 moieties. Bioorg Med Chem. 2009; 17(24):8206–20.

387. Kryshchyshyn-Dylevych A, Garazd M, Karkhut A, Polovkovych S, Lesyk R.

Synthesis and anticancer activity evaluation of 3-(4-oxo-2-thioxothiazolidin-5-yl)-1 H -indole-carboxylic acids derivatives. Synth Commun. 2020; 50(18):2830–8.

388. Kryshchyshyn A, Lesyk R. Combination of [6+5]-heterocycles with thiazolidinone core in the design of new anticancer agents. In: Recoop 14th Bridges in Life Sciences and 2nd Recoop – KFSD International Student Conference April 10-14, 2019. Bratislava, Slovak Republic; 2019. p. 171.

389. Крищишин-Дилевич А. Синтез та вивчення біологічної активності поліциклічних 1-тіоксо-9,10а-дигідропіроло-[3,4-b]карбазол-3,10-діонів. Фармацевтичний часопис. 2020; 4:5–10.

390. Zhao Y, Truhlar DG. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. Theor Chem Acc. 2008; 120(1–3):215–41.

391. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian 09. Gaussian, Inc., Wallingford CT; 2013.

392. Cossi M, Rega N, Scalmani G, Barone V. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. J Comput Chem. 2003; 24(6):669–81.

393. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Havrylyuk D, Zelisko N, Khyluk D, Zimenkovsky B, et al. Thiazolidinone-based design of new antitrypanosomal agents. In: Bridges in Life Science 10th Annual Scientific Conference April 16-19, 2015. Wroclaw; 2015. p. 80.

394. Kryshchyshyn A, Lesyk R. Search for drug-like molecules among thiopyranothiazoles. In: 2IX Konwersatorium Chemii Medycznej 2018 September 13-15. Lublin; 2018. p. 63.

395. Reinhold WC, Sunshine M, Liu H, Varma S, Kohn KW, Morris J, et al. CellMiner: A Web-Based Suite of Genomic and Pharmacologic Tools to Explore Transcript and Drug Patterns in the NCI-60 Cell Line Set. Cancer Res. 2012; 72(14):3499–511.

396. Крищишин А. Фрагмент-орієнтований дизайн лікарських засобів. Журнал

органічної та фармацевтичної хімії. 2017; 15(1):28–44.

397. Abdolmaleki A, Ghasemi JB. Dual-acting of hybrid compounds-a new dawn in the discovery of multi-target drugs: lead generation approaches. Curr Top Med Chem. 2017; 17(9):1096–114.

398. Oliveira Pedrosa MD, da Cruz D, Marques R, Oliveira Viana JD, de Moura RO, Ishiki HM, et al. Hybrid compounds as direct multitarget ligands: a review. Curr Top Med Chem. 2017; 17(9):1044–79.

399. Kaminskyy D, Kryshchyshyn A, Lesyk R. 5-Ene-thiazolidinone based design of drug-like molecules. In: XIII Diagnostic, predictive and experimental oncology days November 28 – 30, 2017. Olomouc, Chech Republic; 2017. p. 9.

400. Lesyk RB, Kaminskyy DV, Kryshchyshyn AP. Design and development of new thiazolidinone-based drug-like molecules. ukrym Cell. 2019; 35(3):222.

401. Kaminskyy D, den Hartog GJM, Wojtyra M, Lelyukh M, Gzella A, Bast A, et al. Antifibrotic and anticancer action of 5-ene amino/iminothiazolidinones. Eur J Med Chem. 2016; 112:180–95.

402. Subtel'na I, Atamanyuk D, Szymańska E, Kieć-Kononowicz K, Zimenkovsky B, Vasylenko O, et al. Synthesis of 5-arylidene-2-amino-4-azolones and evaluation of their anticancer activity. Bioorg Med Chem. 2010; 18(14):5090–102.

403. Dayam R, Aiello F, Deng J, Wu Y, Garofalo A, Chen X, et al. Discovery of Small Molecule Integrin α v β 3 Antagonists as Novel Anticancer Agents. J Med Chem. 2006; 49(15):4526–34.

404. Chen S, Chen L, Le NT, Zhao C, Sidduri A, Lou JP, et al. Synthesis and activity of quinolinyl-methylene-thiazolinones as potent and selective cyclin-dependent kinase 1 inhibitors. Bioorg Med Chem Lett. 2007; 17(8):2134–8.

405. Jorda R, Hendrychová D, Voller J, Řezníčková E, Gucký T, Kryštof V. How Selective Are Pharmacological Inhibitors of Cell-Cycle-Regulating Cyclin-Dependent Kinases? J Med Chem. 2018; 61(20):9105–20.

406. Chisamore MJ, Wilkinson HA, Flores O, Chen JD. Estrogen-related receptor-antagonist inhibits both estrogen receptor-positive and estrogen receptor-negative breast tumor growth in mouse xenografts. Mol Cancer Ther. 2009; 8(3):672–81.

407. Meng G, Zheng M, Wang M, Tong J, Ge W, Zhang J, et al. Design and synthesis of new potent PTP1B inhibitors with the skeleton of 2-substituted imino-3-substituted-5-heteroarylidene-1,3-thiazolidine-4-one: Part I. Eur J Med Chem. 2016; 122:756–69.

408. War JA, Srivastava SK, Srivastava SD. Synthesis and DNA-binding study of imidazole linked thiazolidinone derivatives. Luminescence. 2017; 32(1):104–13.

409. Subtelna I, Kryshchyshyn-Dylevych A, Jia R, Lelyukh M, Ringler A, Kubicek S, et al. 5-Arylidene-2-(4-hydroxyphenyl)aminothiazol-4(5 H)-ones with selective inhibitory activity against some leukemia cell lines. Arch Pharm (Weinheim). 2020; :e2000342.

410. Geronikaki AA, Pitta EP, Liaras KS. Thiazoles and thiazolidinones as antioxidants. Curr Med Chem. 2013; 20(36):4460–80.

411. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Roman O, Kralovics R, Karpenko O, Lesyk R. Synthesis and antileukemic activity of pyrrolidinedione-thiazolidinone hybrids. In: Bridges in Life Sciences 10th RECOOP Annual Review Meeting 2019, October 11-12. Wroclaw, Poland; 2019. p. 78.

412. Mobinikhaledi A, Amiri AK. Natural eutectic salts catalyzed one-pot synthesis of 5-arylidene-2-imino-4-thiazolidinones. Res Chem Intermed. 2013; 39(3):1491–8.

413. Lesyk R, Vladzimirska O, Holota S, Zaprutko L, Gzella A. New 5-substituted thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6-ones: Synthesis and anticancer evaluation. Eur J Med Chem. 2007; 42(5):641–8.

414. Zheng W, Degterev A, Hsu E, Yuan J, Yuan C. Structure–activity relationship study of a novel necroptosis inhibitor, necrostatin-7. Bioorg Med Chem Lett. 2008; 18(18):4932–5.

415. Isloor AM, Sunil D, Shetty P, Malladi S, Pai KSR, Maliyakkl N. Synthesis, characterization, anticancer, and antioxidant activity of some new thiazolidin-4-ones in MCF-7 cells. Med Chem Res. 2013; 22(2):758–67.

416. Mascarenhas J, Hoffman R. Ruxolitinib: The First FDA Approved Therapy for the Treatment of Myelofibrosis. Clin Cancer Res. 2012; 18(11):3008–14.

417. Лесик РБ, Крищишин АП, Зіменковський БС. 4-[3-(5-Бромо-2-

гідроксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5н-тіазол-2-он, що проявляє протипухлинну дію. UA; 142117, 2020.

418. Kryshchyshyn-Dylevych AP. Some pharmacological properties of 4-[3-(5-bromo-2-hydroxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydropyrazol-2-yl]-5H-thiazol-2-one. Ukr Bioorganica Acta. 2020; 15(2):40–7.

419. Kaminskyy D, Subtel'na I, Zimenkovsky B, Karpenko O, Gzella A, Lesyk R. Synthesis and Evaluation of Anticancer Activity of 5-Ylidene-4- Aminothiazol-2(5H)-one Derivatives. Med Chem (Los Angeles). 2015; 11(6):517–30.

420. Nowaczyk A, Kowiel M, Gzella A, Fijałkowski Ł, Horishny V, Lesyk R. Conformational space and vibrational spectra of 2-[(2,4-dimethoxyphenyl)amino]-1,3-thiazolidin-4-one. J Mol Model. 2014; 20(8):2366.

421. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a Tetrazolium-based Semiautomated Colorimetric Assay: Assessment of Chemosensitivity Testing. Cancer Res. 1987; 47(4):936–42.

422. Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. In vitro assays and techniques utilized in anticancer drug discovery. J Appl Toxicol. 2019; 39(1):38–71.

423. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Devinyak O, Grellier P, Lesyk R. QSAR studies of 4-thiazolidinone derivatives showing antitrypanosomal activity. In: Bridges in Life Sciences 11th Annual Scientific Meeting RECOOP HST April 7-10, 2016. Prague, Czech Republic; 2016. p. 43.

424. Kryshchyshyn A, Devinyak O, Kaminskyy D, Grellier P, Lesyk R. Development of Predictive QSAR Models of 4-Thiazolidinones Antitrypanosomal Activity Using Modern Machine Learning Algorithms. Mol Inform. 2018; 37(5).

425. Alberto Castillo-Garit J, Abad C, Enrique Rodriguez-Borges J, Marrero-Ponce Y, Torrens F. A Review of QSAR studies to Discover New Drug-like Compounds Actives Against Leishmaniasis and Trypanosomiasis. Curr Top Med Chem. 2012; 12(8):852–65.

426. Martin MB, Sanders JM, Kendrick H, de Luca-Fradley K, Lewis JC, Grimley JS, et al. Activity of Bisphosphonates against Trypanosoma brucei rhodesiense. J Med Chem. 2002; 45(14):2904–14.

427. Ferreira LG, Andricopulo AD. Inhibitors of Trypanosoma brucei trypanothione

reductase: comparative molecular field analysis modeling and structural basis for selective inhibition. Future Med Chem. 2013; 5(15):1753–62.

428. Schmidt T, Nour A, Khalid S, Kaiser M, Brun R. Quantitative Structure – Antiprotozoal Activity Relationships of Sesquiterpene Lactones. Molecules. 2009; 14(6):2062–76.

429. Prado-Prado FJ, González-Díaz H, de la Vega OM, Ubeira FM, Chou K-C. Unified QSAR approach to antimicrobials. Part 3: First multi-tasking QSAR model for Input-Coded prediction, structural back-projection, and complex networks clustering of antiprotozoal compounds. Bioorg Med Chem. 2008; 16(11):5871–80.

430. Prado-Prado FJ, García-Mera X, González-Díaz H. Multi-target spectral moment QSAR versus ANN for antiparasitic drugs against different parasite species. Bioorg Med Chem. 2010; 18(6):2225–31.

431. Prado-Prado FJ, Ubeira FM, Borges F, GonzÃ¡lez-DÃ-az H. Unified QSAR & network-based computational chemistry approach to antimicrobials. II. Multiple distance and triadic census analysis of antiparasitic drugs complex networks. J Comput Chem. 2010; 31(1):164–73.

432. Tetko I V., Gasteiger J, Todeschini R, Mauri A, Livingstone D, Ertl P, et al. Virtual Computational Chemistry Laboratory – Design and Description. J Comput Aided Mol Des. 2005; 19(6):453–63.

433. Svetnik V, Liaw A, Tong C, Culberson JC, Sheridan RP, Feuston BP. Random Forest: A Classification and Regression Tool for Compound Classification and QSAR Modeling. J Chem Inf Comput Sci. 2003; 43(6):1947–58.

434. Svetnik V, Wang T, Tong C, Liaw A, Sheridan RP, Song Q. Boosting: An Ensemble Learning Tool for Compound Classification and QSAR Modeling. J Chem Inf Model. 2005; 45(3):786–99.

435. Friedman JH. Multivariate adaptive regression splines. Ann Stat. 1991; 1:1–67.

436. Devinyak O, Zimenkovsky B, Lesyk R. Biologically active 4-thiazolidinones: a review of QSAR studies and QSAR modeling of antitumor activity. Curr Top Med Chem. 2012; 12(24):2763–84.

437. Van der Maaten L, Hinton G. Visualizing data using t-SNE. J Mach Learn Res.

2008; 9(85):2579–605.

438. Kursa MB, Rudnicki WR. Feature Selection with the Boruta Package. J Stat Softw. 2010; 36(11):1–13.

439. Breiman L. Random forests. Mach Learn. 2001; 45(1):5–32.

440. Kuhn M. Building Predictive Models in R Using the caret Package. J Stat Softw. 2008; 28(5):1–26.

441. Devinyak O, Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Lesyk R. Computational Search for Possible Mechanisms of 4-Thiazolidinones Anticancer Activity: The Power of Visualization. Mol Inform. 2014; 33(3):216–29.

442. Todeschini R, Consonni V. Handbook of molecular descriptors. Wiley-Vch; 2008. 967 p.

443. Schuur JH, Selzer P, Gasteiger J. The Coding of the Three-Dimensional Structure of Molecules by Molecular Transforms and Its Application to Structure-Spectra Correlations and Studies of Biological Activity. J Chem Inf Comput Sci. 1996; 36(2):334–44.

444. Zhang M-Y, Wang J-P. A multi-target protein of hTERTR-FAM96A presents significant anticancer potent in the treatment of hepatocellular carcinoma. Tumor Biol. 2017; 39(4):101042831769834.

445. Камінський ДВ, Крищишин АП, Лесик РБ. Рецептори активації проліферації пероксисом як перспективні біомішені для раціонального дизайну інноваційних лікарських засобів. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2013; 11(41):26–36.

446. McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase Functions in Cell Death and Disease. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2013; 5(4):a008656–a008656.

447. Zhao L, Zhu Z, Yao C, Huang Y, Zhi E, Chen H, et al. VEGFC/VEGFR3 Signaling Regulates Mouse Spermatogonial Cell Proliferation via the Activation of AKT/MAPK and Cyclin D1 Pathway and Mediates the Apoptosis by affecting Caspase 3/9 and Bcl-2. Cell Cycle. 2018; 17(2):225–39.

448. Kohno M, Pouyssegur J. Targeting the ERK signaling pathway in cancer therapy. Ann Med. 2006; 38(3):200–11.

449. Karagül Mİ, Aktaş S, Yetkin D, Bayrak G, Çelikcan D. P53, Bcl2 and Bax Expression and Apoptosis in Perifosine and Vitamin D-Treated Endometrial Cancer Cell Line (HEC1A). Proceedings. 2018; 2(25):1564.

450. Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. Nat Rev Cancer. 2017; 17(2):93–115.

451. Pal H, Katiyar S. Cryptolepine, a Plant Alkaloid, Inhibits the Growth of Non-Melanoma Skin Cancer Cells through Inhibition of Topoisomerase and Induction of DNA Damage. Molecules. 2016; 21(12):1758.

452. Newell M, Baker K, Postovit L, Field C. A Critical Review on the Effect of Docosahexaenoic Acid (DHA) on Cancer Cell Cycle Progression. Int J Mol Sci. 2017; 18(8):1784.

453. Zannini L, Delia D, Buscemi G. CHK2 kinase in the DNA damage response and beyond. J Mol Cell Biol. 2014; 6(6):442–57.

454. Wright MB, Bortolini M, Tadayyon M, Bopst M. Minireview: Challenges and opportunities in development of PPAR agonists. Mol Endocrinol. 2014; 28(11):1756–68.

455. Zhou L, Zhong Y, Xue MZ, Kuang D, Cao XW, Zhao ZJ, et al. Design, synthesis and evaluation of PPAR gamma binding activity of 2-thioxo-4-thiazolidinone derivatives. Chinese Chem Lett. 2015; 26(1):63–8.

456. Bardot O, Aldridge TC, Latruffe N, Green S. PPAR-RXR Heterodimer Activates a Peroxisome Proliferator Response Element Upstream of the Bifunctional Enzyme Gene. Biochem Biophys Res Commun. 1993; 192(1):37–45.

457. Hessel-Pras S, Ehlers A, Braeuning A, Lampen A. The aryl hydrocarbon receptor and retinoid receptors cross-talk at the Cyp1A1 promoter in vitro. EXCLI J. 2018; 17:246–56.

458. Wójtowicz AK, Szychowski KA, Wnuk A, Kajta M. Dibutyl Phthalate (DBP)-Induced Apoptosis and Neurotoxicity are Mediated via the Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) but not by Estrogen Receptor Alpha (ERα), Estrogen Receptor Beta (ERβ), or Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPARγ) in Mouse C. Neurotox Res. 2017; 31(1):77–89.

459. Kim HG, Han EH, Jeong HG. Effect of troglitazone on CYP1A1 induction.

Toxicology. 2008; 246(2–3):166–71.

460. Ellero S, Chakhtoura G, Barreau C, Langouët S, Benelli C, Penicaud L, et al. Xenobiotic-Metabolizing Cytochromes P450 in Human White Adipose Tissue: Expression and Induction. Drug Metab Dispos. 2010; 38(4):679–86.

461. Androutsopoulos VP, Tsatsakis AM, Spandidos DA. Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention. BMC Cancer. 2009; 9(1):187.

462. Spink D. Differential expression of CYP1A1 and CYP1B1 in human breast epithelial cells and breast tumor cells. Carcinogenesis. 1998; 19(2):291–8.

463. Li F, Zhu W, Gonzalez FJ. Potential role of CYP1B1 in the development and treatment of metabolic diseases. Pharmacol Ther. 2017; 178:18–30.

464. Song CY, Ghafoor K, Ghafoor HU, Khan NS, Thirunavukkarasu S, Jennings BL, et al. Cytochrome P450 1B1 Contributes to the Development of Atherosclerosis and Hypertension in Apolipoprotein E–Deficient Mice. Hypertension. 2016; 67(1):206–13.

465. Szychowski KA, Skóra B, Kryshchyshyn-Dylevych A, Kaminskyy D, Rybczyńska-Tkaczyk K, Lesyk R, et al. Induction of Cyp450 enzymes by 4-thiazolidinone-based derivatives in 3T3-L1 cells in vitro. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2020; :1–13.

466. Kryshchyshyn A, Kaminskyy D, Lesyk R. ROS dependent/antioxidant effects of thiazolidinones with dual action. In: -й міжнародний симпозіум Innovation in Medicine SMART LION 2018 11-12 жовтня 2018. Львів; 2018.

467. Ciolino HP, Yeh GC. Inhibition of aryl hydrocarbon-induced cytochrome P-450 1A1 enzyme activity and CYP1A1 expression by resveratrol. Mol Pharmacol. 1999; 56(4):760–7.

468. Drel V, Pacher P, Ali T, Shin J, Julius U, El-Remessy A, et al. Aldose reductase inhibitor fidarestat counteracts diabetes-associated cataract formation, retinal oxidative-nitrosative stress, glial activation, and apoptosis. Int J Mol Med. 2008; .

469. Shaban Z, El-Shazly S, Ishizuka M, Kimura K, Kazusaka A, Fujita S. PPAR?-dependent modulation of hepatic CYP1A by clofibric acid in rats. Arch Toxicol. 2004; 78(9).

470. Alzahrani AM, Rajendran P. The Multifarious Link between Cytochrome

P450s and Cancer. Oxid Med Cell Longev. 2020; 2020:1–18.

471. Kryshchyshyn AP, Kaminskyy DV, Atamanyuk DV, Lesyk RB. Computer technologies in pharmacy-Filling in the gaps in Ukrainian PharmD curriculum. Curr Pharm Teach Learn. 2015; 7(4).

472. Bolognesi ML, Cavalli A. Multitarget Drug Discovery and Polypharmacology. ChemMedChem. 2016; 11(12):1190–2.

473. Zhang W, Bai Y, Wang Y, Xiao W. Polypharmacology in drug discovery: a review from systems pharmacology perspective. Curr Pharm Des. 2016; 22(21):3171–81.

474. Лесик РБ, Крищишин АП, Піняжко ОР, Коропецька НЮ, Нєктєгаєв ІО, Остапів ДД. N-(3-трифторметилфеніл)-2-(2-оксо-3,5a,6,11b-тетрагідро-2H,5H-хромено[4’,3’:4,5]тіопірано[2,3-d][1,3]тіазол-3-іл)ацетамід, що проявляє анаболічну і андрогенну активність. UA; 98069, 10.04.2015, 7.

475. Albrecht U, Gördes D, Schmidt E, Thurow K, Lalk M, Langer P. Synthesis and structure–activity relationships of 2-alkylidenethiazolidine-4,5-diones as antibiotic agents. Bioorg Med Chem. 2005; 13(14):4402–7.

476. Khalil AM, Berghot MA, Gouda MA. Synthesis and antibacterial activity of some new thiazole and thiophene derivatives. Eur J Med Chem. 2009; 44(11):4434–40.

477. Sundaram K, Ravi S. Synthesis, antibacterial activity against MRSA, and in vitro cytotoxic activity against HeLa cell lines of novel 3-α-carboxy ethyl-5-benzylidene rhodanine derivatives. Res Chem Intermed. 2015; 41(2):1011–21.

478. Brvar M, Perdih A, Hodnik V, Renko M, Anderluh G, Jerala R, et al. In silico discovery and biophysical evaluation of novel 5-(2-hydroxybenzylidene) rhodanine inhibitors of DNA gyrase B. Bioorg Med Chem. 2012; 20(8):2572–80.

479. Tejchman W, Korona-Glowniak I, Malm A, Zylewski M, Suder P. Antibacterial properties of 5-substituted derivatives of rhodanine-3-carboxyalkyl acids. Med Chem Res. 2017; 26(6):1316–24.