

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

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

**Юшин Ігор Михайлович**

УДК 615.012.1:(547.789.1+547.772.2):542.91

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

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_ І.М. Юшин

Науковий керівник: Лесик Роман Богданович, доктор фармацевтичних наук,  
професор

Львів – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Юшин І.М.* Синтез та біологічна активність похідних тiazолідину з піразоліновим фрагментом у молекулах. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація, промислова фармація (22 – Охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2023.

Дисертаційна робота присвячена синтезу нових неконденсованих/конденсованих піразолінвмісних похідних тiazолідину та тiazолу, вивченню їх фізико-хімічних параметрів та біологічних властивостей.

На основі аналізу літературних даних окреслено напрямки та методи синтезу цільових сполук шляхом реакцій [2+3]-циклоконденсації, азосполучення, гідролізу, амінолізу, алкілювання, ацилювання, Кньюенагеля, Кляйзена-Шмідта та *гетеро-Дільса-Альдера*.

Показано, що 3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміди є ефективними *S,N*-бінуклеофільними реагентами у [2+3]-циклоконденсації з монохлороцтовою кислотою та арилмалеїдами як еквівалентами діелектрофільного синтону  $[C_2]^{2+}$ , в результаті чого було одержано неописані в літературі 2-піразолілзаміщені 4-тіазолідинони. Нові 2- та 3-піразолілзаміщені 4-тіазолідинони одержані трикомпонентною реакцією тіогліколевої кислоти, піразолілзаміщених альдегідів чи амінів в залежності від поставленого завдання.

Вперше встановлено, що [2+3]-циклоконденсація 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид з монохлороцтовою кислотою за рахунок диспропорціонування інтермедіату в умовах реакції неочікувано приводить до (2*Z*)-2-[(*Z*)-(3-аміно-4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразоно]-3-антипірилтіазолідин-4-ону, при взаємодії якого з алілсаліциловим альдегідом в середовищі оцтової кислоти утворюється (2*E*)-3-[(*E*)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-2-[(*E*)-[3-[(*E*)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-4-оксотіазолідин-2-іліден]гідразоно]тіазолідин-4-он,

що пояснюється кислотним гідролізом проміжного продукту. Встановлено, що 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид у трикомпонентній реакції з монохлороцтовою кислотою та ароматичними альдегідами утворює 2-ариліденгідразоно-3-піразолілзаміщені 4-тіазолідинони.

Взаємодією ізороданіну та 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну одержано 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-он як метиленактивний реагент для синтезу цільових 5-енпохідних за реакцією Кньовенагеля з відповідними альдегідами. Вперше встановлено, що взаємодія 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну з 5-ариліден/гетериліден(ізо)тіороданінами не є зустрічним синтезом піразолілзаміщених 5-ен-5*H*-тіазол-2-онів, а проходить з утворенням піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-они/тіонів. На основі одномірних (1D) двомірних (2D) методик ЯМР (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) та рентгеноструктурного аналізу встановлено, що 5-ариліден-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-они існують у вигляді аміноформи як в кристалічному стані, так і в розчині.

Виявлено, що 1,3-дифенілпіразол- та 5-хлоро-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-карбальдегіди є ефективними реагентами для реакції Кньовенагеля з модифікованими за положеннями 2, 3 та 4 тіазолідинонами.

Досліджено, що 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-он за рахунок наявності активної метиленової групи реагує з відповідними 5-етоксироданінами з утворенням піразоліл-тіазолідинонових гібридних молекул, а при взаємодії з триетилортоформіатом утворює 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1*H*-піразолін-5-он, а не очікуване 4-етоксиметиленпохідне.

Показано, при взаємодії 4-диметиламінометилен-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону з роданіном утворюється диметиламонію 5-метил-4-((4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил)-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-1-ід, що можна розглядати як альтернативний до реакції Кньовенагеля метод синтезу 5-ен-4-тіазолідинонів.

Реакцією Кляйзена-Шмідта одержано (*E*)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-он, який є ефективним вихідним реагентом

для синтезу піразолін-тіазол-піридинових гібридних молекул та аддуктів Міхаеля при взаємодії з амідами тіогліколевої кислоти.

Селективним S-алкілюванням 2-меркапто-5-аміно-1,3,4-тіадіазолу відповідним піразолінвмісним хлорацетамідом одержано 2-[(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)сульфаніл]-1-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідро-2*H*-піразол-2-іл]етанон, який ацилюванням дихлороацетилхлоридом перетворено у відповідний 2,2-дихлороацетамід. Показано, що 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид є ефективним реагентом для синтезу антипірилзаміщеного 2-меркапто-1,3,4-тіадіазолу, на основі якого в реакції S-алкілювання відповідним хлорацетамідом одержано *N*-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензтіофен-2-іл)-2-[[5-[(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)аміно]-1,3,4-тіадіазол-2-іл)сульфаніл]ацетамід.

Показано, що 1-[3-(4-метоксифеніл)-5-арил-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-бут-2-ен-1-они є ефективними реагентами регіо- та діастереоселективного синтезу нових тіопірано[2,3-*d*]тіазолів у реакції *гетеро*-Дільса-Альдера, що підтверджено 2D ЯМР спектральним аналізом.

Досліджено, що конденсація Кньюенагеля 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду з ізороданіном проходить з утворенням піразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазолу, взаємодія зазначеного альдегіду з 2-меркапто-*N*-фенілацетамідами та 2-(2-меркаптоацетил)гідрозин-1-карботіоамідом дозволяє одержати серії різноманітних тієно[2,3-*c*]піразолів.

Структура, склад та чистота синтезованих молекул підтверджено елементним аналізом, методами хромато-мас-спектрометрії, <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопії та рентгеструктурним аналізом.

Скринінгові дослідження біологічних активностей синтезованих сполук дозволили виділити ряд перспективних агентів з протипухлинною, протимікробною, протигрибковою і протизапальною діями.

На основі дослідження протипухлинної активності (МТТ тест) ідентифіковано високоактивні сполуки з групи 5-(1,3-дифенілпіразол-4-іліден)заміщених 4-ті(імід)азолідинонів з високою селективністю дії на клітинні лінії Jurkat T-лейкозу людини та низькою токсичністю до псевдонормальних кератиноцитів людини HaCaT

та ізольованих лімфоцитів клінічно-здорового донора. Ідентифіковано (5Z)-5-[(4-фторофеніл)метилен]-4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]тіазол-2-он, який має виражену цитотоксичну дію на клітини ліній MCF-7 (карциноми молочної залози людини) і Jurkat з показником IC<sub>50</sub> в межах 2,15-7,90 мкМ, на відміну від структурно споріднених конденсованих піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіонів (IC<sub>50</sub> 5,51 мкМ та 16,96 мкМ відповідно).

Скринінг протипухлинної активності за програмою DTP NCI дозволив ідентифікувати етил 1-{5-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-4,5-дигідропіразол-1-іл}-етанон та 4-[[2-[1-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)тіазол-5-іл]-3-оксопропіл]сульфанілацетил]аміно]бензоат з суттєвим ефектом щодо клітинних ліній лейкемії (K-562, SR), меланоми (SK Mel-5) та раку молочної залози (T-47D). Встановлено, що сполуки цього класу можуть бути потенційними інгібіторами PAPR1/2 та індукторами апоптозу.

На основі вивчення протимікробної активності встановлено, що найбільш активними щодо Грам (+) мікроорганізмів були піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіони на відміну від їх структурних попередників 5-ариліден-4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-онів, що є протилежною картиною кореляції «структура-дія» у порівнянні до протиракової активності даних молекул.

Синтезований (5Z)-5-[(1,3-Дифенілпіразол-4-іл)метилен]тіазолідин-2,4-діон проявив активність щодо *Staphylococcus aureus* та грибків роду *Sacharomyces cerevisiae*, а також статистично достовірно індукував ріст мікроорганізмів-продуцентів протизапальних агентів, таких як *Blautia*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Succinivibrionaceae*, *Coriobacteriales*, що свідчить про його непряму протизапальну дію.

Проведено спрямований синтез 70 сполук. У результаті фармакологічного скринінгу ідентифіковано 20 “сполук-хітів” з протипухлинною, протимікробною, протигрибковою і протизапальною активностями.

За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових робіт.

**Ключові слова:** синтез, тiazолідинони, піразоліни, гібридні молекулярні структури, модифікація, мультикомпонентні реакції, реакція Кньюенагеля, реакція *гетеро*-Дільса-Альдера, алкілювання, ацилювання, протиракова активність, протимікробна активність, протигрибкова активність, протизапальна активність, докінгові дослідження.

## ABSTRACT

*Yushyn I.M.* Synthesis and biological activity of thiazolidine derivatives with a pyrazoline fragment in molecules. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation to obtain the degree of Doctor of Philosophy, specialty 226 – Pharmacy, Industrial Pharmacy» (22 – Healthcare). – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2023.

The dissertation is devoted to synthesis of new pyrazoline-containing derivatives of thiazolidine and thiazole, studying their physicochemical parameters and biological properties.

Based on the analysis of literature data, the directions and methods of synthesis of targeted compounds via [2+3]-cyclocondensation, Knoevenagel reaction, Claisen-Schmidt reaction, *hetero*-Diels-Alder reaction, aminolysis, acylation, alkylation, azo coupling are outlined.

It was shown that 3-methyl-5-phenyl-4,5-dihydropyrazole-1-carbothioamides are effective *S,N*-binucleophilic reagents in the [2+3]-cyclocondensation with monochloroacetic acid and arylmaleimides as equivalents of the dielectrophilic synthon  $[C_2]^{2+}$ , as a result several new 2-pyrazolyl-substituted 4-thiazolidinones were obtained. New 2- and 3-pyrazolyl-substituted 4-thiazolidinones were obtained by the three-component reaction of thioglycolic acid, pyrazolyl-substituted aldehydes, or amines, depending on the reaction conditions.

It was established for the first time that the [2+3]-cyclocondensation of 4-(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenylpyrazol-4-yl)thiosemicarbazide with monochloroacetic acid due to disproportionation of the intermediate under the reaction conditions unexpectedly led to

(2*Z*)-(2*E*)-3-[(*E*)-(2-allyloxyphenyl)methyleneamino]-2-[(*E*)-[3-[(*E*)-(2-allyloxyphenyl)methyleneamino]-4-oxothiazolidin-2-ylidene]hydrazono]thiazolidin-4-one, which is explained by acid hydrolysis of the reaction intermediate. It was established that 4-(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenylpyrazol-4-yl)thiosemicarbazide forms 2-arylidenehydrazono-3-pyrazolyl-substituted 4-thiazolidinones in a three-component reaction with monochloroacetic acid and aromatic aldehydes.

The interaction of isorhodanine and 3-methyl-1*H*-pyrazol-5-amine led to 4-[(3-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino]-5*H*-thiazol-2-one as a methylene active reagent for the synthesis of target 5-ene derivatives by the Knoevenagel reaction with the corresponding aldehydes. It was established for the first time that the interaction of 3-methyl-1*H*-pyrazol-5-amine with 5-arylidene/hetarylidene(iso)thiorhodanines is not a counter synthesis of pyrazolyl-substituted 5-en-5*H*-thiazol-2-ones, but proceeds with the formation of pyrazolo[3,4-*b*]thiazolo[5,4-*e*]pyridin-6-ones/thiones. Furthermore, based on one-dimensional (1D) and two-dimensional (2D) NMR techniques (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) and X-ray structural analysis, it was established that 5-arylidene-4-[(3-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino]-5*H*-thiazol-2-ones exist in the amino form both in the crystalline state and in solution.

It was found that 1,3-diphenylpyrazole- and 5-chloro-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carbaldehydes are effective reagents for the Knoevenagel reaction with thiazolidinones modified in positions 2, 3, and 4.

It was investigated that 5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydropyrazol-3-one, due to an active methylene group, reacts with the corresponding 5-ethoxyrhodanines with the formation of pyrazolyl-thiazolidinone hybrid molecules and upon interaction with triethyl orthoformate forms 4-((5-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)methyl)-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolin-5-one, rather than the expected 4-ethoxymethylene derivative.

It was shown that the reaction between 4-dimethylaminomethylene-5-methyl-2-phenyl-2,4-dihydropyrazol-3-one with rhodanine led to dimethylammonium 5-methyl-4-((4-oxo-2-thioxo-1,3-thiazolidine-5-ylidene)methyl)-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydropyrazol-1-ide, which can be considered as an alternative method for the synthesis of 5-en-4-thiazolidinones to the Knoevenagel reaction.

By the Claisen-Schmidt reaction (*E*)-3-(2-fluorophenyl)-1-[4-methyl-2-(2-pyridylamino)-thiazol-5-yl]-2-propen-1-one was obtained, which is effective as a starting reagent for the synthesis of pyrazoline-thiazole-pyridine hybrid molecules and Michael adducts upon interaction with amides of thioglycolic acid.

By selective *S*-alkylation of 2-mercapto-5-amino-1,3,4-thiadiazole with the appropriate pyrazoline-containing chloroacetamide 2-[(5-amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulfanyl]-1-[3-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrazol-2-yl]ethanone was obtained, which was performed into the corresponding 2,2-dichloroacetamide by acylation with dichloroacetyl chloride. Furthermore, it was shown that 4-(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenylpyrazol-4-yl)thiosemicarbazide is an effective reagent for the synthesis of antipyryl-substituted 2-mercapto-1,3,4-thiadiazole, which was used in the *S*-alkylation reaction with corresponding chloroacetamide to obtain *N*-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzthiophen-2-yl)-2-[[5-[(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenylpyrazol-4-yl)amino]-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl]acetamide.

It was shown that 1-[3-(4-methoxyphenyl)-5-aryl-2-yl-4,5-dihydropyrazol-1-yl]-but-2-en-1-ones are effective reagents for regio- and diastereoselective synthesis of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles by the *hetero*-Diels-Alder reaction, which was confirmed by 2D NMR spectral analysis.

It was investigated that the Knoevenagel condensation of 5-chloro-3-methyl-1-phenylpyrazole-4-carbaldehyde with isorhodanine led to the formation of pyrazolo[4',3':5,6]thiopyrano[2,3-*d*]thiazole, the reaction of the indicated aldehyde with 2-mercapto-*N*-phenylacetamides and 2-(2-mercaptoacetyl)hydrazine-1-carbothioamide obtained a series of various thieno[2,3-*c*]pyrazoles.

The structure and purity of the synthesized molecules were confirmed by elemental analysis, LC-MS, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR spectroscopy, and X-ray structural analysis.

Screening the synthesized compounds for biological activities made it possible to identify several promising agents with antitumor, antimicrobial, antifungal, and anti-inflammatory effects.

Based on the study of antitumor activity (MTT test), highly active compounds from the group 5-(1,3-diphenylpyrazol-4-ylidene)substituted 4-thio(imid)azolidinones were



identified with high selectivity of action on human Jurkat T-leukemia cell lines and low toxicity to pseudonormal human keratinocytes NaCaT and isolated lymphocytes of a clinically healthy donor. In addition, identified (5*Z*)-5-[(4-fluorophenyl)methylene]-4-[(3-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino]thiazol-2-one, which has a pronounced cytotoxic effect on MCF- 7 (human breast carcinomas) and Jurkat with IC<sub>50</sub> in the range of 2.15-7.90 μM, in contrast to structurally related condensed pyrazolo[3,4-*b*]thiazolo[5,4-*e*]pyridine-6-thiones (IC<sub>50</sub> 5.51 μM and 16.96 μM, respectively).

Screening for antitumor activity by the NCI DTP program identified ethyl 1-{5-(2-fluorophenyl)-3-[4-methyl-2-(2-pyridylamino)-thiazol-5-yl]-4,5-dihydropyrazol-1-yl}-ethanone and 4-[[2-[1-(2-fluorophenyl)-3-[4-methyl-2-(2-pyridylamino)thiazol-5-yl]-3-oxopropyl]sulfanylacetyl]amino] benzoate with a significant effect on leukemia (K-562, SR), melanoma (SK Mel-5) and breast cancer (T-47D) cell lines. It has been established that compounds of this class can be potential inhibitors of PAPR1/2 and inducers of apoptosis.

Based on the study of antimicrobial activity, it was established that pyrazolo[3,4-*b*]thiazolo[5,4-*e*]pyridine-6-thiones were the most active against Gram (+) microorganisms, in contrast to their structural predecessors 5-arylidene-4-[(3-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino]-5*H*-thiazol-2-ones, which is the opposite correlation of the structure-activity to the anticancer activity of these molecules.

The synthesized (5*Z*)-5-[(1,3-diphenylpyrazol-4-yl)methylene]thiazolidine-2,4-dione showed activity against *Staphylococcus aureus* and fungi of the genus *Saccharomyces cerevisiae*, and also statistically reliably induced the growth of microorganisms producer anti-inflammatory agents, such as *Blautia*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Succinivibrionaceae*, *Coriobacteriales*, which indicates indirect anti-inflammatory effect.

The directed synthesis of 70 compounds was carried out. Based on the results of the pharmacological screening, 20 "hit compounds" with antitumor, antimicrobial, antifungal, and anti-inflammatory activities were identified.

18 Scientific papers were published based on obtained data.

**Keywords:** synthesis, thiazolidinones, pyrazolines, hybrid molecular structures, modification, multicomponent reactions, Knoevenagel reaction, *hetero*-Diels-Alder

reaction, alkylation, acylation, anticancer activity, antimicrobial activity, antifungal activity, anti-inflammatory activity, docking studies.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### *Наукові статті*

1. Ivasechko, I., Yushyn, I., Roszczenko, P., Senkiv, J., Finiuk, N., Lesyk, D., Holota, S., Czarnomysy, R., Klyuchivska, O., Khylyuk, D., Kashchak, N., Gzella, A., Bielawski, K., Bielawska, A., Stoika, R. and Lesyk, R., 2022. Development of Novel Pyridine-Thiazole Hybrid Molecules as Potential Anticancer Agents. *Molecules*, 27(19), p.6219. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27196219> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів біологічних досліджень, підготовка статті до друку).

2. Yushyn, I., Holota, S., Ivantsiv, O. and Lesyk, R., 2022. rel-2-[4-Chloro-2-[(5R, 6R, 7S)-6-[5-(4-methoxyphenyl)-3-(2-naphthyl)-3, 4-dihydropyrazole-2-carbonyl]-5-methyl-2-oxo-3,5,6,7-tetrahydrothiopyrano[2,3-d]thiazol-7-yl]phenoxy]acetic Acid. *Molbank*, 2022(3), p.M1410. DOI: <https://doi.org/10.3390/M1410> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

3. Yushyn, I., Holota, S. and Lesyk, R., 2022. 2,2-Dichloro-N-[5-[2-[3-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydro-2H-pyrazol-2-yl]-2-oxoethyl]sulfanyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl] acetamide. *Molbank*, 2022(1), p.M1328. DOI: <https://doi.org/10.3390/M1328> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

4. Holota, S., Yushyn, I., Khylyuk, D., Vynnytska, R. and Lesyk, R., 2021. N-(3-Cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiophen-2-yl)-2-[[5-[(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenylpyrazol-4-yl) amino]-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl] acetamide. *Molbank*, 2021(2), p.M1211. DOI: <https://doi.org/10.3390/M1211> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, узагальнення результатів біологічних досліджень, підготовка статті до друку).

5. Lozynskyi, A., Holota, S., Yushyn, I., Sabadakh, O., Karpenko, O., Novikov, V. and Lesyk, R., 2021. Synthesis and Biological Activity Evaluation of Polyfunctionalized Anthraquinonehydrazones. *Letters in Drug Design & Discovery*, 18(2), pp.199-209. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570180817999200802032844> (Особистий внесок автора:

синтез 1-(N'-{4-[5-(4-хлорфеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-2-оксо-2H-тіазол-5-іліден}-гідрозон)-антрахінону, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, узагальнення результатів біологічних досліджень, підготовка статті до друку).

6. Lozynskyi, A., Zimenkovsky, B., Yushyn, I., Kaminskyu, D., Karpenko, O., Gzella, A.K. and Lesyk, R., 2020. Synthesis of new structurally diverse thiazolidinone-derived compounds based on reaction of isorhodanine with ortho-substituted aldehydes,  $\alpha$ -keto- and  $\beta$ -aroylacrylic acids. *Journal of Molecular Structure*, 1217, p.128448. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128448> (Особистий внесок автора: синтез 3-метил-1-фенілпіразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-d]тіазол-6(1H)-ону, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

7. Юшин, І.М., Лозинський, А.В., Федусевич, О.М., Вовчук, О.Я. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових 5-заміщених 2-піразолілітіазол-4-онів як потенційних біологічно активних сполук. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*, Т. 13, №2(33), с.214-218. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207117> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

#### Тези доповідей

1. Yushyn, I., Fedusevych, O.-M. and Lesyk R., 2019. A hybrid pharmacophore approach in the synthesis of novel pyrazoline-thiazolidinone conjugates. *14th Bialystok International Medical Congress for Young Scientists*. Bialystok, Poland, 17-18 May 2019, p.48. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

2. Юшин, І., Лозинський, А. та Лесик Р., 2019. Синтез нових неконденсованих тіазолідин-піразольних кон'югатів на основі гібрид-фармакофорного підходу. *XVII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2019»*. Львів, Україна, 2-5 червня 2019, с.У37. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

3. Юшин, І.М., Гойдик, М.В. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових похідних 2-піразолілізаміщених тіазолідинілацетамідів як потенційних біологічно активних

сполук. *VIII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»*, Тернопіль, Україна, 23-24 вересня 2020, с.17-18. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

4. Юшин, І.М., Лозинський, А.В., Федусевич, О.-М., Винницька, Р.Б. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових похідних 5-(3-метил-5-оксо-1-фенілпіразолідин-4-ілметилен)-4-тіазолідинону як потенційних біологічно активних сполук. *Науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження»*, Івано-Франківськ, Україна, 19-20 травня 2020, с.143-144. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

5. Юшин, І.М., Гзелля, А. та Лесик, Р.Б., 2021. Синтез та хімічні перетворення нових тіазолідинонів як потенційних біологічно активних сполук. *Науково-практична конференція з міжнародною участю «Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines»*, Тернопіль, Україна, 25-26 травня 2021, с.73. (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

6. Юшин, І. та Лесик Р., 2021. Синтез нових піразолілзаміщених 5-ен-4-тіазолідинонів як потенційних біологічно активних сполук. *XVIII наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021»*, Львів, 31 травня - 2 червня 2021, с.У8. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

7. Yushyn, I. and Lesyk, R., 2021. Synthesis of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazole derivatives bearing pyrazoline moiety as potential biological active compounds. *Paul Ehrlich Euro-PhD Network Virtual Meeting 2021*, Zoom platform, Catanzaro, Italy, 26-28 July 2021, p.105 (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

8. Ivasechko, I., Yushyn, I., Senkiv, J., Lesyk, D., Stoika, R. and Lesyk, R., 2021. Development of novel thiazole derivatives as potential anticancer agents. *X Konferencja Chemii Medycznej*. Lublin, Poland, 3-5 September 2021, p.P92. (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності, підготовка тез до друку).

9. Юшин, І., Гзелля, А. та Лесик Р., 2021. Синтез нових гетероциклічних систем з піразол-тіазольними фрагментами у молекулах як потенційних біологічно активних сполук. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2021»*, Запоріжжя, Україна, 25-26 листопада 2021, с.100. (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

10. Рисенко, Г., Фінюк, Н., Юшин, І., Генега, А., Лесик, Р. та Стойка Р., 2022. Антинеопластична дія нових 5-ен-4-тіазолідинонів з піразоліліновими фрагментами у молекулах. *XVIII міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології»*, Львів, Україна, 6-7 жовтня 2022, с.18-19. (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності, підготовка тез до друку).

11. Konechnyi, Y., Rumynska, T., Yushyn, I. and Lesyk, R., 2022. Newly synthesized 5-pyrazolyl substituted 2,4-thiazolidinedione as potential anti-inflammatory and antimicrobial agent. *ESCMID-ASM Joint Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance*, Dublin, Ireland, 4-7 October 2022, <https://www.escmid.org/dates-events/escmid-conferences/escmidasm-conference-2022>. (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....</b>	<b>20</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>21</b>
<b>РОЗДІЛ 1. ПІРАЗОЛІН-ТІАЗОЛІДИНИ ЯК «МАЛІ МОЛЕКУЛИ» В ДИЗАЙНІ ПОТЕНЦІЙНИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СИСТЕМ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....</b>	<b>26</b>
1.1. Синтетичні підходи до одержання неконденсованих/конденсованих гетеросистем на основі піразолін-тіазолідинів .....	26
1.1.1. Функціоналізовані піразол/піразолінвмісні молекули як прекурсори для формування азолідонового ядра .....	26
1.1.2. Похідні тіазолідинів як “структурні блоки” для формування 1,2-діазольного ядра .....	35
1.1.3. Тіазолідини та їх похідні як активні реакційні центри для взаємодії з піразолінвмісними реагентами .....	36
1.2. Методи синтезу конденсованих біциклічних піразолотіазолів.....	39
1.2.1. Синтез піразоло[3,4- <i>d</i> ]тіазолів на основі функціоналізованих похідних піразолінів та тіазолів .....	39
1.2.2. Методи синтезу та модифікації піразоло[5,1- <i>b</i> ]тіазолів .....	40
1.3. Біологічна активність поліфункціональних похідних тіазолідину з піразоліновим фрагментом у молекулах .....	42
1.3.1. Похідні піразолін-тіазолідинонів як потенційні протипухлинні лікарські засоби .....	42
1.3.2. Піразолін-тіазольні гібридні молекули як ефективні протипухлинні агенти.....	44
1.3.3. Потенційні протидіабетичні засоби серед піразолін-тіазолідинів.....	47
1.3.4. Протимікробна та протигрибкова активність тіазолідинонів/тіазолів з 1,2-діазольним фрагментом .....	49
1.3.5. Протизапальна активність піразоло-тіазолідинів .....	53
Висновки до розділу 1.....	56

## РОЗДІЛ 2. СИНТЕЗ ТА ХІМІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ НЕКОНДЕНСОВАНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ МОЛЕКУЛ НА ОСНОВІ ПІРАЗОЛІНВІСНИХ ТІАЗОЛІДИНІВ ..... 57

2.1. Одержання нових 5-ен-2-піразолілзаміщених тіазолідинонів на основі реакції [2+3]-циклоконденсації..... 57

2.1.2. Синтез та фізико-хімічні властивості похідних 2-піразолілзаміщених тіазолідинілацетамідів ..... 61

2.1.3. Синтез 3-(4-гідроксифеніл)-2-[3-(4-метоксифеніл)-1-фенілпіразол-4-іл]тіазолідин-4-ону ..... 65

2.2. Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості 3-піразолілзаміщених тіазолідинонів ..... 66

2.2.1. Синтез 3-піразолілзаміщеного (*Z*)-3-аміно-2-(4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразиніліден)тіазолідин-4-ону ..... 67

2.2.2. Синтез (2*E*)-3-[(*E*)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-2-[(*E*)-[3-[(*E*)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-4-оксотіазолідин-2-іліден] гідразано]тіазолідин-4-ону..... 70

2.2.3. Синтез (*E*)-2-(((*Z*)-2-(алілокси)бензиліден)гідразиніліден)-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-іл)тіазолідин-4-ону ..... 73

2.2.4. Синтез 3-(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)-2-фенілтіазолідин-4-онів ..... 75

2.3. Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості нових 4-піразолілзаміщених тіазолідинонів ..... 77

2.3.1. Синтез та фізико-хімічні властивості 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-ону..... 78

2.3.2. Синтез та фізико-хімічні властивості 5-ен заміщених 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-онів ..... 79

2.3.3. Спектральні характеристики 5-ен-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-онів..... 81

2.3.3.1. Рентгеноструктурний аналіз 5-(4-бромобензиліден)-4-(5-метил-2*H*-піразол-3-іламіно)-5*H*-тіазол-2-ону ..... 86



2.3.4. Синтез та спектральні характеристики 1-( <i>N</i> '-{4-[5-(4-хлорфеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-2-оксо-2 <i>H</i> -тіазол-5-іліден}-гідразон)-антрахінону ...	89
2.4. Синтез та перетворення нових піразолілзаміщених 5-ен-тіазолідинонів .....	92
2.4.1. Синтез та перетворення нових 5-ен 1,3-дифенілпіразол-4-іл заміщених тіазолідинів та споріднених гетероциклів .....	92
2.4.2. Синтез та вивчення реакційної здатності 5-(3-метил-1-фенілпіразол(дигідропіразол)-4-ілметилен)-тіазолідинонів.....	96
2.4.2.1. Рентгеноструктурний аналіз ( <i>Z</i> )-5-((5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-іл)метиліден)-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-ону .....	103
2.4.2.2. Рентгеноструктурний аналіз ( <i>Z</i> )-5-((5-метил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-4-іл)метил)-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-ону .....	105
2.4.2.3. Рентгеноструктурний аналіз 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1 <i>H</i> -піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1 <i>H</i> -піразолін-5-ону .....	106
2.4.2.4. Рентгеноструктурний аналіз 4-диметиламінометиліден-3-метил-1-фенілпіразол-5-ону .....	108
2.4.2.5. Рентгеноструктурний аналіз диметиламонію 5-метил-4-((4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил)-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-1-іду.....	109
2.4.3. Синтез та спектральні характеристики 5-піразолілметилен-4-тіазолідинонів .....	110
2.5. Опис експериментів .....	114
Висновки до розділу 2.....	121
<b>РОЗДІЛ 3. СИНТЕЗ ПІРАЗОЛВМІСНИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛУ ТА ТІАДІАЗОЛУ ЯК БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ГІБРИДНИХ МОЛЕКУЛ.....</b>	<b>124</b>
3.1. Синтез 5-піразолілзаміщених <i>N</i> -(2-піридил)тіазол-2-амінів .....	124
3.1.1 Модифікація <i>N</i> -(2-піридил)тіазол-2-аміну у реакції Міхаеля та одержання його солі .....	127
3.1.2 Спектральні характеристики синтезованих тіазолвмісних гібридів .....	128

3.1.3. Рентгеноструктурний аналіз ( <i>E</i> )-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону та 1-{5-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-4,5-дигідропіразол-1-іл}-етанону .....	131
3.2. Синтез, перетворення та спектральні характеристики 2-[(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)сульфаніл]-1-(3,4-дигідропіразол-2-іл)етанону .....	136
3.3. Синтез, перетворення та спектральні характеристики 1,5-диметил-2-феніл-4-[(5-сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно]піразол-3-ону .....	141
3.4. Опис експериментів .....	144
Висновки до розділу 3.....	147
<b>РОЗДІЛ 4. ФУНКЦІОНАЛІЗОВАНІ ПОХІДНІ ПІРАЗОЛІНУ ТА ТІАЗОЛІДИНУ У СИНТЕЗІ КОНДЕНСОВАНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СИСТЕМ.....</b>	<b>149</b>
4.1. Синтез та спектральні характеристики 6-(3,4-дигідропіразол-2-карбоніл)-тіопірано[2,3- <i>d</i> ]тіазолів.....	149
4.2. Синтез та спектральні характеристики 3-метил-1-фенілпіразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3- <i>d</i> ]тіазол-6(1 <i>H</i> )-ону .....	156
4.3. Синтез та спектральні характеристики 3-метил-4-феніл/гетерил-1,7-дигідро-6 <i>H</i> -піразоло[3,4- <i>b</i> ]тіазоло[5,4- <i>e</i> ]піридин-6-онів/тіонів .....	157
4.3.1 Синтез 3'-метил-1',7'-дигідроспіро[циклопентан-1,4'-піразоло[3,4- <i>b</i> ]тіазоло[5,4- <i>e</i> ]піридин]-6'(4 <i>a'H</i> )-ону.....	160
4.4. Синтез та спектральні характеристики конденсованих тієно[2,3- <i>c</i> ]піразолів...	161
4.5. Опис експериментів .....	163
Висновки до розділу 4.....	165
<b>РОЗДІЛ 5. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНУ З ПІРАЗОЛІНОВИМ ФРАГМЕНТОМ У МОЛЕКУЛАХ.....</b>	<b>167</b>
5.1. Протиракова активність піразолін-тіазолідинів.....	168
5.1.1. Цитотоксична дія <i>in vitro</i> піразолін-тіазолідинових кон'югатів на пухлинні та псевдонормальні клітини .....	168
5.1.2. Селективність дії нових піразолілзаміщених похідних тіазолідинону .....	172

5.2. Протиракова активність тіазолвмісних молекул .....	174
5.2.1. <i>In vitro</i> дослідження протипухлинної активності в рамках наукової програми DTP NCI .....	174
5.2.2. МТТ аналіз оцінки життєздатності пухлинних і псевдонормальних клітин та впливу синтезованих молекул.....	176
5.2.2.1. Протиракова активність сполуки 3.5 в часовому діапазоні.....	177
5.2.2.2. Оцінка інгібування росту клітин сполукою 3.5 за допомогою клоногенного тесту .....	178
5.2.2.3. Оцінка інгібування пухлиногенності <i>in vitro</i> за допомогою клоногенного аналізу у напіврідкому агаровому середовищі .....	178
5.2.2.4. Цитоморфологічні зміни, індуковані молекулами 3.2 та 3.5.....	179
5.2.2.5. Здатність нових гібридних піридин-тіазолів взаємодіяти із одно- та двонитковою ДНК.....	181
5.2.2.6. Здатність синтезованих похідних тіазолу індукувати апоптоз шляхом зниження потенціалу мітохондріальної мембрани.....	183
5.2.2.7. Інгібування PARP1 в клітинах лінії MCF-7.....	185
5.2.3. Молекулярний докінг похідного 3.5 .....	187
5.3. Протимікробна та протигрибкова активності .....	189
5.4 Протизапальна активність похідного 2.40 <i>in vivo</i> .....	190
Висновки до розділу 5.....	194
<b>ВИСНОВКИ.....</b>	<b>196</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....</b>	<b>200</b>
<b>ДОДАТКИ .....</b>	<b>223</b>

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

BRCA – Breast Cancer

COSY – Correlated Spectroscopy

Доx – доксорубіцин

DTP NCI – Developmental Therapeutic Program of National Cancer Institute

GI<sub>50</sub> – концентрація, яка викликає пригнічення росту 50% клітин лінії

GP – відсотки росту

HMBC – Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HSQC – Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy

IC<sub>50</sub> – концентрація напівмаксимального інгібування

ORTEP – Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot

MDR – Multiple Drug Resistance

MGMT – O<sup>6</sup>-Methylguanine-DNA-methyltransferase

MMP – потенціал мітохондріальної мембрани

NICS – Nucleus Independent Chemical Shift

NOESY – Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

PAINS – Pan-assay Interference Compounds

PARP – Poly (ADP-ribose) polymerase

PARPi – Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor

ROESY – Rotating-Frame NOE Spectroscopy

SI – індекс селективності

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ДМФА-ДМА – диметилформамід диметилацеталь

ДЦК – N,N-дициклогексилкарбодіімід

ЕДДА – етилендіаміндіацетат

МГК – метод головних компонент

МІК – мінімальна інгібувальна концентрація

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Однією з ефективних стратегій у створенні потенційних біологічно активних сполук є використання методу молекулярної гібридизації, що ґрунтується на поєднанні кількох фармакофорних структурних фрагментів в одній молекулі. Основним аргументом використання такого підходу є поліфармакологічна теорія, що базується на взаємодії гібридної молекули з кількома біомішенями на основі селективності та зниження токсичності. Серед відомих і перспективних представників із класу гетероциклічних сполук, які відповідають таким критеріям, є похідні тiazолідину [7], які у поєднанні з фармакологічно привабливим піразоліновим фрагментом можуть приводити до потенціювання біологічної дії та зниження рівня токсичності [59]. Відомо, що піразолін-тіазолідини володіють високою протипухлинною [28-30,32,33,35,36], протидіабетичною [39-42], протимікробною [44-48,51], протигрибковою [45,48] та протизапальною активностями [55,57,59]. Окрім цього, останні дослідження в галузі молекулярної біології та біохімії дозволяють чітко охарактеризувати фармакологічні профілі піразолін-тіазолідинів експериментально встановленим антагонізмом щодо рецептора епідермального фактора росту EGF (HER2 та EGFR, VEGFR-2 і BRAFV<sup>600E</sup>) [32,33], фактора некрозу пухлини TNF- $\alpha$  [57], дигідрофолатредуктази DHFR [51] та агонізмом щодо PPAR- $\gamma$  рецепторів [39].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (державна реєстрація 0116U004500, 0121U107504).

**Мета та завдання дослідження.** Метою даної роботи був синтез нових похідних тiazолідину і споріднених гетероциклів з піразоліновим фрагментом у молекулах та скринінг їх біологічних активностей.

*Для досягнення цієї мети були поставлені наступні завдання:*

- синтезувати нові неконденсовані 2 та 3-піразолілзаміщені 4-тіазолідинони за реакціями [2+3]-циклоконденсації;

- вивчити реакційну здатність 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду в реакціях гетероциклізації для синтезу нових похідних 4-тіазолідинону та 1,3,4-тіадіазолу;
- розширити бібліотеку піразолін-тіазолідинових кон'югатів на основі 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-онів, одержати піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіони, детально вивчити їхню структуру за допомогою рентгеноструктурного аналізу та спектральних методів;
- запропонувати ефективні методи синтезу 5-піразолізаміщених азолідинонів, провести їх деякі хімічні перетворення;
- дослідити реакційну здатність енонового фрагменту (*E*)-3-(2-фторфеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону для одержання піразолін-тіазол-піридинових гібридних молекул та аддуктів Міхаеля.
- Одержати нові тіопірано[2,3-*d*]тіазоли на основі використання піразолінвмісних дієнофілів в реакції *гетеро*-Дільса-Альдера та реакції Кньовенагеля ізороданіну з 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегідом як альтернативного методу синтезу зазначених гетероциклічних систем;
- запропонувати ефективний метод синтезу та одержати нові тієно[2,3-*c*]піразолів для біологічних досліджень;
- для синтезованих сполук дослідити протипухлинну, протимікробну та протигрибкову активності *in vitro*, а також вивчити протизапальний ефект *in vivo*, виділити «сполуки-хіти» для подальших поглиблених досліджень;
- провести *in silico* дослідження методом молекулярного докінгу молекул, обґрунтувати імовірний механізм дії та сформулювати прогностичні характеристики для дизайну нових потенційних «лікоподібних» молекул.

*Об'єкт дослідження:* реакції [2+3]-циклоконденсації, азосполучення, гідролізу, амінолізу, алкілювання, ацилювання, реакція Кньовенагеля, Кляйзена-Шмідта та *гетеро*-Дільса-Альдера, фізико-хімічні та біологічні властивості.

*Предмет дослідження:* неконденсовані піразолізаміщені тіазолідинони та споріднені гетероциклічні системи, конденсовані піразолінвмісні тіопірано[2,3-

*d*]тіазоли, піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-они/тіони і тієно[2,3-*c*]піразоли як потенційні біологічно активні сполуки.

*Методи дослідження:* органічний синтез, ІЧ,  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз, рентгеноструктурний аналіз, фармакологічні дослідження *in vitro* та *in vivo*, дослідження *in silico*.

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

Встановлено, що 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид в залежності від умов реакції гетероциклізації може бути використана для синтезу різноманітних антипірилзаміщених біциклічних тіазолідинонів та 1,3,4-тіадіазолів, що обґрунтовує подальше використання сполуки як різнопланового «структурного блоку» в дизайні «лікоподібних молекул». Вперше детально вивчено хімічні особливості 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну у реакціях амінолізу, Кньовенагеля та Міхаеля з різноманітними тіазолідинонами, що дозволило одержати нові неконденсовані 5-заміщені 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-они, а також запропонувати ефективний метод синтезу конденсованих піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів. Показано, що еноновий фрагмент (*E*)-3-арил-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-онів є важливим для синтезу фармакологічно привабливих проакцепторів Міхаеля, що продемонстровано синтезом біологічно активних піразолін-тіазол-піридинових гібридних молекул та аддуктів Міхаеля.

Встановлено, що піразолінвмісні дієнофіли є ефективними реагентами для синтезу нових тіопірано[2,3-*d*]тіазолів в реакції *гетеро*-Дільса-Альдера, для якої підтверджено регіо- та діастереоселективний перебіг. Вперше показано, що як альтернативний варіант для одержання тіопірано[2,3-*d*]тіазолів можна використовувати 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегід в умовах реакції Кньовенагеля з 4-тіоксо-2-тіазолідиноном. Встановлено, що зазначений піразолінвмісний альдегід при взаємодії з 2-меркапто-*N*-фенілацетамідами та 2-(2-меркаптоацетил)гідразин-1-карботіоамідом утворює оригінальні тієно[2,3-*c*]піразоли.

Проведено спрямований синтез 70 сполук. Шляхом біологічного скринінгу ідентифіковано 20 “сполук-хітів” з протипухлинною, протимікробною, протигрибковою діями *in vitro* та протизапальною дією *in vivo*. На основі молекулярного докінгу обґрунтовано механізми потенційної протиракової активності та запропоновано рекомендації до раціонального дизайну протипухлинних агентів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблено ефективні методи синтезу та хімічної модифікації нових піразолілзаміщених тiazолідинонів, тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів, 1,3,4-тіадізолів та тієно[2,3-*c*]піразолів, досліджено їх фізико-хімічні параметри. На основі скринінгу біологічної активності відібрано та охарактеризовано нові високоактивні молекули з протипухлинною, протимікробною, протигрибковою та протизапальною діями, які рекомендовані для подальших поглиблених досліджень. Окреслено основні критерії для спрямованого синтезу біологічно активних сполук на основі піразолін-тіазолідинонів.

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

**Апробація результатів дослідження.** Основні положення дисертаційної роботи було представлено на науково-практичних конференціях: 14th Bialystok International Medical Congress for Young Scientists (Bialystok, Poland, 17-18 May 2019), XVII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2019» (Львів, 2-5 червня 2019 р.), VIII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р.), науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р.), науково-практична конференція з міжнародною участю «Current trends in



pharmaceutical chemistry and standardization of medicines» (Тернопіль, 25-26 травня 2021 р.), XVIII наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021» (Львів, 31 травня – 2 червня 2021 р.), Paul Ehrlich Euro-PhD Network Virtual Meeting 2021, Zoom platform, (Catanzaro, Italy, 26-28 July 2021), X Konwersatorium Chemii Medycznej. (Lublin, Poland, 3-5 September 2021), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2021» (Запоріжжя, 25-26 листопада 2021 р.), XVIII міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 6-7 жовтня 2022 р.), ESCMID-ASM Joint Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance. Dublin, Ireland (4-7 October 2022), звітні конференції аспірантів фармацевтичного факультету ЛНМУ (Львів, 2019, 2020, 2021, 2022). Робота заслухана та обговорена на засіданні кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького (Львів, 2023).

**Публікації.** За результатами дисертації опубліковано 18 наукових робіт, з них 7 статей в наукових фахових виданнях, 11 тез доповідей.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 237 сторінках друкованого тексту, з яких 162 основного тексту. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, висновків, списку використаної літератури та додатків. Робота ілюстрована 35 таблицями та 168 рисунками. Список використаних джерел містить 192 найменувань.

## РОЗДІЛ 1

# ПІРАЗОЛІН-ТІАЗОЛІДИНИ ЯК «МАЛІ МОЛЕКУЛИ» В ДИЗАЙНІ ПОТЕНЦІЙНИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СИСТЕМ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Синтетичні та фармакологічні властивості похідних тіазолідинону, як потенційних кандидатів в лікарські засоби, є багаторічним об'єктом дослідження багатьох наукових груп. Фундаментальний внесок у вивчення аспектів хімії та біологічної активності тіазолідинону та його похідних у поєднанні з іншими гетероциклічними системами здійснила кафедра фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Тіазолідиноновий каркас в поєднанні з біологічно активним піразоліновим фрагментом за стереохімічними параметрами та особливостями взаємозв'язку структура-активність (SAR) демонструє високу біологічну дію пов'язану з реалізацією за різноманітними механізмами протипухлинної, протидіабетичної, протимікробної, протигрибкової та протизапальної активностей. Тому, метою даного літературного огляду є узагальнення та систематизація методів синтезу, встановлення фармакологічних профілів за механізмами дії та вивчення параметрів токсичності похідних тіазолідинонів з піразоліновим фрагментом у молекулах як перспективних гетероциклічних систем у пошуку потенційних лікарських засобів.

### 1.1. Синтетичні підходи до одержання неконденсованих/конденсованих гетеросистем на основі піразолін-тіазолідинів

#### 1.1.1. Функціоналізовані піразол/піразолінвмісні молекули як прекурсор для формування азолідонового ядра

Використання функціоналізованих піразол/піразолінвмісних «структурних блоків» для формування тіазолідинового ядра у гібридних молекулах є одним з найбільш популярних напрямків в синтезі біологічно активних сполук. Саме функціоналізовані 1,2-діазоли, такі як 3,5-дифеніл-4,5-дигідро-1*H*-піразол-1-карботіоаміди [7], 2,4-дигідро-3*H*-піразол-3-они [19], 1,3-дифеніл-1*H*-піразол-4-

карбальдегіди [9] та 5-хлоро-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-карбальдегіди [8] відкривають полівекторні напрямки для синтезу та структурної модифікації азолідинонових циклів (Рис. 1.1).

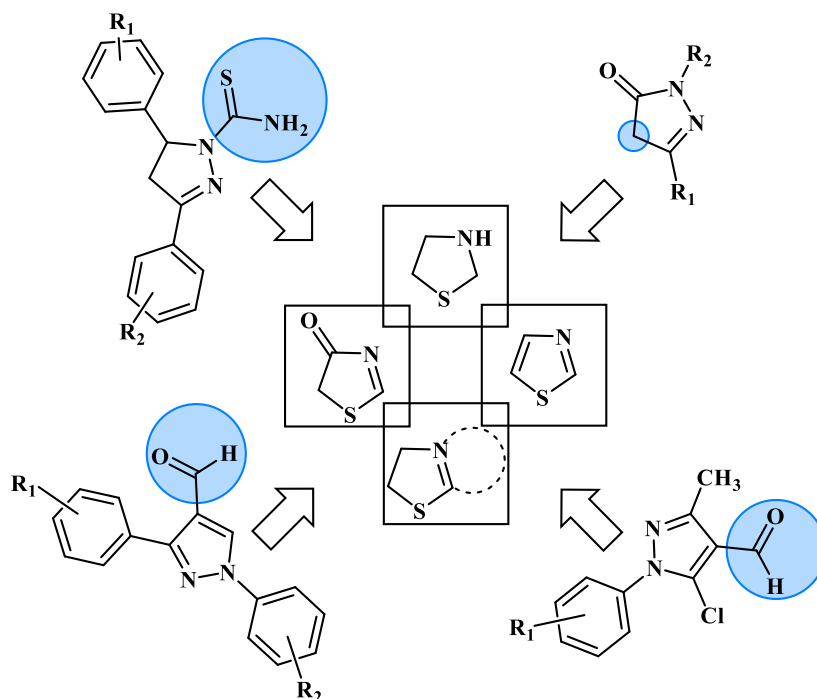


Рис. 1.1. Функціональні похідні 1,2-діазолів для синтезу та структурної модифікації тiazолідинонів та його похідних.

Одним з найпопулярніших методів синтезу 4-тіазолідинонів та його 2-заміщених похідних є реакції [2+3]-циклоконденсації. Як *S,N*-бінуклеофіли у даному підході часто використовують похідні тіосечовини (тіоаміди), які часто володіють широким спектром біологічних активностей, у тому числі високою цитотоксичною дією щодо клітин раку товстої кишки [1], шийки матки [2], нирки [3] тощо (Рис. 1.2). У свою чергу 1-тіокарбамоїл-3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразоли зустрічаються в літературі як біологічно активні сполуки з протипухлинною дією щодо клітин раку сечового міхура [4], молочної залози [5], що дозволяє віднести дані сполуки до потенційних мультитаргетних протиракових агентів, а наявність *S,N*-бінуклеофільних властивостей тіокарбамоїльного фрагменту відкриває шлях до створення гібридних молекул з двома важливими фармакоформними ядрами – піразольним та тіазолідиновим (Рис 1.2).

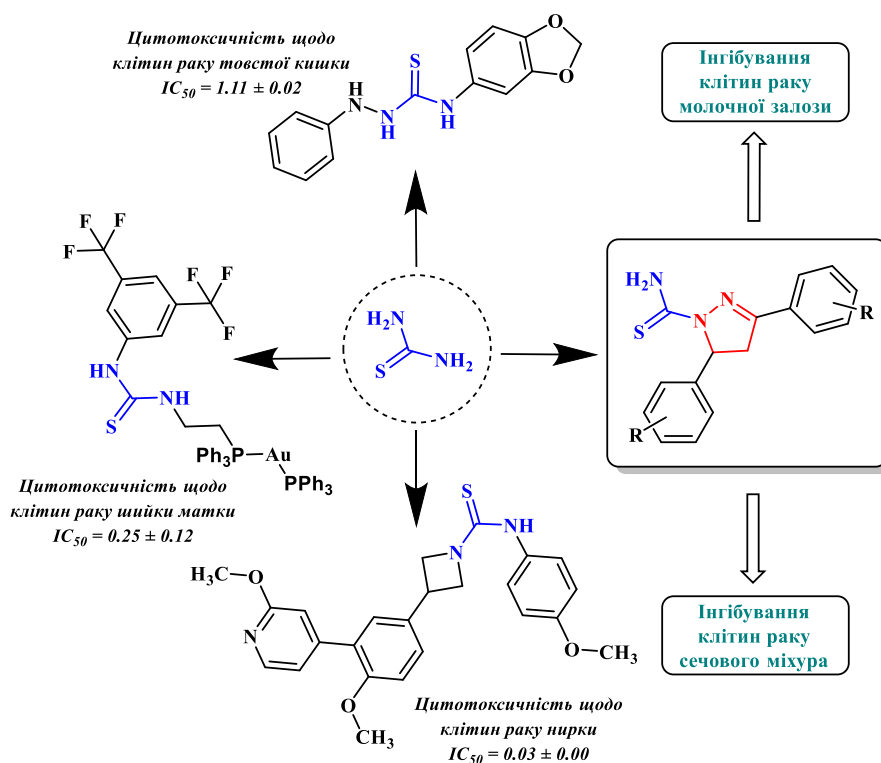


Рис. 1.2. Протипухлинна активність похідних тіосечовини, як стартових реагентів для формування 4-тіазолідинового ядра.

Одержання піразолвмісного тіоаміду описано у праці Palaska та співавторів [6], де в якості стартових реагентів було використано халкони **1.1** як амбідентні електрофіли, що приєднують типовий нуклеофіл - тіосемікарбазид, з утворенням відповідних 1-тіокарбамоїл-3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразолів **1.2** (Рис. 1.3). Саме дані структури виступають в ролі «структурних блоків» для формування тіазолідинового і синтезу неконденсованих 2-піразолвмісних тіазолідинонів.

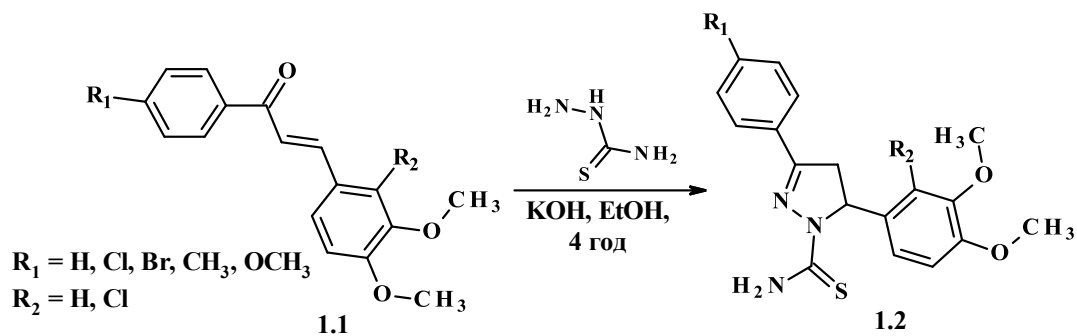


Рис. 1.3. Синтез 1-тіокарбамоїл-3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразолів як стартових реагентів для синтезу 2-піразолітіазолідинонів.

Фундаментальною працею по синтезу протиракових 2-піразолілзаміщених тiazолідинонів можна вважати роботу колективу кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного університету імені Данила Галицького [7], в якій для синтезу цільових сполук використовували у ролі S,N-бінуклеофілу піразолінвмісну тіоамід **1.3**, а монохлороцтову кислоту як еквівалент діелектрофільного синтону  $[C_2]^{2+}$ . Похідні **1.5** було одержано в умовах реакції Кньюенагеля 2-піразолілзаміщеного тiazолідинону **1.4** і відповідних ароматичних альдегідів або шляхом оптимізованої трикомпонентної взаємодії сполуки **1.3**, монохлороцтової кислоти та ароматичного альдегіду (Рис. 1.4).

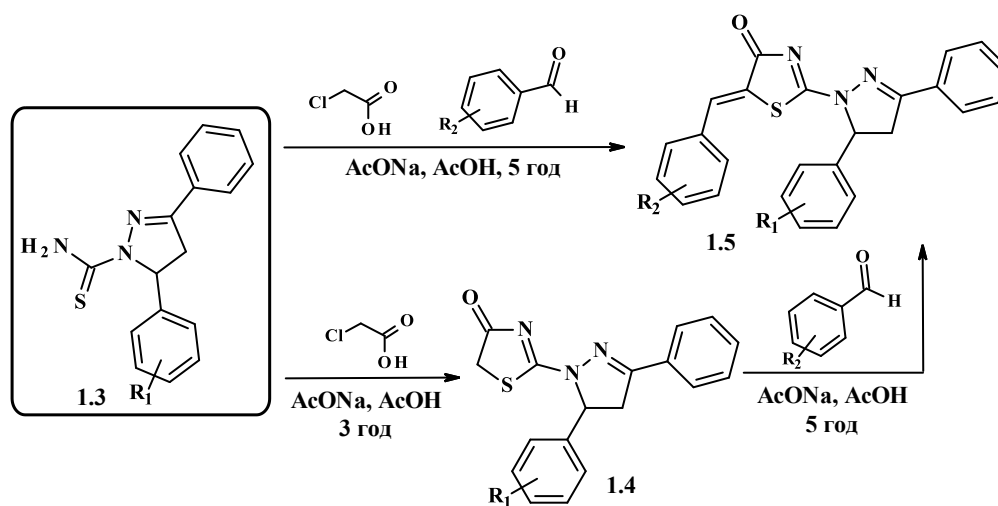


Рис. 1.4. Синтез 5-ариліден-2-піразолілзаміщених 4-тіазолідинонів.

Продовжуючи вивчення піразолінзаміщених тіоамідів Farghaly та співавтори у своїй праці [8] описали методи синтезу 2-((5-хлоро-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метилєнгідразоно)-3-фенілтіазолідин-4-ону **1.9**, використовуючи як вихідну сполуку 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегід **1.6**, на основі якого одержано  $N^1$ -((5-хлоро-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метилєн)- $N^4$ -фенілтіосемікарбазон **1.8** через відповідний гідразон **1.7**. Для формування 4-тіазолідинового ядра в якості  $[C_2]^{2+}$ -циклізуєного агєнту було обрано монохлороцтову кислоту. Заслугує також уваги описана властивість вищезгаданого піразолвмієного тіосемікарбазону **1.8** утворювати тіоксоїмідазолідиновий цикл **1.10** при взаємодії з монохлороцтовою кислотою в середовищі піридину (Рис. 1.5).

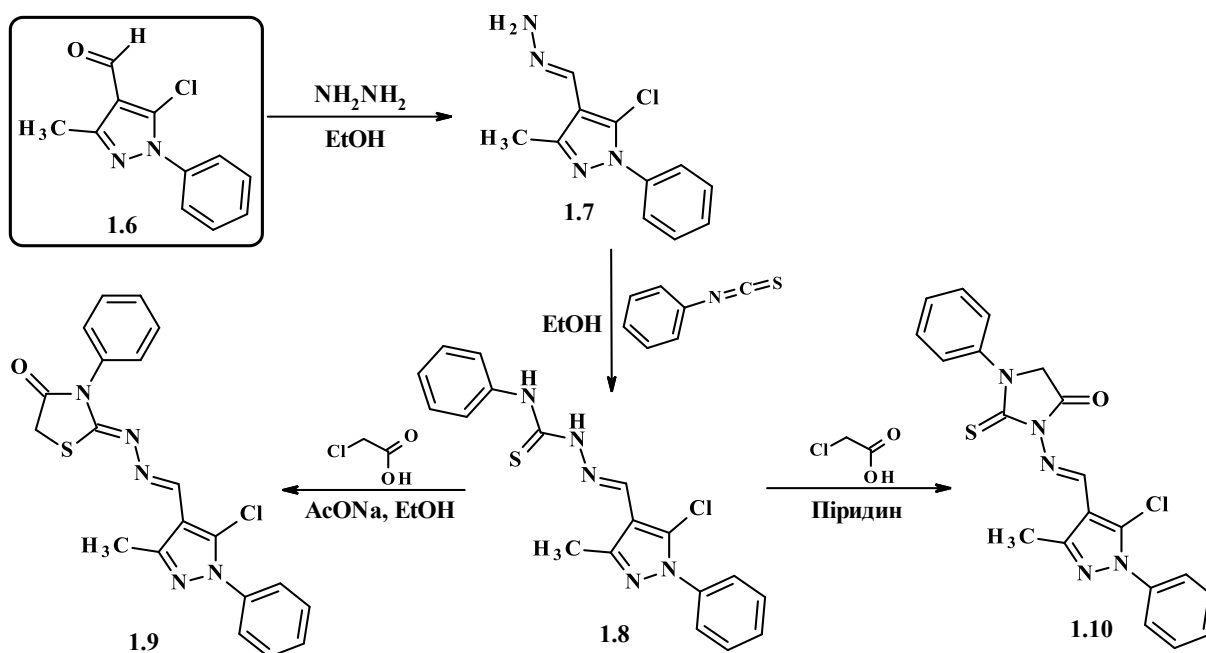


Рис. 1.5. Синтез 4-тіазолідинонів та тіоксоімідазолідинонів на основі 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду.

1,3-Диарилпіразол-4-карбальдегіди або їхніх структурних аналоги зарекомендували себе як ефективні реагенти для одержання похідних тіазолідину. Так, Nikrassand та співавтори [9] свою роботу присвятили пошуку 2,3-дизаміщених похідних тіазолідину основі 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегідів **1.11**. Цільові 2-піразоліл-1,3-тіазолідин-4-они **1.12** було синтезовано з альдегідів **1.11**, ароматичних амінів та тіоглікової кислоти з використанням 2-оксоімідазолідин-1,3-дисульфонової кислоти (OImDSA) (Рис. 1.6). Також варто зауважити, що даний шлях синтезу 2-піразолілзаміщеного тіазолідину відповідає принципам «зеленої» хімії, оскільки в якості розчинника було використано воду, а OImDSA є недорогим, нетоксичним, багаторазовим та екологічно чистим каталізатором, ефективність, якого полягає в зменшенні кількості стадій і утворення побічних продуктів реакції, а також скороченні часу синтезу [10]. Також автори звернули увагу на те, що піразолкарбальдегіди, які містять електроноакцепторні групи, дозволяють отримати цільові 2-піразоліл-1,3-тіазолідин-4-они **1.12** з кращими виходами та можуть вступати в реакцію швидше ніж альдегіди з електронодонорними властивостями.

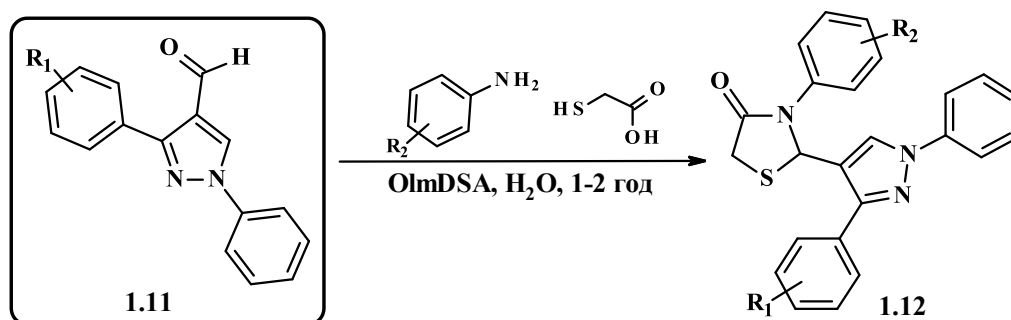


Рис. 1.6. Одержання 2-(1,3-дифенілпіразол-4-іл)-3-фенілтіазолідин-4-онів.

Векхіт та співавтори [11] для одержання (2*RS*,4*R*)-2-[3-(5-бромо-2-тієніл)-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл]-3-(третбутилоксикарбоніл)-5-метилтіазолідин-4-карбонової кислоти та її 5,5-диметилпохідного **1.14** використали реакцію 3-(5-бромо-2-тієніл)-1-феніл-1*H*-піразол-4-карбоксіальдегіду **1.13** *L*-цистеїном та *L*-пеніциламіном (Рис. 1.7).

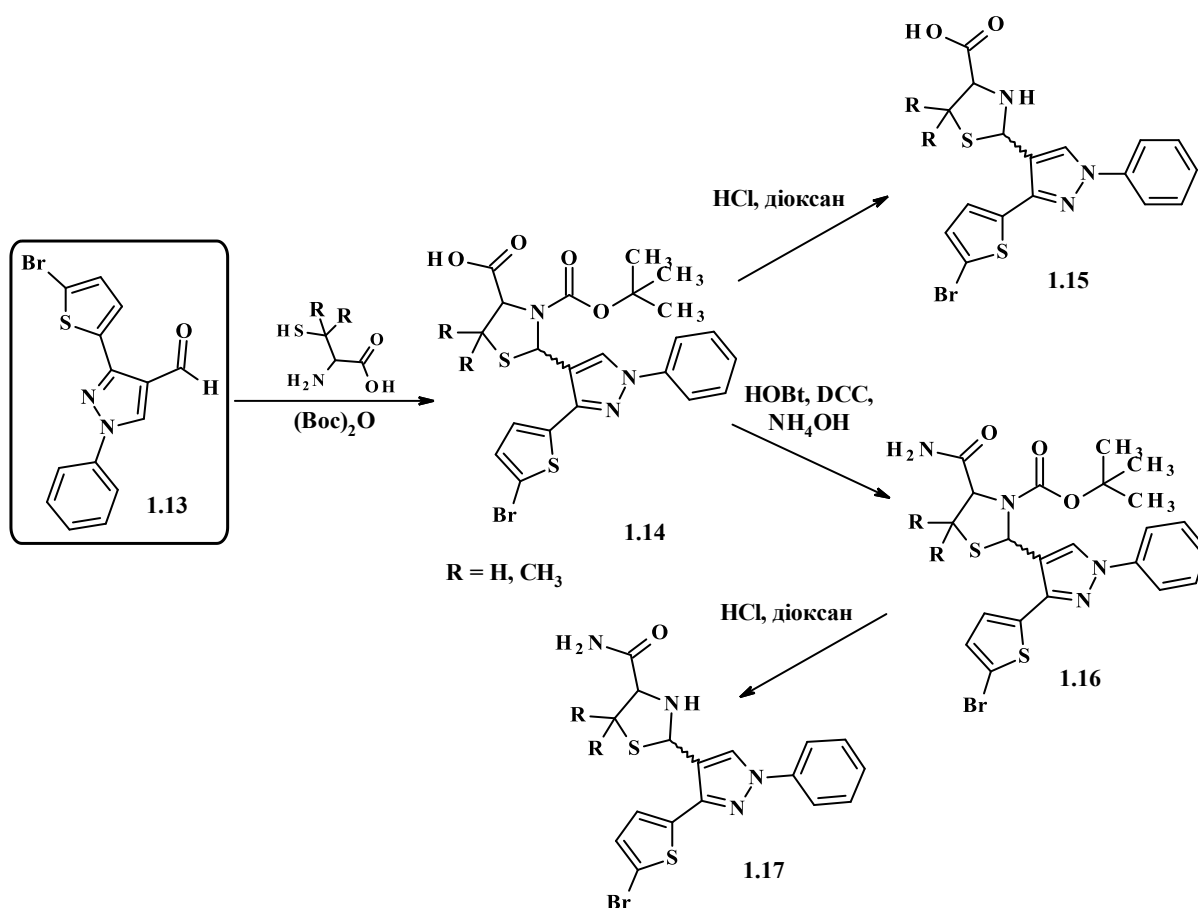


Рис. 1.7. 3-(5-Бромо-2-тієніл)-1-феніл-1*H*-піразол-4-карбоксіальдегід в синтезі 4-тіазолідинонів.

Наступна модифікація 2-піразоліл-тіазолідин-4-карбонових кислот **1.14** полягала в знятті *N*-захисту шляхом гідролізу *N*-*tert*-бутилоксикарбонільної групи за допомогою хлоридної кислоти в середовищі діоксану, що дозволило отримати (2*RS*,4*R*)-2-[3-(5-бromo-2-тієніл)-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл]-5-метилтіазолідин-4-карбонову кислоту та її 5,5-диметилзаміщене похідне **1.15**. Для розширення хімічної бібліотеки автори запропонували перетворити синтезовані тіазолідин-4-карбонові кислоти у аміді **1.16** та **1.17** (Рис. 1.7).

У роботі [12] описано методи одержання піразолілгідразонів **1.19**, **1.21** на основі 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіду та тіокарбогідрозиду та/або гідрозиду маленової кислоти. Подальша модифікація альдімінів полягала у гетероциклізації з тіогліколевою кислотою в середовищі піридину до похідних 4-тіазолідинону **1.20**, **1.23** (Рис. 1.8).

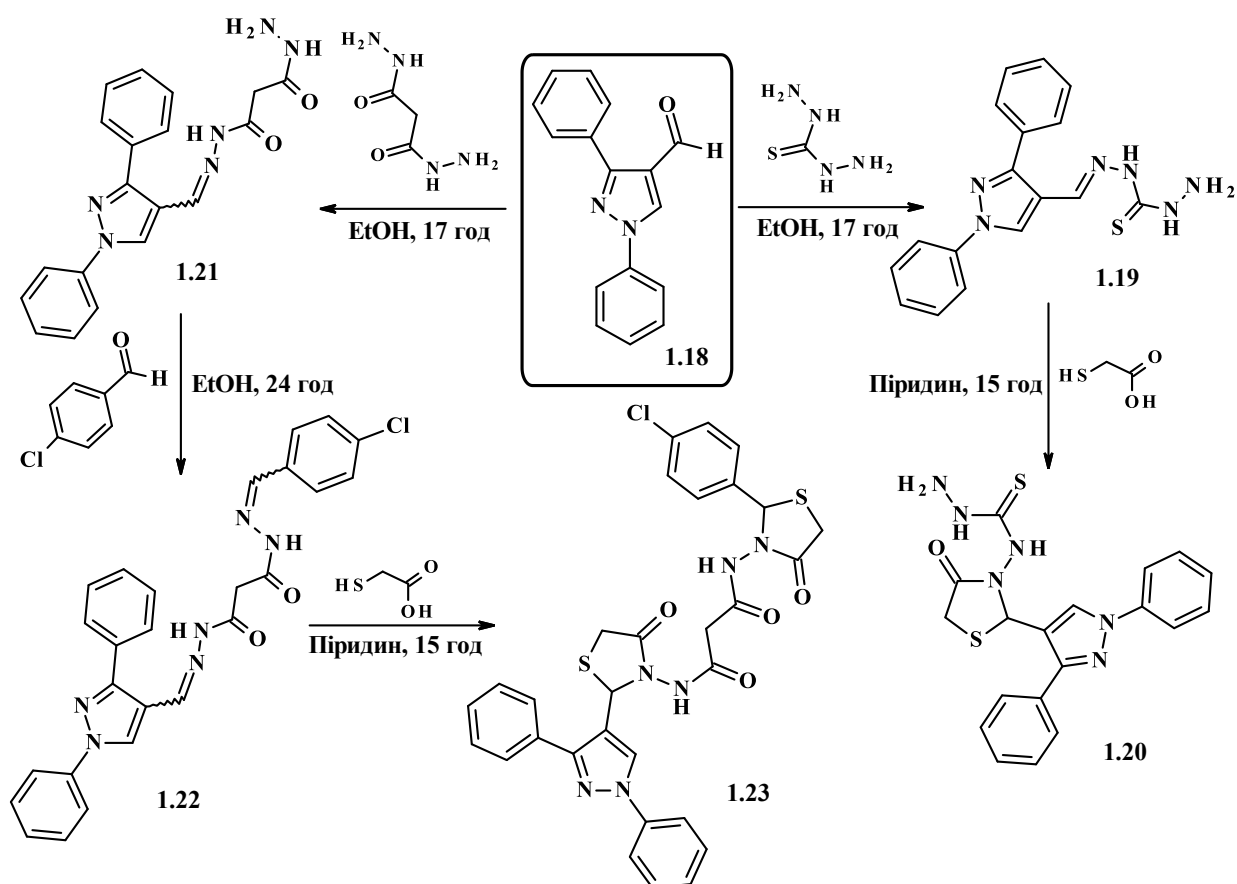


Рис. 1.8. Синтез 4-тіазолідинонів на основі піразолілгідразонів.



Різноманіття реакцій гетероциклізацій передбачає не тільки безпосереднє поєднання піразолінового фрагменту через С-С зв'язок, а й через гідрозидний місток. Так, у роботі Chavan та співавторів [13] описано синтез 2-[піразол-4-ілметил(ен)гідразоно]-1,3-тіазолідин-4-он-5-іл-оцтових кислот шляхом біокаталізу трикомпонентної реакції відповідних 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегідів **1.24**, тіосемікарбазиду та малеїнового ангідриду. Автори дослідили, що даний синтез слід проводити в середовищі ацетонітрилу при кімнатній температурі та під дією ультразвуку, що в свою чергу дозволило отримати цільові сполуки **1.25** із задовільними виходами 71%–96% (Рис. 1.9).

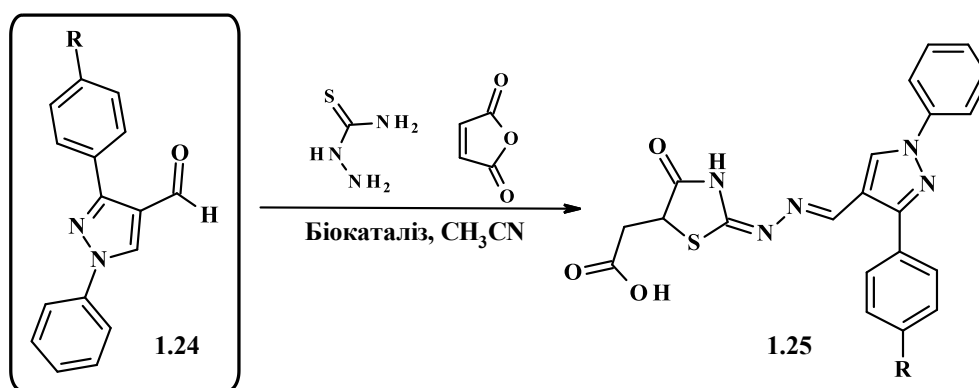


Рис. 1.9. Синтез 2-[піразол-4-ілметил(ен)гідразоно]-1,3-тіазолідин-4-он-5-іл-оцтових кислот з використанням біокаталізу.

Цікавий підхід до синтезу 4-тіазолідинонів на основі похідних піразолону-5 описано у роботі Abumelha та співавторів [14]. Наявність активної метиленової групи у 2-((4-(3-метил-5-оксо-1*H*-піразол-1-карбоніл)феніл)аміно)-нікотинонітрилі **1.26** дозволила провести реакцію приєднання фенілізотіоціанату в середовищі диметилформаміду та гідроксиду калію, що дозволило одержати сульфідну сіль **1.27**, яку задля оптимізації синтезу не ізолювали, а одразу *in situ* ввели в реакцію з  $\alpha$ -галогенкетонами та етилбромацетатом для одержання похідних тіазоліну та 4-тіазолідинону **1.28** та **1.29** відповідно (Рис. 1.10).

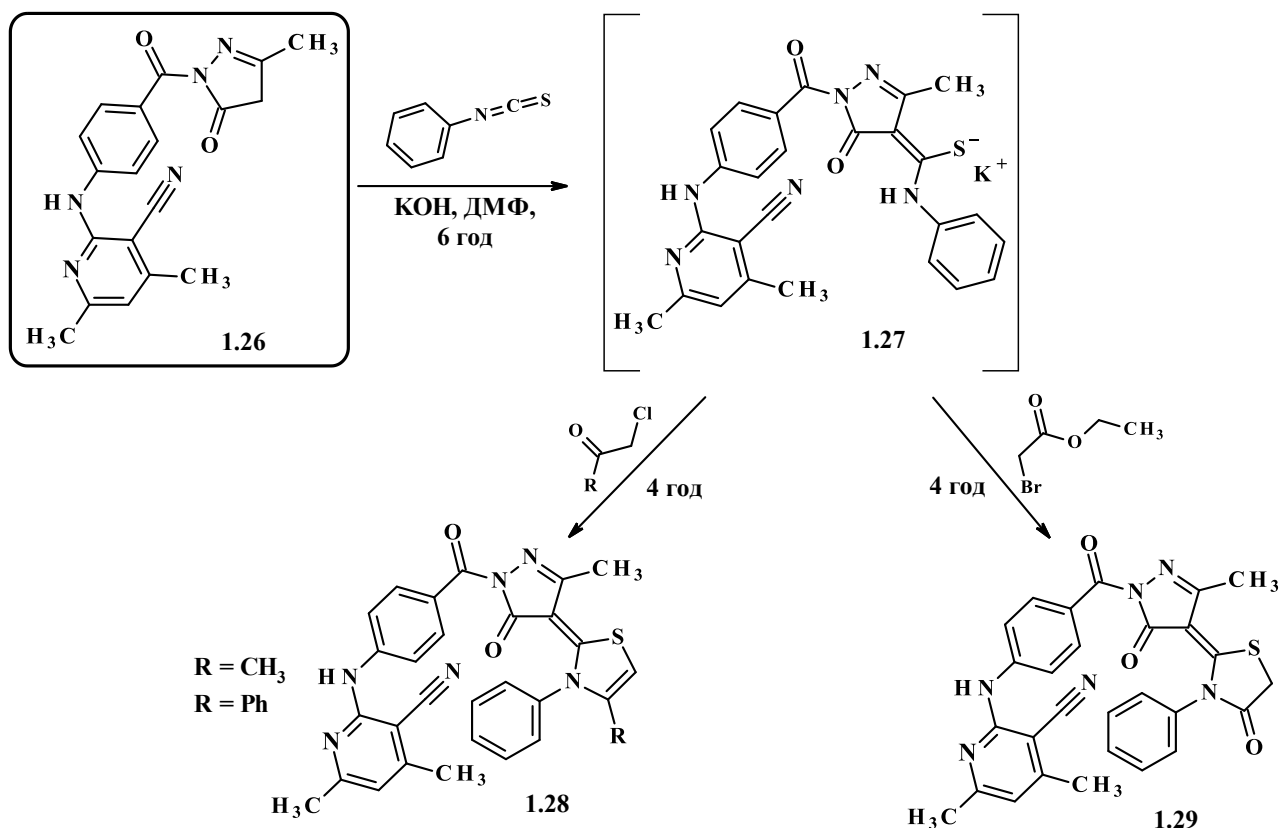


Рис. 1.10. Похідні піразолону-5 у синтезі похідних тiazоліну/тiazолідин-4-ону.

Кханна зі співавторами [15] взаємодією 4-аміноантипірину **1.30** з 1-[6-(2-оксо-2*H*-хромен-4-ілокси)гексил]-5-флуоро-1*H*-індол-2,3-діоном одержали альдімін **1.31**, який у реакції з тiогліколевою кислотою приводить до спіропохідного **1.32** (Рис. 1.11).

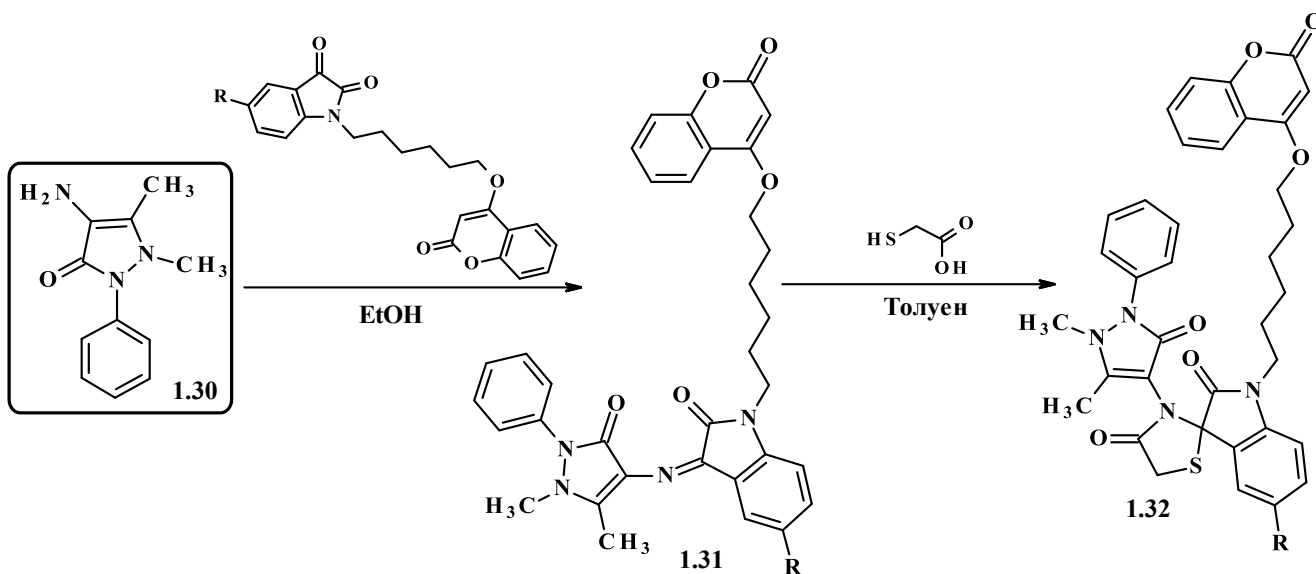


Рис. 1.11. Синтез спіро[3*H*-індол-3,2'-тіазолідин]-2,4'-діону **1.32**.

### 1.1.2. Похідні тiazолідинів як “структурні блоки” для формування 1,2-діазольного ядра

Останні роки великий інтерес привертають до себе реакції, які пов’язані з безпосередньою гетероциклізацією піразольного ядра на основі функціоналізованих тiazол/тiazолідин вмісних реагентів. Так, піроло[2,1-*b*]тiazоли можна розглядати як синтетичні попередники для формування 1,2-діазольного ядра, що висвітлено у праці Alves та співавторів [16]. Похідне тiazолідин-4-карбонової кислоти **1.33** було трансформовано у відповідний 6-діазо- $\gamma$ -лактам (тетрагідропірол[2,1-*b*]тiazол-5-он) **1.34**, який у якості електронодефіцитного диполярфілу вступає в реакцію 1,3-диполярного циклоприєднання з *N*-заміщеними малеїнімідами з утворенням відповідних спіро[піроло[2,1-*b*]тiazол-6,1'-піроло[3,4-*c*]піразоли] **1.35**, а з диметил ацетилендикарбоксилатом/метил пропіолатом – 6-спіропіразол- $\gamma$ -лактами **1.36**. 6-Спіропіразол- $\gamma$ -лактами **1.36** перетворені у відповідні карбонові кислоти **1.37**, шляхом зняття захисту з карбоксильної групи бензгідрилового фрагменту (Рис. 1.12).

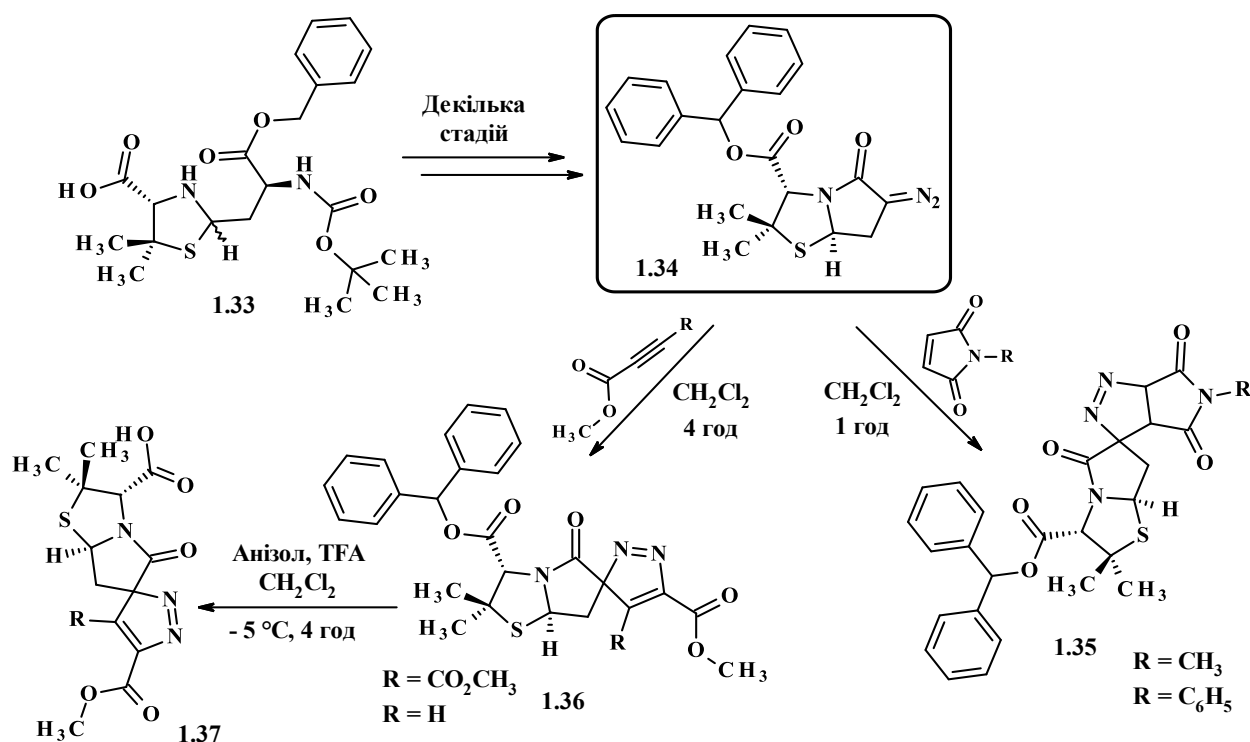


Рис. 1.12. Синтез 6-спіропіразол- $\gamma$ -лактамів на основі тiazолідин-4-карбонової КИСЛОТИ.

Розвиваючи тему формування піразолінового ядра на основі тiazолідинвмісних лактамів Alves зі співавторами [17] вивчили реакції 1,3-диполярного циклопрієднання 6-діазопеніциланату **1.38** з відповідними пропіолатами, що дозволило одержати спіро-1-піразолін- $\beta$ -лактами **1.39**. Перетворення  $\beta$ -лактамів **1.39** у відповідні карбонові кислоти **1.40** проводили аналогічно як у випадку 6-спіропіразол- $\gamma$ -лактамів **1.37** (Рис. 1.13).

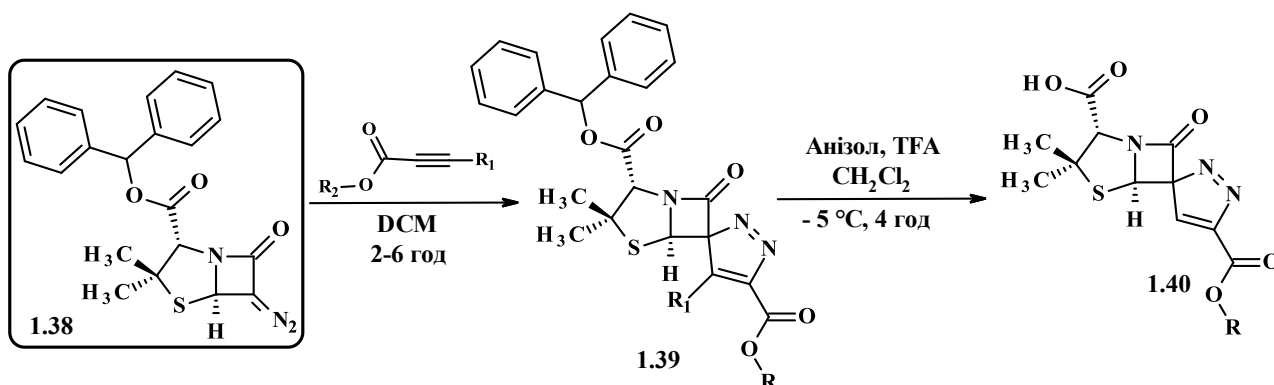


Рис. 1.13. Синтез спіро-1-піразолін- $\beta$ -лактамів на основі 6-діазопеніциланату.

### 1.1.3. Тіазолідини та їх похідні як активні реакційні центри для взаємодії з піразолінвмісними реагентами

Завдяки наявності реакційних центрів, які можуть бути активовані органокалізаторами, піразолони користуються популярністю в органічному синтезі як потужні бінуклеофільні реагенти. Цю тезу підтвердили у своїй праці Ji зі співавторами [18], які на основі роданінових кетоестрів **1.41** провели реакцію [3+3]-анелювання з відповідними 1,3-дизаміщеними похідними піразолону-5 з утворенням спіро-роданін-піранів з піразольним фрагментом у структурі **1.42** (Рис. 1.14). Автори звернули увагу на стереоселективність проходження реакції, через електроніакцепторні та електронідонорні властивості субституентів у положенні 3 піразольного ядра ( $Ar_1$ ). На відміну від піразолонів, в яких замісники володіють електронідонорними властивостями, піразолонам з електроніакцепторними субституентами необхідно було збільшити час проходження реакції до 6 днів через слабку переароматизацію. У свою чергу зниження діастереоселективності та енантіоселективності було характерне для піразолонів, що у положенні 3 містять

*орто*-замісники через стеричний вплив. Також автори використали здатність роданіну до окиснювального десульфування з наступним перетворенням у відповідні етил (4*S*,6*S*)-6-ацетокси-2',4'-діоксо-3'-фенілспіро[1,5-дигідропірано[2,3-*c*]піразоле-4,5'-тіазолідин]-6-карбоксилати **1.43** задля диверсифікації синтезованої хімічної бібліотеки (Рис. 1.14).

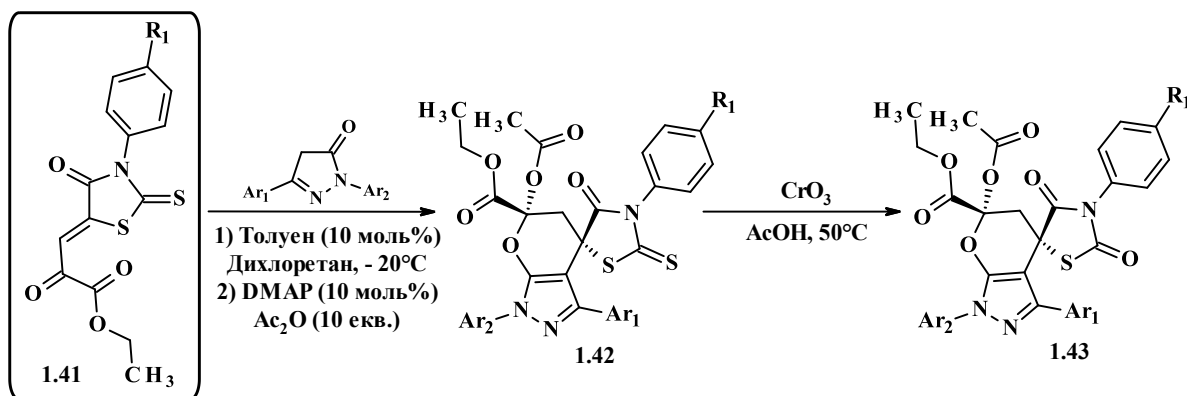


Рис. 1.14. Синтез спіротіазолідинпіранів з піразольним фрагментом.

Праця Masumoto та співавторів [19] розкриває синтетичний потенціал 4-піразолілзаміщених тіазолідинів. Так, було досліджено реакцію утворення С-С зв'язку між 2,4-тіазолідиндіоном **1.44** з метиленактивним піразолоном, що дозволило утворити піразол-4-іліденопохідне **1.45**, яке у свою чергу є ефективним реагентом для гетероциклізації у спіропохідне **1.46** (Рис. 1.15).

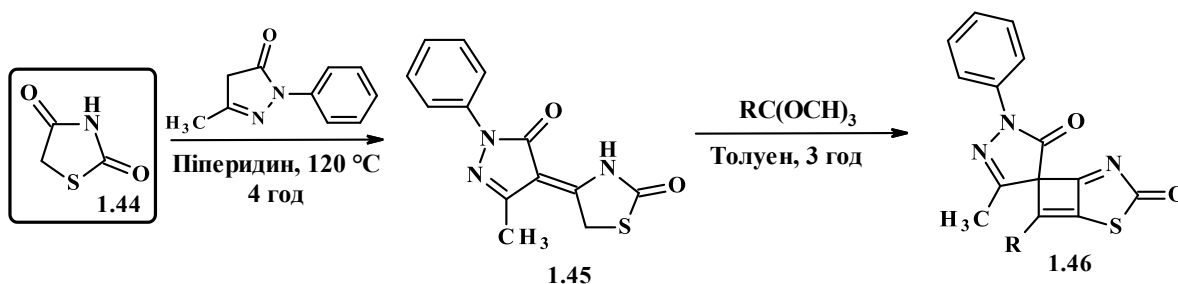


Рис. 1.15. Синтез та перетворення 4-піразолілтіазолідінону **1.45**.

Здатність до гетероциклізації та утворення спіросистем у положенні 4 піразольного ядра є важливим підтвердженням реакційної багатовекторності похідних піразолону-5, що описано в роботі Awasthi та співавторів [20]. На основі 4-ариліденпіразолону **1.47** в умовах трикомпонентної реакції з *L*-проліном та

тіазолідин-2-карбоною кислотою було одержано спіропіразолони з піроло[2,1-*b*]тіазольним **1.48** та піроло[1,2-*c*]тіазольним фрагментами **1.49** (Рис. 1.16).

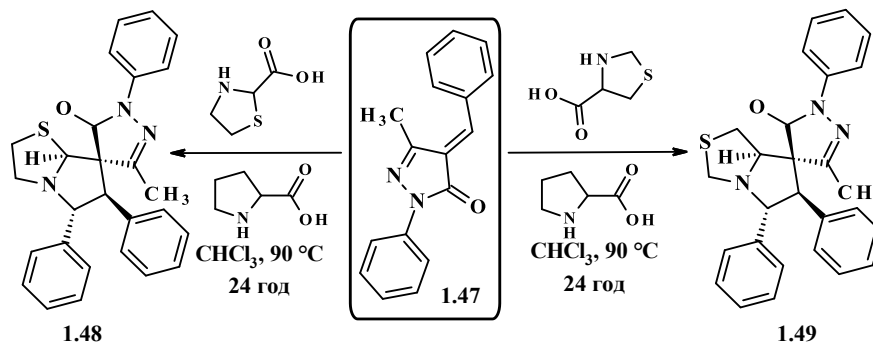


Рис. 1.16. Синтез піроло[2,1-*b*]/[1,2-*c*]тіазолів на основі піразолону-5.

Автори повідомляють, що в даній тандемній реакції  $\alpha$ -амінокислоти спершу опосередковують розщеплення подвійних зв'язків C=C в ненасиченій системі піразолонів, що в свою чергу призводить до *in situ* утворення азометинових ілідів, які згодом вступають в реакцію [3+2]-циклоконденсації з іншою молекулою алкіліденпіразолону з утворенням відповідних азо-спіроциклічних піразолонів **1.48** та **1.49**.

У свою чергу піразолін-тіазолідиони є ефективними реагентами для отримання тіопірано[2,3-*d*]тіазолів шляхом реакції *гетеро*-Дільса-Альдера, що наведено у роботі Metwally та співавторів [21]. У якості стартового реагенту було обрано відповідний 5-гетериліден-4-тіоксо-2-тіазолідион **1.30**, який одержали шляхом реакції Кньюенагеля 3-заміщеного ізороданіну **1.29** та піразолінвмісного альдегіду. Сполука **1.30** як активний піразолінвмісний дієн дозволила одержати ряд тіопірано[2,3-*d*]тіазолів **1.31-1.33** з такими дієнофілами як акрилонітрил, етилакрилат, N-арилмалеїнімідами та 1,4-нафтохіноном (Рис. 1.17).

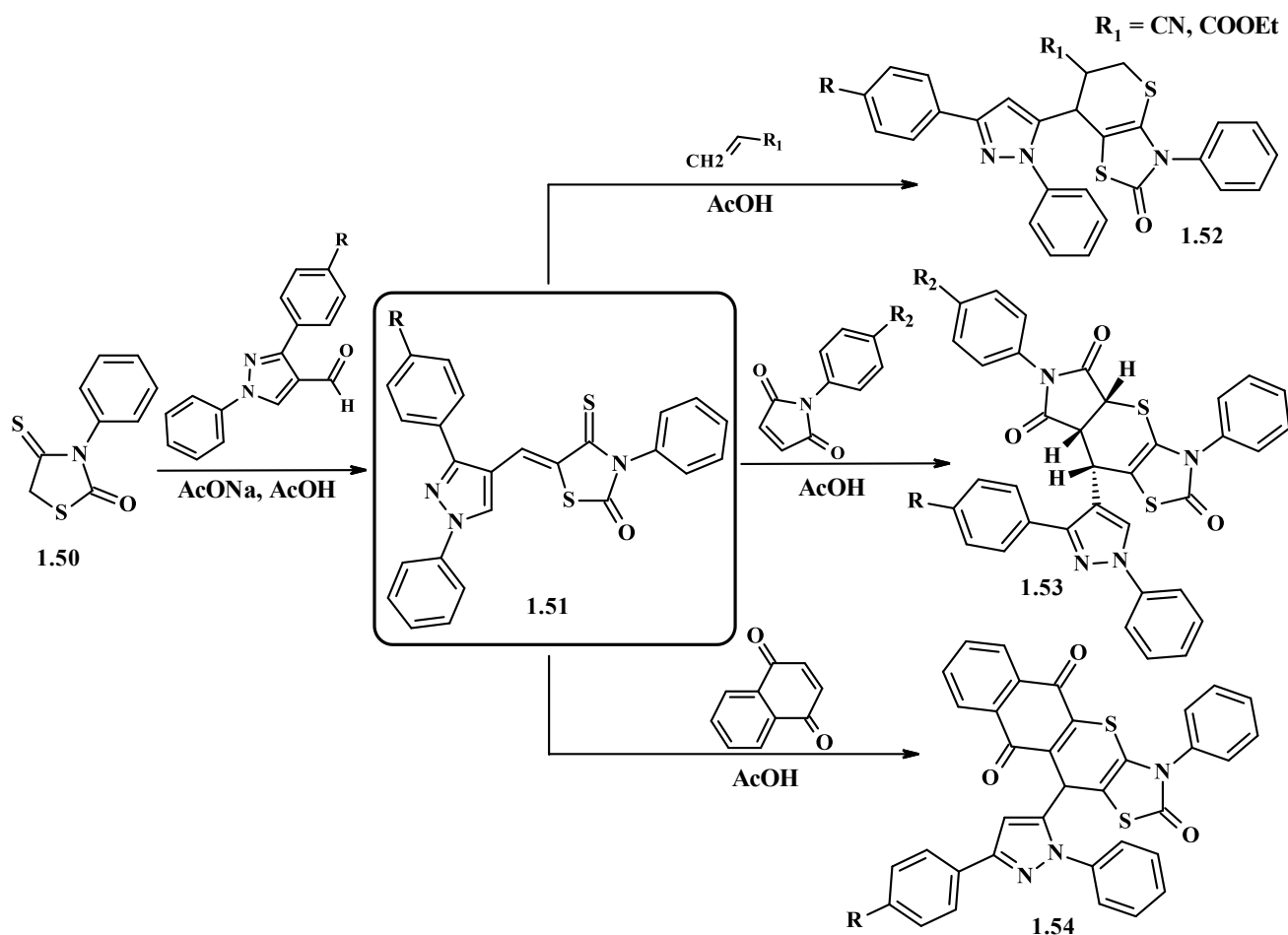


Рис. 1.17. Синтез тіопірано[2,3-*d*]тіазолів на основі піразолінвмісних дієнів.

## 1.2. Методи синтезу конденсованих біциклічних піразолотіазолів

### 1.2.1. Синтез піразоло[3,4-*d*]тіазолів на основі функціоналізованих похідних піразолінів та тіазолів

На сьогоднішній час є описані лише два синтетичні шляхи до гетероциклізації конденсованих піразоло[3,4-*d*]тіазолів, а саме використання функціоналізованих піразолів для взаємодії з різними сірковмісними реагентами (пентасульфід фосфору [23], сіль Апеля (4,5-дихлоро-1,2,3-дитіазолію хлорид [23]), тощо) та гідразиноліз 2-заміщених 5-арилідентіазолідинів [24].

Перша синтетична стратегія є описана в праці Коуїоні та співавторів [23], які шляхом термолізу (*Z*)-*N*-(4-хлоро-5*H*-1,2,3-дитіазол-5-іліден)-1,3-диметил-1*H*-піразол-5-аміну **1.55** одержали мінорний (2%) 5*H*-піразоло[3,4-*e*][1,2,4]дитіазин **1.56** та мажорний (77%) 1,3-диметил-1*H*-піразоло[3,4-*d*]-тіазол-5-карбонітрил **1.57a**.

Також вартує уваги те, що окремо ізольований продукт **1.56** під час термолізу у середовищі дифенілового етеру дозволяє одержати цільову молекулу **1.57b** з виходом близько 100 % (Рис. 1.18).

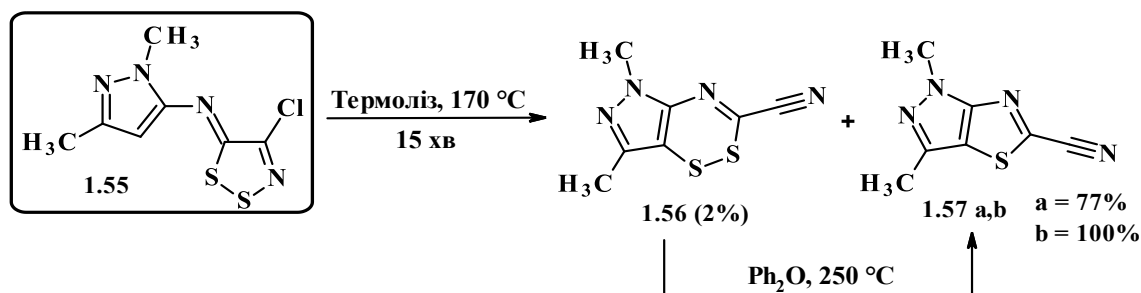


Рис. 1.18. Синтез піразоло[3,4-*d*]тіазолу шляхом реакцій термолізу.

Другий шлях гетероциклізації досліджуваної біциклічної системи є висвітлений у роботі Амтаг та співавторів [24], які при гідразінолізі 5-арилідентіазоліну **1.58** одержали піразоло[3,4-*d*]тіазол **1.59** (Рис. 1.19).

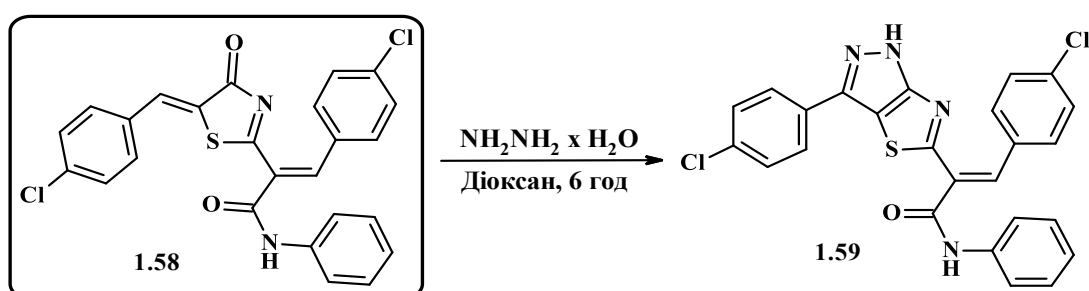


Рис. 1.19. Синтез біциклічного піразоло[3,4-*d*]тіазолу на основі гідразінолізу 5-арилідентіазоліну.

### 1.2.2. Методи синтезу та модифікації піразоло[5,1-*b*]тіазолів

Цікавою та важливою для практики органічного синтезу є праця Takahashi та співавторів [25], які завдяки вивченню процесів внутрішньомолекулярної циклізації функціоналізованого похідного 1,2-діазолу **1.60** одержали похідне піразоло[5,1-*b*]тіазолу **1.61**, яке при регіоселективному бромованні утворює структуру **1.62**, яка в умовах реакції Судзукі-Міяури з різними арилбороновими кислотами приводить до цільової конденсованої молекули **1.63** (Рис. 1.20).



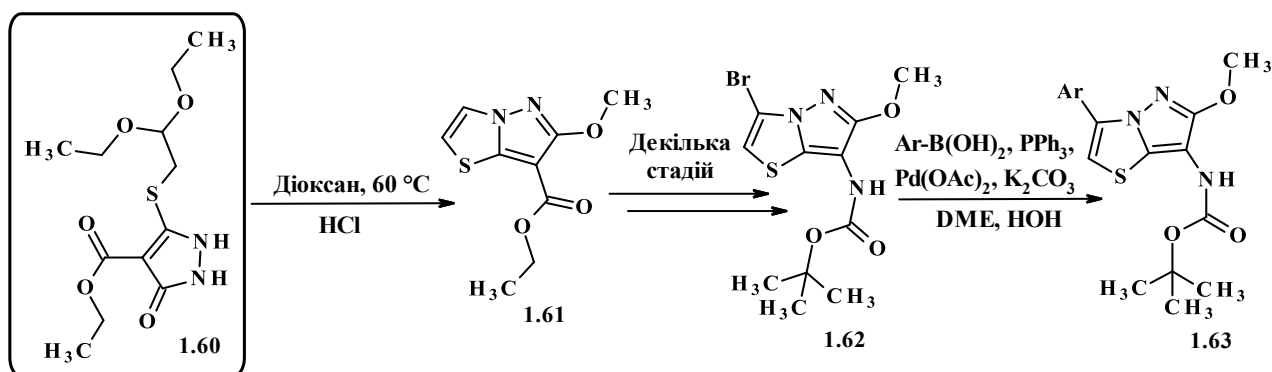


Рис. 1.20. Функціоналізований 1,2-діазол як прекурсор у синтезу похідних піразоло[5,1-*b*]тіазолу.

Подібні похідні піразоло[5,1-*b*]тіазолу **1.65** були одержані цією ж групою науковців [25] на основі 2-метилтіазолу **1.64**, який вводили в реакцію з *o*-(мезитилсульфоніл)гідроксиламіном. Наступні перетворення сполуки були аналогічні у випадку сполук **1.62** та **1.63** (Рис. 1.21).

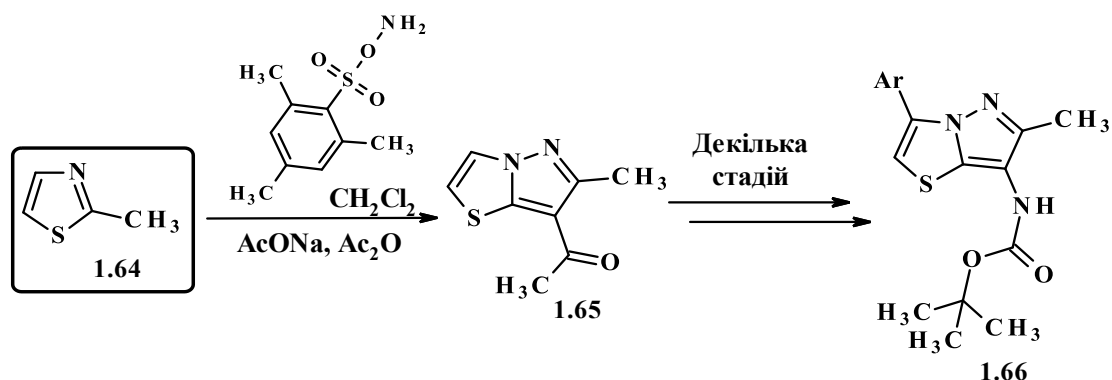


Рис. 1.21. Синтез похідних піразоло[5,1-*b*]тіазолу на основі 2-метилтіазолу.

У свою чергу Mohamed та співавтори [26] на основі 2-ціанометилбензотіазолу **1.67** одержали 2-амінопіразоло[5,1-*b*]бензотіазол **1.68**. Дослідники вважають, що основою даного перетворення є одержання проміжного 2-(бензо[*d*]тіазол-2-іл)-*N*'-(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)ацетогідразонаміду, який у вигляді аміноформи елімінує 3-метил-1*H*-піразол-5-амін, що приводить до утворення цільової молекули **1.68** (Рис. 1.22).

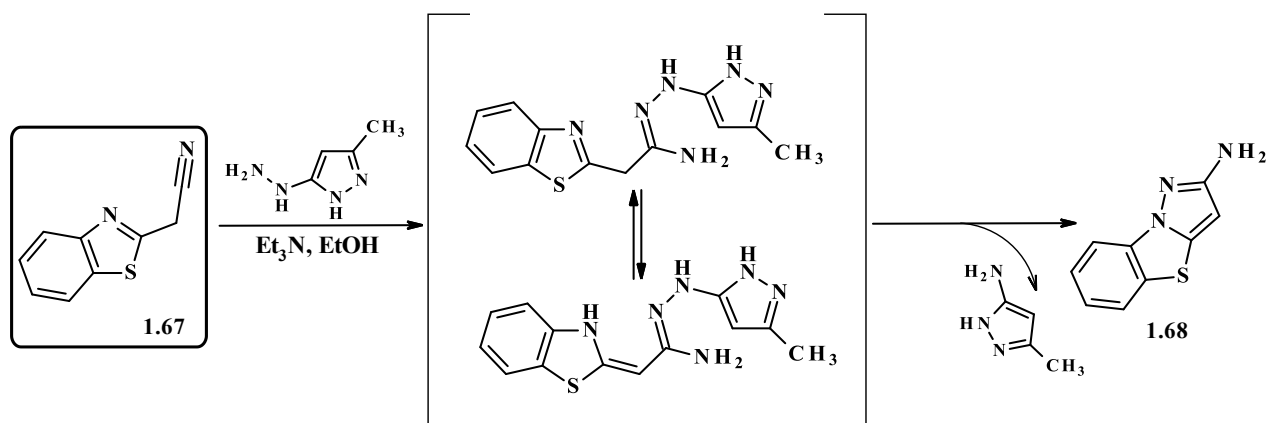


Рис. 1.22. 2-Ціанометилбензотіазол у синтезі 2-амінопіразоло[5,1-*b*]бензотіазолу.

### 1.3. Біологічна активність поліфункціональних похідних тіазолідину з піразоліновим фрагментом у молекулах

Сучасні літературні дані свідчать про фармакологічну багатовекторність тіазолідинів з піразоліновим фрагментом, що у свою чергу дозволяє віднести дані гетероцикли до «привілейованих структур». З іншої сторони завдяки сучасним методам досліджень біологічної активності (молекулярне моделювання і докінг, віртуальний та біологічний скринінг), піразолін-тіазолідинони розглядають як певні структурні блоки для дизайну потенційних лікарських засобів. Останні тенденції, які реалізують різноманітні наукові групи, вказують на те, що одними з найпопулярніших фармакологічних профілів зазначених гетероциклічних систем є: протипухлинна [28-30,32,33,35,36], протидіабетична [39-42], протимікробна [44-48,51], протигрибкова [45,48] та протизапальна дії [55,57,59].

#### 1.3.1. Похідні піразолін-тіазолідинонів як потенційні протипухлинні лікарські засоби

Рецептор епідермального фактору росту (EGF) – білок, який належить до тирозинкіназ, що сильно експресується або мутує в кількох видах раку, таких як карцинома легень, мієлоїдний лейкоз та рак молочної залози [27]. Різномановіть реалізації механізмів протиракової активності дозволяє віднести похідні тіазолідинону з піразоліновим фрагментом до перспективних об'єктів та кандидатів

у лікарські засоби. Для оцінки ефективності 2-піразолілзаміщених тiazолідинонів як потужних інгібіторів HER2 та EGFR Arunachalam та співавтори [28] дослідили їх цитотоксичну дію *in vitro* щодо лінії клітин MCF-7 (карциноми молочної залози людини). У даних структурах ключовий вплив на активність виявляє модифікація положення 3 тiazолідинонового ядра. Так, похідне **1.69** з *m*-фторофенільним фрагментом проявило найкращу цитотоксичну активність у концентрації 1,71 мкМ. Науковці дослідили, що введення інших електроноакцепторних чи електронодонорних груп суттєво знижує цитотоксичну активність сполук (Рис. 1.23).

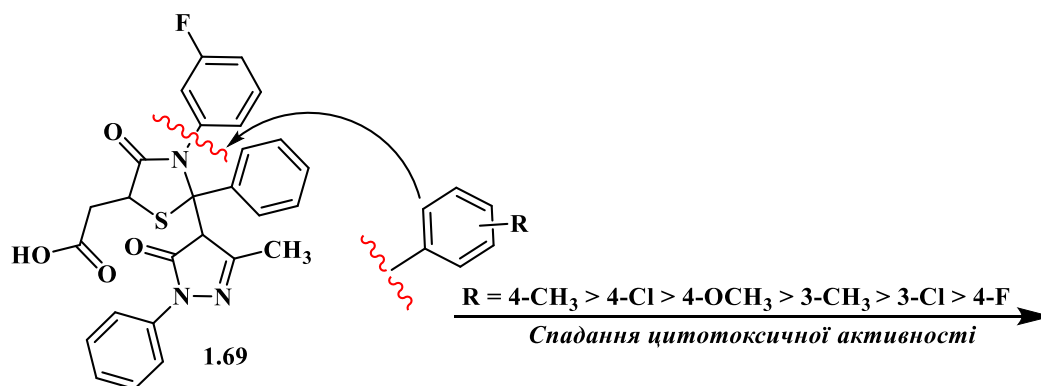


Рис. 1.23. Цитотоксична дія *in vitro* 2-піразолілзаміщених тiazолідинонів щодо лінії клітин MCF-7.

Різноманітну цитотоксичну дію проявив тiazолідин-піразолін-пуриновий кон'югат **1.70**, який досліджувався на п'яти лініях ракових клітин людини A549 (рак легені), Сасо-2 (рак товстої кишки), РС3 (рак простати), МСF-7 (карцинома молочної залози людини) і НерG-2 (карцинома печінки) [29]. Варто зауважити, що сполука **1.70** у всіх дослідках проявила кращу цитотоксичну дію (18.50 - 23.43 мкМ), ніж стандартний протипухлинний препарат 5-фторурацил, який використовували як стандарт. Крім того, введення метоксигрупи у *para*-положення фенільного ядра піразолінового циклу суттєво впливає на зниження активності. У випадку модифікації положення 4 базового гетероциклу (тiazолідину) активність також зменшується, проте є вищою ніж у 5-фторурацилу (Рис. 1.24).

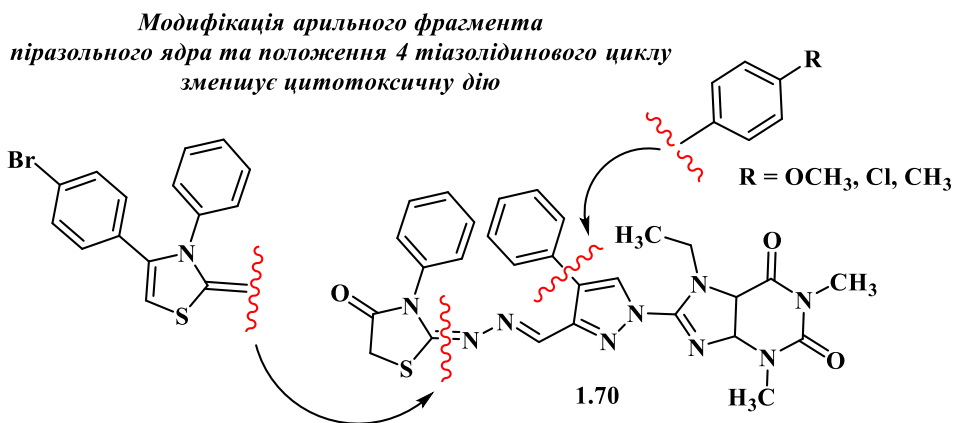


Рис. 1.24. Дизайн тіазолідин-піразолін-пуринових кон'югатів як потенційних протипухлинних агентів.

5-(4,5-Дигідропіразол-1-ілметил)-3-заміщений роданін **1.71** [30] характерний селективністю протиракового ефекту щодо клітинних ліній RPMI-8226 (лейкемія), SF-539 і SNB-75 (рак ЦНС), MDA-MB-435 (меланома), OVCAR-3 (рак яєчників), A498, RXF 393 і UO-31 (рак нирки). Слід зауважити, що досліджувана сполука також проявила суттєву протитрипаносомну дію (Рис. 1.25).

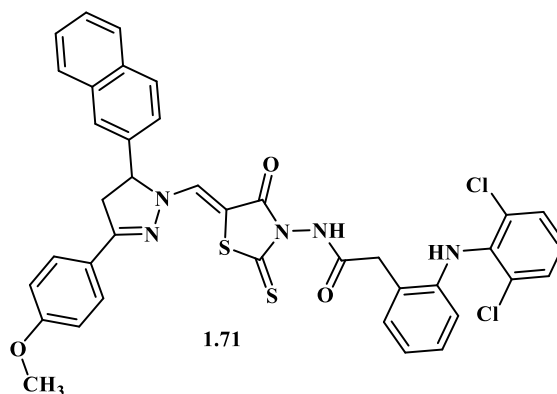


Рис. 1.25. Структура піразол-тіазолідинового протиракового та протитрипаносомного агента.

### 1.3.2. Піразолін-тіазольні гібридні молекули як ефективні протипухлинні агенти

На сьогоднішній день є актуальним питання гіперекспресії EGFR і HER2 (білків родини EGF) при онкології молочної залози, що пов'язано з резистентністю до хіміотерапії [31]. Fakhry та співавтори [32] дослідили подвійну інгібуючу дію 2-

піразолілітіазолу **1.72** відносно рецепторів EGFR і HER23. Похідне **1.72** індукувало апоптоз лінії MCF-7, окрім цього *in vivo* дослідження продемонструвало кращий показник інгібування пухлини (52,46%) порівняно з лапатинібом (50,53%) (Рис. 1.26).

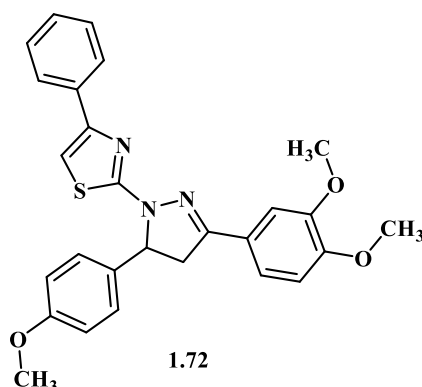


Рис. 1.26. Інгібітор EGFR та HER2 рецепторів.

Вивченням інгібуючого ефекту тіазолвмісних 1,2-діазолів щодо тирозинкіназ EGFR, VEGFR-2 і BRAFV<sup>600E</sup> описали у своїй праці Othman і співавтори [33]. Молекули **1.73** та **1.74** продемонстрували значну інгібуючу дію щодо ліній ракових клітин MCF-7 і HepG-2 (рак печінки) з показником IC<sub>50</sub> в діапазоні від 4,02–8,35 мкМ (доксорубіцин – 4,62 та 5,66 мкМ відповідно) та щодо тирозинкіназ EGFR, VEGFR-2 і BRAFV<sup>600E</sup>. Варто зауважити, що наявність тієно[3,2-*d*]тіазольного фрагменту **1.74** значно сприяє інгібуванню кінази BRAFV<sup>600E</sup>. Модифікація активної молекули **1.73** до похідного дигідротіазоло[3,2-*d*]тіазолу значно зменшує інгібуючу дію (Рис. 1.27).

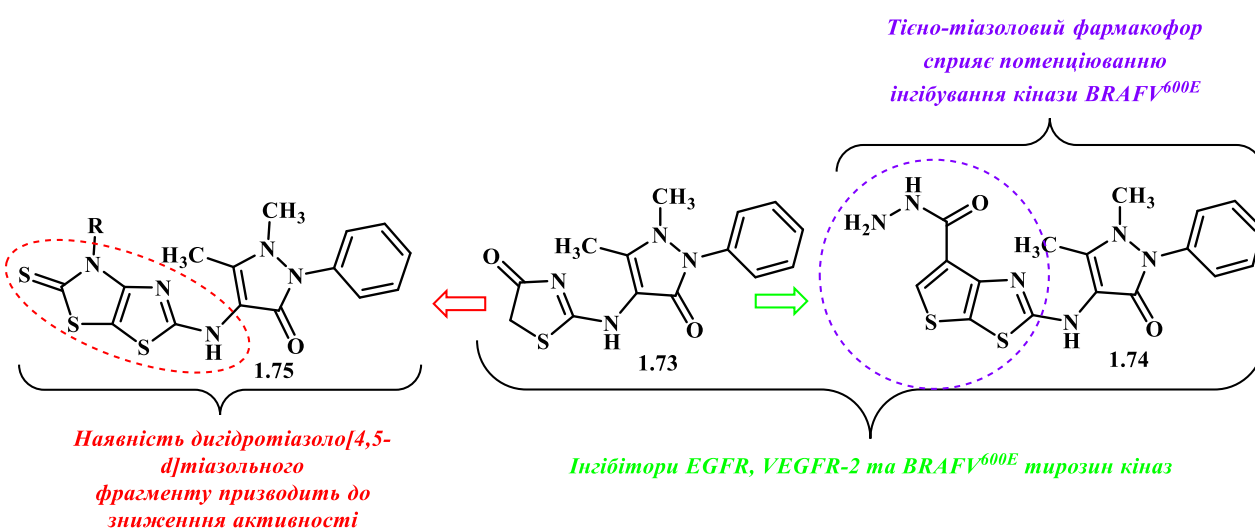


Рис. 1.27. Тіазолвмісні 1,2-діазоли як інгібіторів тирозинкіназ EGFR, VEGFR-2 і BRAFV<sup>600E</sup>.

Карбоангідази (CA) - ферменти, які відіграють важливу роль у транспорті вуглекислого газу та протонів у внутрішньоклітинному/позаклітинному просторі через біологічні мембрани. Ізоферменти, асоційовані з пухлиною CAIX і CA XII, експресуються в широкому спектрі злякисних новоутворень і жорстко регулюються гіпоксією мікросередовища. Експресія CAIX може бути маркером агресивного злякисного фенотипу та механізму прогресування ряду пухлин. Інгібітори CA можуть пригнічувати ріст та інвазію пухлини [34]. На основі високих показників інгібуючої дії щодо ліній ракових клітин MCF-7 і HepG-2 Metwally та співавтори [35] описали властивість піразолвмісних тіопірано[2,3-*d*]тіазолів **1.76**, **1.77** селективно інгібувати CAIX ( $IC_{50} = 0,067 \pm 0,003$  мкМ) та CA XII ( $IC_{50} = 0,059 \pm 0,003$  мкМ). Також молекула **1.77** індукувала апоптоз клітин HepG-2 (рак печінки) на ранній стадії, тоді як сполука **1.76** індукувала апоптоз на пізній стадії (Рис. 1.28).

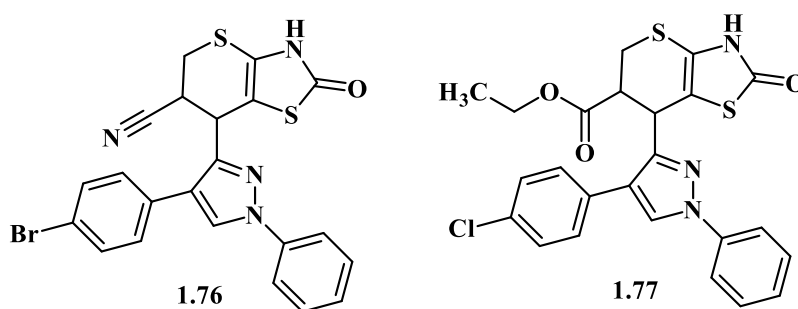


Рис. 1.28. Піразолвмісні тіопірано[2,3-*d*]тіазоли як інгібітори карбоангідази.

Tugrak та співавтори у своїй праці [36] описали високу інгібуючу активність карбоангідази II (hCAII) *in vitro* для піразоліл-бензо[*d*]тіазолу **1.78** ( $K_i = 22,66 \pm 1,41$  мкМ). Досліджувана молекула проявила кращу цитотоксичну активність ніж 5-фторурацил щодо ліній клітин плоскоклітинного раку порожнини рота людини (Ca9-22, HSC-2) (Рис. 1.29).

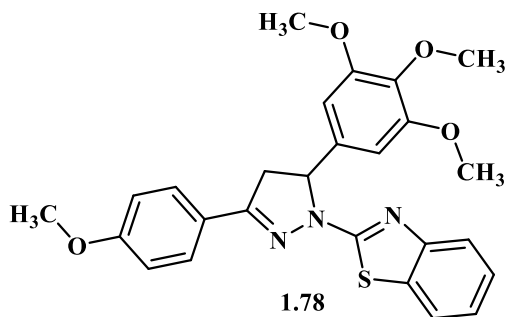


Рис. 1.29. Інгібітор карбоангідрази II (hCAII).

### 1.3.3. Потенційні протидіабетичні засоби серед піразолін-тіазолідинів

PPAR $\gamma$  рецептори регулюють експресію гена, включеного в метаболізм ліпідів і глюкози [37]. PPAR $\gamma$  бере участь у регуляції імунної та протизапальної відповіді шляхом модуляції активації макрофагів і репресії прозапальних генів, таких як iNOS і циклооксигеназа (COX), що призводить до інгібування експресії цитокінів і ядерного фактора каппа-В (NF $\kappa$ B), який, як було встановлено, відіграє вирішальну роль у розвитку мікросудинних діабетичних ускладнень, включаючи нефропатію, головну причину ниркової недостатності, спричиненої діабетом [38].

Abdellatif та співавтори [39] описали потенційні PPAR $\gamma$  агоністи на основі 5-гетериліденпохідних тіазолідиндіону **1.79** та піразол-4-іл метиленгідразонотіазолідин-4-ону **1.80**, які продемонстрували вищу інгібуючу активність щодо  $\alpha$ - і  $\beta$ -глюкозидази (% інгібуючої активності = 62,15, 55,30, 65,37, 59,08 для  $\alpha$ -глюкозидази та 57,42, 60,07, 566,19, для  $\beta$ -глюкозидази відповідно), ніж контрольні сполуки (акарбоза 49,50 % для  $\alpha$ -глюкозидази та моногідрат 1,4-лактону D-сахарної кислоти 53,42 % для  $\beta$ -глюкозидази). Сполуки показали достатній гіпоглікемічний ефект порівняно з піоглітазоном та розиглітазоном. Також слід зауважити, що модифікація положення 3 піразольного ядра у сполуках **1.79** та **1.80** прямопропорційно впливає на потенціювання інгібування  $\alpha$ - та  $\beta$ -глюкозидази (Рис. 1.30).

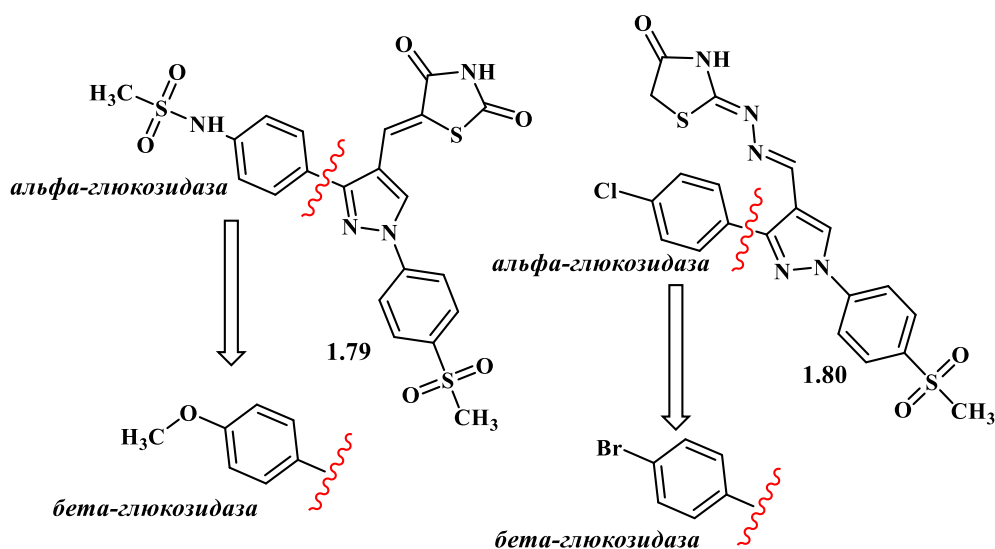


Рис. 1.30. Структури інгібіторів  $\alpha$ - та  $\beta$ -глюкозидаз як PPAR $\gamma$  агоністів.

У роботі Bratenko та співавторів [40] також чітко спостерігається кореляція між характером субституентів у положенні 1 та 3 піразольного ядра та гіпоглікемічної дії. Так, наявність у похідного **1.81** метильної групи у положенні 1 та карбоксильної групи у положенні 3 сприяло зниженню вмісту глюкози на 2,0 ммоль/л (30,4 %), тоді як піоглітазон знизив цей вміст лише на 1,35 ммоль/л (23,9 %). Також слід зауважити, що у випадку сполуки **1.81** є критичним наявність саме 2-оксо-4-тіоксотіазолідинової (ізороданінової) матриці для реалізації гіпоглікемічної дії, адже аналоги з 2-імінотіазолідин-4-оновим, 2,4-тіазолідиндіоновим та 4-оксо-2-тіоксотіазолідиним (роданіновим) фрагментом призводять до зниження активності (Рис. 1.31).

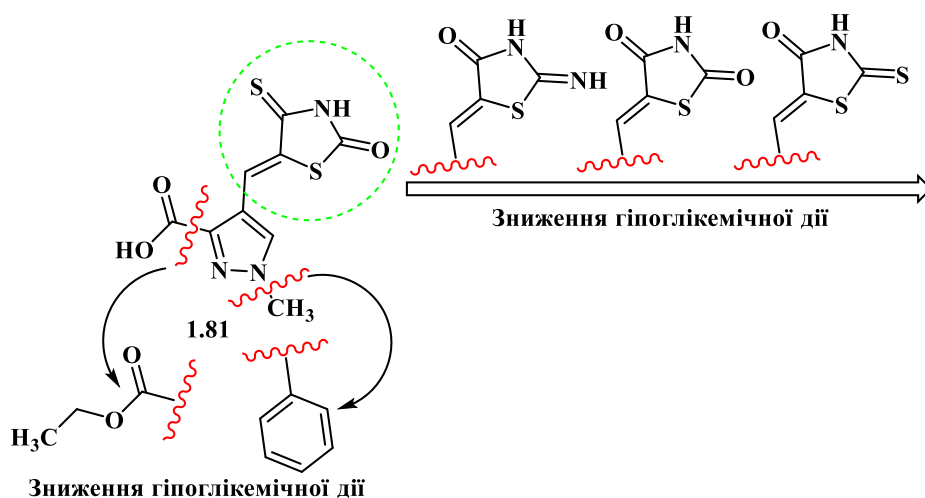


Рис. 1.31. Дизайн потенційних гіпоглікемічних агентів.



Подвійне інгібування конденсованим піразоло[3,4-*d*]тіазолом **1.82**  $\alpha$ -амілази та  $\alpha$ -глюкозидази описано у роботі Flefel та співавторів [41]. Молекула **1.82** в порівнянні з протидіабетичним засобом акарбозою показала вищий терапевтичний ефект у різних концентраціях (7,81, 15,63, 31,25, 62,5, 125, 250, 500 і 1000 мкг/мл) (Рис. 1.32).

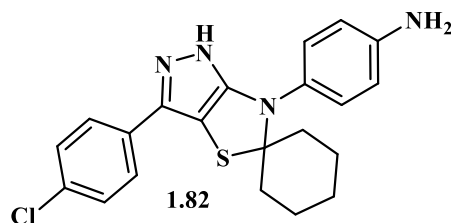


Рис. 1.32. Структура подвійного інгібітора  $\alpha$ -амілази та  $\alpha$ -глюкозидази.

Kumar та співавтори [42] ідентифікували серед 5-гетериліден-2-фенілімінотіазолідин-4-онів **1.83** молекули, які в залежності від субституента в положенні 4 піразольного ядра потенціюють інгібування  $\alpha$ -амілази та  $\alpha$ -глюкозидази (Рис. 1.33).

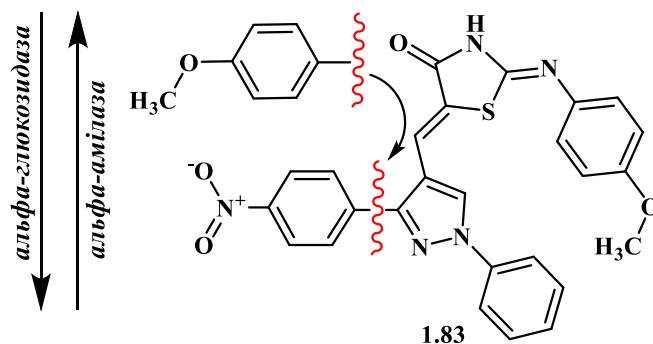


Рис. 1.33. Структура подвійного інгібітора  $\alpha$ -амілази та  $\alpha$ -глюкозидази.

#### 1.3.4. Протимікробна та протигрибкова активність тіазолідинонів/тіазолів з 1,2-діазольним фрагментом

Антибіотикорезистентність становить серйозну загрозу для глобальної охорони здоров'я, тому існує нагальна потреба в розробці нових лікарських засобів і заходів для лікування та запобігання інфекціям, які спричинені стійкими до антибіотиків бактеріями [43]. Системний аналіз літератури виявив, що поєднання біоактивних фармакофорів, а саме піразололін-тіазолідинів, в одну молекулу позитивно впливає на прояв протимікробної активності. Так, Idrees та співавтори [44] ідентифікували серед

піразол-тіазолідонів **1.84** сполуки з протомікробною активністю щодо грамнегативних штамів *E. coli*, *P. vulgaris* і *S. typhi* та грампозитивного бактеріального штаму *S. aureus*. Слід зазначити, що протимікробний ефект є прямопропорційним заміні субституента у положенні 2 тіазолідинового ядра (Рис. 1.34).

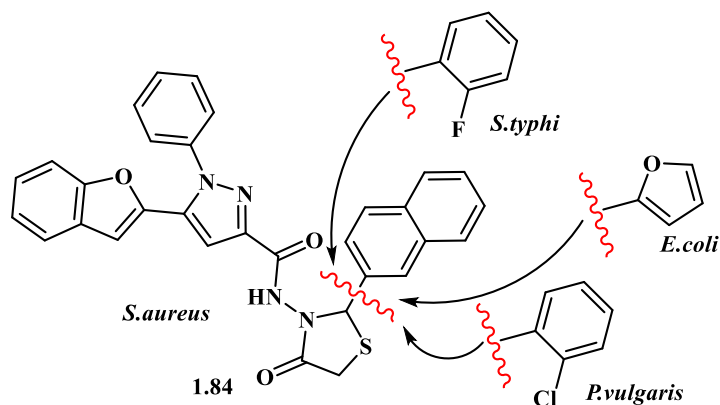


Рис. 1.34. Шляхи оптимізації структури для потенціювання протимікробної активності піразоліл-тіазолідонів на різні штами бактерій.

Модифікація положення 2 тіазолідинового ядра є критичною для прояву не тільки протимікробної, а й протигрибкової дії [45]. Так, на основі 4-((1*H*-бензо[*d*][1,2,3]тріазол-1-іл)метиламіно)-*N*-(5-ариліден-4-оксо-2-фенілтіазолідин-3-іл)бензамідів **1.85** були одержані піразоло[3,4-*d*]тіазоли **1.86**, які в залежності від арильного замісника проявили широкий спектр ефекту щодо штамів бактерій *B. subtilis*, *E. coli*, *K. promioe*, *S. aureus* та грибків роду *A. niger*, *R. nigricum*, *B. thiobromine* (Рис. 1.35). Дане дослідження та робота Idrees і співавторів [44] дозволяє стверджувати, що наявність 1,2-діазольного та тіазолідинового гетероциклів у кондесованому та/або у некондесованому вигляді є одним з ключових факторів прояву сполукою протимікробної активності.

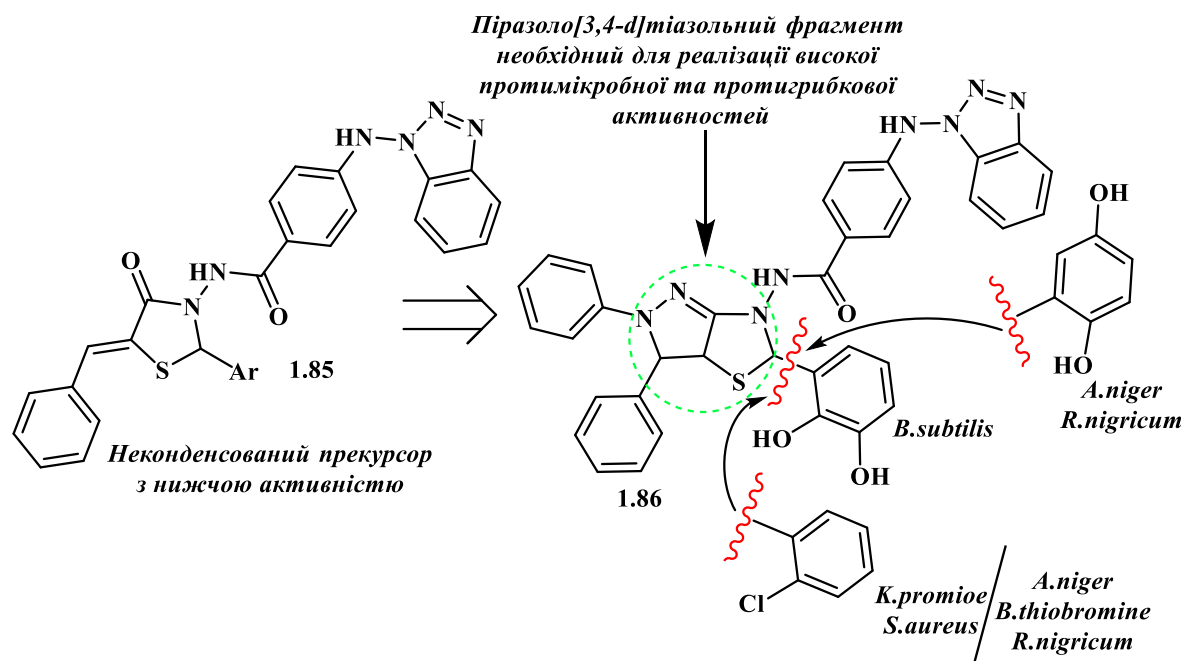


Рис. 1.35. Дизайн протимікробних/протигрибкових агентів на основі піразоло[3,4-*d*]тіазолів.

Високу протимікробну активність щодо штамів *P.aeruginosa* та *Methicillin-resistant S. aureus (MRSA)* ідентифіковано для ряду 1,3,4-тіадіазол-1*H*-піразол-4-ілтiazолідин-4-онів **1.87** [46]. Ключовим аспектом у її реалізації щодо *P.aeruginosa* (МВС = 156.3  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ) є наявність *para*-нітрофенільного фрагменту у положенні 4 піразольного ядра, у той час як нітрогрупа в *meta*-положенні також продемонструвала вдвічі більшу активність (МВС = 312,5  $\text{мкг}/\text{см}^3$ ) ніж ципрофлоксацин (МВС = 625  $\text{мкг}/\text{см}^3$ ) щодо *MRSA* (Рис. 1.36).

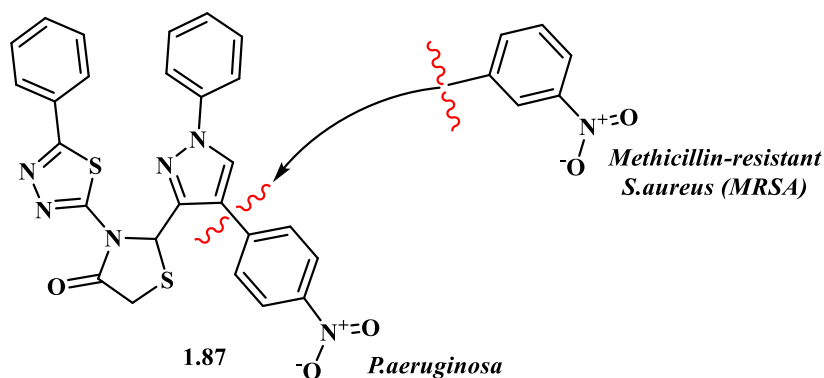


Рис. 1.36. Структури активних агентів щодо *P.aeruginosa* та *MRSA*.

Синтез 1,2-діазольних систем з тiazольним фрагментом зустрічається в доступній літературі як один з найпопулярніших шляхів пошуку нових антибактерійних агентів, підтвердженням цього є виведений на фармацевтичний ринок лікарський засіб Цефоселіс, ін'єкційний антибіотик з групи цефалоспоринів четвертого покоління з антимікробною дією щодо *MRSA* [47] (Рис. 1.37).

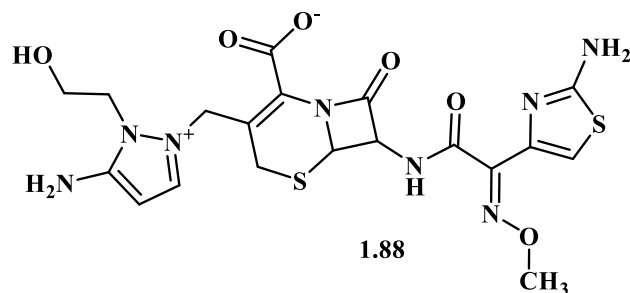


Рис. 1.37. Структура Цефоселісу.

Mor and Khatri у своїй праці [48] описали антимікробну активність тiazол-2-іліндено[1,2-*c*]піразолу **1.89** щодо двох грампозитивних бактеріальних штамів (*B. subtilis* і *S. aureus*) та двох грамнегативних бактеріальних штамів (*E. coli* і *P. aeruginosa*). Автори акцентували увагу на тому, що молекула **1.89** проявила значно кращу активність по відношенню до двох штамів грибів (*C. albicans* та *A. niger*) при значенні МІК 0,0067 мкмоль/мл та 0,0270 мкмоль/мл у порівнянні з флуконазолом (МІК = 0.0408 мкмоль/мл) (Рис. 1.38).

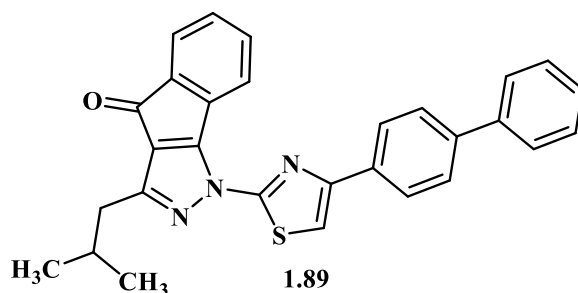


Рис. 1.38. Структура протибактерійного та протигрибкового тiazол-2-іліндено[1,2-*c*]піразолу.

Дигідрофолатредуктаза (DHFR) є важливим ферментом, який каталізує залежне від нікотинамід-аденін-динуклеотидфосфату (NADPH) відновлення тетрагідрофолату з дигідрофолату (7,8-ДГФ до 5,6,7,8-ТГФ) у мікробних та

еукаріотичних клітинах [49]. Пригнічення ферментів метаболізму фолієвої кислоти призводить до дисбалансу шляхів активного синтезу тимідилату, що у свою чергу порушує реплікацію ДНК та призводить до загибелі клітин бактерії [50]. Таким чином, DHFR є чудовим прикладом багатообіцяючої молекулярної мішені для пошуку нових високоактивних сполук. Саме такий напрямок пошуку нових інгібіторів DHFR описується у роботі Ibrahim та співавторів [51], де тестування похідного *bis*-1-(тіазол-2-іл)-1*H*-піразолу **1.90** продемонструвало більш виражену інгібуючу активність ( $IC_{50} = 3,81 \pm 0,16$ ) щодо DHFR, що в 2,1 рази вище ніж триметоприм ( $IC_{50} = 8,34 \pm 0,11$  мкМ). Критичним у реалізації інгібуючого ефекту є замісники у положенні 4 та 5 піразольного ядра. Загалом сполука **1.90** була найактивнішою щодо *S. aureus* і *MRSA* (Рис. 1.39).

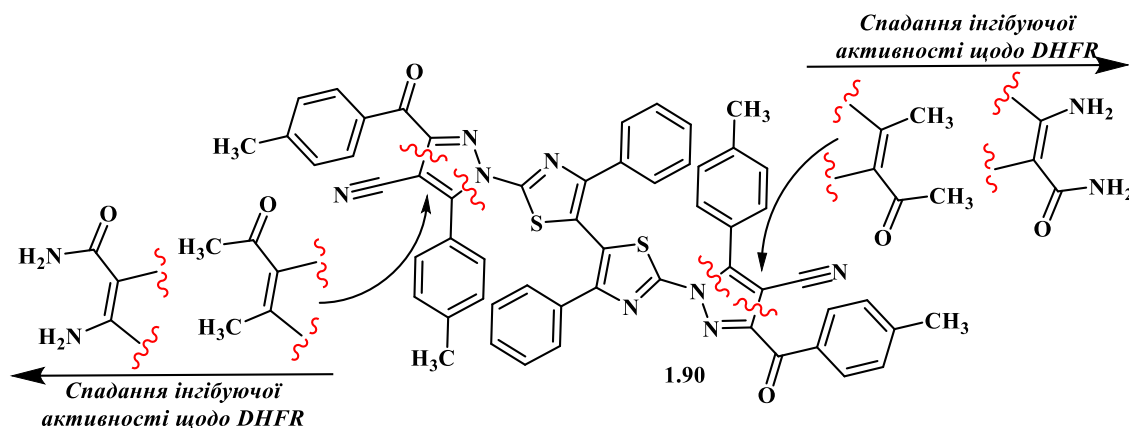


Рис. 1.39. Оптимізація активності інгібітора DHFR.

### 1.3.5. Протизапальна активність піразоло-тіазолідинів

Сучасні нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) представляють собою різноманітні класи хімічних сполук та є одними з найбільш часто вживаними лікарськими засобами у сучасній медицині [52]. Різні важливі медіатори запалення зазвичай вивільняються тканинами для регуляції запального процесу, а саме простагландин, тромбоксан, серотонін, гістамін, лейкотрієни, оксид азоту, фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкіни (IL), хемокіни, а також колонієстимулюючі фактори (CSF) [53]. Механізмом протизапальної дії НПЗП є зменшення запалення шляхом пригнічення процесу біотрансформації арахідонової кислоти до простагландинів (PG), простагландину (PGI<sub>2</sub>) і тромбоксану A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) за допомогою

ферментів циклооксигенази-1 та 2 (ЦОГ-1, ЦОГ-2) [54]. Tageldin та співавтори [55] описали дослідження інгібуючої активності ферменту ЦОГ-1 та ЦОГ-2 тiazолідинонвмісними піразоло[3,4-*d*]піримідинами **1.91** та **1.92**. Досліджувані похідні продемонстрували високу інгібуючу активність *in vitro* щодо ЦОГ-2 ( $IC_{50} = 0,56\text{--}0,37$  мкМ відповідно) з вищими індексами селективності ( $SI = 6,91$  та  $9,57$ , відповідно) ніж у диклофенаку натрію ( $SI = 6,12$ ) та целекоксибу ( $SI = 7,23$ ). Дослідження *in vivo* продемонструвало протизапальну активність молекул **1.91**, **1.92** ( $\% AI = 85,7$  та  $48,6$  відповідно), що перевершувала диклофенак натрію та целекоксиб ( $\% AI = 50,0$  та  $46,4$  відповідно) (Рис. 1.40).

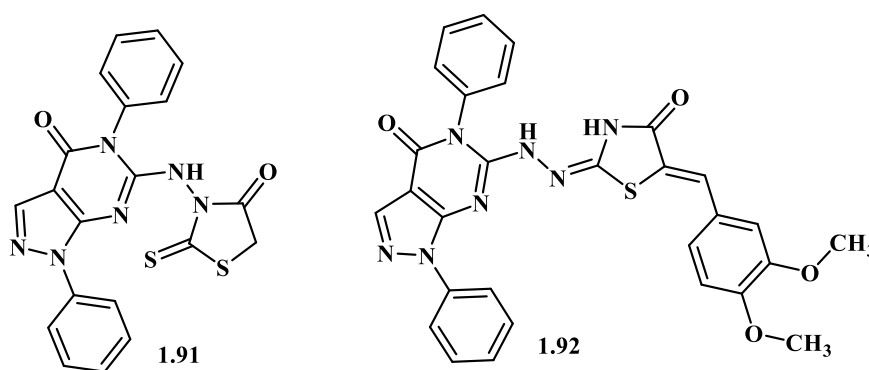


Рис. 1.40. Структури потенційних інгібіторів ЦОГ-2.

TNF- $\alpha$  (фактор некрозу пухлини) є потужним прозапальним цитокином, який проявляється у великій кількості під час початку запального процесу та відповідає за активацію запальних клітин та індукцію запального каскаду [56]. Abd El-Karim та співавтори присвятили свою роботу [57] пошуку нових високоактивних інгібіторів TNF- $\alpha$  на основі піразолгідразоно-тіазолідинонів **1.93**. З огляду на структуру досліджуваної молекули слід зазначити, що безпосереднім впливом на механізм та активність інгібування TNF- $\alpha$  є характер 5-ариліденового/гетериліденового фрагмента тіазолідинонового ядра, оскільки найефективнішою виявилось 2-гідроксибензиліден похідне **1.93** з інгібуючою активністю у 281.5 %, а використання решти арильних та гетерильних замісників зменшували інгібуючий потенціал молекул (Рис. 1.41).

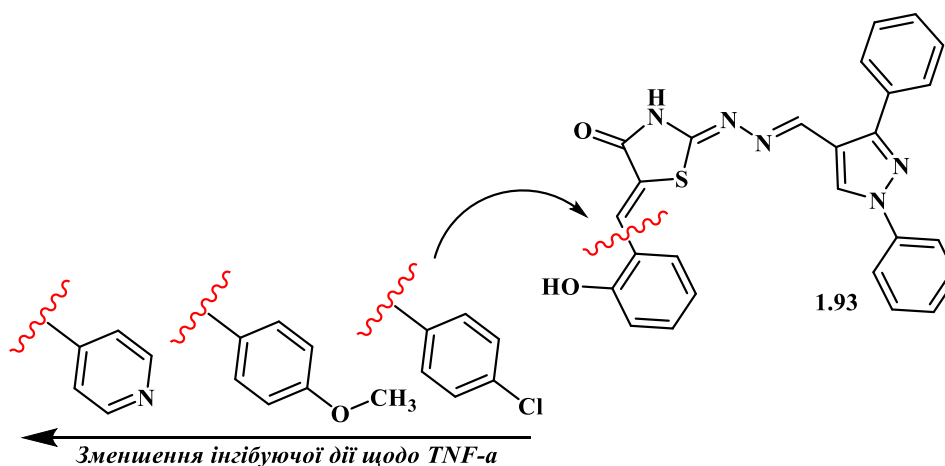


Рис. 1.41. Особливості дизайну потенційних інгібіторів TNF-α.

Однією з негативних особливостей застосування НПЗЗ є надмірний прояв багатьох небажаних побічних ефектів, особливо при тривалому застосуванні, до яких можна віднести шлунково-кишкову кровотечу, токсичність щодо серцево-судинної системи, нефротоксичність, тромбоцитоз та кровотечу, апластичну анемію, а також уповільнення процесу загоєння кісток [58]. У своєму дослідженні Holota та співавтори [59] акцентували увагу на дослідженні протизапального ефекту піразолін-тіазолідин-4-ону **1.94** на моделях набряку лапи щура, з наступним вивченням його токсикологічних параметрів. Молекула **1.94** є помірно токсичною при внутрішньоочеревинному введенні ( $LD_{50} = 510$  мг/кг), а вивчення побічних ефектів вказує на те, що піразолін-тіазолідиновий кон'югат не викликає негативних змін аналізу крові, функції печінкових ферментів і не виявляє ульцерогенної дії (Рис. 1.42).

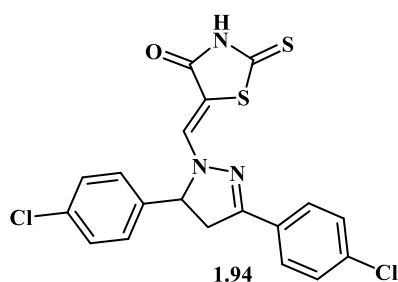


Рис. 1.42. Структура потенційного піразолін-тіазолідинового протизапального агента **1.94**.

## Висновки до розділу 1

1. Систематизовано літературні джерела та охарактеризовано основні шляхи хімічного синтезу і перетворень неконденсованих та конденсованих гетеросистем на основі піразолін-тіазолідинів.

2. Проаналізовано літературні дані щодо біологічних профілів піразолін-тіазолідинових гібридних молекул, базуючись на різноплановості їх механізмів дії, агонізму/антагонізму до різних класів біомішеней, що у свою чергу передбачає реалізацію протипухлинної, протидіабетичної, протимікробної, протигрибкової та протизапальної активностей.

3. Враховуючи поточну проблематику сучасної фармакології, фармацевтичної та медичної хімії та опираючись на перспективність піразолін-тіазолідинів як «привілейованих структур» встановлено, що синтез нових «лікоподібних» молекул на основі даних гетеросистем є доцільним та перспективним напрямком для пошуку нових потенційних кандидатів у лікарські засоби.



## РОЗДІЛ 2

### СИНТЕЗ ТА ХІМІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ НЕКОНДЕНСОВАНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ МОЛЕКУЛ НА ОСНОВІ ПІРАЗОЛІНВІСНИХ ТІАЗОЛІДИНІВ

Різноманіття методів синтезу та різноплановість біологічних активностей неконденсованих піразоліл-тіазолідинових гетероциклічних систем дозволяють сформулювати основні критерії до синтезу та хімічних модифікації нових молекул:

1. Використання функціоналізованих піразолінвісних реагентів для гетероциклізації тіазолідинового ядра.
2. Модифікація тіазолідинового циклу за положеннями 2, 3, 4 та 5 шляхом делокалізації 1,2-діазольного фрагменту.
3. Модифікація піразолін-тіазолідинових гібридних молекул шляхом перефункціоналізації молекули.
4. Застосування гібрид-фармакофорного підходу для синтезу потенційних біологічно активних молекул.
5. Оптимізація синтетичних процесів за методикою «cost-effective approach».

#### 2.1. Одержання нових 5-ен-2-піразолілзаміщених тіазолідинонів на основі реакції [2+3]-циклоконденсації

На основі охарактеризованих основних літературних джерел щодо хімічно-фармакологічного потенціалу 2-піразолілзаміщених тіазолідинонів та в контексті продовження наукової тематики кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького нами було запропоновано оптимізацію даного класу сполук шляхом зменшення кількості ароматичних систем в структурі для порівняльної характеристики біологічної активності зі збереженням хімічної геометрії піразоліл-тіазолідинонів. Модифікація полягала у заміні арильного субституенту на  $sp^3$ -гібридизований метильний у положенні 3 піразолінового ядра у вихідних для гетероциклізації карботіамідах (Рис. 2.1).

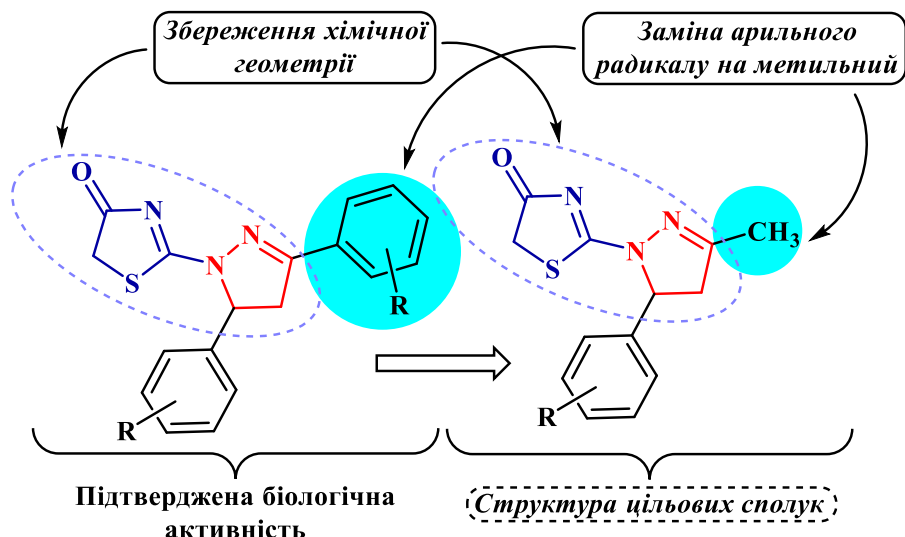


Рис. 2.1. Модифікація 2-піразолілтiazолідинів зі збереженням хімічної геометрії.

*S,N*-Бінуклеофільні властивості *N*-карботіоамідної групи 3-метил-5-фенілпіразолінів **2.3**, **2.4**, дозволяють їй вступати у реакції [2+3]-циклоконденсації з еквівалентами діелектрофільного синтону  $[C_2]^{2+}$  для синтезу відповідних 2-піразолілтiazол-4-онів [60]. Електрофільні характеристики карботіоамідної групи сприяють синтезу нових 4-тіазолідинонів з галогенокарбоновими кислотами в присутності сильних основ. У якості вихідних реагентів для синтезу цільових кон'югатів обрано 3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміди **2.3**, **2.4**, які одержані за відомою методикою з відповідних бензальацетонів **2.1**, **2.2** [7]. В умовах трикомпонентної реакції [2+3]-циклоконденсації зазначені 3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміди **2.3**, **2.4** вступають у реакцію з відповідними карбонільними сполуками та монохлорооцтовою кислотою в середовищі оцтової кислоти та присутності ацетату натрію як каталізатора з утворенням відповідних 5-заміщених 2-піразолілтiazол-4-онів **2.5** - **2.9** [61-63] (Рис 2.2).

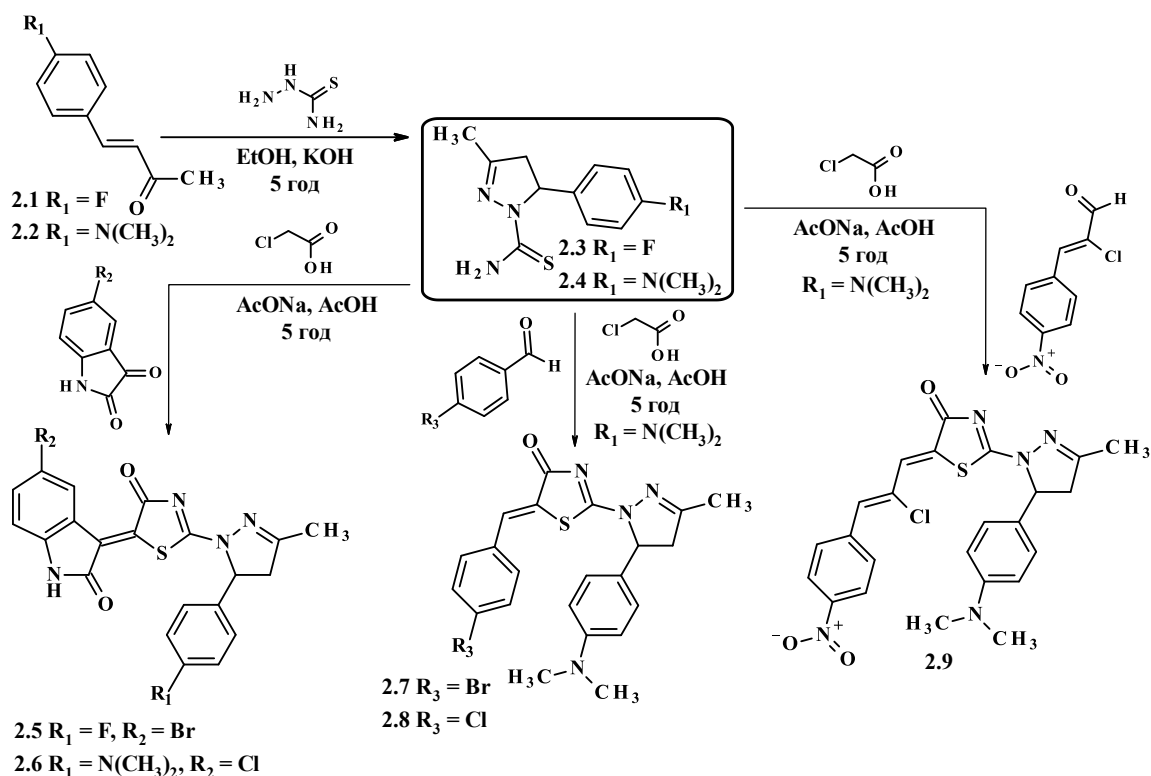


Рис. 2.2. Схема синтезу 5-ен-2-(3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл)-тіазол-4-онів одnoreакторною трикомпонентною реакцією.

Отримані сполуки **2.5**, **2.6** – порошки червоного кольору, похідні **2.7-2.9** коричневі кристалічні порошки нерозчинні у воді, етанолі, діетиловому етері, оцтовій кислоті, розчинні в ДМФА. Дані елементного аналізу та фізико-хімічні властивості синтезованих сполук **2.5-2.9** наведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Фізико-хімічні властивості та дані елементного аналізу  
синтезованих сполук **2.5-2.9**

Сполука	Вихід, %	$T_{\text{топл.}}, ^\circ C$	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				С	Н	N	С	Н	N
<b>2.5</b>	67	> 280	$C_{21}H_{14}BrFN_4O_2S$	51.97	2.91	11.54	51.86	2.80	11.50
<b>2.6</b>	60	> 280	$C_{23}H_{20}ClN_5O_2S$	59.29	4.33	15.03	59.13	4.25	14.97
<b>2.7</b>	65	222-224	$C_{22}H_{21}BrN_4OS$	56.29	4.51	11.94	56.20	4.45	11.88
<b>2.8</b>	57	220-222	$C_{22}H_{21}ClN_4OS$	62.18	4.98	13.18	62.10	4.88	13.9
<b>2.9</b>	63	230-232	$C_{24}H_{22}ClN_5O_3S$	58.12	4.47	14.12	58.08	4.21	14.05

Структура та чистота синтезованих сполук підтверджена спектрами  $^1\text{H}$  ЯМР. Так, для похідних **2.7-2.9** спостерігається характерний синглет метиленової групи  $=\text{CH}$  в області  $\sim 7.58-7.59$  м.ч. що обґрунтовує стереоселективне утворення виключно похідних з *Z*-розташуванням іліденового залишку. Амідний протон ізатинового фрагменту у сполуках **2.5, 2.6** утворює синглет при  $\sim 11.23-11.28$  м.ч. Сигнали протонів  $\text{CH}_2\text{-CH}$  піразолінового фрагменту у спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР утворюють АМХ систему. Так, хімічне зміщення протонів  $\text{H}_\text{A}$ ,  $\text{H}_\text{M}$  та  $\text{H}_\text{X}$  спостерігається у вигляді дублету дублетів в ділянці  $\sim 2.88-2.99$ ,  $\sim 3.00-3.31$  та  $\sim 3.59-3.73$  м.ч., відповідно. Константи спінової взаємодії зазначених протонів становлять  $J_{\text{AM}} = 18.2-18.6$ ,  $J_{\text{AX}} = 10.5-11.0$ , та  $J_{\text{MX}} = 3.2$  Гц, відповідно (Табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Спектральні характеристики синтезованих 5-заміщених 2-(3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл)-тіазол-4-онів **2.5-2.9**

Сполука	Спектр $^1\text{H}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц)	LC-MS, $m/z$
1	2	3
2.5	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.72 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.88 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.31 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 5.87 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 6.87 (д, 2H, $J = 8.2$ Гц, аром.), 7.52-7.53 (м, 2H, аром.), 7.95 (с, 1H, аром.), 9.02-9.06 (м, 2H, аром.), 11.28 (с, 1H, NH).	485 (M+H) <sup>+</sup> , (98.5%)
2.6	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.23 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.87 (с, 6H, 2* $\text{CH}_3$ ), 3.00 (шс, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.73 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 5.65 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 6.69 (шс, 2H, аром.), 6.93 (м, 1H, аром.), 7.07 (шс, 2H, аром.), 7.36-7.42 (м, 1H, аром), 8.96 (с, 1H, аром.), 11.23 (с, 1H, NH)	465/467 (M+H) <sup>+</sup> , (100.0%)
2.7	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.19 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.87 (с, 6H, 2* $\text{CH}_3$ ), 2.97 (дд, 1H, $J = 18.6, 3.2$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.73 (дд, 1H, $J = 18.6, 11.0$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 5.59 (дд, 1H, $J = 11.0, 3.2$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 6.69 (д, 2H, $J = 8.5$ Гц, аром.), 7.06 (д, 2H, $J = 8.5$ Гц, аром.), 7.57 (с, 1H, $=\text{CH}$ ), 7.57 (д, 2H, $J = 8.1$ Гц, аром.), 7.72 (д, 2H, $J = 8.1$ Гц, аром.)	469 (M+H) <sup>+</sup> , (99.0%)
2.8	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.19 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.87 (с, 6H, 2* $\text{CH}_3$ ), 2.99 (шс, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.72 (дд, 1H, $J = 18.2, 10.5$ Гц, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 5.59 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 6.68 (д, 2H, $J = 7.6$ Гц, аром.), 7.05 (д, 2H, $J = 7.6$ Гц, аром.), 7.55-7.70 (м, 5H, аром, $=\text{CH}$ ).	423/425 (M+H) <sup>+</sup> , (100.0%)

2.9	<b><math>^1\text{H}</math> ЯМР:</b> 2.86 (с, 6H, 2* $\text{CH}_3$ ), 2.88 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.94 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.59 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 5.58 (м, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 6.68 (д, 2H, $J = 8.7$ Гц, аром.), 7.04 (д, 2H, $J = 8.0$ Гц, аром.), 7.52 (с, 1H, =CH), 7.76 (с, 1H, =CH), 7.99-8.02 (м, 2H, аром.), 8.28-8.33 (м, 2H, аром.)	495/497 ( $\text{M}+\text{H}$ ) <sup>+</sup> , (99.5%)
-----	--	--

Зразок  $^1\text{H}$  ЯМР спектру для синтезованого похідного **2.7** наведено на рисунку 2.3.

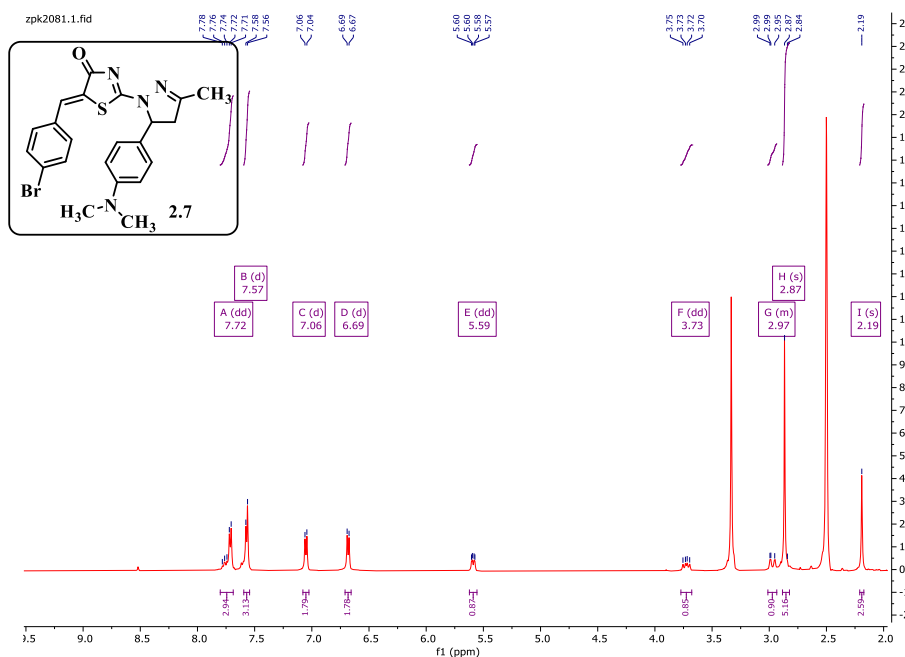


Рис. 2.3.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр 5-(4-бромобензиліден)-2-[5-(4-диметиламінофеніл)-3-метил-4,5-дигідропіразол-1-іл]-тіазол-4-ону **2.7**.

### 2.1.2. Синтез та фізико-хімічні властивості похідних 2-піразолілзаміщених тіазолідинацетамідів

Вихідним реагентом для синтезу нових похідних піразолін-тіазолідінонів було обрано 5-(4-диметиламінофеніл)-3-метил-4,5-дигідропіразол-1-карботіоамід **2.4**, який в умовах реакції [2+3]-циклоконденсації в якості *S,N*-бінуклеофільного агента з відповідними арилмалеїнідами в середовищі оцтової кислоти утворює цільові 2-[2-[3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-4-оксотіазол-5-іл]-*N*-фенілацетаміди **2.10-2.13** [64] (Рис. 2.4.).

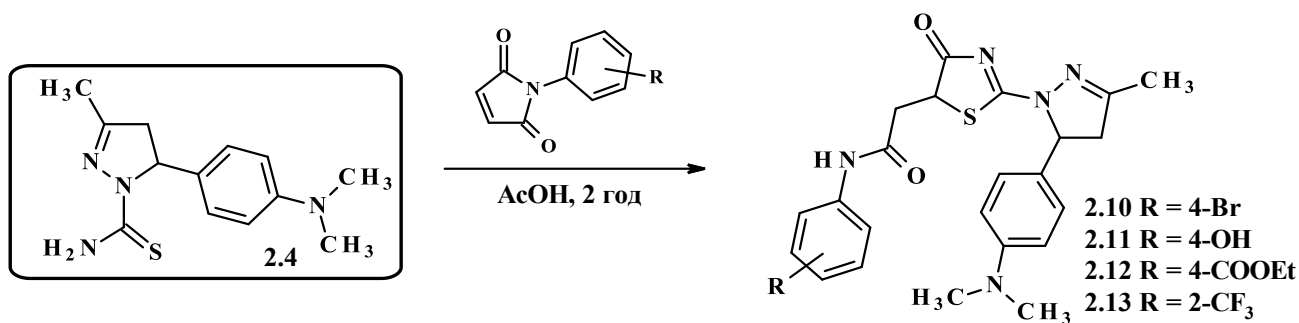


Рис. 2.4. Схема синтезу 2-[2-[3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-4-оксотіазол-5-іл]-N-фенілацетамідів.

Синтезовані 2-[2-[3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-4-оксотіазол-5-іл]-N-фенілацетаміди – жовті та коричневі кристалічні порошки, розчинні при нагріванні у ДМФА, малорозчинні в оцтовій кислоті, нерозчинні в спиртах, воді та діетиловому ефірі. Очистку одержаних молекул проводили шляхом перекристалізації з суміші ДМФА – етанол (1:2). Фізико-хімічні властивості та дані елементного аналізу синтезованих сполук наведені в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

Фізико-хімічні властивості та дані елементного аналізу  
синтезованих сполук 2.10-2.13

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				С	Н	N	С	Н	N
2.10	83	249-251	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> BrN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	53.67	4.65	13.58	53.70	4.70	13.61
2.11	78	244-246	C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	61.18	5.58	15.51	61.25	5.66	15.60
2.12	88	256-258	C <sub>26</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub> S	61.52	5.76	13.80	61.45	5.70	13.72
2.13	89	235-237	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	57.25	4.80	13.91	57.31	4.84	13.95

Структура та чистота синтезованих молекул підтверджена за допомогою <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопії та хромато-мас-спектрометрії, дані наведені в таблиці 2.3.

Спектральні характеристики синтезованих молекул **2.10-2.13**

Сполука	Спектри $^1\text{H}$ та $^{13}\text{C}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц)	LC-MS, $m/z$
1	2	3
2.10	$^1\text{H}$ ЯМР: 2,08 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.83 (с, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.57 (м, 1H, $\text{CH}_2$ ), 3.15 (дд, 1H, $J = 3.5$ , 16.5 Гц, $\text{CH}_2$ ), 3.27 (м, 1H, $\text{CH}$ ), 3.62 (дд, 1H, $J = 10.8$ , 18.2 Гц, $\text{CH}_2$ ), 4.27 (дд, 1H, $J = 3.5$ , 10.8 Гц, $\text{CH}_2$ ), 5.44 (дд, 1H, $J = 3.5$ , 10.8 Гц, $\text{CH}$ ), 6.63 (д, 2H, $J = 8.7$ Гц, аром.), 6.96 (д, 2H, $J = 8.7$ Гц, аром.), 7.44 (д, 2H, $J = 8.9$ Гц, аром.), 7.49 (д, 2H, $J = 8.9$ Гц, аром.), 10.20 (с, 1H, NH).	515 (M+H) <sup>+</sup> , (100.0%)
2.11	$^1\text{H}$ ЯМР: 2,09 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.46 (с, 1H, $\text{CH}_2$ ), 2.52 (д, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.09 (д, 1H, $J = 15.8$ Гц, $\text{CH}_2$ ), 3.31 (с, 1H, $\text{CH}_2$ ), 3.60 (дд, 1H, $J = 10.8$ , 17.9 Гц, $\text{CH}_2$ ), 4.23 (д, 1H, $J = 10.3$ Гц, $\text{CH}$ ), 5.43 (д, 1H, $J = 10.3$ Гц, $\text{CH}$ ), 6.64 (т, 4H, аром.), 6.96 (д, 2H, $J = 7.3$ Гц, аром.), 7.29 (д, 2H, $J = 7.5$ Гц, аром.), 9.16 (с, 1H, OH), 9.81 (с, 1H, NH).	452 (M+H) <sup>+</sup> , (99.0%)
2.12	$^1\text{H}$ ЯМР: 1.26 (т, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.09 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.63 (т, 2H, $J = 11.0$ Гц), 2.83 (д, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.20 (м, 1H, $\text{CH}_2$ ), 3.60 (дд, 1H, $J = 10.4$ , 18.2 Гц, $\text{CH}_2$ ), 4.25 (с, 2H, $\text{CH}_2$ ), 5.44 (дд, 1H, $J = 3.2$ , 10.5 Гц, $\text{CH}$ ), 6.63 (д, 2H, $J = 7.6$ Гц), 6.96 (д, 2H, $J = 7.6$ Гц), 7.65 (д, 2H, $J = 8.4$ Гц), 7.87 (д, 2H, $J = 8.4$ Гц), 10.41 (с, 1H, NH).	508 (M+H) <sup>+</sup> , (100.0%)
2.13	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.11 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.65 (дд, $J = 16.5$ , 11.1 Гц, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}-$ ), 2.82 (д, $J = 3.8$ Гц, 1H, піразолін), 2.86 (с, 6H, 2* $\text{CH}_3$ ), 3.20 (дд, $J = 16.5$ , 3.8 Гц, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}-$ ), 3.63 (дд, $J = 18.5$ , 11.0 Гц, 1H, піразолін), 4.30 (дд, $J = 10.9$ , 3.7 Гц, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}-$ ), 5.46 (дд, $J = 10.9$ , 3.8 Гц, 1H, піразолін), 6.66 (д, $J = 8.7$ Гц, 2H, аром.), 6.98 (д, $J = 8.7$ Гц, 2H, аром.), 7.39 (д, $J = 7.7$ Гц, 1H, аром.), 7.54 (т, $J = 8.0$ Гц, 1H, аром.), 7.69 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H, аром.), 8.07 (с, 1H, аром.), 10.43 (с, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 16.2, 47.6, 50.2, 63.2, 112.8, 115.7, 123.1, 127.1, 128.3, 130.5, 140.0, 150.4, 164.8, 169.8, 176.1, 188.3.	504 (M+H) <sup>+</sup> , (100.0%)

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР похідного **2.13** наведено на рисунку 2.5.

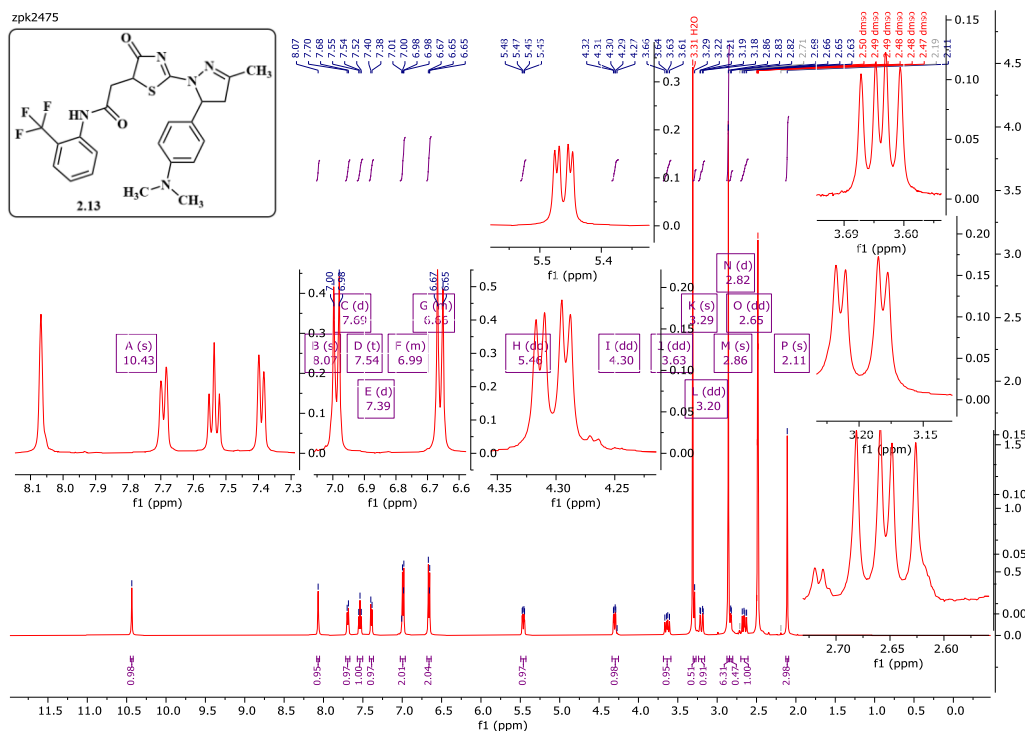


Рис. 2.5. <sup>1</sup>H ЯМР спектр 2-[2-[3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-4-оксотіазол-5-іл]-N-[2-(трифторметил)феніл]ацетаміду **2.13**.

Пік молекулярного іона, що спостерігається при значенні  $m/z$  503  $[M+H]^+$  у позитивному режим іонізації в мас-спектрі, підтверджує утворення молекули **2.13** (Рис 2.6.).

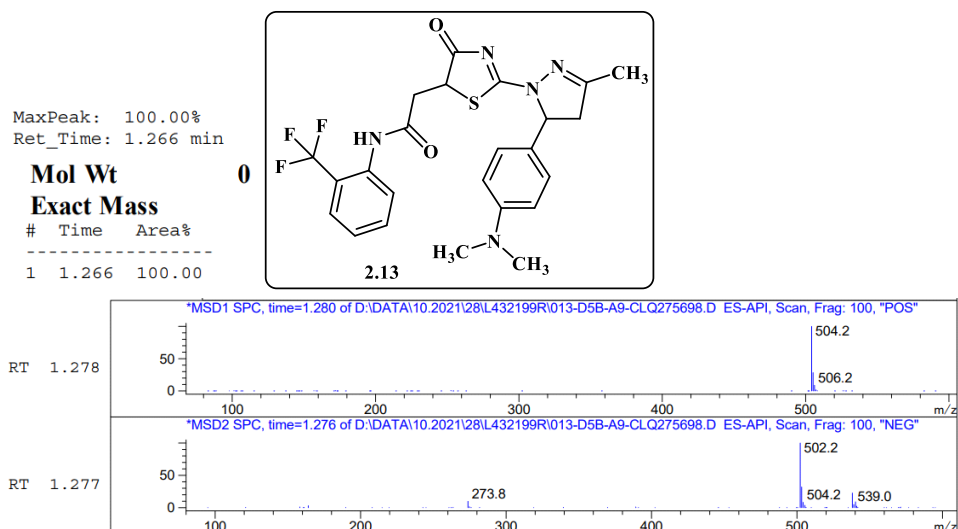


Рис. 2.6. LC-MS спектр 2-[2-[3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-4-оксотіазол-5-іл]-N-[2-(трифторметил)феніл]ацетаміду **2.13**.



### 2.1.3. Синтез 3-(4-гідроксифеніл)-2-[3-(4-метоксифеніл)-1-фенілпіразол-4-іл]тіазолідин-4-ону

В умовах трикомпонентної реакції 3-(4-метоксифеніл)-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду **2.14**, *n*-гідроксіаніліну та тіогліколевої кислоти (співвідношення реагентів 1:1:2) одержано похідне 4-тіазолідинону **2.15**. Оптимальним варіантом перебігу реакції є використання м'якого дициклогексилкарбодііміду (ДЦК) у безводному діоксані при кімнатній температурі (Рис 2.7).

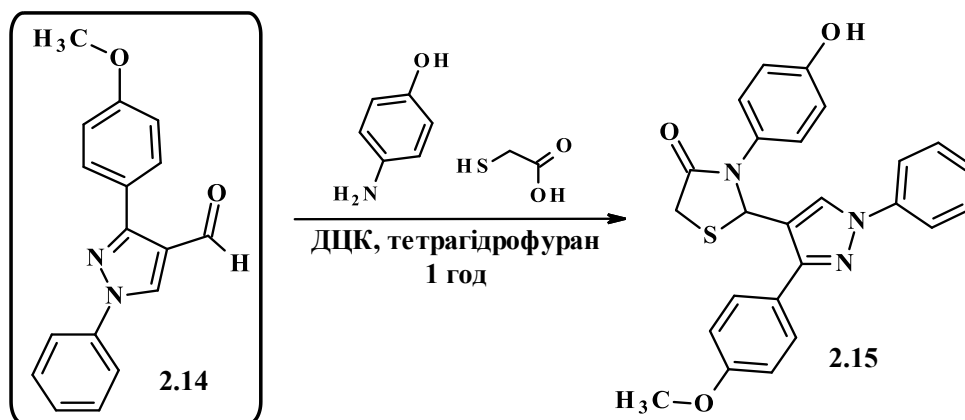


Рис. 2.7. Схема синтезу 3-(4-гідроксифеніл)-2-[3-(4-метоксифеніл)-1-фенілпіразол-4-іл]тіазолідин-4-ону **2.15**.

Синтезована сполука **2.15** – білий кристалічний порошок, розчинний при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, спиртах, нерозчинний у воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні характеристики похідного наведені в таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики сполуки **2.15**

Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
			C	H	N	C	H	N
91	123-125	C <sub>24</sub> H <sub>27</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	67.70	4.77	9.47	67.77	4.81	9.52
<b>Спектри <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z</b>								
<sup>1</sup> H ЯМР: 3.75 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.87 (д, J = 15.1 Гц, 1H, тіазолідин), 3.94 (д, J = 15.1 Гц, 1H, тіазолідин), 6.38 (с, 1H, тіазолідин), 6.59 – 6.65 (м, 2H), 6.97 – 7.07 (м, 4H, аром.), 7.29 (т, J = 5.8 Гц, 1H, аром.), 7.41 – 7.51 (м, 4H, аром.), 7.79 – 7.88 (м, 2H, аром.), 8.73 (с, 1H, піразол), δ 9.46 (с, 1H, OH). <sup>13</sup> C ЯМР: 25.7&24.9 (C-5), 33.8&32.9 (OCH <sub>3</sub> ), 57.1&55.7 (C-2), 114.5, 115.7, 118.6, 121.2, 124.9, 126.8, 128.3, 128.9, 129.3, 129.7, 129.9, 139.6, 150.6, 156.6, 159.7, 170.5 (C-4, C=O). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 444 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).								

$^1\text{H}$  ЯМР спектр одержаного похідного **2.15** наведено на рисунку 2.8

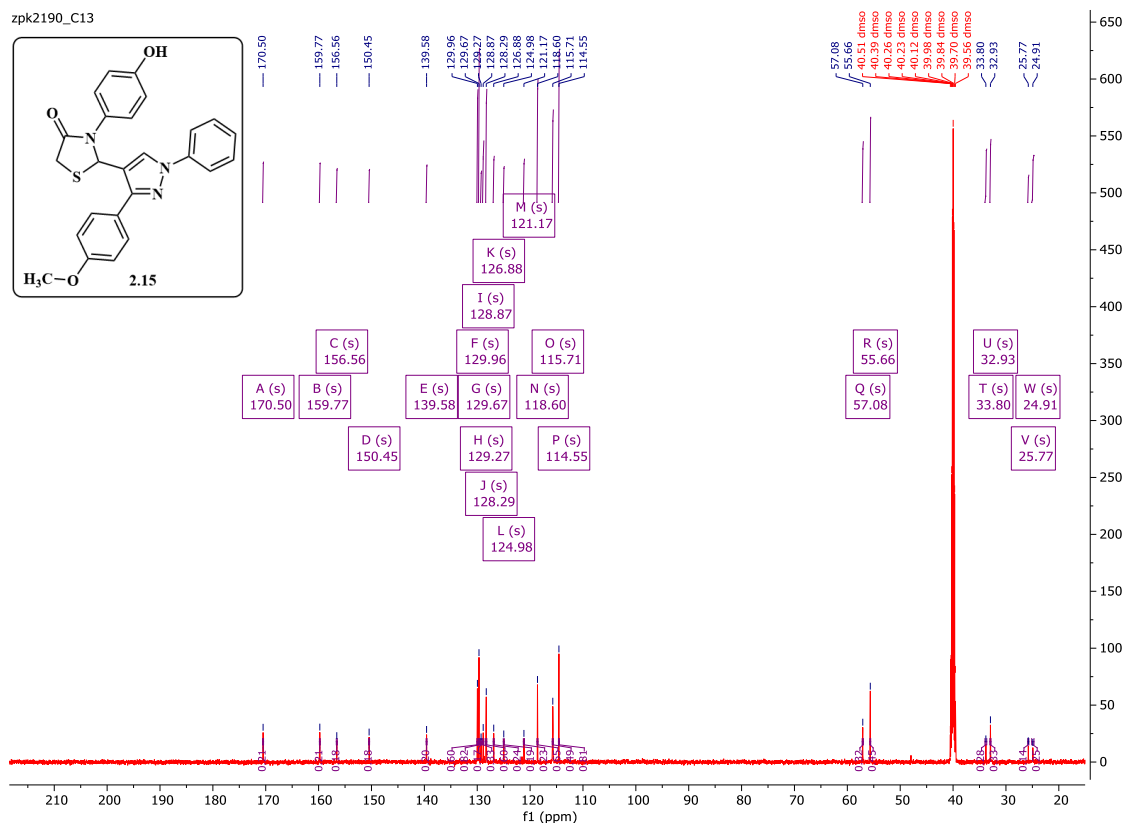


Рис. 2.8.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр сполуки **2.15**.

## 2.2. Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості 3-піразолілзаміщених тіазолідинонів

Наступним етапом роботи був синтез 3-піразолілзаміщених 2-іміно-4-тіазолідинонів на основі гетерилзаміщеного тіосемікарбазиду. Теоретичною основою цього дослідження була відома реакція 4-арилтіосемікарбазидів як бінуклеофільних агентів у синтезі 2-гідразоно-3-арилтіазолідин-4-онів [65] (Рис 2.9).

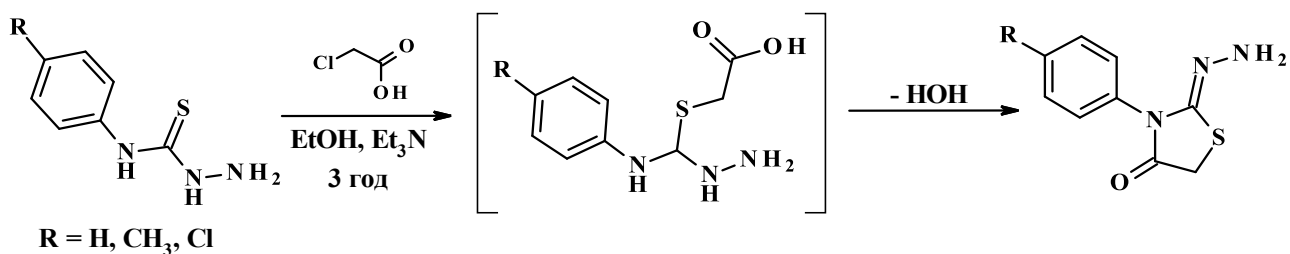


Рис. 2.9. Синтез 2-гідразоно-3-арилтіазолідин-4-онів.

Для дизайну біологічно активних молекул на основі сполук такого типу важливим є наявність трьох реакційноздатних центрів тіазолідинового ядра, а саме:

положення 2 – гідразиніліденовий фрагмент, положення 4 – оксогрупа, положення 5 – метиленактивна група, що у свою чергу потенційно може розширювати фармакологічні властивості даного класу сполук (Рис 2.10).

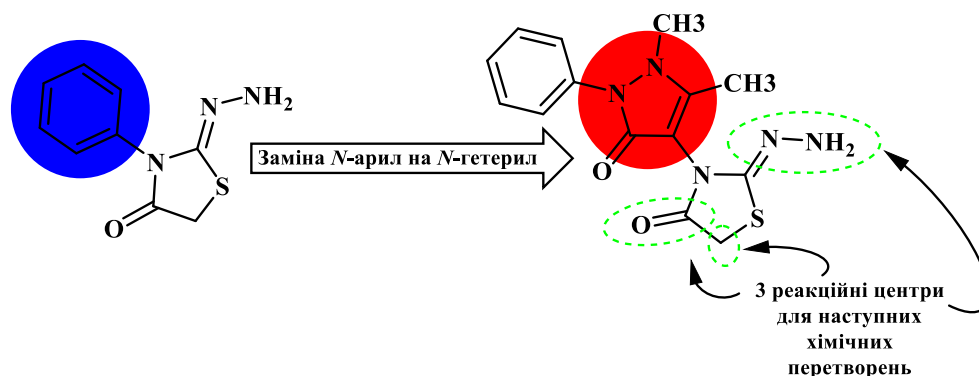


Рис. 2.10. Напрямки можливої хімічної модифікації *N*-антипірилтіазолідинонів.

### 2.2.1. Синтез 3-піразолілзаміщеного (*Z*)-3-аміно-2-(4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразиніліден)тіазолідин-4-ону

З огляду на потенційну синтетичну та фармакологічну перспективу даного класу сполук нами було апробовано 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид **2.16** в реакції з монохлорооцтовою кислотою для одержання (*2Z*)-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)-2-гідразинілідентіазолідин-4-ону **2.17\***. Проте в результаті реакції основним продуктом виявилось не цільове похідне **2.17\***, а (*2Z*)-2-[(*Z*)-(3-аміно-4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразоно]-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіазолідин-4-он **2.17** [66] (Рис. 2.11).

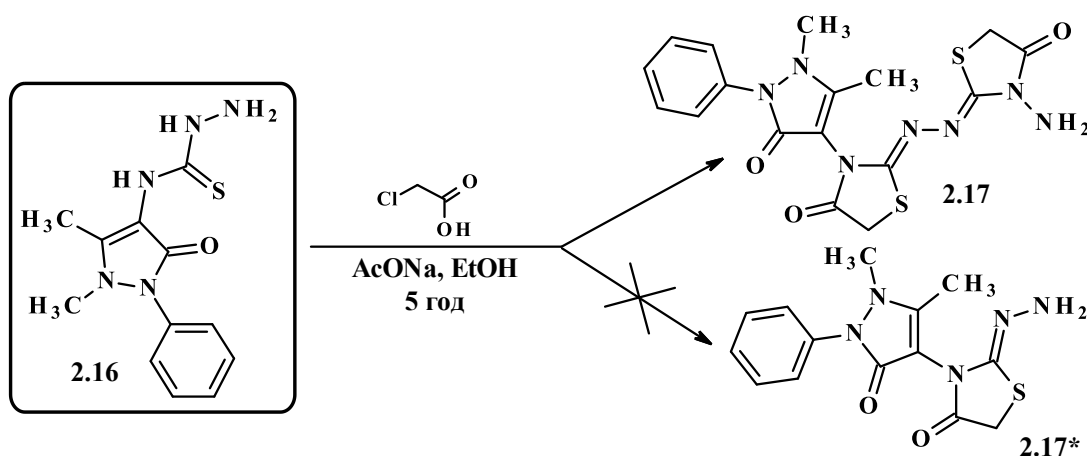


Рис. 2.11. Синтез 3-антипірилзаміщеного (*Z*)-3-аміно-2-(4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразиніліден)тіазолідин-4-ону **2.17**.

Однією з можливих причин такої реакційної здатності антипіриламінного тіосемікарбазиду є його властивість до диспропорціонування за рахунок високої нуклеофільності кінцевої аміногрупи [67], що через утворення можливих інтермедіатів **2.17a**, **2.17b** зумовило формування похідного **2.17** (Рис. 2.12).

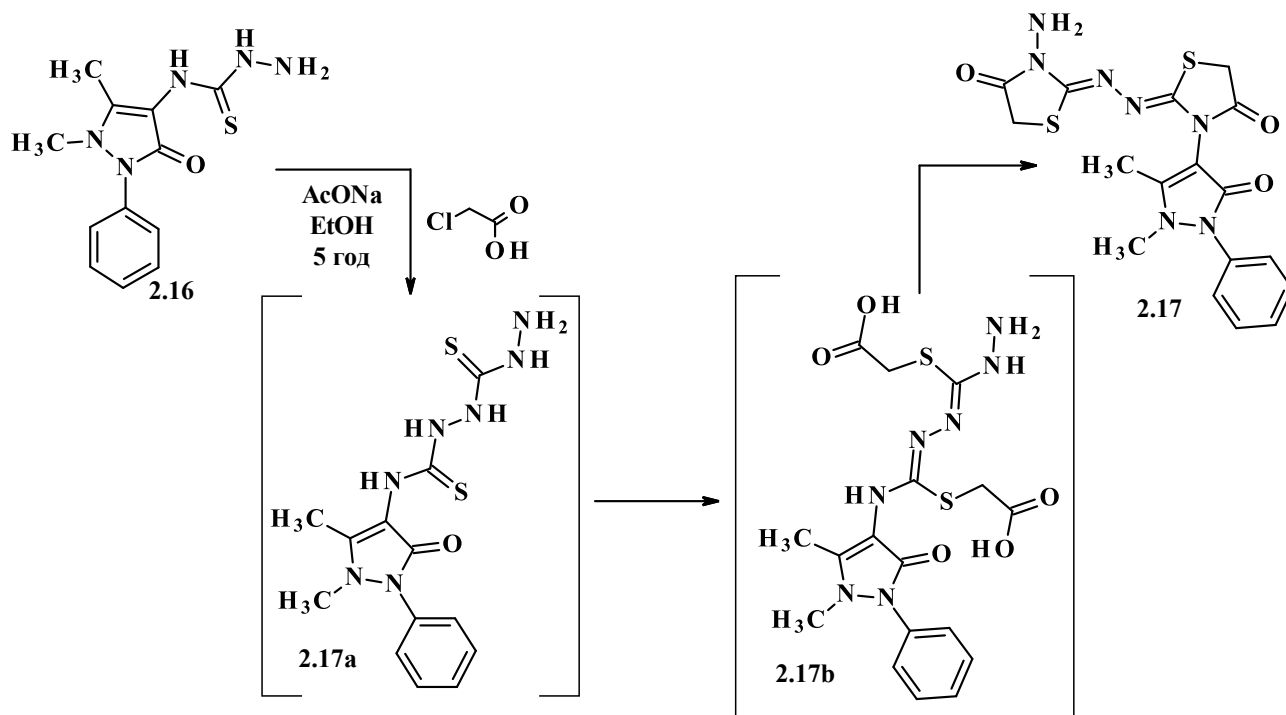


Рис. 2.12. Можливий механізм одержання похідного **2.17**.

Синтезоване похідне **2.17** – білий порошок, розчинний при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, спиртах, нерозчинний у воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики сполуки **2.17** наведено у таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики сполуки **2.17**

Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
			С	Н	Н	С	Н	Н
93	256-258	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>7</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	47.32	3.97	22.72	47.35	4.02	22.76
<b>Спектри <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z</b>								
<sup>1</sup> H ЯМР: 2.18 (с, 3H, C-CH <sub>3</sub> ), 3.18 (с, 3H, N-CH <sub>3</sub> ), 3.27 – 3.37 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.09-4.17 (м, 2H, CH <sub>2</sub> ), 5.15 (шс, 2H, NH <sub>2</sub> ), 7.30-7.42 (м, 3H), 7.52 (т, J = 7.5 Гц, 2H). <sup>13</sup> C ЯМР: 11.1 (CH <sub>3</sub> ), 30.5 (CH <sub>2</sub> , тіазолідин), 32.4 (CH <sub>2</sub> , тіазолідин), 35.9 (CH <sub>3</sub> ), 124.7, 127.3, 129.7, 135.0, 149.2, 154.8, 157.8, 159.9, 161.1, 169.7 (C=O), 171.4 (C=O). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 431 [M+H] <sup>+</sup> , (98.0%).								

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР та рентгеноструктурний аналіз наведені на рисунках 2.13 та 2.14 відповідно.

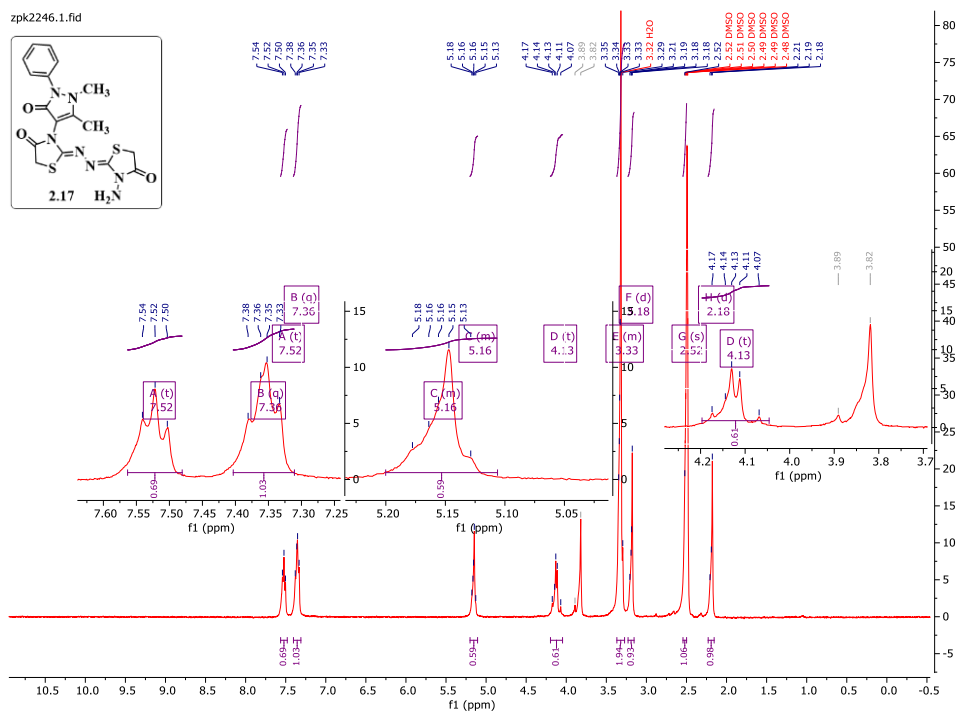


Рис. 2.13.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр (2*Z*)-2-[(*Z*)-(3-аміно-4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразоно]-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіазолідин-4-ону **2.17**.

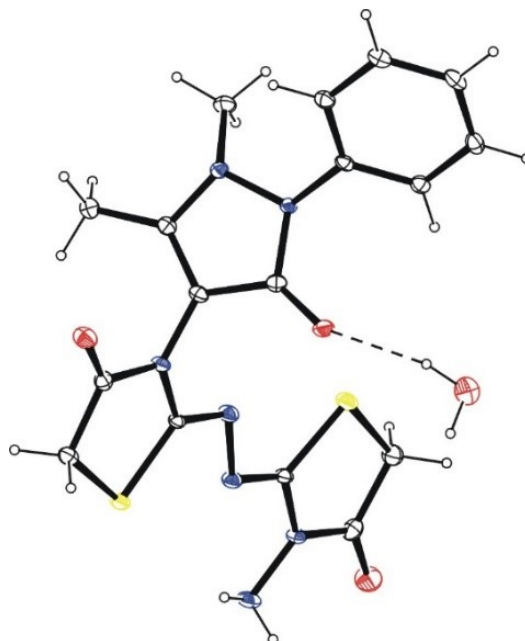


Рис. 2.14. Рентгеноструктурний аналіз (2*Z*)-2-[(*Z*)-(3-аміно-4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразоно]-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіазолідин-4-ону **2.17**.

### 2.2.2. Синтез (2E)-3-[(E)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-2-[(E)-[3-[(E)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-4-оксотіазолідин-2-ілден]гідразоно]тіазолідин-4-ону

Синтезований (2Z)-2-[(Z)-(3-аміно-4-оксотіазолідин-2-ілден)гідразоно]-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіазолідин-4-он **2.17** став об'єктом для наступних хімічних перетворень. Наявність двох активних метиленових груп у тіазолідинонових фрагментах дозволило апробувати похідне **2.17** у реакції Кньюенагеля з алілсаліциловим альдегідом (каталізатор - ацетат натрію, середовище - оцтова кислота) з метою одержати біс(5-((Z)-2-(алілокси)бензиліден)тіазолідин-4-он **2.18\***. Проте у результаті проведеної реакції ідентифіковано симетричне похідне біс-4-тіазолідинону **2.18**, а не сполука **2.18\*** [66] (Рис. 2.15).

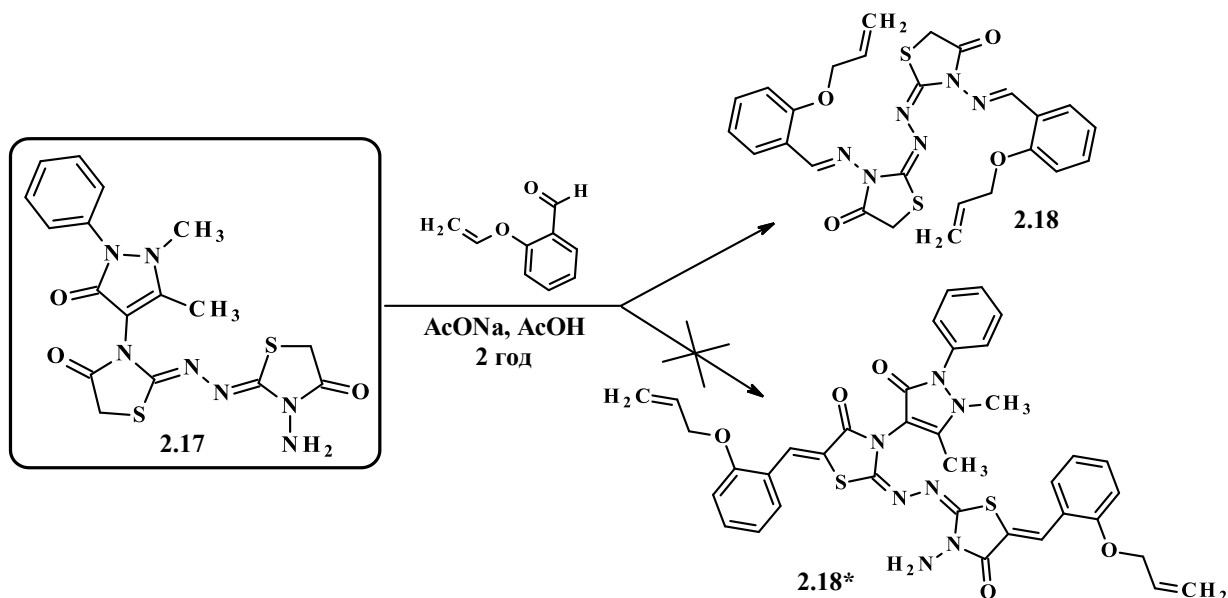


Рис. 2.15. Схема синтезу (2E)-3-[(E)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-2-[(E)-[3-[(E)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-4-оксотіазолідин-2-ілден]гідразоно]тіазолідин-4-ону **2.18**.

На нашу думку, така реакційна поведінка похідного **2.17** зумовлена схильністю *N*-заміщених 2-іміно-4-тіазолідинонів до кислотного гідролізу, що підтверджується відщепленням антипірилового залишку у інтермедіаті **2.17a** з наступним перетворенням через інтермедіат **2.17b** у відповідний тіокарбогідразид **2.17c**, який імовірно циклізував у похідне **2.17d**. Вплив кислого середовища та зменшення

реакційної здатності метиленової групи у рециклізованому інтермедіаті сприяло одержанню саме основ Шиффа (альдімінів) **2.18**, що дозволяє стверджувати про хемоселективний перебіг реакції (Рис. 2.16).

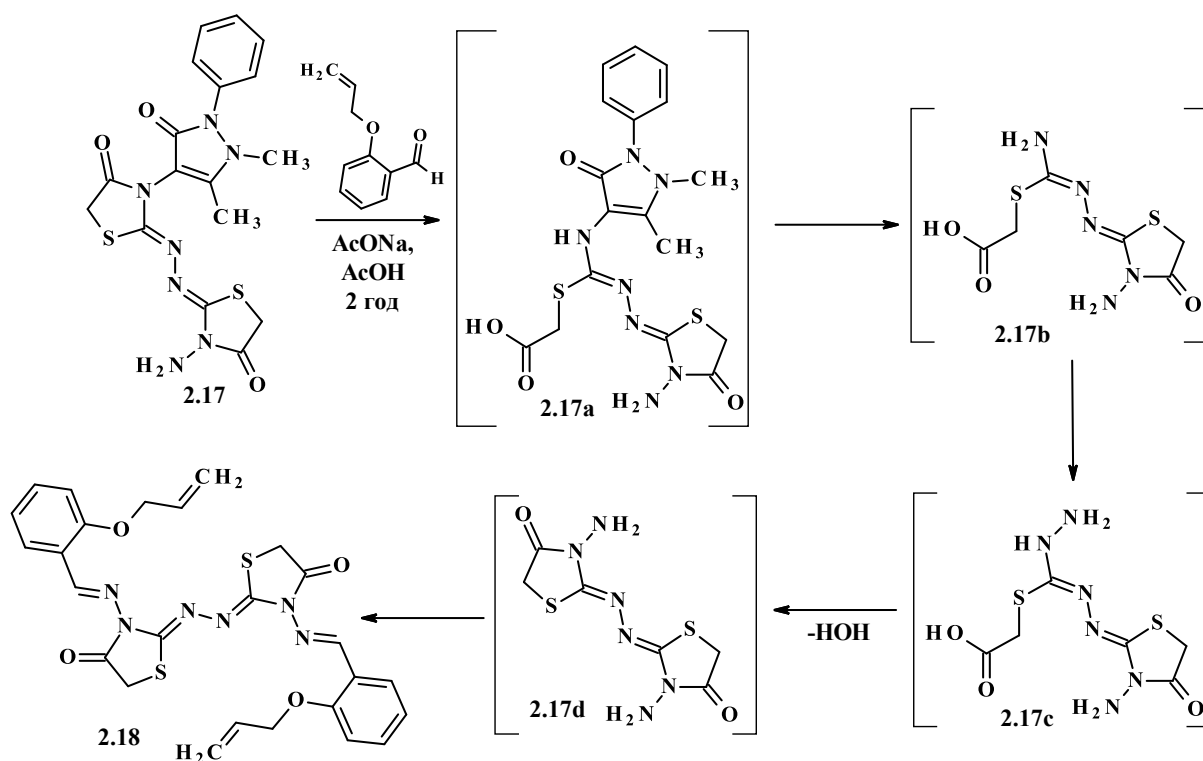


Рис. 2.16. Можливий механізм одержання похідного **2.18**.

Одержана сполука **2.18** – жовтий кристалічний порошок, розчинний при нагріванні у ДМФА, нерозчинний у оцтовій кислоті, спиртах воді та ефірі. Спектральні та фізико-хімічні характеристики похідного наведено в таблиці 2.6.

Таблиця 2.6

Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики сполуки **2.18**

Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вираховано, %			Знайдено, %		
			С	Н	N	С	Н	N
93	339-341	C <sub>26</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	56.92	4.41	15.32	56.98	4.45	15.34
<b>Спектри <sup>1</sup>H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z</b>								
<sup>1</sup> H ЯМР: 4.04 (м, 4H, 2*CH <sub>2</sub> , тiazолiдин), 4.70 (с, 4H, 2*-CH <sub>2</sub> -CH=, алліл), 5.28 (д, J = 10.5 Гц, 2H, -CH=CH <sub>2</sub> , алліл), 5.41 (д, J = 16.8 Гц, 2H, -CH=CH <sub>2</sub> , алліл), 6.01-6.10 (м, 2H, -CH=CH <sub>2</sub> , алліл), 7.31 – 7.40 (м, 4H, аром.), 7.52 (тд, J = 7.9, 2.4 Гц, 4H, аром.), 7.95&7.94 (2*с, 2H, -CH=N-). LC-MS (ESI+): 548 [M+H] <sup>+</sup> , (97.0%).								

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР та рентгеноструктурний аналіз сполуки **2.17** наведено на рисунках 2.17 та 2.18 відповідно.

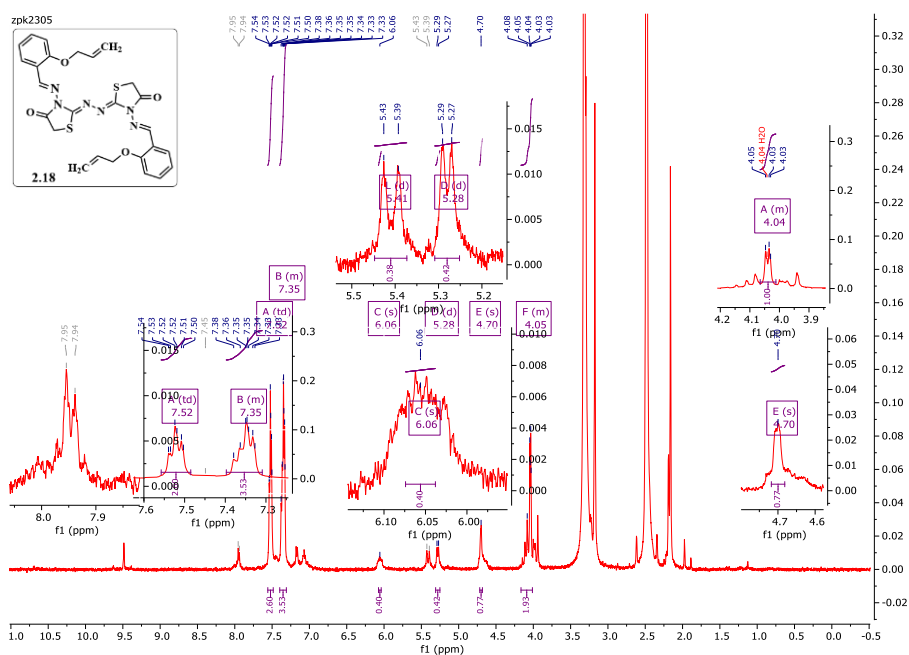


Рис. 2.17.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр сполуки **2.17**.

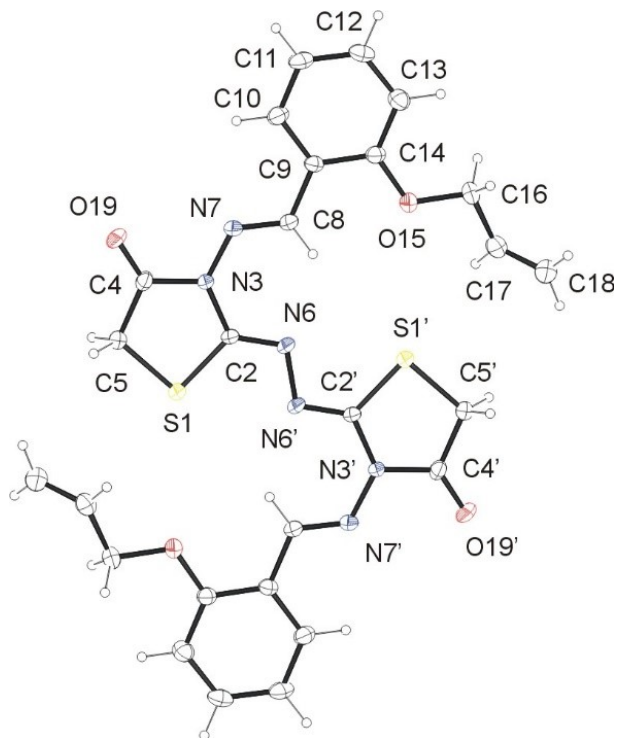


Рис. 2.18. Рентгеноструктурний аналіз сполуки **2.17**.



### 2.2.3. Синтез (*E*)-2-(((*Z*)-2-(алілокси)бензиліден)гідразиніліден)-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-іл)тіазолідин-4-ону

З огляду на нестандартну реакційну здатність 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду **2.16**, що дозволила одержати похідні **2.17**, **2.18**, нами було апробовано методику трикомпонентної реакції задля оптимізації хімічних перетворень згідно з «cost effective» підходом у синтезі потенційних біологічно активних сполук. Вихідний тіосемікарбазид **2.16** вводили в реакцію з монохлороцтовою кислотою, алілсаліциловим альдегідом та каталітичною кількістю ацетату натрію в середовищі абсолютного етанолу. Цікаво, що в результаті реакції одержали не описане вище похідне **2.18**, а (*E*)-2-(((*Z*)-2-(алілокси)бензиліден)гідразиніліден)-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-іл)тіазолідин-4-он **2.19**, що може свідчити про зменшення реакційної здатності амбідентного бі-центру в фрагменті тіосемікарбазиду через задані умови реакції та унеможливлення наступного диспропорціонування з утворенням бістіазолідин-4-он гідразону **2.18** [66] (Рис. 2.19).

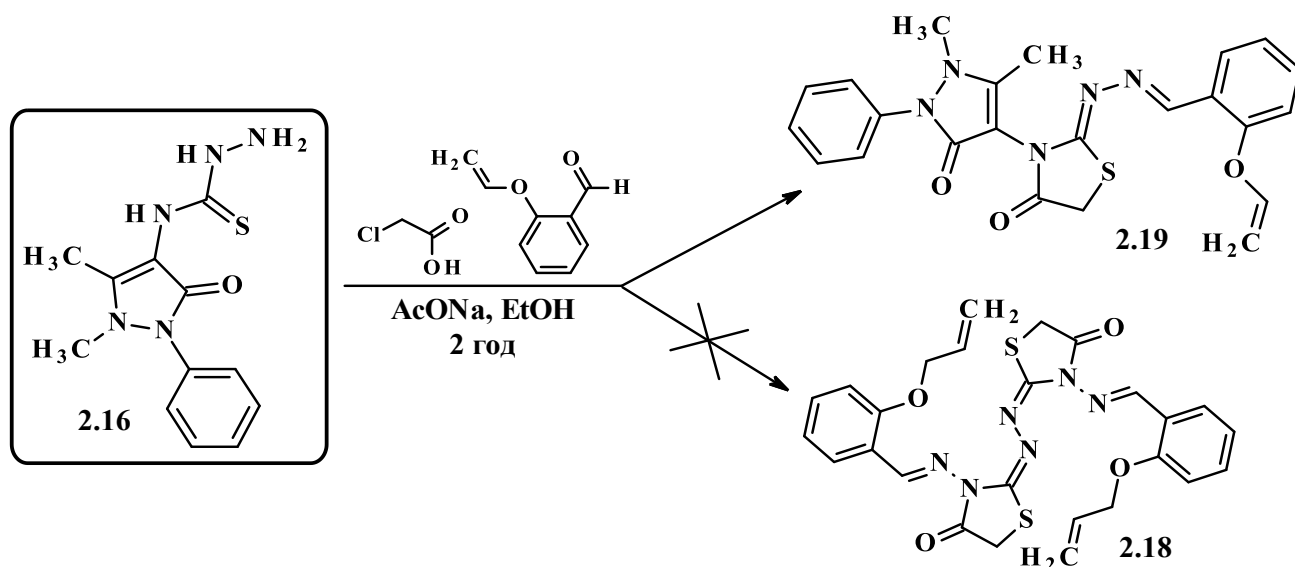


Рис. 2.19. Синтез сполуки **2.19** за трикомпонентною реакцією.

Синтезована сполука **2.19** – жовтий кристалічний порошок, розчинний при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, спиртах, нерозчинний у воді та етері. У таблиці

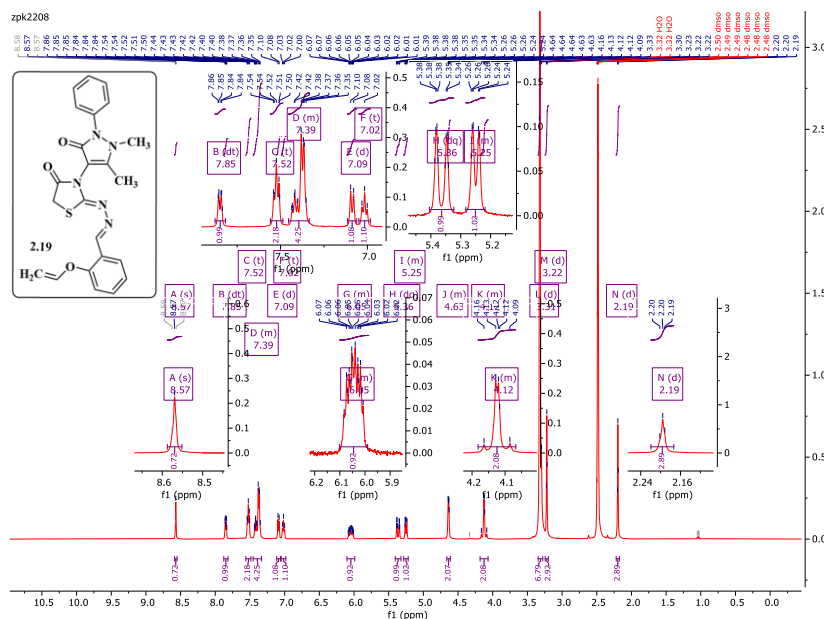
2.7 наведено спектральні характеристики та фізико-хімічні властивості синтезованого похідного **2.19**.

Таблиця 2.7

Фізико-хімічні властивості, дані елементного аналізу та спектральні характеристики синтезованої сполуки **2.19**

Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
			С	Н	N	С	Н	N
87	168-170	C <sub>23</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	61.73	4.73	15.65	61.77	4.76	15.69
<b>Спектри <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z</b>								
<sup>1</sup> H ЯМР: 2.19 (с, 3H, C-CH <sub>3</sub> ), 3.22 (с, 3H, N-CH <sub>3</sub> ), 4.07 – 4.18 (м, 2H, CH <sub>2</sub> , тiazолідин), 4.61 – 4.66 (м, 2H, алліл), 5.22 – 5.28 (м, 1H, -CH=CH <sub>2</sub> , алліл), 5.36 (дк, J = 1.8, 17.3 Гц, 1H, -CH=CH <sub>2</sub> , алліл), 5.99 – 6.10 (м, 1H, -CH=CH <sub>2</sub> , алліл), 7.02 (т, J = 7.6 Гц, 1H, аром.), 7.09 (д, J = 8.4 Гц, 1H, аром.), 7.33 – 7.45 (м, 4H, аром.), 7.52 (т, J = 7.9 Гц, 2H, аром.), 7.85 (дт, J = 2.0, 7.7 Гц, 1H, аром.), 8.57 (с, 1H, -CH=N-). <sup>13</sup> C ЯМР (126 МГц, DMSO-d <sub>6</sub> ): 10.4 (CH <sub>3</sub> ), 31.7 (CH <sub>2</sub> , тiazолідин), 35.2 (CH <sub>3</sub> ), 68.8 (CH <sub>2</sub> , алліл), 102.9, 113.3, 118.0, 120.9, 122.5, 124.5, 126.4, 126.9, 129.2, 132.4, 133.4, 134.5, 152.9, 153.5, 157.1, 160.4 (C-2), 163.6 (C=O, антипірил), 171.4 (C=O, C-4). LC-MS (ESI+): 448,5 [M+H] <sup>+</sup> , (99.0%).								

Спектри <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР і дані рентгеноструктурного аналізу наведені на рисунках 2.20, 2.21 та 2.22 відповідно.

Рис. 2.20. <sup>1</sup>H ЯМР спектр сполуки **2.19**.

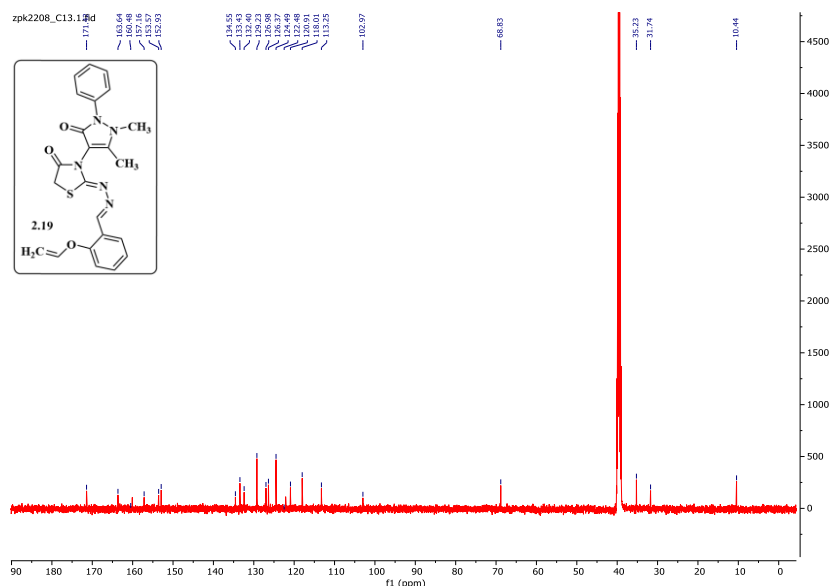


Рис. 2.21.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр сполуки **2.19**.

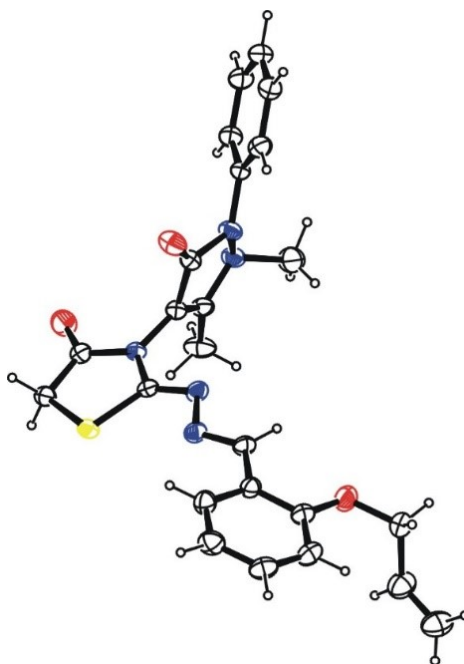


Рис. 2.22. Рентгеноструктурний аналіз молекули **2.19**.

#### 2.2.4. Синтез 3-(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)-2-фенілтіазолідин-4-онів

Синтез 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів викликає великий інтерес серед наукових груп, адже даний напрямок передбачає використання різноманітних методик синтезу, які оптимізовані під відповідні вихідні реагенти. Під час літературного пошуку нами було встановлено, що одним з найбільш популярних поєднань піразолінового фрагменту у структурі 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів є

введення 3-(4-метоксифеніл)-1-фенілпіразольного залишку у положення 2 тiazолідинового ядра, що було нами відтворено при синтезі похідного **2.15**. Важливо відзначити, що заміна фенільного фрагменту на піразоліновий у положенні 3 у тiazолідинового ядра в літературі зустрічається не часто. Тому, у нашому дослідженні ми здійснили синтез 2-арил-3-піразоліл-4-тіазолідионів (Рис 2.23).

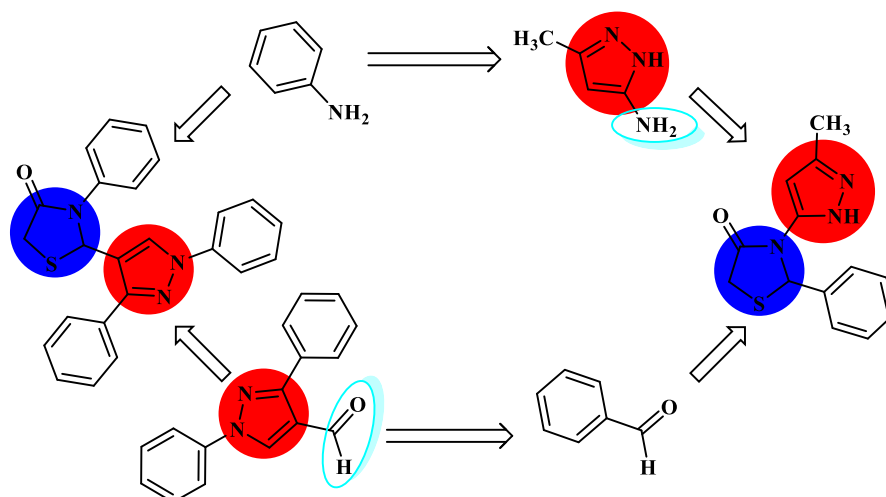


Рис. 2.23. Обґрунтування синтезу 2-арил-3-піразоліл-4-тіазолідионів.

Синтез 2-арил-3-піразоліл-4-тіазолідионів **2.21**, **2.22** реалізовано у трикомпонентній реакції 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну **2.20**, відповідного ароматичного альдегіду та тіогліколевої кислоти, які були введені у взаємодію у співвідношенні 1:1:2 при каталітичній участі дициклогексилкарбодіїміду (ДЦК) в безводному діоксані (Рис 2.24).

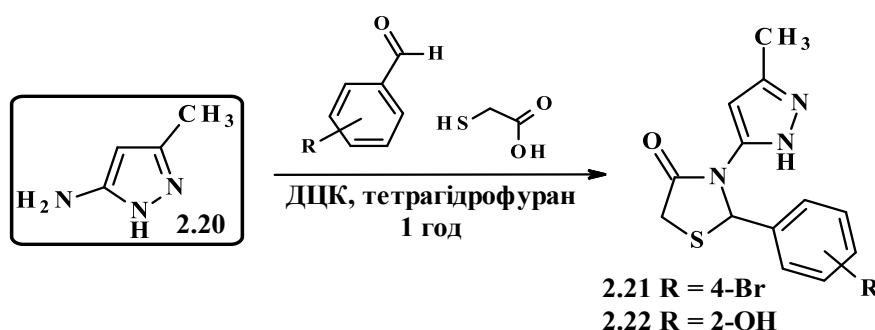


Рис. 2.24. Синтез 2-арил-3-піразоліл-4-тіазолідионів **2.21**, **2.22**.

Одержані 3-(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)-2-арилтіазолідин-4-они **2.21**, **2.22** – жовті порошки, розчинні при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, спиртах, нерозчинні у

воді та ефірі. Очистку одержаних похідних тiazолідинону проводили шляхом перекристалізації з етанолу. Структуру та чистоту одержаних похідних було підтверджено за допомогою  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії та даними елементного аналізу, які наведено в таблиці 2.8.

Таблиця 2.8

Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики сполук **2.21**, **2.22**

Сполука	Вихід, %	$T_{\text{топл.}}$ , °C	Брутто-формула	Вираховано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
2.21	89	133-135	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{OS}$	46.17	3.58	12.42	46.20	3.62	12.45
	Спектри $^1\text{H}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц); LC-MS, m/z	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.16-2.18 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 3.76 (д, $J = 16.1$ Гц, 1H, $\text{CH}_2$ , 4-тіазолідинон), 4.10 (д, $J = 16.5$ , 1H, $\text{CH}_2$ , 4-тіазолідинон), 6.29 (с, 1H, CH, 4-тіазолідон), 6.43 (с, 1H, CH, піразол), 7.29 (д, $J = 7.8$ Гц, 2H, аром.), 7.68 (д, $J = 7.8$ Гц, 2H, аром.), 12.19 (с, 1H, NH, піразол). LC-MS (ESI+): 338 $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (100.0%).							
2.22	93	136-138	$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$	56.71	4.76	15.26	56.75	4.79	15.30
	Спектри $^1\text{H}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц); LC-MS, m/z	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.18 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 3.68 (д, $J = 15.9$ Гц, 1H, $\text{CH}_2$ , 4-тіазолідон), 3.84 (д, $J = 16.0$ , Гц, 1H, $\text{CH}_2$ , 4-тіазолідинон), 6.27 (с, 1H, CH, 4-тіазолідинон), 6.53 (с, 1H, CH, піразол), 6.82 (д, $J = 7.8$ , 1H, аром.), 6.99 (т, $J = 7.7$ , 1H, аром.), 7.06 (т, $J = 7.7$ , 1H, аром.), 7.61 (д, $J = 7.7$ Гц, 1H, аром.), 9.93 (с, 1H, OH), 12.21 (с, 1H, NH, піразол). LC-MS (ESI+): 275 $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (98.0%).							

### 2.3. Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості нових 4-піразолілзаміщених тiazолідинонів

4-Гетериліміно-2-тіазолідинони є недостатньо вивченим та розкритим питанням синтезу біологічно активних сполук. Причиною цього є обмежені функціональні особливості оксо/тіоксо групи положення 4 тiazолідинового ядра, що в свою чергу звужує можливості синтетичних перетворень даного класу сполук. Однією з найбільш популярних реакцій, які дозволяють одержати 4-гетерилзаміщені тiazолідинони є аміноліз 4-тіоксотiazолідин-2-ону (ізороданіну) з відповідними гетероциклічними амінами, що дозволяє одержати 4-імінотіазолідинони. Також варто зауважити, що на сьогоднішній час в літературі неописано 4-імінотіазолідинони з 1,2-

діазольним (піразолоновим) фрагментом, а лише з 1,3-діазольними (імідазольним), морфоліновим та піперазиновим гетероциклами, тощо [68] (Рис.2.25).

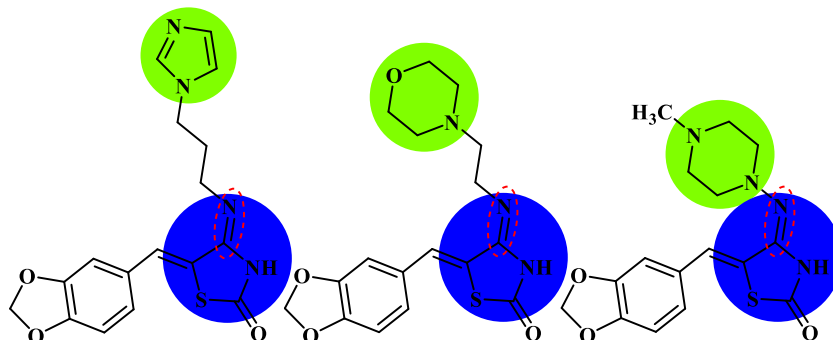


Рис. 2.25. Сучасні тенденції у синтезі 4-імінотіазолідинонів з різними гетерильними фрагментами.

### 2.3.1. Синтез та фізико-хімічні властивості 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-ону

Продовжуючи системне дослідження піразолін-тіазолідинових гібридних молекул нами одержано 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-он **2.23**, як ключовий реагент для хімічних перетворень з метою пошуку біологічно активних молекул та вивчення можливої прототропної аміно-імінної таутомерії. Для синтезу цільової сполуки як вихідні сполуки нами було обрано 3-метил-1*H*-піразол-5-амін **2.20** та ізороданін [69] (Рис. 2.26).

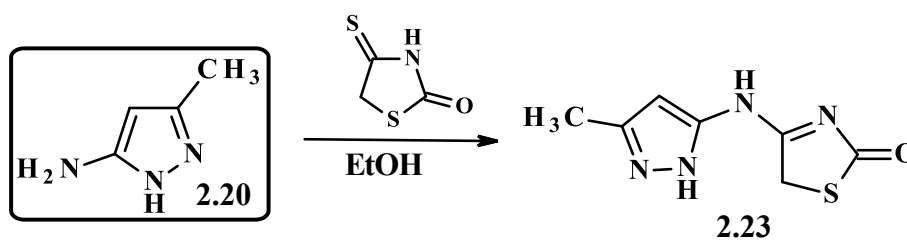


Рис. 2.26. Синтез похідного **2.23**.

Одержаний 4-амінотіазолідинон **2.23** - кристалічний порошок світло-сірого кольору розчинний при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, нерозчинний у спиртах, воді та діетиловому етері. Очистку одержаної сполуки проводили перекристалізацією із суміші ДМФА:етанол (1:2). Фізико-хімічні властивості сполуки **2.23** наведено в таблиці 2.9.

Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики сполуки **2.23**

Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вираховано, %			Знайдено, %		
			C	H	N	C	H	N
94	239-241	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> OS	42.85	4.11	28.55	42.89	4.13	28.58
<b>Спектри <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z</b>								
<sup>1</sup> H ЯМР: 2.20 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 4.39 (с, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.40 (с, 1H, =CH, піразол), 11.36 (с, 1H, NH), 12.26 (с, 1H, NH, піразол). <sup>13</sup> C ЯМР: 11.0 (CH <sub>3</sub> ), 38.8 (C-4, тiazолідин), 97.0 (C-4', піразол), 139.4 (C-3', піразол), 147.7 (C-5', піразол), 176.1 (C-4, тiazолідин), 185.0 (C-2, тiazолідин, C=O). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 196 [M+H] <sup>+</sup> (100.0%).								

### 2.3.2. Синтез та фізико-хімічні властивості 5-ен заміщених 4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-онів

Наявність активної метиленової групи в 5 положенні 4-амінотіазолідинового ядра **2.23** дозволяє провести модифікацію даного похідного за реакцією Кньювенегеля з відповідними альдегідами (середовище – оцтова кислота, каталізатор – ацетат натрію) і утворенням 5-ілідезаміщених 4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-онів **2.24-2.29** (5-ен-тіазолідинонів) [69] (Рис. 2.27).

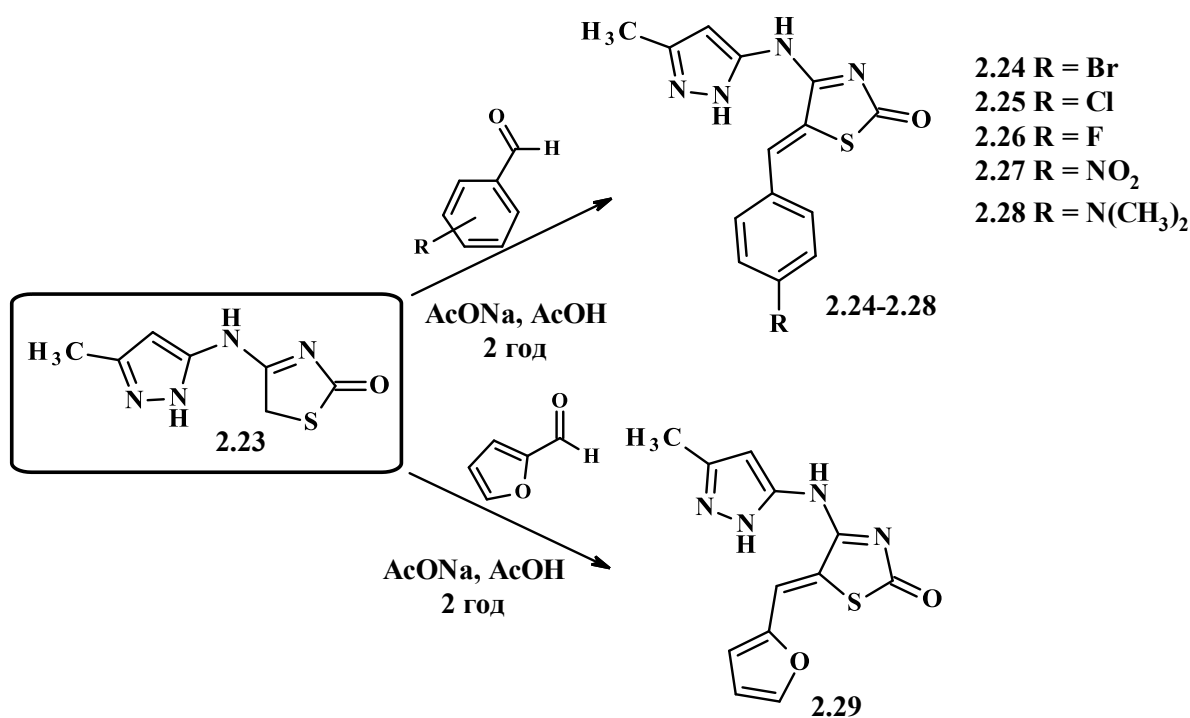


Рис. 2.27. Синтез 5-ен-4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-онів **2.24-2.29**.

З метою оптимізації синтезу 5-арилідензаміщених 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-онів нами опрацьовано зустрічний синтез на прикладі (5*Z*)-5-[(4-фторофеніл)метилден]-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]тіазол-2-ону **2.26**, що ґрунтувався на взаємодії 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну **2.20**, ізороданіну та 4-фторобензальдегіду у середовищі етанолу в умовах однореакторної трикомпонентної реакції (Рис. 2.28), що дозволило досягнути значно вищого виходу цільового продукту **2.26** (89 %). Також вищезгаданий амін **2.20** було введено з відповідними 5-ариліден/гетериліден(ізо)тіороданінами з метою одержання цільових некондесованих молекул, проте результатом реакції було виділення трициклічних піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів, що більш детально описано в розділі 4 даної дисертаційної роботи.

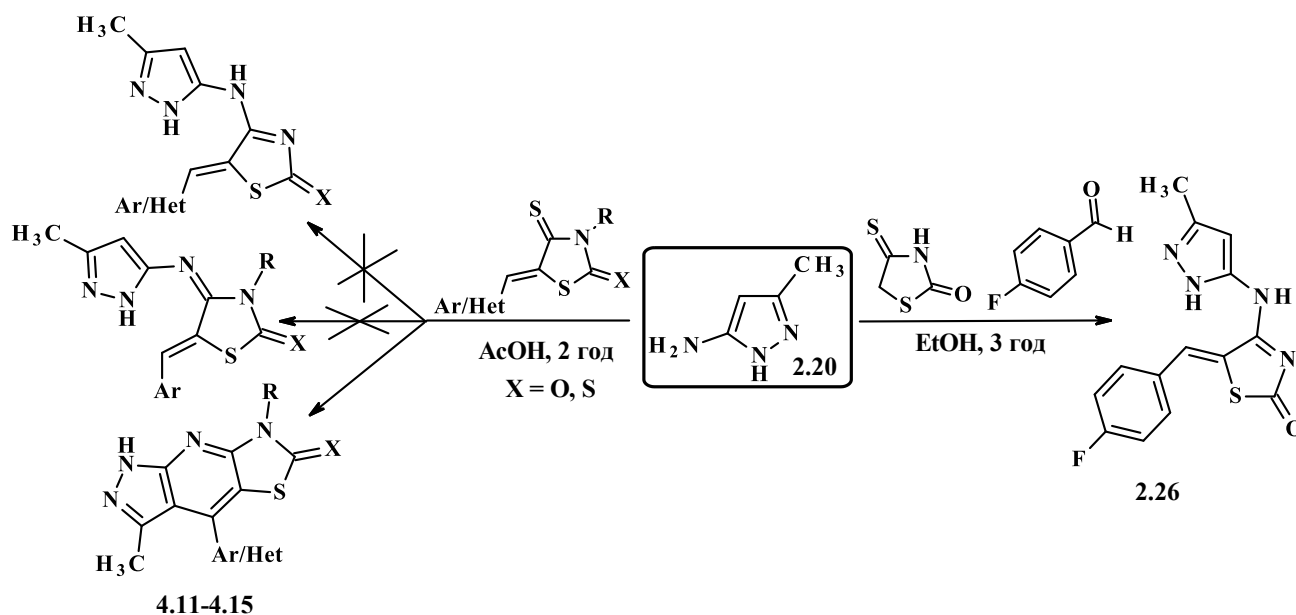


Рис. 2.28. Зустрічний синтез сполуки **2.26** шляхом однореакторної трикомпонентної реакції та молекул **4.11-4.15** через взаємодію 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну з 5-ариліден/гетериліден(ізо)тіороданінами.

Синтезовані 5-ен-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-они **2.24-2.27, 2.29** – жовті порошки, **2.28** – порошок темно-фіолетового кольору, розчинні при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, нерозчинні у спиртах (окрім **2.28**), воді, діетиловому ефірі, хлороформі, толуолі. Фізико-хімічні властивості одержаних молекул представлені в таблиці 2.10.



Таблиця 2.10

## Фізико-хімічні властивості похідних 2.24-2.29

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
2.24	79	229-231	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> BrN <sub>4</sub> OS	46.29	3.05	15.42	46.33	3.09	15.45
2.25	70	240-242	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub> OS	52.75	3.48	17.57	52.77	3.51	17.60
2.26	78 89*	> 300	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> FN <sub>4</sub> OS	55.62	3.67	18.53	55.64	3.70	18.56
2.27	83	> 300	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	51.06	3.37	21.26	51.10	3.42	21.21
2.28	78	193-195	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> OS	58.70	5.23	21.39	58.75	5.28	21.44
2.29	92	223-225	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	52.55	3.67	20.43	52.60	3.72	20.47

\*Розрахований вихід для похідного (2.26) за одnoreакторною трикомпонентною реакцією.

### 2.3.3. Спектральні характеристики 5-ен-4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-онів

Структура та чистота синтезованих 5-ариліден/гетериліден-4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-онів 2.24-2.29 підтверджена методами спектроскопії <sup>1</sup>H і <sup>13</sup>C ЯМР та хромато-мас-спектрометрії (таблиця 2.11).

Таблиця 2.11

## Спектральні характеристики сполук 2.24-2.29

Сполука	Спектр <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц)	LC-MS, m/z
2.24	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.28 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6.55 (с, 1H, =CH, піразол), 7.51 (д, J = 8.6 Гц, 2H, аром.), 7.74 (д, J = 8.6 Гц, 2H, аром.), 8.25 (с, 1H, =CH), 11.58 (с, 1H, NH), 12.51 (с, 1H, NH, піразол). <sup>13</sup> C ЯМР: 10.6 (CH <sub>3</sub> ), 97.8 (C-4', піразол), 123.3 (аром.), 127.6 (=CH), 129.5 (C-5, тіазолідин), 131.4 (аром.), 132.2 (аром.), 133.5, 139.0 (C-3', піразол), 147.2 (C-5', піразол), 169.4 (C-4, тіазолідин), 177.2 (C-2, тіазолідин, C=O).	363 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.25	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.27 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6.55 (с, 1H, =CH, піразол), 7.58 (с, J = 8.8 Гц, 2H, аром.), 7.61 (д, J = 8.7 Гц, 2H, аром.), 8.27 (с, 1H, =CH), 11.58 (с, 1H, NH, аміно), 12.51 (с, 1H, NH, піразол). <sup>13</sup> C ЯМР: 11.1 (CH <sub>3</sub> ), 98.3 (C-4', піразол), 128.0 (=CH), 129.8 (C-5, тіазолідин), 129.9, 131.7 (аром.), 133.6, 134.9 (аром.), 139.5 (C-3', піразол), 147.7 (C-5', піразол), 169.8 (C-4, тіазолідин), 177.7 (C-2, тіазолідин, C=O).	317/319 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )

2.26	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.26 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6.53 (с, 1H, =CH, піразол), 7.39 (т, $J = 8.6$ Гц, 2H, аром.), 7.63 (дд, $J = 8.5, 5.3$ Гц, 2H, аром.), 8.28 (с, 1H, =CH), 11.52 (с, 1H, NH, аміно), 12.47 (с, 1H, NH, піразол).	302 (98%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.27	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.81 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6.65 (с, 1H, =CH, піразол), 7.93 (с, 1H, =CH), 8.09 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H, аром.), 8.18 (д, $J = 8.4$ Гц, 2H, аром.), 12.05 (с, 1H, NH), 12.86 (с, 1H, NH, піразол).	329 (98%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.28	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.25 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.01 (с, 6H, 2*CH <sub>3</sub> ), 6.63 (с, 1H, =CH, піразол), 7.03 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H, аром.), 7.43 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H, аром.), 7.78 (с, 1H, =CH), 11.21 (с, 1H, NH), 12.56 (с, 1H, NH, піразол).	327 (95%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.29	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.26 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6.52 (с, 1H, =CH, піразол), 6.76 (дд, $J = 3.6, 1.8$ Гц, 1H, фуран), 6.92 (д, $J = 3.6$ Гц, 1H, фуран), 8.04 (д, $J = 1.8$ Гц, 1H, фуран), 8.21 (с, 1H, =CH), 11.50 (с, 1H, NH), 12.45 (с, 1H, NH, піразол). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 11.13, 98.15, 114.04, 116.39, 117.43, 126.28, 139.45, 147.50, 147.79, 150.25, 169.38, 178.57.	274 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )

Синтезовані сполуки за рахунок прототропної аміно-імінної таутомерії можуть існувати у відповідних формах. Дослідження структури модельної сполуки **2.24** за допомогою одномірних (1D) та двомірних (2D) методик ЯМР (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) (Рис. 2.29) дозволяють трактувати аміноформу одержаних похідних.

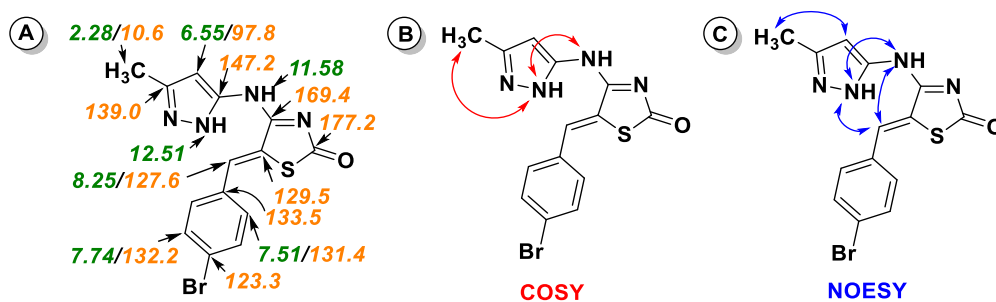


Рис. 2.29. А – віднесення сигналів атомів Гідрогену (позначені зеленим) та Карбону (позначені помаранчевим) у сполуці **2.24** (HSQC та HMBC спектри); В,С – ключові взаємодії у COSY та NOESY спектрах відповідно.

У спектрі  $^1\text{H}$  ЯМР похідного **2.24** протони піразольного фрагменту утворюють синглети при 2.28 (CH<sub>3</sub>) та 6.55 (=CH) м.ч. Ароматичні протони резонують у вигляді пари дублетів при 7.51 та 7.74 м.ч. з КССВ 8.6 Гц. Іліденовий протон утворює чіткий синглет при 8.25 м.ч. (Рис 2.30).

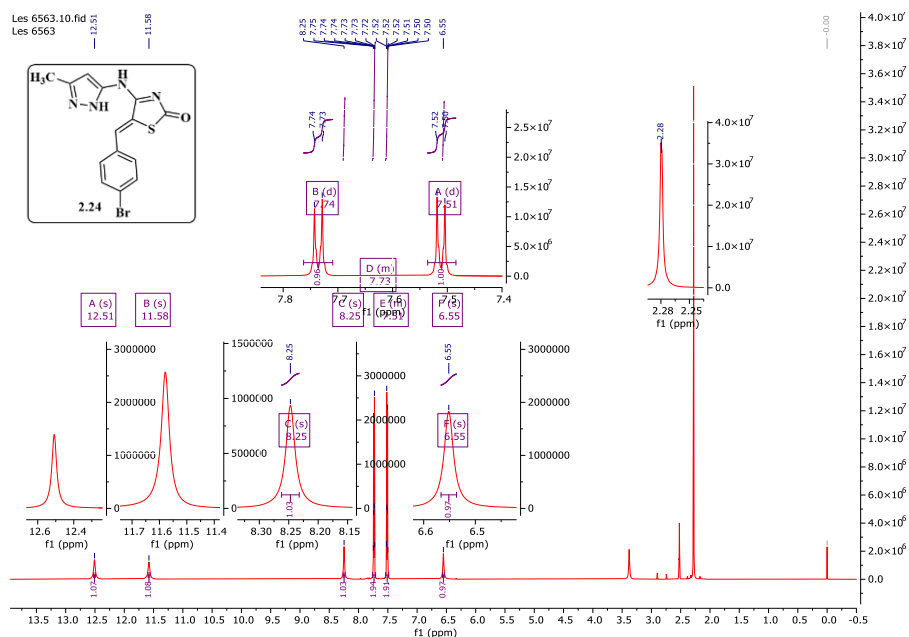


Рис. 2.30.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр сполуки **2.24**.

Наявність крос-піку в COSY спектрі сполуки **2.24** між сигналом протонів метильної групи при 2.28 м.ч. та синглету при 12.51 м.ч. дозволяє віднести останній сигнал до сигналу протону піразольного ядра. У свою чергу наявність крос-піків у COSY та NOESY спектрах між сигналами протонів при 11.58 м.ч. та при 12.51 м.ч. дозволяє констатувати існування **2.24** у вигляді аміноформи (Рис 2.31, 2.32).

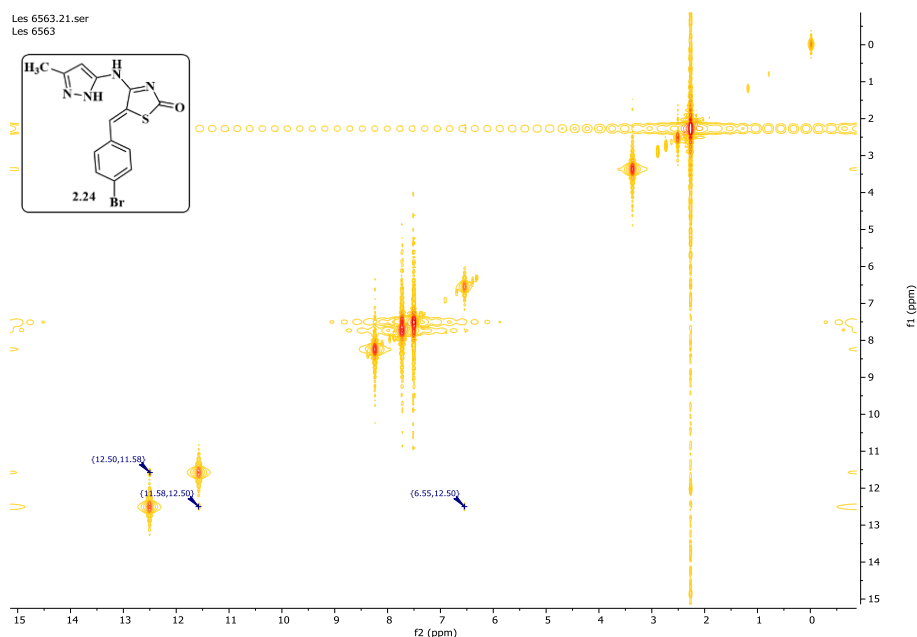


Рис. 2.31. COSY спектр молекули **2.24**.

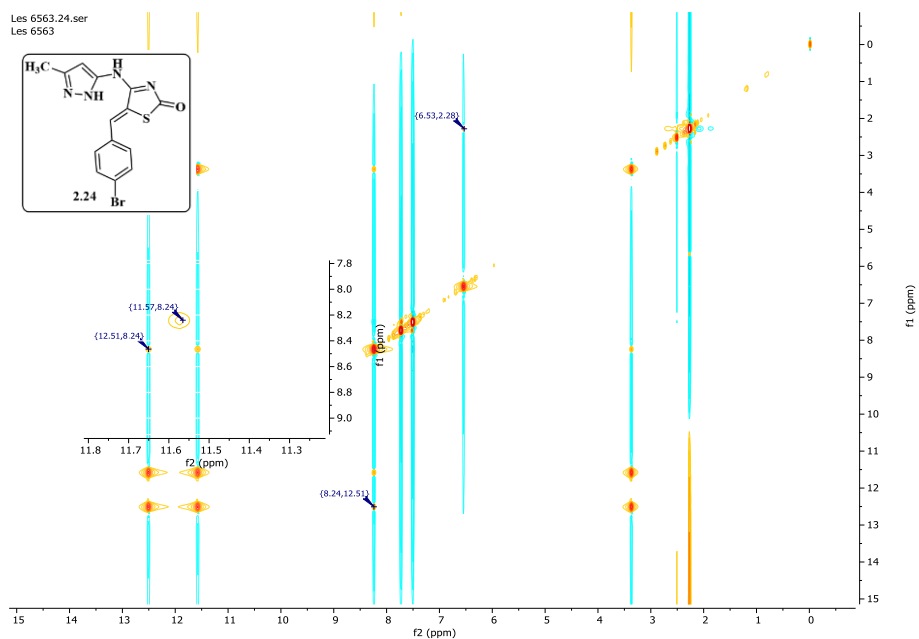


Рис. 2.32. NOESY спектр молекули **2.24**.

Фрагменти релевантних HSQC та HMBC спектрів наведені на рисунках 2.33 та 2.34 відповідно.

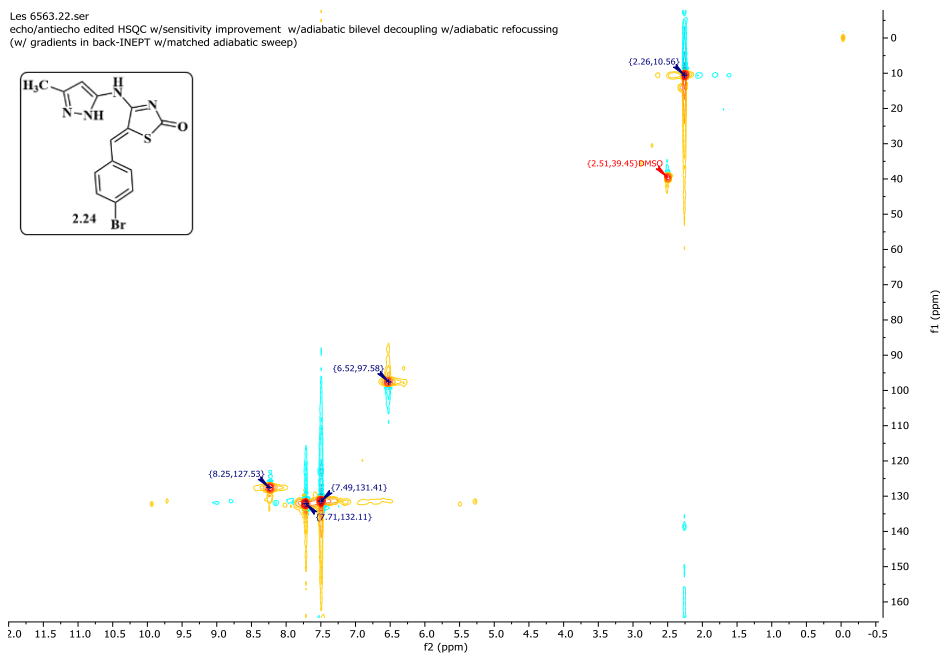


Рис. 2.33. HSQC спектр молекули **2.24**.

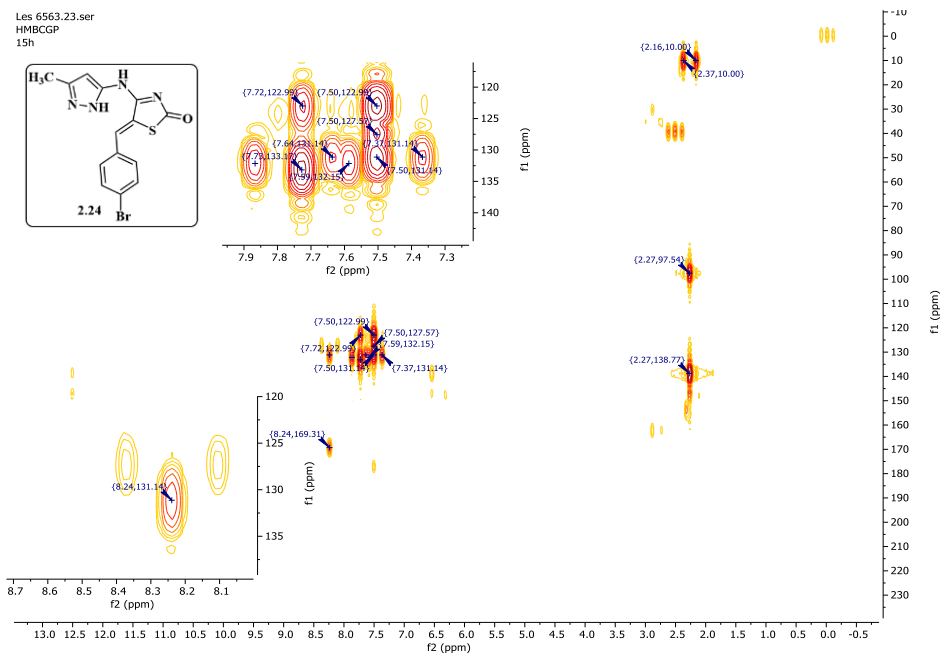


Рис. 2.34. НМВС спектр молекули **2.24**.

У  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрі сполуки **2.24** сигнали  $=\text{CH}$  іліденового фрагменту були визначені при 127.6 м.ч., а групи  $\text{C}=\text{O}$  тiazолідину при 177.2 м.ч. (Рис 2.34).

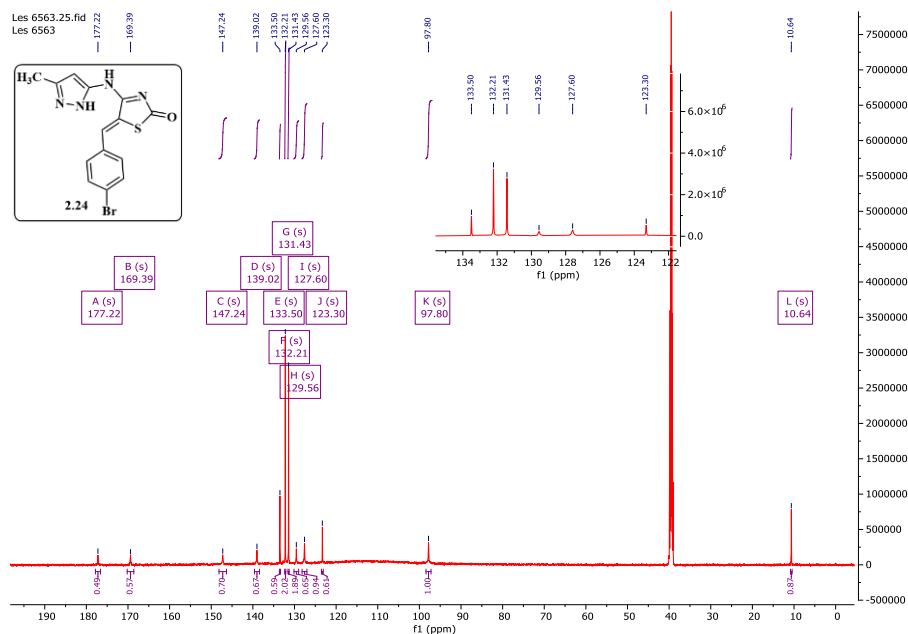


Рис. 2.35.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр сполуки **2.24**.

### 2.3.3.1. Рентгеноструктурний аналіз 5-(4-бромобензиліден)-4-(5-метил-2H-піразол-3-іламіно)-5H-тіазол-2-ону

Аміноформа сполук однозначно підтверджена рентгеноструктурним аналізом модельного похідного **2.24**, яке кристалізує з метанолу в орторомбичній системі та нецентросиметричній просторовій групі  $P2_12_12_1$  у формі сольвату з розчинником. Структуру **2.24** визначено як 5-(4-бромобензиліден)-4-(5-метил-2H-піразол-3-іламіно)-5H-тіазол-2-он (Рис. 2.36).

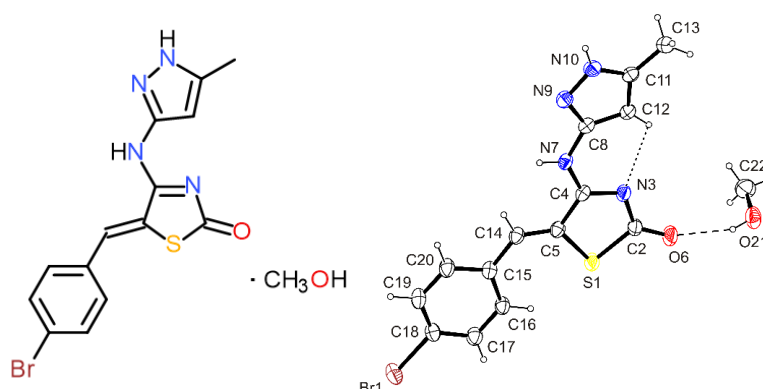


Рис 2.36. Схема та вигляд ORTEP молекули **2.24**·MeOH, що показує схему атомного маркування. Атоми, відмінні від Н, наведені як еліпсоїди зміщення з імовірністю 30%, а атоми Н – як сфери довільного розміру.

Сполука **2.24** демонструє схильність до прототропної таутомерії, яка може проявлятися у формі чотирьох таутомерних форм **A** – **D** (рисунок 2.37).

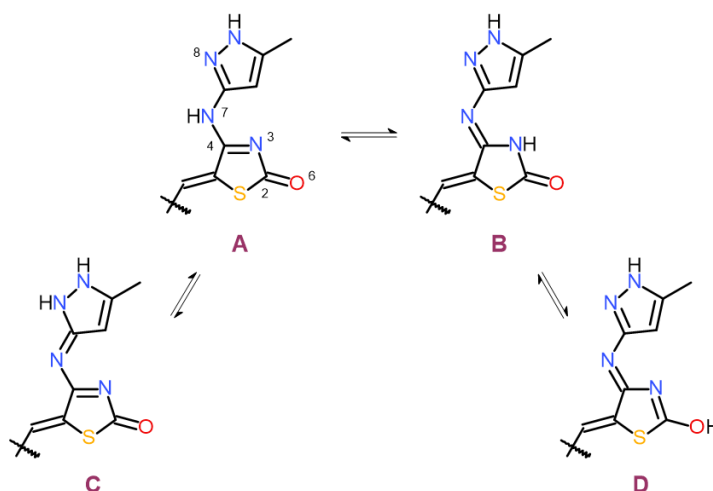


Рис 2.37. Таутомерні форми похідного **2.24**.

Рентгеноструктурний аналіз показує, що **2.24** має структуру в кристалі, яка відповідає таутомерній формі **A**, в якій екзоциклічний атом Нітрогену N-7 має амінний характер, а ендоциклічний атом N-3 - імінний. Положення атома Гідрогену в амідіновій групі (N3=C4–N7) було визначено на основі карт Фур'є та уточнено ізотропно. Його розташування підтверджено водневими зв'язками N7–H7···O21<sup>i</sup> (Рис. 2.38, Табл. 2.12). З метою порівняння проведено аналіз геометрії ізомерних молекул похідних 2-аміно-1,3-тіазол-4(5*H*)-ону, які депоновані у Cambridge Structural Database, версія 5.42, [70]. Аналіз показує, що в молекулах, які мають аміноформу, зв'язки C2–N3 і C2–N6 всередині амідінової групи (HN–C=N) демонструють сильну деформацію. Отримані для 44 структур (довідкові коди: AWUPEO, BANGOI, BOQVEL, CELLA1, EMOHAS, FIVPIJ, FIVPIJ01, GACXUF, GECXEU, GINYEJ, GIXTOZ, IHUKIH, IREHEK, IREXIO, IREXOU, IREYAH, IREYEL, IREYIP, IREYOV, IREYOV, IREYUB, IREZAI, IREZEM, KUKZUM, KUKZUM, LEQZIS, LEQZIS01, LOQBOK, PTHAZO10, PTHAZO10, REZCIJ, SINCOW, SINCOW, SINCUC, SINCUC, TEBDAH, UBUYEZ, UWOJIB, UYIPIC, VELBEU, XAXHAI, XULHOD, XULHOD, YAGFET;  $R \leq 0,075$ ) середні значення довжини цих зв'язків становили 1,317(1) і 1,323(1) Å відповідно. Як видно, літературні дані є порівняними та проміжними між типовою довжиною одинарного зв'язку  $Csp^2-Nsp^2$  [1,374(1) Å] [71] і довжиною подвійного зв'язку C=N [1,279(1) Å] [72]. Ефект резонансу (ефект зв'язку), що охоплює амідінову та карбонільну групи (N6–C2=N3–C4=O), є поясненням такого великого спотворення довжин одинарних і подвійних зв'язків C–N.

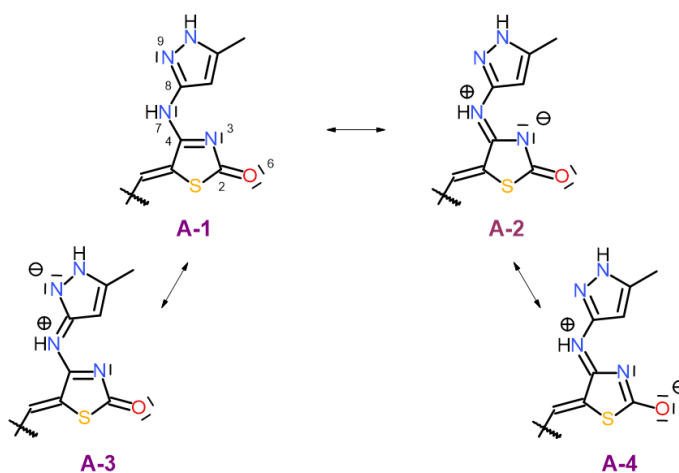


Рис 2.38. Мезомерні структури похідного **2.24**.

Знайдені міжатомні відстані N3–C4 [1.318(5) Å] і C4–N7 [1.342(5) Å] у сполуці **2.24** також сильно деформовані. Лише один із них (зв'язок N3–C4) відповідає літературним даним (див. довжину зв'язку C2–N3). Довжина зв'язку (C4–N7) явно подовжена на 0,019 Å (див. довжину зв'язку C2–N6), що вказує на послаблення частки екзоциклічного Нітрогену N-7 у результаті взаємодії з карбоніліміногрупою (C4=N3–C2=O6). Причиною цього є його участь у взаємодії з імінним зв'язком піразольної системи, що представлено структурою А-3 (Рис. 2.38). Про ефект спряження в системі атомів N7–C8=N9 свідчить, насамперед, укорочення зв'язку N7–C8 до величини 1.400(6) Å. Для порівняння, довжина такого ж зв'язку, що з'єднує атом N7 із фенільною системою (Ph), наявність якого скоріше не порушує ефект резонансу в системі атомів N7–C4=N3–C2=O6, становить 1.445(1) Å. Для літературної довжини зв'язку HN–Ph використані дані двох 4-аміно-1,3-тіазол-2(5H)-онів з Cambridge Structural Database, версія 5.42 [70], (коди: EYESUY, LAFHUY).

Молекула **2.24** приблизно плоска. Піразольна та фенільна системи утворюють із тіазоліноном двогранні кути 0.5(3) і 6.6(3)° відповідно. Значення торсійного кута N3–C4–N7–C8 [1.6(6)°] свідчить про синперипланарне розташування (піразол-3-іл)амінної системи, а торсійний кут S1–C5–C14–C15–0.7(7)° підтверджує *Z*-конфігурацію ариліденового залишку.

У досліджуваному кристалі молекули розчинника беруть участь в утворенні мережі водневих зв'язків (Табл. 2.12, Рис. 2.39а,b), відіграючи роль як донора, так і акцептора протонів. За допомогою водневих зв'язків O21—H21<sup>i</sup>…O6 і N7—H7<sup>i</sup>…O21<sup>i</sup>…N14—C14 вони скріплюють молекули сполуки, пов'язані спіральною віссю 21, у ланцюжки, що ростуть уздовж осі *b*. Утворені ланцюжки далі з'єднуються водневими зв'язками N10—H10<sup>ii</sup>…N9<sup>ii</sup> (Рис. 2.39 b) у тривимірну мережу водневих зв'язків.



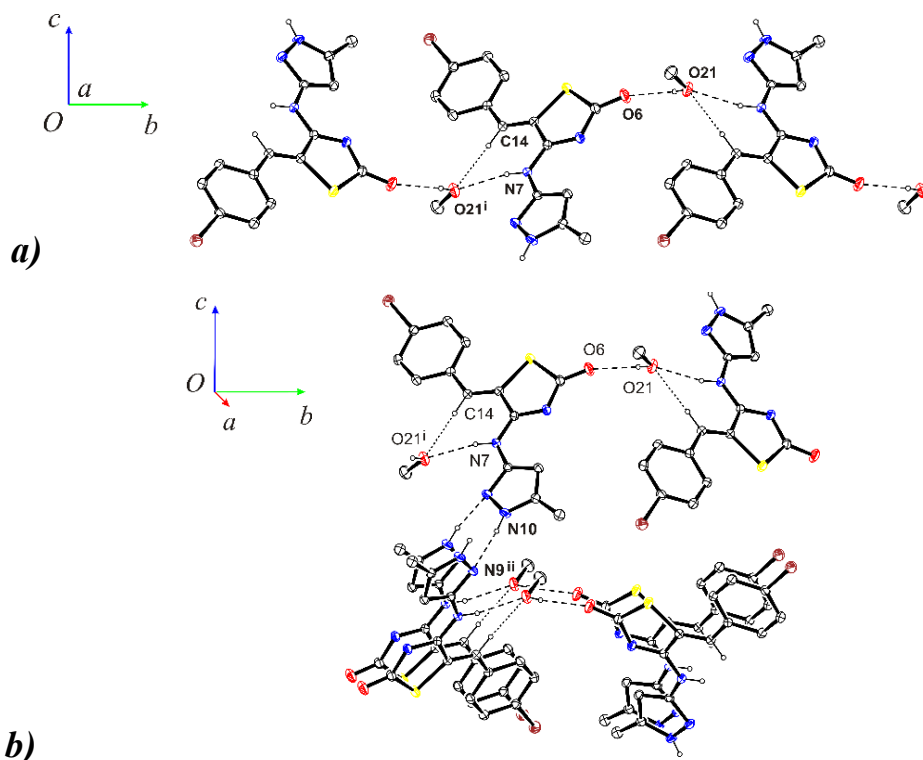


Рис. 2.39. Водневі зв'язки в елементарній комірниці. Молекули, з'єднані водневими зв'язками N—H...O, O—H...O та C—H...O, зображено штриховою та пунктирною лініями, відповідно.

Таблиця 2.12

Водневі зв'язки в кристалічній структурі 2.24·EtOH.

$D-H\cdots A$	$D-H$ (Å)	$H\cdots A$ (Å)	$D\cdots A$ (Å)	$D-H\cdots A$ (°)
N7—H7...O21 <sup>i</sup>	0.83(5)	2.09(5)	2.902(5)	166(5)
N10—H10...N9 <sup>ii</sup>	0.84(5)	2.18(5)	2.992(5)	165(5)
O21—H21...O6	0.78(7)	2.03(7)	2.749(5)	155(7)
C14—H14...O21 <sup>i</sup>	0.93	2.39	3.304(6)	169

Коди симетрії: (i) 2-x,-1/2+y,1/2-z; (ii) 1/2+x,1/2-y,-z.

### 2.3.4. Синтез та спектральні характеристики 1-(N'-(4-[5-(4-хлорофеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-2-оксо-2H-тіазол-5-іліден)-гідразон)-антрахінону

Завершальною роботою щодо вивчення хімії 4-піразолілзаміщених тіазолідинів було проведення реакції по активній метиленовій групі 4-[3-(4-хлорофеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5H-тіазол-2-ону **2.30** з відповідним антрахінонвмісним тріазеном [73] (Рис 2.40). Вихідна сполука **2.30** була одержана за відомим методом [7].

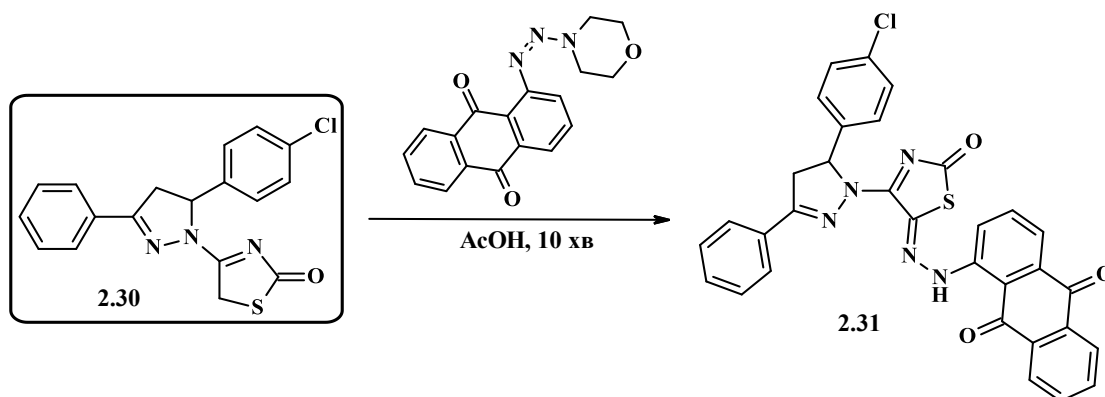


Рис. 2.40. Синтез 1-(*N'*-{4-[5-(4-хлорофеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-2-оксо-2*H*-тіазол-5-іліден}-гідразон)-антрахінону **2.31**.

Поєднання піразолін-тіазолідину з фармакофорним антрацен-9,10-діоновим фрагментом обґрунтована значним фармакологічним потенціалом структурно споріднених гетероциклічних систем [74]. З хімічної точки зору функціоналізований 9,10-антрахінон у вигляді триазену є цікавим реагентом для модифікації положення 5 4-заміщених тіазолідинонів, оскільки найпопулярнішим механізмом проведення таких реакції є нуклеофільна атака енольною чи іміно-формою СН-кислот, що можливе лише при наявності оксо чи первинної/вторинної аміногрупи в 4 положенні тіазолідинового ядра [75,76]. У нашому випадку аміно-імінна таутомерія 4-амінопохідних сприятиме проведенню такої реакції (Рис. 2.41).

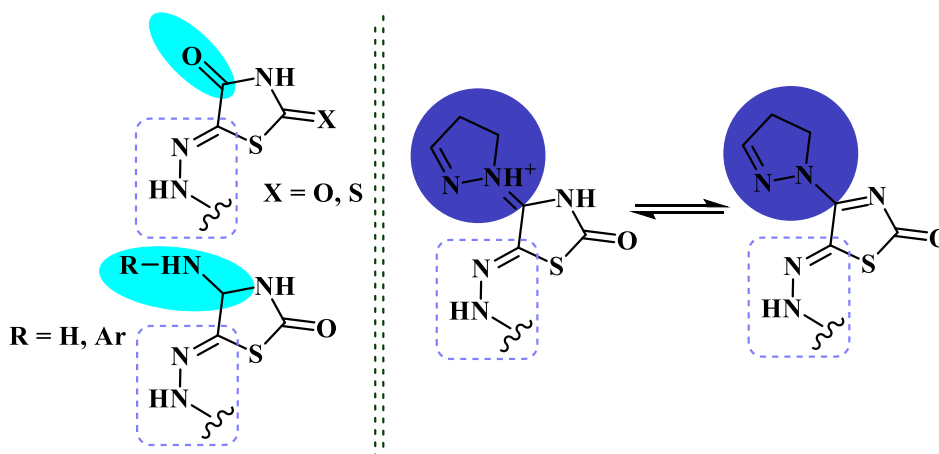


Рис. 2.41. Обґрунтування синтезу 5-арилгідразонів 4-аміно-2-тіазолонів.

Реакція проходила в середовищі оцтової кислоти, що призвело до кислотного гідролізу морфолінового фрагменту триазену **a** з утворенням ацетату діазонію **b**. Утворений діазокатіон **c** є сильним електрофільним реагентом, який в реакції

азосполучення реагує з нуклеофільною метиленою групою 4-іміно таутомеру **2.30\*** з утворенням **2.31** (Рис 2.42).

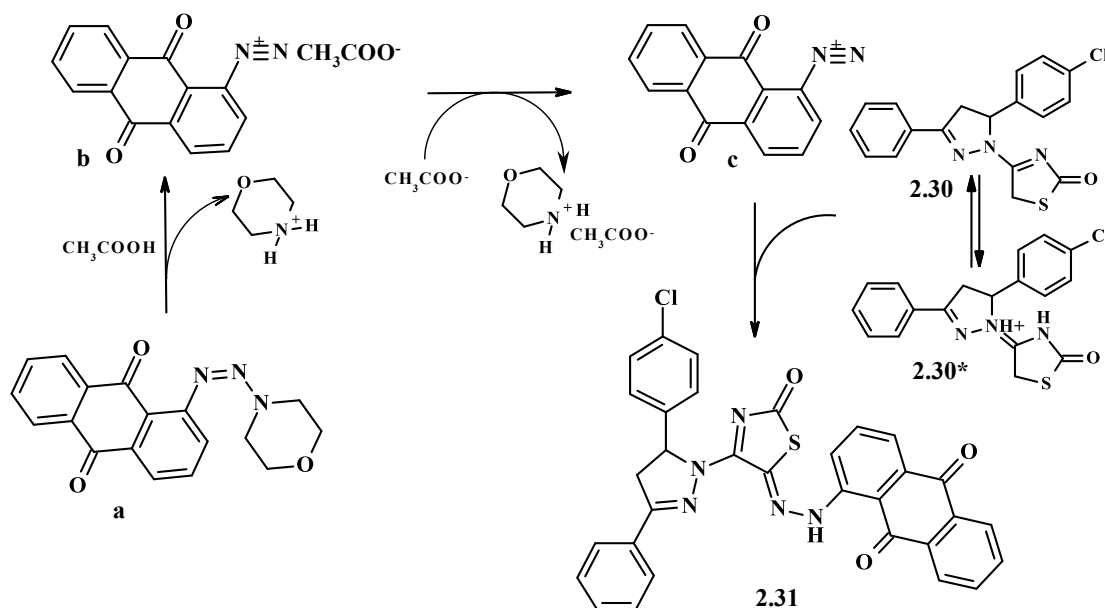


Рис. 2.42. Можливий механізм реакції синтезу сполуки **2.31**.

Синтезований 1-(*N'*-{4-[5-(4-хлорофеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-2-оксо-2*H*-тіазол-5-іліден}-гідразон)-антрахінону **2.31** – порошок темно-червоного кольору, розчинний при нагріванні у ДМФА, нерозчинний у оцтовій кислоті, спиртах, воді та діетиловому ефірі. Структура та чистота сполуки підтверджена елементним аналізом та спектрами ЯМР (Табл 2.13).

Таблиця 2.13

Фізико-хімічні властивості сполуки **2.31**

Вихід, %	$T_{\text{топл.}}$ , °C	Брутто- формула	Вираховано, %			Знайдено, %		
			C	H	N	C	H	N
72	>280	$\text{C}_{32}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{O}_3\text{S}$	65.14	3.42	11.87	65.20	3.35	11.73
<b>Спектри <math>^1\text{H}</math> та <math>^{13}\text{C}</math> ЯМР, <math>\sigma</math> (м.ч.), <math>J</math> (Гц); LC-MS, m/z</b>								
$^1\text{H}$ ЯМР: 3.35 (м, 1H, $\text{CH}_2$ ), 4.04 (м, 1H, $\text{CH}_2$ ), 6.01 (м, 1H, CH), 7.35 (д, 2H, $J = 8.4$ Гц, аром.), 7.44 (д, 2H, $J = 8.0$ Гц, аром.), 7.63-7.66 (м, 2H, аром.), 7.88-7.97 (м, 5H, аром.), 8.00-8.05 (м, 2H, аром.), 8.17-8.21 (м, 2H, аром.), 8.35 (м, 1H, аром.), 10.39 (с, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 51.7 ( $\text{CH}_2$ ), 66.3 (CH), 122.1, 127.8, 128.1, 128.9, 130.5, 133.6, 135.7, 136.0, 136.7, 139.7, 140.9, 141.2 (C=N), 154.4, 163.6, 170.9 (C=O), 184.6 (C=O), 187.1 (C=O). LC-MS (ESI+): 589/591 $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (100.0%).								

## 2.4. Синтез та перетворення нових піразолілзаміщених 5-ен-тіазолідинонів

Різноманіття модифікацій положення 5 тіазолідинового ядра передусім є можливим за рахунок високої нуклеофільної активності метиленової групи, що дозволяє утворити 5-еновий зв'язок з арильними чи гетерильними фрагментами. У контексті зазначеного підходу популярними об'єктами дослідження багатьох наукових груп є піразолілзаміщені 5-ен-тіазолідиони (Рис 2.43).

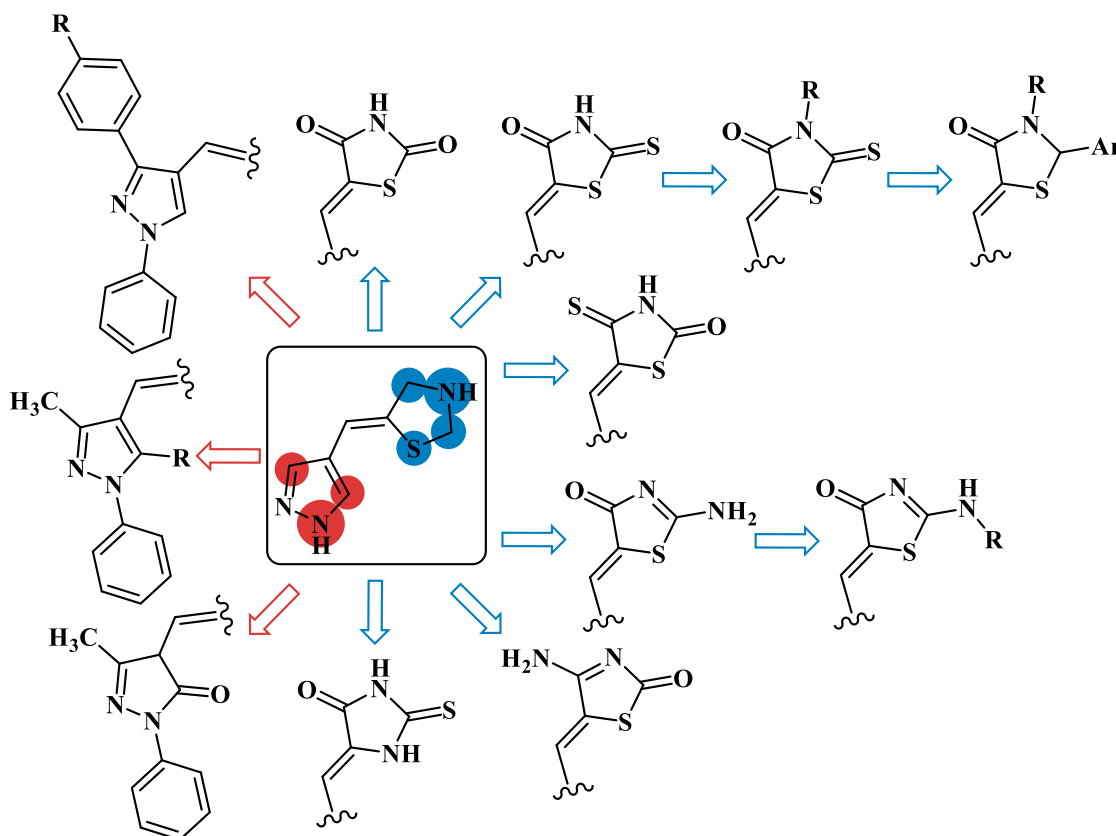


Рис. 2.43. Піразолілзаміщені 5-ен-тіазолідиони як об'єкти досліджень.

### 2.4.1. Синтез та перетворення нових 5-ен 1,3-дифенілпіразол-4-іл заміщених тіазолідинів та споріднених гетероциклів

З метою продовження системних досліджень піразолілзаміщених 5-ен-тіазолідинонів вихідними реагентами для одержання цільових сполук було обрано 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіди **2.14**, **2.32-2.34**, які було введено в реакцію Кньюенагеля з 2-тіоксо-4-тіазолідиномом, 4-тіоксо-2-тіазолідиномом, 2,4-тіазолідиндіоном, 4-аміно-5*H*-тіазол-2-оном, 2-аміно-4-тіазолідиномом та ізомерним 2-тіоксо-4-імідазолідиномом, що дозволило одержати молекули **2.35-2.43**. Для

утворення C=C-зв'язку було апробовано різні умови реакцій. Так, для 5-ен-тіазолідинонів **2.35-2.37**, **2.41-2.43** реакцію проводили в оцтовій кислоті з каталітичною кількістю ацетату натрію, для сполук **2.38**, **2.39** - реакційним середовищем був абсолютний етанол та етилендіаміацетат (ЕДДА) як основний каталізатор, а для 5-гетериліденпохідного 2,4-тіазолідиніону **2.40** синтез відбувався в толуолі з використанням ацетату амонію. Похідне **2.35** було обрано для наступного синтетичного перетворення, а саме лужного гідролізу піразолвмісної меркаптоакрилової кислоти **2.44** [77,78] (Рис. 2.44).

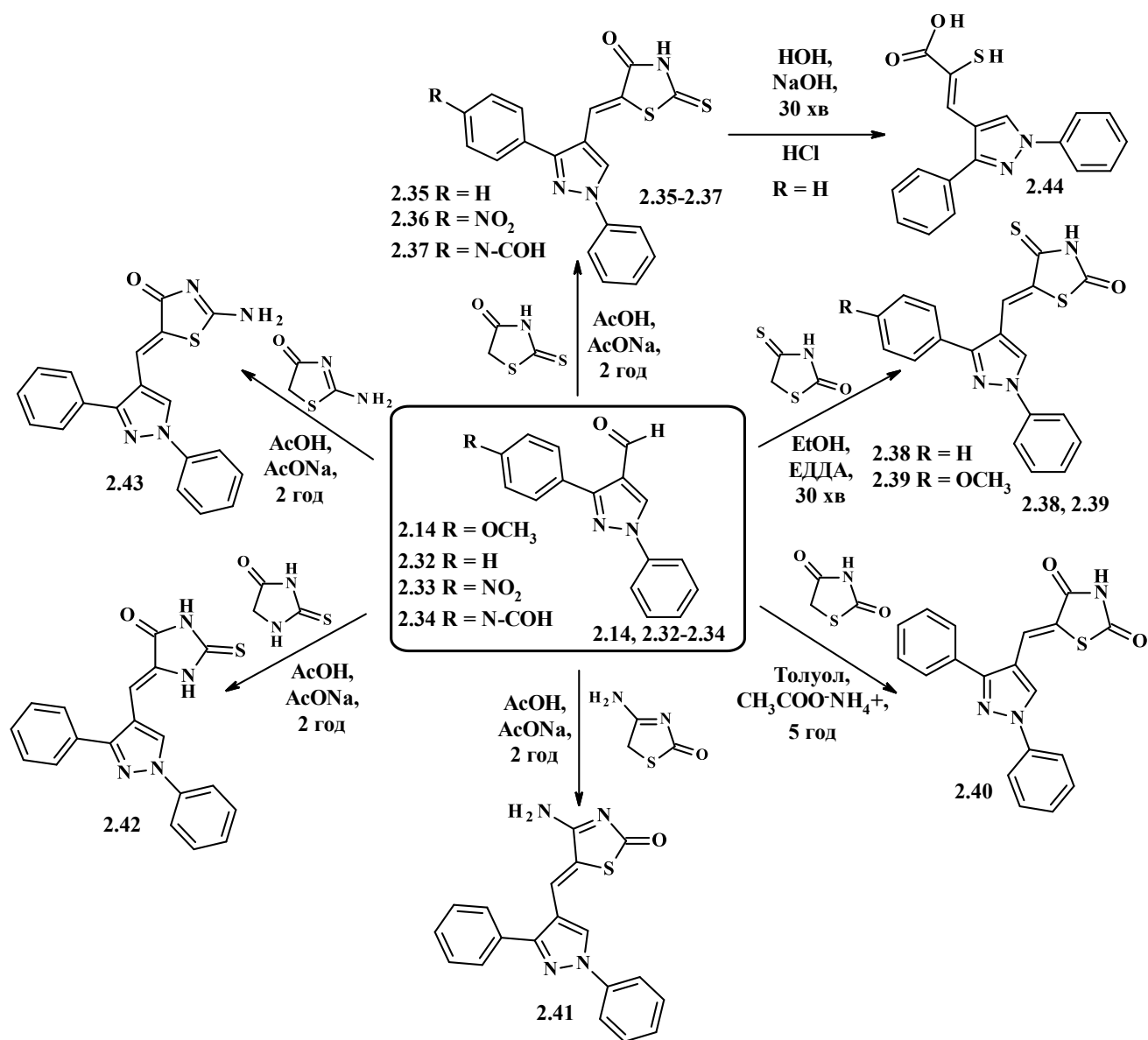


Рис. 2.44. Синтез 5-(1,3-дифеніл-1H-піразол-4-ілметилен)-тіазолідинонів.

Синтезовані сполуки **2.46-2.37, 2.40-2.41, 2.44** – порошки жовтого кольору, похідні **2.38, 2.42** та **2.43** – порошки оранжевого кольору, похідне **2.39** – червоний порошок. Одержані сполуки розчинні у ДМФА, оцтовій кислоті, нерозчинні у спиртах, бензолі, толуолі, воді та діетиловому ефірі. Фізико-хімічні властивості синтезованих гетероциклічних сполук наведені в таблиці 2.14.

Таблиця 2.14

Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук **2.35-2.44**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
<b>2.35</b>	91	298-300	C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> OS <sub>2</sub>	62.79	3.61	11.56	62.72	3.65	11.62
<b>2.36</b>	89	> 300	C <sub>19</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	55.87	2.96	13.72	55.80	3.01	13.77
<b>2.37</b>	85	285-287	C <sub>20</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	59.10	3.47	13.78	59.15	3.53	13.72
<b>2.38</b>	93	276-278	C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> OS <sub>2</sub>	62.79	3.61	11.56	62.84	3.66	11.50
<b>2.39</b>	90	283-285	C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	61.05	3.84	10.68	61.10	3.79	10.62
<b>2.40</b>	95	278-280	C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	65.69	3.77	12.10	65.75	3.80	65.68
<b>2.41</b>	80	280-282	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> OS	65.88	4.07	16.17	65.96	3.99	16.23
<b>2.42</b>	92	> 300	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> OS	65.88	4.07	16.17	65.94	4.03	16.10
<b>2.43</b>	90	> 300	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> OS	65.88	4.07	16.17	65.82	4.13	16.09
<b>2.44</b>	83	245-247	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	67.06	4.38	8.69	67.00	4.30	8.75

Структура синтезованих сполук підтверджена даними хромато-мас-спектрометрії, <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопії, які наведені у таблиці 2.15.

Таблиця 2.15

Спектральні характеристики синтезованих сполук **2.35-2.44**

Сполука	Спектр <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц)	LC-MS, m/z
1	2	3
<b>2.35</b>	<sup>1</sup> H ЯМР: δ 7.40 (т, J = 7.4 Hz, 1H аром.), 7.59 – 7.47 (м, 6H, аром. + СН), 7.63 (д, J = 7.3 Hz, 2H аром.), 8.00 (д, J = 8.0 Hz, 2H, аром.), 8.68 (с, 1H, СН, піразол), 12.52 (с, 1H, NH, тiazолідон). <sup>13</sup> C ЯМР: 115.98, 119.86, 122.54, 123.11, 127.95, 128.49, 129.18, 129.44, 130.10, 131.83, 154.06, 167.53, 167.96 (C=O).	364 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )

2.36	<b><sup>1</sup>H ЯМР:</b> 7.33 – 7.44 (м, 2H, аром.), 7.53 (т, $J = 7.8$ Hz, 2H, аром.), 7.87 – 7.93 (м, 2H, аром., CH=), 8.01 (д, $J = 8.0$ Hz, 2H, аром.), 8.30 – 8.38 (м, 2H, аром.), 8.73 (с, 1H, CH=, піразол), 13.75 (s, 1H, NH, тiazолідон). <b><sup>13</sup>C ЯМР:</b> 116.58, 119.98, 121.36, 124.58, 126.02, 128.29, 129.38, 130.04, 130.15, 138.05, 138.94, 148.00, 151.74, 169.38 (C=O), 195.44.	409 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.37	<b><sup>1</sup>H ЯМР:</b> 7.35-7.43 (м, 3H, аром.), 7.51-7.59 (м, 3H, аром. + CH= іліден), 7.76 (д, $J = 8.3$ Hz, 2H, аром.), 8.01 (д, $J = 7.9$ Hz, 2H, аром.), 8.33 (с, 1H, CH=, піразол), 8.69 (д, $J = 3.9$ Hz, 1H, CH), 10.40 (с, 1H, NH, амід), 13.67 (с, 1H, NH, тiazолідон). <b><sup>13</sup>C ЯМР:</b> 116.1, 117.9, 119.8, 122.3, 124.9, 126.7, 127.9, 128.8, 129.8, 130.0, 130.3, 139.2, 139.4, 153.9, 160.3, 169.7 (C=O), 195.6 (C=O).	407 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.38	<b><sup>1</sup>H ЯМР:</b> 7.41 (т, $J = 7.4$ Hz, 1H, аром.), 7.53 (т, $J = 6.5$ Hz, 2H, аром.), 7.57 (дд, $J = 7.6, 3.8$ Hz, 3H, аром. + CH іліден), 7.63 (д, $J = 7.3$ Hz, 2H, аром.), 7.97 – 8.04 (м, 3H, аром.), 8.76 (с, 1H, CH= піразол), 13.74 (с, 1H, NH). <b><sup>13</sup>C ЯМР:</b> 116.90, 119.97, 126.91, 128.41, 128.66, 129.19, 129.41, 129.56, 129.98, 130.20, 131.66, 139.12, 155.07, 170.68 (C=O) 195.06 (C=S).	364 (99%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.39	<b><sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>):</b> 3.15 (дд, 1H, $J = 4.5, 18.1$ Гц, CH <sub>2</sub> ), 3.72 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.86 (дд, 1H, $J = 11.8, 18.1$ Гц, CH <sub>2</sub> ), 4.32 (д, 1H, $J = 15.1$ Гц, SCH <sub>2</sub> ), 4.45 (д, 1H, $J = 15.1$ Гц, SCH <sub>2</sub> ), 5.52 (дд, 1H, $J = 4.4, 11.6$ Гц, CH), 6.87 (д, 2H, $J = 8.6$ Гц, аром.), 7.14 (д, 2H, $J = 8.6$ Гц, аром.), 7.29 (с, 2H, NH <sub>2</sub> ), 7.44-7.50 (м, 3H, аром.), 7.80 (д, 2H, $J = 7.5$ Гц, аром.).	394 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.40	<b><sup>1</sup>H ЯМР:</b> 7.40 (т, $J = 7.4$ Hz, 1H аром.), 7.59 – 7.47 (м, 6H, аром. +CH іліден), 7.63 (д, $J = 7.3$ Hz, 2H аром.), 8.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, аром.), 8.68 (с, 1H, CH, піразол), 12.52 (с, 1H, NH, тiazолідинон). <b><sup>13</sup>C ЯМР:</b> 115.98, 119.86, 122.54, 123.11, 127.95, 128.49, 129.18, 129.44, 130.10, 131.83, 154.06, 167.53, 167.96 (C=O).	348 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.41	<b><sup>1</sup>H ЯМР:</b> 7.41 (т, $J = 7.4$ Hz, 1H, аром.), 7.51 – 7.73 (м, 8H, аром. +CH іліден), 7.97 (д, $J = 7.8$ Hz, 2H, аром.), 8.65 (с, 1H, CH піразол), 9.06 (с, 2H, NH <sub>2</sub> ).	347 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )

2.42	$^1\text{H}$ ЯМР: 7.38-7.44 (м, 2H), 7.49 (т, $J = 7.4$ Hz, 1H, аром.), 7.55 (т, $J = 7.6$ Hz, 4H, аром. +CH іліден), 7.60 – 7.67 (м, 2H, аром.), 7.95 (д, $J = 8.0$ Hz, 2H, аром.), 8.61 (с, 1H, піразол), 9.12 (с, 1H, NH), 9.37 (с, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 117.22, 119.41, 119.63, 127.56, 127.88, 128.87, 129.09, 129.49, 130.01, 130.23, 132.17, 139.43, 153.39, 175.23 (C-2), 180.39 (C=O).	347 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.43	$^1\text{H}$ ЯМР: 7.38-7.44 (м, 2H), 7.49 (т, $J = 7.4$ Hz, 1H, аром.), 7.55 (т, $J = 7.6$ Hz, 4H, аром. +CH іліден), 7.60 – 7.67 (м, 2H, аром.), 7.95 (д, $J = 8.0$ Hz, 2H, аром.), 8.61 (с, 1H, піразол), 9.12 (с, 1H, NH <sub>2</sub> ), 9.37 (с, 1H, NH <sub>2</sub> ). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 117.22, 119.41, 119.63, 127.56, 127.88, 128.87, 129.09, 129.49, 130.01, 130.23, 132.17, 139.43, 153.39, 175.23 (C-2), 180.39 (C=O).	347 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.44	$^1\text{H}$ ЯМР: 7.34 – 7.44 (м, 3H, аром.), 7.54 – 7.64 (м, 4H, аром. + CH іліден), 7.70 (с, 1H, аром.), 7.85 (д, $J = 7.9$ Hz, 2H, аром.), 7.95 (д, $J = 7.9$ Hz, 1H, аром.), 9.14 (с, 1H, піразол), 12.93 (шс, 1H, COOH). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 115.89, 119.52, 119.70, 126.00, 128.96, 129.25, 130.09, 130.30, 131.85, 137.51, 137.66, 139.33, 154.74, 166.77 (C=O).	323 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )

#### 2.4.2. Синтез та вивчення реакційної здатності 5-(3-метил-1-фенілпіразол(дигідропіразол)-4-ілметилен)-тіазолідинонів

Наступним етапом наших досліджень стала модифікація 1,2-діазольного ядра, як функціоналізованого прекурсора для дизайну піразол-тіазолідинових кон'югатів. Введення нових реакційних центрів, серед яких активна метиленова група у положенні 4 4-дигідропіразол-3-ону чи атом Хлору у молекулі 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду, розширюють можливості хімічних реакцій (Рис. 2.45).

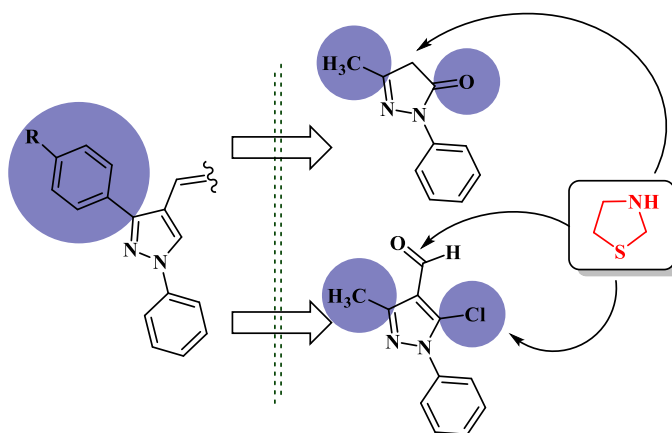


Рис. 2.45. Структурні особливості 1,2-діазолів для синтезу нових піразол-тіазолідинових кон'югатів.



Вихідним реагентом для синтезу 5-((5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-іл)метиліден)-2-тіоксо-4-тіазолідинону **2.47** був обраний 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-он **2.45**. Сполука **2.45** в умовах реакції Вільсмаєра - Хаака утворює 5-хлоро-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-карбальдегід **2.46**, що став реагентом для проведення реакції Кньювенагеля з 2-тіоксо-4-тіазолідиномом для отримання цільового похідного **2.47**. Вищезгаданий піразолон **2.45** в якості сполуки з активною метиленою групою був введений в реакцію з відповідними 5-етоксиметилєнроданінами для одержання 5-(3-метил-5-оксо-1-феніл-4,5-дигідро-1*H*-піразол-4-ілметилєн)-2-тіоксотіазолідин-4-онів **2.48** та **2.49** [79] (Рис. 2.46).

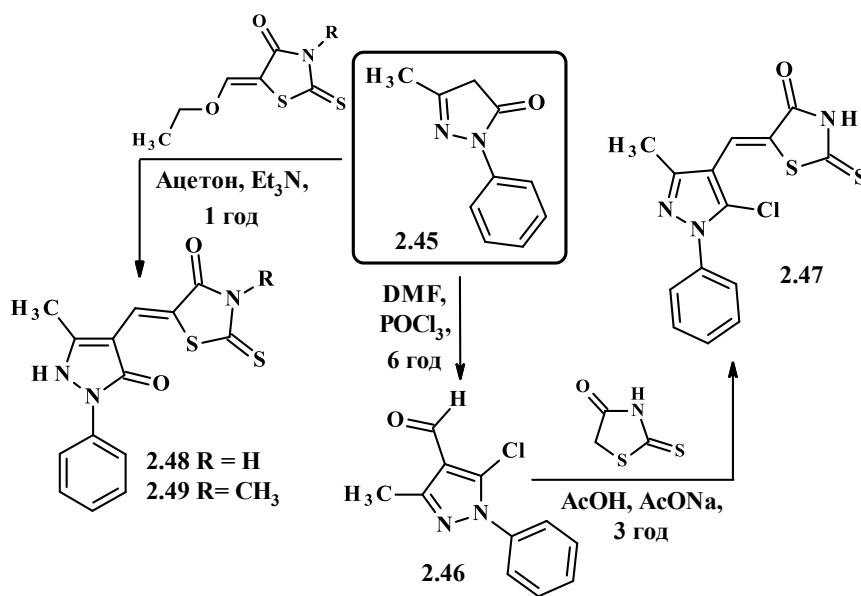


Рис. 2.46. Синтез 5-гетерилідєнроданінів **2.46-2.49**.

Наступним етапом нашого дослідження була спроба делокалізації подвійного зв'язку у положенні 5 тіазолідинового ядра (5-єнового зв'язку) у похідного роданіну з 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-оновим фрагментом з метою порівняльного дослідження залежності структура – біологічна активність шляхом біоізоєстерної заміни (Рис. 2.47).

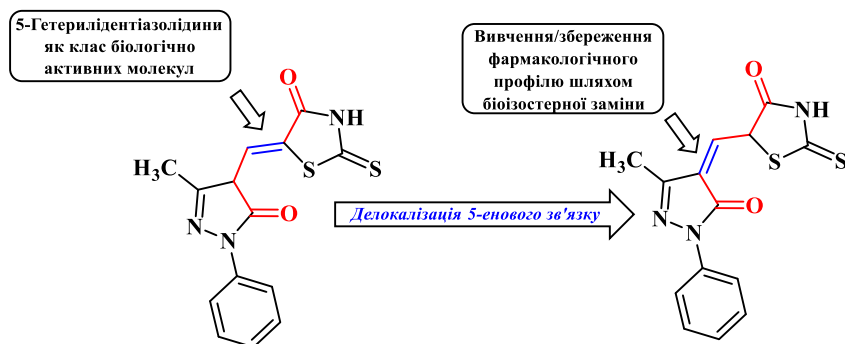


Рис. 2.47. Делокалізація 5-енового зв'язку піразолін-тіазолідину

Вихідною речовиною для реалізації даного синтетичного перетворення було обрано метиленактивний піразол-3-он **2.45**, який у реакції з триетилортоформіатом в середовищі оцтового ангідриду при нагріванні повинен був утворити відповідне 4-етоксипохідне піразол-3-ону **2.50\***, проте задані реакційні умови призвели до одержання 4-(5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-ілметилен)-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону **2.50**. Такий самий результат спостерігався при проведення реакції протягом 72 годин при кімнатній температурі (Рис. 2.48).

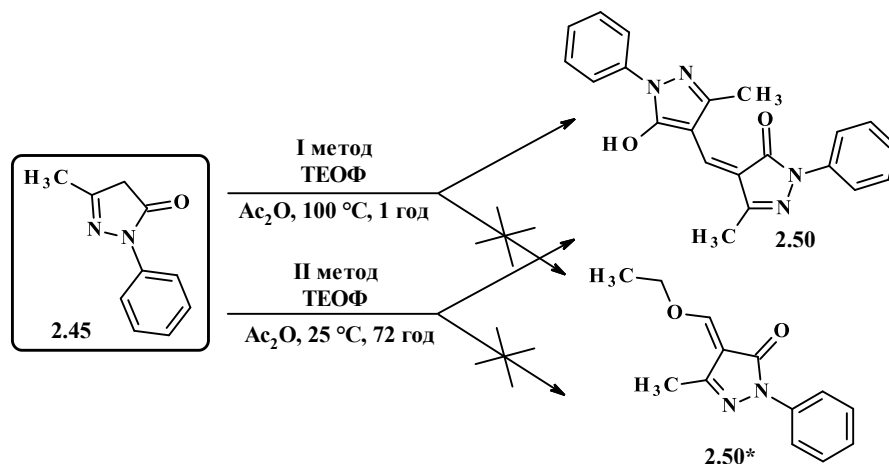


Рис. 2.48. Синтез 4-(5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-ілметилен)-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону **2.50**.

Однією з можливих причин проходження наведеної вище реакції є реакційна здатність 5-етоксиметиленпохідного піразол-3-ону **2.50\***, який неможливо ізолювати через атаку подвійного зв'язку реагенту високонуклеофільною метиленовою групою непрореагованого піразол-3-ону (Рис. 2.49).

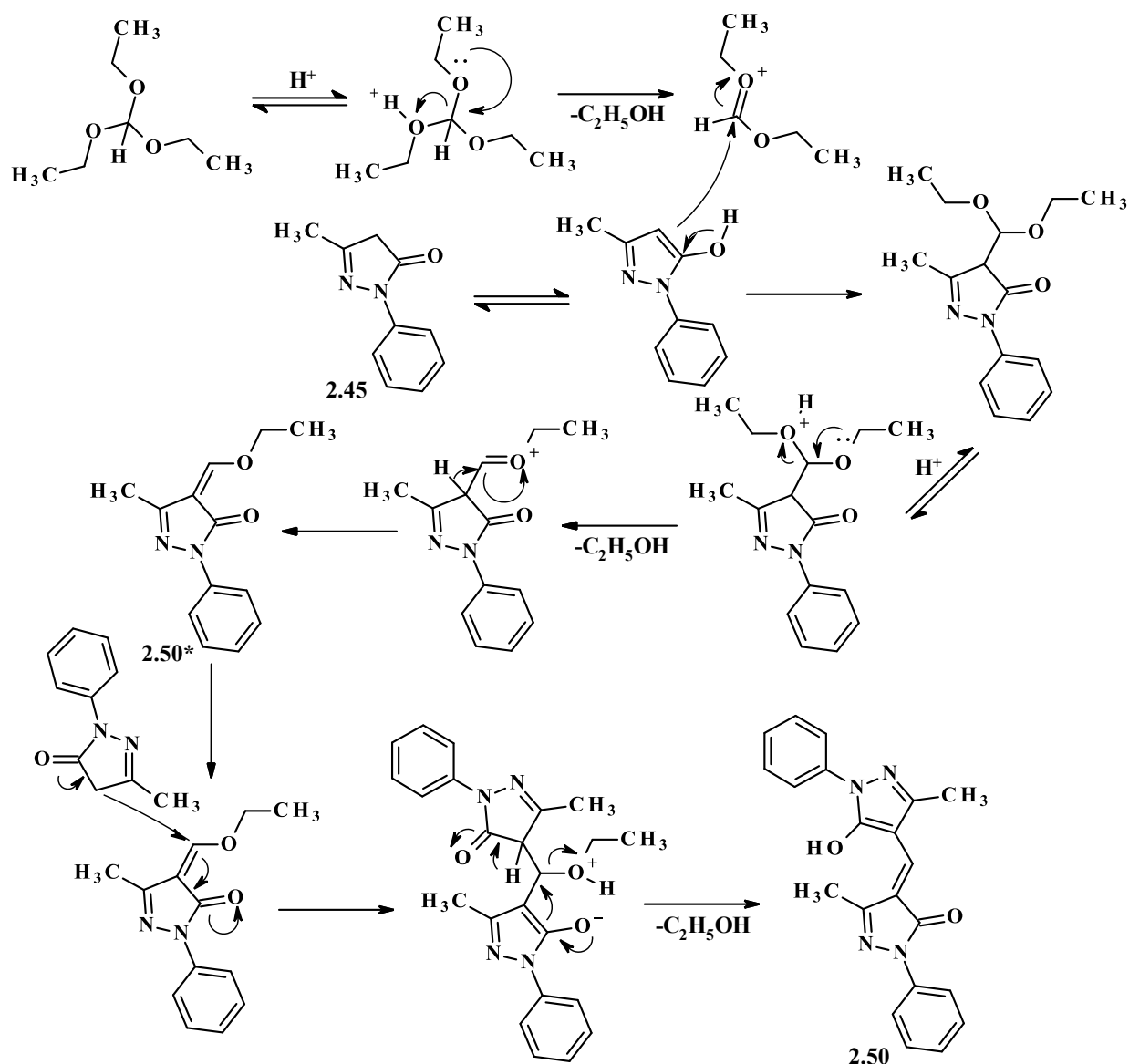


Рис. 2.49. Можливий механізм реакції одержання похідного **2.50**.

Враховуючи проведення даної реакції двома методами - при нагріванні та кімнатній температурі, можна зробити висновок, що результат реакції не залежить від температурних умов. Одним з ключових етапів синтезу є гідроліз ортоестру, що ентропійно є сприятливим для одержання реактивного етоксиметиленетил оксонію, який легко реагує з енольною формою піразолу. Протонований продукт через елімінування  $E_1$  дозволяє утворити етилетоксиметиленпіразолон. Під час вивільнення  $C_2H_5OH$  утворюється карбокатион, який стабілізується сусідньою етоксигрупою. Гідроген, що розташований біля атома Карбону в положенні 4 піразольного ядра має кислотні властивості, оскільки він локалізований між кетогрупою піразолу та

новоутвореною карбоксилатною групою, тому вивільняється молекулою  $C_2H_5OH$ . Наступний етап утворення С-С зв'язку проходив шляхом нуклеофільної атаки непрореагованого активного енольного піразолу на екзоциклічний подвійний зв'язок інтермедіату **2.50\*** з наступною елімінацією етоксигрупи, що дозволило одержати димер **2.50** (Рис 2.49).

Варто зауважити, що схожий підхід до одержання 1,2-діазольних молекул такого типу є описаний у праці Wrzesciono та співавторів [80], які використовували функціоналізовані похідні піразолу у реакції з борогідридом натрію та одержали 4,4'-метиленбіспіразол-3-он (кето-форму). У публікації Gurta та співавторів [81], в якості вихідної сполуки для формування С-С зв'язку було обрано формальдегід, який при взаємодії з піразол-3-оном утворює 4,4'-метиленбіс(3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-5-ол), молекулу з двома піразольними фрагментами у енольній формі (Рис 2.50).

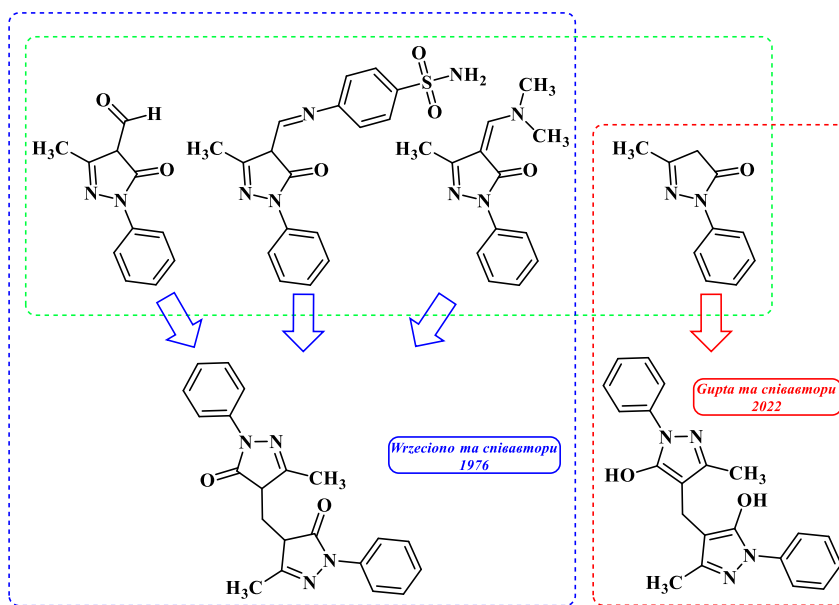


Рис. 2.50. Синтез 4,4'-бісметилен-1,2-діазолів.

З огляду на таку специфічну реакційну здатність піразол-3-ону **2.45** нами було запропоновано одержання його 4-диметиламінометиленопохідного **2.51** шляхом взаємодії з ДМФ-ДМА в середовищі толуолу. Одержаний функціоналізований піразол-3-он **2.51** був введений в реакцію з 2-тіоксо-4-тіазолідином середовищі толуолу при нагріванні протягом 8 годин, що привело до утворення диметиламонійної солі **2.52**, а не до цільового похідного **2.52\*** (Рис 2.51).

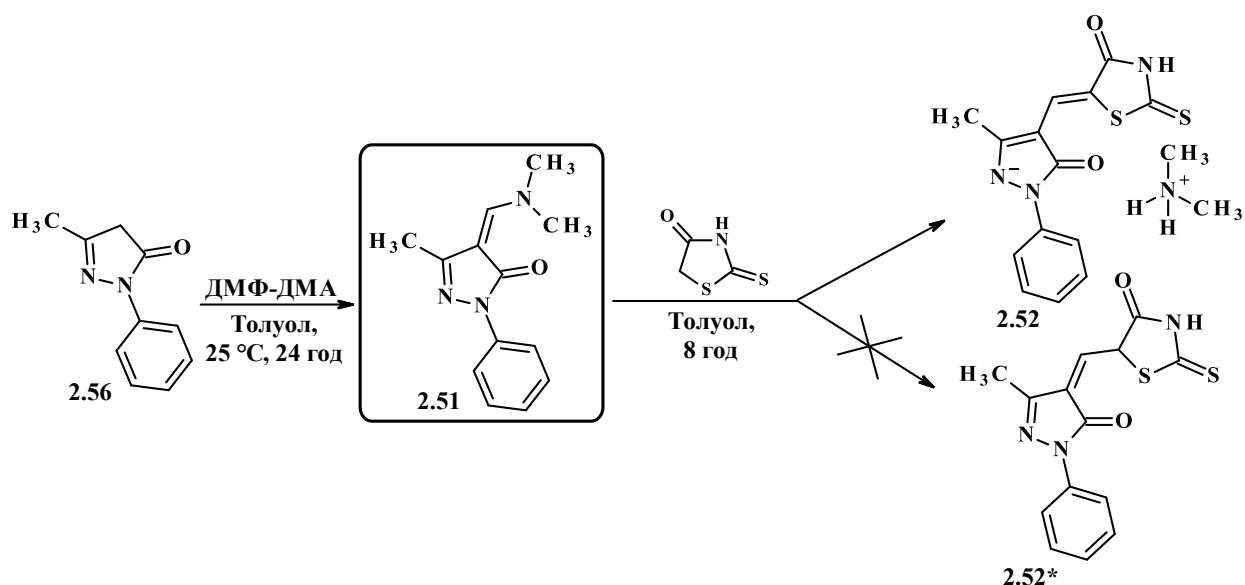


Рис. 2.51. Синтез 4-диметиламінометилєнпіразол-3-ону **2.51** та диметиламонію 5-метил-4-((4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-їлідєн)метил)-3-оксо-2-фєніл-2,3-дигідропіразол-1-їду **2.52**.

Синтезовані піразолвмісні молекули **2.47**, **2.51** – порошки жовтого кольору, сполуки **2.48-2.50** **2.52** – червоного. Похідні **2.47-2.50**, **2.52** при нагріванні розчинні у ДМФА, оцтовій кислоті та спиртах, нерозчинні у толуолі (окрім **2.51**), воді та діетиловому етері. Для синтезованих сполук **2.47-2.52** було вивчено фізико-хімічні властивості та проведено елементний аналіз (Табл. 2.16).

Таблиця 2.16

Фізико-хімічні властивості та дані елементного аналізу  
піразолвмісних молекул **2.47-2.52**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
<b>2.47</b>	83	198-200	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>3</sub> OS <sub>2</sub>	50.07	3.00	12.51	50.14	2.95	12.58
<b>2.48</b>	79	278-280	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	52.98	3.49	13.24	52.92	3.41	13.31
<b>2.49</b>	69	281-283	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	54.36	3.95	12.68	54.54	4.10	12.55
<b>2.50</b>	91	179-181	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	70.38	5.06	15.63	70.30	5.12	70.36
<b>2.51</b>	75	134-136	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O	68.10	6.59	18.33	68.00	6.50	18.40
<b>2.52</b>	70	241-243	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	53.02	5.01	15.46	52.90	5.11	15.59

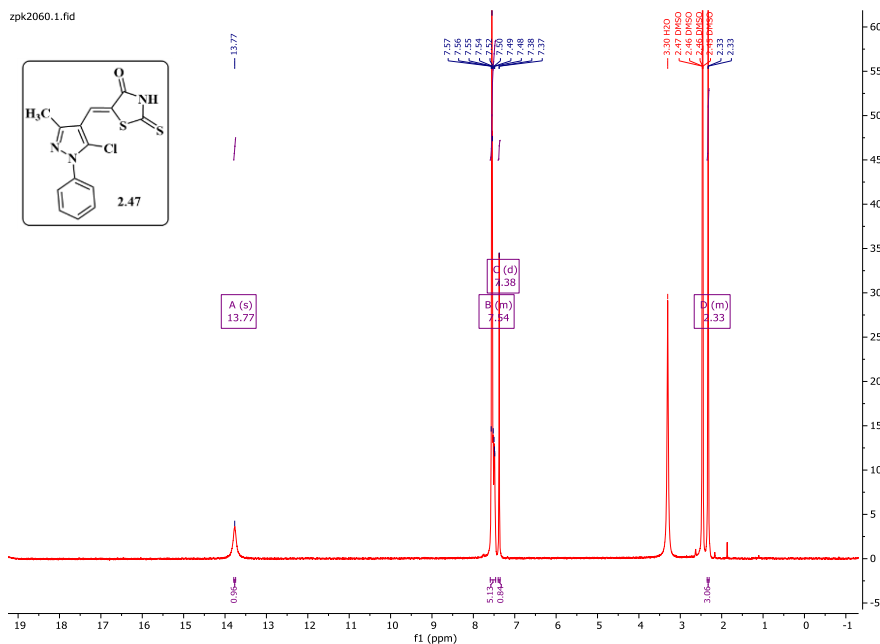
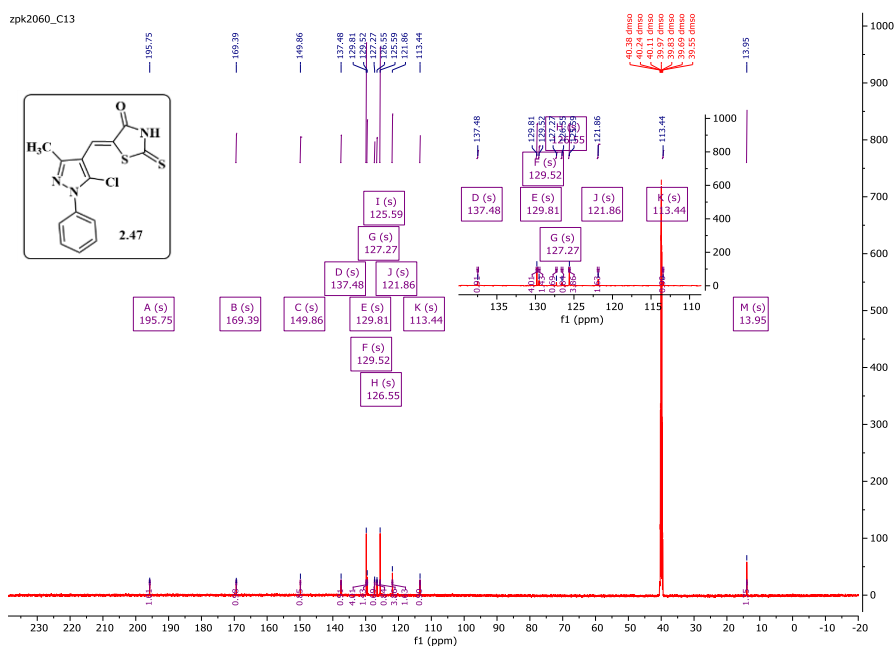
Структура синтезованих сполук підтверджена даними хромато-мас-спектрометрії і спектроскопії  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР (Табл. 2.17).

Таблиця 2.17

Спектральні характеристики піразолінвмісних молекул **2.47-2.52**

Сполука	Спектр $^1\text{H}$ та $^{13}\text{C}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц)	LC-MS, $m/z$
1	2	3
2.47	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.30 – 2.35 (м, 3H, $\text{CH}_3$ ), 7.38 (д, $J = 1.2$ Гц, 1H, =CH), 7.46 – 7.59 (м, 5H, аром.), 13.77 (с, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 13.95, 113.44, 121.86, 125.59, 126.55, 127.27, 129.52, 129.81, 137.48, 149.86, 169.39 (C=O), 195.75 (C=S).	336/338 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.48	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.36 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 7.20-7.32 (м, 2H, аром.), 7.42-7.54 (м, 2H, аром., =CH), 7.66 (д, 2H, $J = 7.0$ Гц, аром.), 13.18 (с, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 11.4 ( $\text{CH}_3$ ), 100.7, 116.6, 120.4, 125.3, 126.2, 129.5, 136.2, 150.5, 160.0 (C=O), 170.2 (C=O), 197.9 (C=S).	318 (100%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.49	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.35 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 3.35 (с, 3H, $\text{NCH}_3$ ), 7.26 (т, 1H, $J = 7.3$ Гц, аром.), 7.41 (с, 1H, =CH), 7.48 (т, 2H, $J = 7.7$ Гц, аром.), 7.70 (д, 2H, $J = 8.0$ Гц, аром.). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 11.1, 30.9, 100.9, 119.8, 125.5, 126.4, 129.0, 136.2, 150.1, 155.1, 160.1, 167.6, 195.2.	332 (100.0%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.50	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.37 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.38 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 7.33 (т, $J = 7.4$ Гц, 2H, аром.), 7.47 – 7.55 (м, 6H, аром.), 7.84 (д, $J = 8.1$ Гц, 4H, аром.).	359 (100.0%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.51	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.11 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 3.32 (с, 3H, $\text{N-CH}_3$ ), 3.76 (с, 3H, $\text{N-CH}_3$ ), 7.03 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H, аром.), 7.31 (т, $J = 7.8$ Гц, 2H, аром.), 7.46 (с, 1H, $\text{CH=}$ ), 7.93 (д, $J = 8.1$ Гц, 2H, аром.). $^{13}\text{C}$ ЯМР: 13.43 ( $\text{CH}_3$ ), 42.88 ( $\text{CH}_3$ ), 47.25 ( $\text{CH}_3$ ), 97.55, 117.96, 122.98, 128.40, 139.87, 150.80, 153.79, 161.62 (C=O).	230 (100.0%, [M+H] <sup>+</sup> )
2.52	$^1\text{H}$ ЯМР: 2.14 (с, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.52 (д, $J = 5.0$ Гц, 6H, $(\text{CH}_3)_2$ ), 7.04 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H, аром.), 7.18 (с, 1H, аром.), 7.32 (т, $J = 7.8$ Гц, 2H, аром. =CH), 7.90 (д, $J = 8.0$ Гц, 2H, аром.), 8.16 – 8.11 (шс, 2H, $\text{NH}_2$ ), 12.66 (с, 1H, NH, тiazолідин).	317+46 (98.7%, [M+H] <sup>+</sup> )

Спектри  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР для молекули **2.47** наведено на рисунках 2.52 та 2.53 відповідно.

Рис. 2.52.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр сполуки 2.47Рис. 2.53.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр сполуки 2.47

#### 2.4.2.1. Рентгеноструктурний аналіз (*Z*)-5-((5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-іл)метиліден)-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-ону

На основі рентгеноструктурного аналізу було підтверджено, що сполука 2.47 має структуру (*Z*)-5-((5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-іл)метиліден)-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-ону (Рис. 2.54).

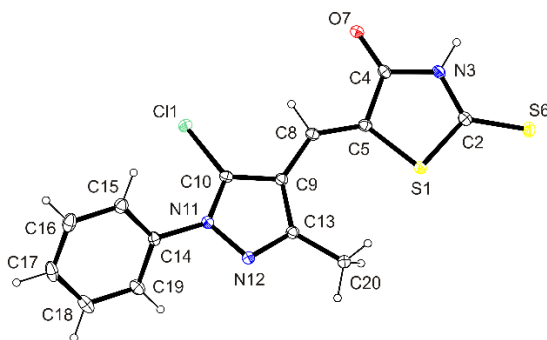


Рис. 2.54. Вигляд ORTEP молекули **2.47**, що показує схему атомного маркування (атоми, відмінні від H, показані як еліпсоїди зміщення з ймовірністю 30%, атоми H – як сфери довільного розміру).

Гетероциклічні системи, компоненти фрагмента 5-((5-хлоро-3-метилпіразол-4-іл)метиліден)-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-ону, розташовані копланарно, утворюючи одну майже плоску систему (r.m.s.d. = 0.0598 Å). Залишок фенільного кільця, присутнього в положенні N11 системи 5-хлоро-3-метилпіразолу, утворює з останньою двогранний кут 48.35(6)°, що є результатом обертання фенільного кільця навколо зв'язку N11-C14.

Знайдена довжина подвійного зв'язку C5=C8 [1.350(2) Å] у метиліденовому містку значно збільшена приблизно на  $9\sigma$  порівняно з літературною довжиною подвійного зв'язку C=C [1.331(1) Å] [72], тому що в резонансному ефекті бере участь зв'язок C5=C8, але не з карбонільною групою C4=O7, що належить до системи 2-тіоксо-4-тіазолідинону. Про відсутність взаємодії подвійного зв'язку C5=C8 із згаданою карбонільною групою свідчить знайдена довжина одинарного зв'язку C4–C5 [1.481(2) Å], що відповідає літературній довжині одинарного некон'югованого зв'язку  $Csp^2-Csp^2$  [1.478(1) Å] [72] і довжиною C4=O7 [1.225(2) Å], що узгоджується з літературною довжиною зв'язку C=O [1.222(1) Å] [72]. Натомість подвійний зв'язок C5=C8 бере участь у резонансному ефекті з системою 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразолу. Тут варто додати, що довжини зв'язків, знайдені для (5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-іл)метиліденового фрагмента молекули, відповідають довжинам аналогічних зв'язків у літературі для похідних, які також містять такий фрагмент [82].



### 2.4.2.2. Рентгеноструктурний аналіз (*Z*)-5-((5-метил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-4-іл)метил)-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-ону

За допомогою рентгеноструктурного методу було підтверджено, що досліджувана сполука **2.48** є (*Z*)-5-((5-метил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-4-іл)метил)-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-оном, який присутній у кристалі у вигляді сольвату з метанолом (Рис 2.55).

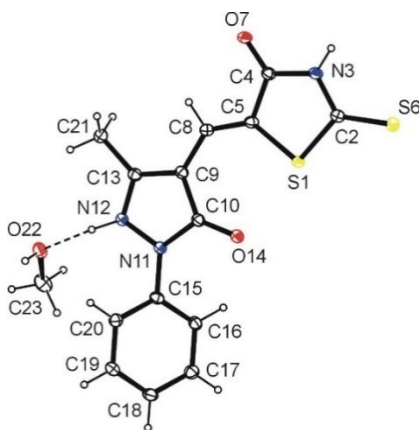


Рис. 2.55. Вигляд ORTEP **2.48**, що показує схему атомного маркування (атоми, відмінні від Н, показані як еліпсоїди зміщення з ймовірністю 30%, атоми Н – як сфери довільного розміру).

У молекулі **2.48** всі неводневі атоми, крім одного атома Карбону метильної групи, знаходяться в стані  $sp^2$ -гібридизації, що сприяє виникненню ефекту мезомерії (Рис. 2.56). Цей ефект може охоплювати як атоми, що належать до обох гетероциклічних систем, з'єднаних метиліденовим містком (відносно фрагменту  $\bar{N}12-C13=C9-C6=C5-C4=O7$ ), так і атоми лише однієї системи, тобто 3-оксо-2,3-дигідропіразол-4-ілу (відносно фрагменту  $N12-C13=C9-C10=O14$ ). У результаті явища мезомерії в молекулі одинарні зв'язки  $C4-C5$  [1.472(3) Å],  $C8-C9$  [1.424(3) Å],  $C9-C10$  [1.440(3) Å] і  $N12-C13$  [1.331(3) Å] і подвійні  $C5-C8$  [1.347(3) Å],  $C9-C13$  [1.391(3) Å] і  $C10-O14$  [1.248(3) Å] значно відрізняються від літературних значень некон'югованого (одинарного) зв'язку  $Csp^2-Csp^2$ . [1.493(1) Å] [71] і  $Csp^2-Nsp^2$  [1.374(1) Å] [71] і подвійного  $C=C$  [1.331(1) Å] і  $C=O$  [1.231(1) Å] [82]. З порівняльного аналізу довжин зв'язків, особливо  $C4-O7$  [1.230(3) Å] і  $C10-O14$

[1.248(3) Å], можна зробити висновок, що резонансний ефект у молекулі досліджуваної сполуки **2.48** стосується переважно фрагмента N12–C13=C9–C10=O14, що наближає систему 3-оксо-2,3-дигідропіразолу до ароматичної форми С (Рис 2.56).

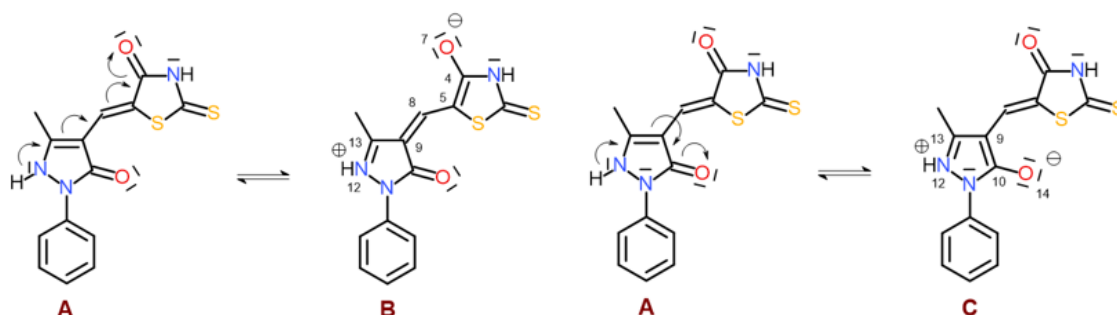


Рис. 2.56. Ефект резонансу в молекулі аніону **2.48**.

П'ятичленні гетероциклічні системи розташовані в молекулі аніона приблизно копланарно. Двогранний кут дорівнює 3.01(10)°. Фенільний залишок у положенні N-2 системи 5-метил-3-оксо-2,3-дигідропіразол-4-ілу утворює з цією гетероциклічною системою двогранний кут 38.24(8)°. У молекулах аніонів зв'язки S1–C5 і C8–C9 мають конфігурацію *Z*. Знайдений торсійний кут S1–C5–C8–C9 становить 1.1(4)°.

#### 2.4.2.3. Рентгеноструктурний аналіз 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1*H*-піразолін-5-ону

Рентгеноструктурний аналіз **2.50** підтвердив структуру 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1*H*-піразолін-5-ону (Рис. 2.57).

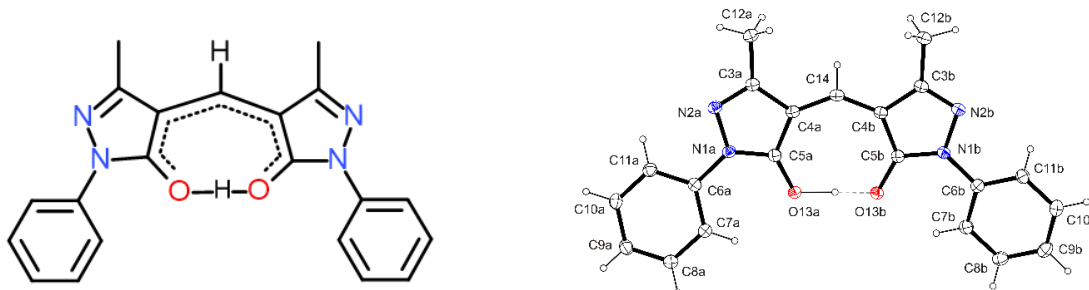


Рис. 2.57. Схема та вигляд ORTEP **2.50**, що показує схему атомного маркування (атоми, відмінні від Н, показані як еліпсоїди зміщення з ймовірністю 30%, атоми Н – як сфери довільного розміру).

Молекула **2.50** має приблизно плоску структуру, що зумовлено незначним кутовим зміщенням фенільних кілець із плоскої системи п'ятичленних гетероциклічних ядер. Двогранний кут 3-метил-1-піразол-5-ону/фенілу для фрагмента *a* становить  $13.78(5)^\circ$ , для фрагмента *b* –  $11.18(5)^\circ$ . Напрямки нахилу фенільних систем у результаті обертання навколо осі C6—C9 дозволяють виділити псевдоподвійну вісь у молекулі з самосиметрією (2-кратна вісь), що проходить через зв'язок C14—N14 (Рис. 2.58).

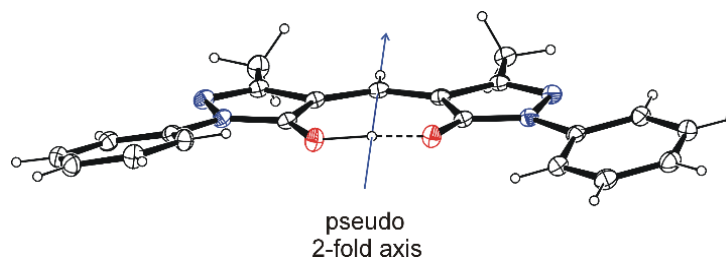


Рис. 2.58. Внутрішня симетрія молекули **2.50**.

Між атомами O13a і O13b (Рис. 2.58) утворюється внутрішньомолекулярний водневий зв'язок [O13a—H13 $\cdots$ O13b: Донор—Н: 1.18(3) Å, Н $\cdots$ Акцептор: 1.24(3) Å, Донор $\cdots$ Акцептор: 2.4151(13) Å, Донор—Н $\cdots$ Акцептор:  $175.7(19)^\circ$ ]. Положення атома Гідрогену було визначено з різницевої карти Фур'є «The difference Fourier map» та уточнено ізотропно. Знайдена міжатомна відстань O13a $\cdots$ O13b: 2.4151(13) Å і положення атома гідрогену H13 вказують на сильний симетричний водневий зв'язок. Порівняння довжин зв'язків C4—C5, C4—C14 і C5—O13 у фрагментах молекули *a* і *b*, що становлять відповідно 1.4363(17) / 1.4408(17) Å, 1.3925(18) / 1.3907(18) Å і 1.2872(15) / 1.2803(15) Å та наявність міцного симетричного водневого зв'язку свідчать про схильність до явища протонної таутомерії, а також про наявність двох таутомерних форм в кристалі, які знаходяться в динамічній рівновазі (Рис 2.59).

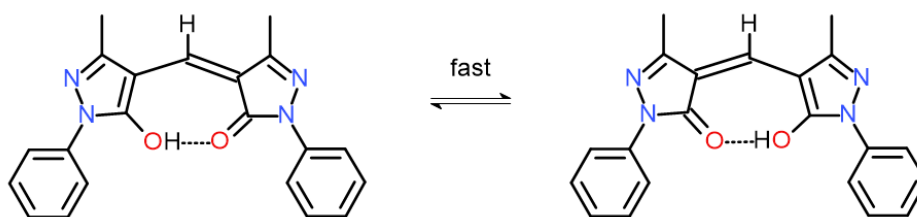


Рис. 2.59. Таутомерні структури **2.50** в динамічній рівновазі.

#### 2.4.2.4. Рентгеноструктурний аналіз 4-диметиламінометиліден-3-метил-1-фенілпіразол-5-ону

Рентгеноструктурні дослідження підтвердили, що сполука **2.51** має структуру 4-диметиламінометиліден-3-метил-1-фенілпіразол-5-ону (Рис. 2.60).

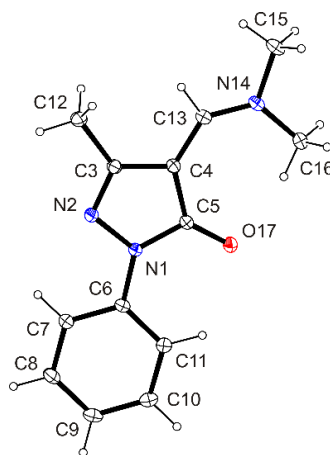


Рис. 2.60. Вигляд ORTEP **2.51**, що показує схему атомного маркування (атоми, відмінні від Н, показані як еліпсоїди зміщення з ймовірністю 30%, атоми Н – як сфери довільного розміру).

Система 3-метилпіразол-5-ону, присутня в молекулі **2.51**, і залишок диметиламінометилідену в положенні С-4 утворюють приблизно плоску систему ( $r.m.s.d. = 0.0155 \text{ \AA}$ ). Фенільний фрагмент у положенні N1 системи 3-метилпіразол-5-ону поводиться по-іншому. Оскільки в результаті обертання навколо осі N1–С6 вона зазнає невеликого, але значного нахилу від середньої площини решти частини молекули, утворюючи з останньою двограний кут  $10.10(1)^\circ$ . Електронодонорний диметиламінометиліденовий залишок сильно зв'язаний із системою 3-метил-1-фенілпіразол-5-ону, про що свідчить значне вкорочення одинарного зв'язку C13–N14 [ $1.3174(13) \text{ \AA}$ ] (приблизно на  $35\sigma$ ) і подовження подвійного зв'язку C4=C13 [ $1.3929(13) \text{ \AA}$ ] (приблизно на  $38\sigma$ ). Літературні довжини одинарних  $Csp^2-Nsp^2$  і C=C подвійних зв'язків становлять  $1.374(1) [71]$  і  $1.331(1) \text{ \AA} [72]$  відповідно.

### 2.4.2.5. Рентгеноструктурний аналіз диметиламонію 5-метил-4-((4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-ілден)метил)-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-1-іду

На основі рентгенівської кристалографії було підтверджено, що досліджувана сполука **2.52** є диметиламонієвою сіллю 5-метил-4-((4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-ілден)метил)-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-1-іду (Рис 2.61).

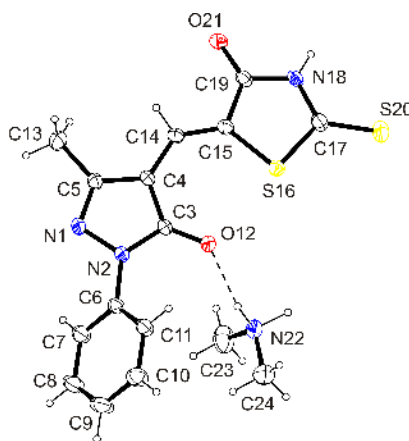


Рис. 2.61. Проекція структури **2.52** на основі рентгеноструктурного аналізу, що демонструє схему атомного маркування (атоми, відмінні від Н, показані як еліпсоїди зміщення з ймовірністю 30%, атоми Н – як сфери довільного розміру).

Дослідження показали, що в молекулі аніону існує резонансний ефект, який охоплює фрагмент  $N1-C5=C4$  і поширюється далі або в бік карбонільної групи  $C19=O21$ , або в бік карбонільної групи  $C3=O12$ . У групах атомів  $N1-C5=C4-C14=C15-C19=O21$  і  $N1-C5=C4-C3=O12$  спостерігається збільшення довжини подвійних зв'язків  $C4-C5$ ,  $C14-C15$ ,  $C19-O21$  і  $C3-O12$  до значення відповідно 1.4168(18), 1.3603(18), 1.2356(17) і 1.2524(17) Å. {довжина подвійного зв'язку за літературою  $C=C$ : 1.331(1) Å,  $C=O$ : 1.210(1) Å [72]} і скорочення довжини одинарних зв'язків  $N1-C5$ ,  $C3-C4$ ,  $C4-C14$  і  $C15-C19$  до значень 1.3111(18), 1.4335(18), 1.4046(18) і 1.4501(17) Å {довжина одинарного зв'язку за літературою  $Csp^2-N$  і  $Csp^2-Csp^2$  становить 1.374(1) і 1.478(2) Å [72]}. Порівняльний аналіз довжин зв'язків, особливо зв'язків  $C3-O12$  і  $C19-O21$ , показує, що ефект сполучення в молекулі аніону за участю системи атомів  $N1-C5=C4$  додатково спрямований головним чином на карбонільну групу  $C3-O12$ . Варто зазначити, що спостережувана

довжина подвійного зв'язку C3–O12 [1.2524(17) Å] приблизно така сама як довжина зв'язку C–O {1.254(1) Å [72]} в карбоксильній групі (Рис 2.62).

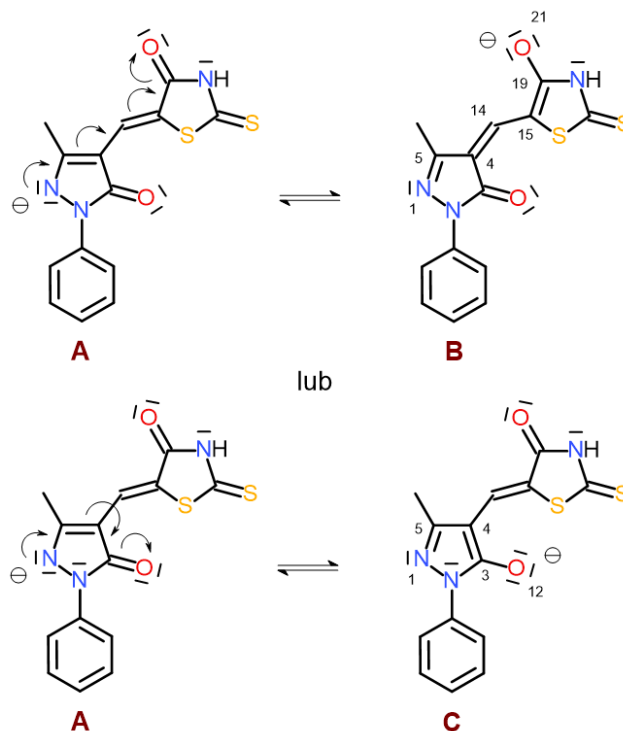


Рис. 2.62. Ефект резонансу в молекулі аніону **2.52**.

Гетероциклічні системи вибудовуються в молекулі аніона приблизно компланарно. Двогранний кут становить лише 4.18(7)°. Фенільний залишок, присутній у положенні N2 системи 5-метил-3-оксо-2,3-дигідропіразол-1-іду, утворює з цією гетероциклічною системою двогранний кут 42.55(6)°. У молекулах аніонів зв'язки C4–C14 і C15–S16 мають конфігурацію *Z*. Знайдений торсійний кут C4–C14–C15–S16 становить -0.1 (2)°.

### 2.4.3. Синтез та спектральні характеристики 5-піразолілметилден-4-тіазолідинонів

Фінальним етапом вивчення хімії 5-гетерилідентіазолідинонів було введення піразольного ядра у тіазолідиновий каркас в якості іліденового фрагменту. Така комбінація теоретично може призвести до ідентифікації нових фармакологічних ефектів чи покращенню вже відомих, а з хімічної точки зору такі синтетичні перетворення є цінними, адже значний розмір і функціональні особливості замісників

тіазолідину можуть створювати низку стеричних ефектів та впливати на проходження хімічної реакції. Крім того, сучасні тенденції до пошуку потенційних лікарських засобів передбачають пошук малих молекул на основі тіазолідину у неконденсованій модифікації з багатьма іншими гетероциклічними/ароматичними/аліфатичними фрагментами, а у нашому випадку ми зможемо чітко спостерігати взаємозв'язок будови та потенційної біологічної активності між базовим 5-ен-заміщеним піразолілітіазолідиноном та зміною субституентів у положеннях 2 і 3 тіазолідинового ядра.

Першим хімічним перетворенням стало введення піразолінового альдегіду **2.32** у трикомпонентну однастадійну реакцію [2+3]-циклоконденсації з 3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-карботіоамідом та монохлороцтовою кислотою, що дозволило одержати відповідне 2-[3,4-дигідропіразол-2-іл]-5-піразол-4-ілметилен похідне 4-тіазолідинону **2.53** з високим виходом та чистотою (Рис. 2.63).

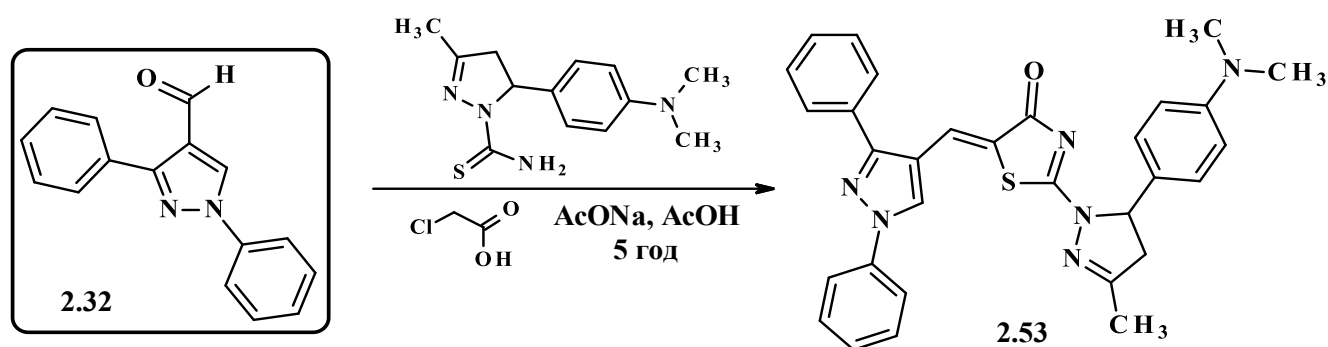


Рис. 2.63. Трикомпонентний «one-pot» синтез сполуки **2.53**.

Наступним синтетичним перетворенням було проведення реакції Кньюенагеля альдегіду **2.32** з роданін-3-карбоновими кислотами та 3-піролідинілроданіном з метою одержання 5-гетериліденпохідних **2.54-2.56** (Рис. 2.64).

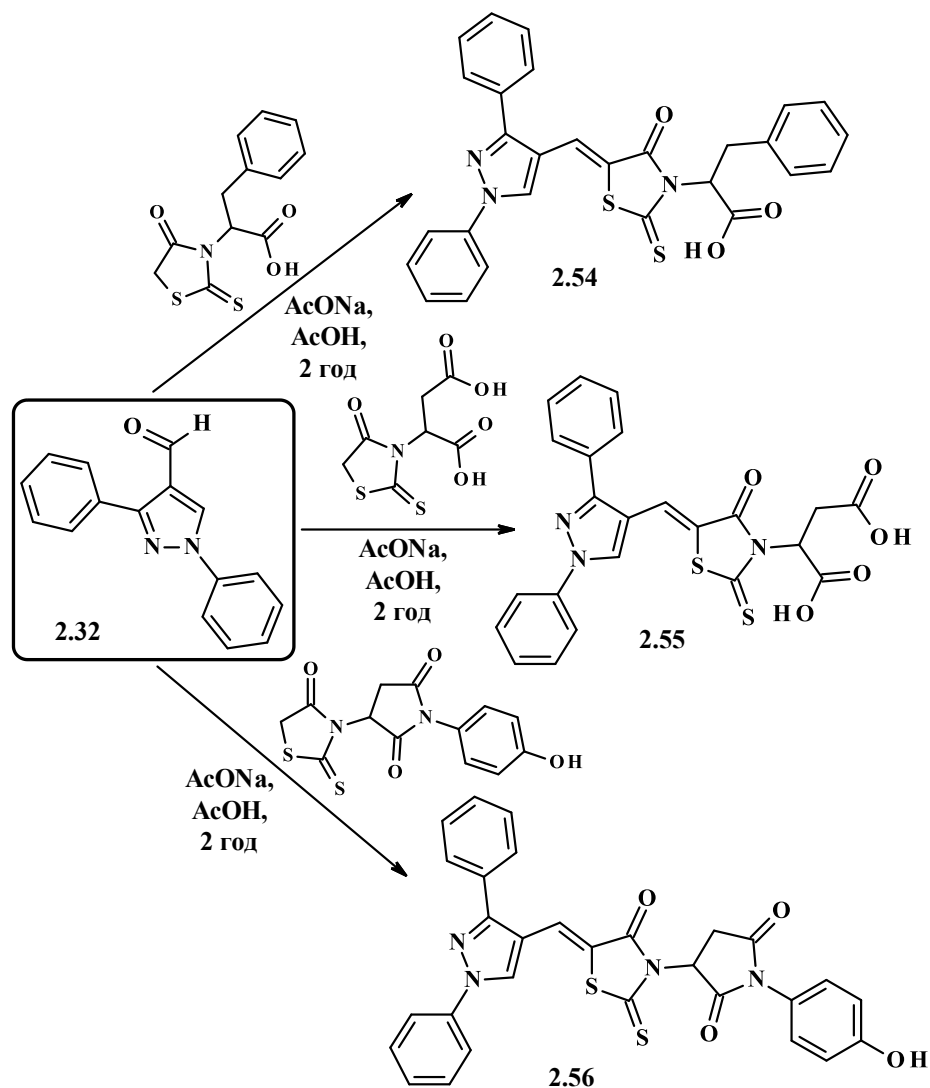


Рис. 2.64. Синтез піразоліпроданінів 2.54-2.56.

З точки зору фармакологічних властивостей 2,3-дизаміщені 4-тіазолідинони є одним з цікавих та перспективних об'єктів в сучасній медичній хімії, проте реакційна здатність метиленової групи у положенні 5 є дещо меншою, ніж в 2-тіоксо/оксо/аміно похідних, тому для утворення С-С-зв'язку за положенням 5 потрібно підбирати специфічні синтетичні умови, адже використання ацетату натрію як класичного каталізатора в середовищі оцтової кислоти є неефективним. Вихідними реагентами для синтезу цільового 5-[(1,3-дифенілпіразол-4-іл)метилєн]-2,3-діарил-4-тіазолідинону **2.57** було обрано альдегід **2.32** та 3-[4-(діетиламіно)феніл]-2-[4-(диметиламіно)феніл]тіазолідин-4-он, а у якості основного каталізатора *трет*-бутилат калію. Реакцію проводили в середовищі ізопропанолу (Рис 2.65).



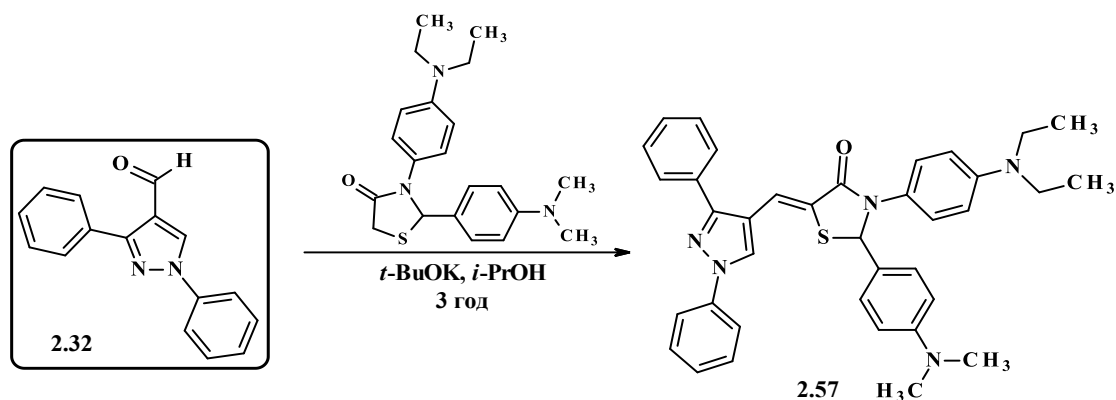


Рис. 2.65. Синтез 5-[(1,3-дифенілпіразол-4-іл)метилєн]-2,3-діарил-4-тіазолідинону **2.57**.

Синтезовані 5-піразолілметилєн-4-тіазолідинони **2.53-2.57** – порошки жовтого кольору, розчинні при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, нерозчинні спиртах, бензолі, толуолі, воді та діетиловому етері. Для синтезованих сполук **2.53-2.57** було вивчено фізико-хімічні властивості та проведено елементний аналіз (Табл. 2.18).

Таблиця 2.18

Фізико-хімічні та спектральні властивості сполук **2.53-2.57**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
2.53	85	168-170	C <sub>31</sub> H <sub>28</sub> N <sub>6</sub> OS	69.90	5.30	15.78	70.01	5.21	15.90
	Спектри <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.18 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.85 (с, 6H, 2*CH <sub>3</sub> ), 2.96 (с, 1H, CHCH <sub>2</sub> , піразолін), 3.71 (с, 1H, CHCH <sub>2</sub> , піразолін), 5.58 (д, J = 10.8 Hz, 1H, CHCH <sub>2</sub> , піразолін), 6.67 (д, J = 8.4 Hz, 2H, аром.), 7.03 (д, J = 8.0 Hz, 2H, аром.), 7.40 (с, 1H, CH ілідєн), 7.50-7.60 (м, 8H), 8.02 (д, J = 7.9 Hz, 2H, аром.), 8.72 (с, 1H, CH піразол). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 532 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
2.54	87	114-116	C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	65.73	4.14	8.21	65.65	4.20	8.31
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 3.48 (д, J = 5.4 Hz, 2H, CHCH <sub>2</sub> ), 5.81 (шс, 1H, CHCH <sub>2</sub> ), 7.13 (д, J = 8.3 Hz, 3H, аром.), 7.15 – 7.21 (м, 2H, аром.), 7.41 (т, J = 7.3 Hz, 1H, аром.), 7.48-7.58 (м, 6H, аром. +CH ілідєн), 7.64 (д, J = 7.3 Hz, 2H, аром.), 8.04 (д, J = 8.0 Hz, 2H, аром.), 8.78 (с, 1H, CH, піразол). <sup>13</sup> C ЯМР: 33.72 (CH <sub>2</sub> ), 57.92 (CH), 116.50, 119.93, 124.57, 127.09, 127.72, 127.89, 128.03, 128.54, 128.80, 128.98, 129.00, 129.51, 129.72, 131.18, 135.77, 139.03, 155.26, 166.55 (C=O, тіазолідин), 172.85 (C=O, COOH), 191.16 (C=S). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 512 [M+H] <sup>+</sup> , (98.0%).							

2.55	81	258-260	C <sub>23</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub>	57.61	3.57	8.76	57.70	3.50	8.70
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.88 (д, J = 16.8 Hz, 2H, CH-CH <sub>2</sub> ), 5.93 (шс, 1H, CH-CH <sub>2</sub> ), 7.42 (т, J = 7.4 Hz, 1H, аром.), 7.50 – 7.61 (м, 6H, аром. + CH іліден), 7.63 – 7.68 (м, 2H, аром.), 8.05 (д, J = 8.2 Hz, 2H, аром.), 8.85 (с, 1H, CH, піразол). <sup>13</sup> C ЯМР: 33.06 (CH <sub>2</sub> ), 68.96 (CH), 115.57, 119.57, 127.73, 128.83, 129.04, 129.24, 129.63, 131.07, 154.17, 166.38, 168.39 (C=O), 170.65 (C=O), 192.3 (C=O). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 480 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
2.56	79	176-178	C <sub>29</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	63.03	3.65	10.14	62.90	3.55	63.02
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 3.13 – 3.19 (м, 1H, CHCH <sub>2</sub> ), 6.21 – 6.27 (м, 1H, CHCH <sub>2</sub> ), 6.87 (д, J = 8.3 Hz, 2H, аром.), 7.05 (д, J = 7.9 Hz, 2H, аром.), 7.42 (т, J = 7.5 Hz, 1H, аром.), 7.56 (к, J = 9.7, 8.6 Hz, 6H, аром. + CH іліден), 7.64 (д, J = 8.5 Hz, 2H аром.), 8.06 (д, J = 7.9 Hz, 2H, аром.), 8.87 (с, 1H, піразол), 9.78 (с, 1H, OH). <sup>13</sup> C ЯМР: 40.66, 53.10, 115.98, 116.13, 119.97, 123.63, 124.85, 126.04, 127.51, 129.16, 129.37, 129.62, 129.95, 130.16, 131.43, 139.07, 154.72, 158.01, 166.09, 166.95 (C=O), 173.15 (C=O), 174.52 (C=O), 193.27 (C=S). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 553 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
2.57	90	225-227	C <sub>37</sub> H <sub>37</sub> N <sub>5</sub> OS	74.09	6.22	11.68	74.20	6.35	11.59
	Спектри <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 1.02 (т, J = 6.9 Hz, 6H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> ), 2.83 (с, 6H, CH <sub>3</sub> ), 3.21 – 3.30 (м, 4H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> ), 6.50 – 6.55 (м, 2H, аром.), 6.57 – 6.63 (м, 3H, аром. + CH тіазолідин), 7.07 – 7.13 (м, 2H, аром.), 7.13 – 7.18 (м, 2H аром.), 7.30 – 7.38 (м, 2H, аром.), 7.50 (т, J = 7.7 Hz, 2H, аром.), 7.59 – 7.65 (м, 2H, аром. + CH= іліден), 7.69 (д, J = 8.4 Hz, 2H, аром.), 7.94 (д, J = 8.0 Hz, 2H, аром.), 8.51 (с, 1H, CH= піразол). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): 600 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							

## 2.5. Опис експериментів

Хімічні назви синтезованих сполук наведені відповідно до номенклатури IUPAC (1979 рік) та рекомендацій IUPAC (2014 рік). Температури плавлення були виміряні відкритим капілярним методом на приладі Buchi B-545 і представлені в некорегованій формі. Елементний аналіз (C,H,N) був виконаний з використанням Perkin-Elmer 2400 CHN аналізатору і знаходилися в межах ± 0,4% від теоретичних значень. Спектри <sup>1</sup>H ЯМР реєстрували на приладі Varian Gemini 400 МГц в ДМСО-d<sub>6</sub> з використанням тетраметилсилану як внутрішнього стандарту. Хімічні зміщення наведені в мільйонних частках з використанням δ шкали. Молекулярні ілюстрації досліджуваних речовин зображувалися за допомогою ORTEP-3 для Windows [83].

Іншим програмним забезпеченням для обробки результатів рентгеноструктурного аналізу були WINGX [83], OLEX [84] та PLATON [85]. Дані кристалографічного аналізу наявні у Кембріджському центрі кристалографічних даних (Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC). Відповідні інтенсивності записувалися на дифрактометрі Rigaku SuperNova Dual Atlas (CrysAlis PRO, version 1.171.39.46; Rigaku Oxford Diffraction: Yarnton, U.K., 2018).

*Синтез 5-заміщених 2-(3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл)-тіазол-4-онів 2.5-2.9.* До суспензії 0.01 моль відповідного 3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміду **2.3**, **2.4** в 10 мл оцтової кислоти додають еквімолярну кількість монохлорооцтової кислоти, 0.012 моль відповідної карбонільної сполуки та 0.02 моль ацетату натрію. Нагрівають реакційну суміш під зворотнім холодильником протягом 5-6 годин. Після цього реакційну суміш охолоджують до утворення кристалічного осаду, відфільтровують, перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 2-[2-[3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-іл]-4-оксотіазол-5-іл]-N-фенілацетамідів 2.10-2.13.* Суміш 0.01 моль 3-[4-(диметиламіно)феніл]-5-метил-3,4-дигідропіразол-2-карботіоаміду **2.8** та відповідного N-арилмалеїміду кип'ятять в 10 мл оцтової кислоти під зворотнім холодильником протягом 2 год. Після охолодження реакційної суміші продукт відфільтровують, промивають оцтовою кислотою, водою, етанолом та ефіром і перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 3-(4-гідроксифеніл)-2-[3-(4-метоксифеніл)-1-фенілпіразол-4-іл]тіазолідин-4-ону 2.15.* Суміші 0.01 моль 4-амінофенолу та 0.02 моль 3-(4-метоксифеніл)-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду **2.14** в 15 мл безводного тетрагідрофурану в плоскодонній колбі помістили в льодяну лазню і витримували протягом 5 хв при температурі 0°C до повного розчинення. Після цього при інтенсивному перемішуванні на магнітній мішалці повільно додавали 0.03 моль меркаптооцтової кислоти, перемішували та додавали 0,015 ммоль DCC, потім зняли реакційну суміш з льодяної лазні та продовжили перемішувати при кімнатній температурі протягом 1 години. Після завершення реакції утворену N,N'-дициклогексилсечовину відфільтрували, фільтрат вилили на водний розчин NaHCO<sub>3</sub>.

Утворений осад відфільтровували, промили водою, висушили і очистили шляхом перекристалізації з етанолу.

*Синтез* (2Z)-2-[(Z)-(3-аміно-4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразоно]-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіазолідин-4-ону **2.17**. До суміші 0.01 моль 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду **2.16**, 0,015 моль монохлороцтової кислоти в 20 мл абсолютного етанолу додають еквімолярну кількість ацетату натрію та синтезують під зворотнім холодильником протягом 5 годин. Одразу після завершення синтезу реакційну суміш фільтрують щоб ізолювати одержану неорганічну сіль. Після охолодження сформований осад білого кольору відфільтровують, промивають етиловим спиртом, сушать і перекристалізовують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез* (2E)-3-[(E)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-2-[(E)-[3-[(E)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-4-оксотіазолідин-2-іліден]гідразоно]тіазолідин-4-ону **2.18**. Суміш 0.01 моль (2Z)-2-[(Z)-(3-аміно-4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразоно]-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіазолідин-4-ону **2.17**, 0.01 моль алілсаліцилового альдегіду та 0.015 моль ацетату натрію кип'ятять в 20 мл абсолютного етанолу під зворотнім холодильником протягом 2 год. Після охолодження реакційної суміші одержаний продукт жовтого кольору відфільтровують, промивають етанолом і перекристалізовують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез* (E)-2-(((Z)-2-(алілокси)бензиліден)гідразиніліден)-3-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1H-піразол-4-іл)тіазолідин-4-ону **2.19**. До суміші 0.01 моль 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду **2.16**, 0,015 моль монохлороцтової кислоти, 0,015 моль алілсаліцилового альдегіду в 20 мл етанолу додають 0.02 моль ацетату натрію та синтезують під зворотнім холодильником протягом 3 годин. Після завершення синтезу гарячу реакційну суміш одразу фільтрують щоб ізолювати одержану неорганічну сіль. Після охолодження сформований кристалічний жовтий осад відфільтровують, промивають етиловим спиртом, діетиловим ефіром, сушать і перекристалізовують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 3-(3-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фенілтіазолідин-4-онів 2.21-2.22.*

Суміші 0.01 моль 3-метил-1H-піразол-5-аміну **2.20** та 0.02 моль відповідного ароматичного альдегіду в 15 мл безводного тетрагідрофурану помістили в льодяну лазню і витримували протягом 5 хв при температурі 0°C. Після цього при інтенсивному перемішуванні повільно додавали 0.03 моль меркаптооцтової кислоти та 0,015 ммоль DCC, потім зняли реакційну суміш з льодяної лазні та продовжили перемішувати 1 годину при кімнатній температурі. Після завершення реакції утворену *N,N'*-дициклогексилсечовину відфільтрували, фільтрат вилили на водний розчин NaHCO<sub>3</sub> для нейтралізації надлишку меркаптооцтової кислоти. Утворений осад відфільтровували, промили водою, висушили і очистили шляхом перекристалізації з етанолу.

*Синтез 4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-ону 2.23.* Суміш 0.01 моль 3-метил-1H-піразол-5-аміну **2.20** та 0.01 моль 4-тіоксотіазолідин-2-ону (ізороданіну) у 15 мл абсолютного етанолу кип'ятили під зворотнім холодильником протягом 30 хвилин. Утворений осад відфільтровували, промили етанолом, діетиловим ефіром, висушили і очистили шляхом перекристалізації з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 5-іліден 4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-онів 2.24-2.29.* Суміш 0.01 моль 4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тіазол-2-ону **2.23**, 0.011 моль відповідного альдегіду та 0.01 моль ацетату натрію кип'ятять в 10 мл льодяної оцтової кислоти під зворотнім холодильником протягом 2 год. Після охолодження реакційної суміші одержаний осад відфільтровують, промивають етанолом і перекристалізують **2.24-2.27** з суміші ДМФА-етанол (1:2), **2.28** зі спирту, **2.29** з оцтової кислоти.

*Синтез (5Z)-5-[(4-фторофеніл)метилен]-4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]тіазол-2ону 2.26* шляхом однореакторної трьохкомпонентної реакції. До суміші 0.01 моль 3-метил-1H-піразол-5-аміну **2.20**, 4-тіоксо-2-тіазолідинону (ізороданіну) в 20 мл абсолютного етанолу додають 0.01 моль 4-фторбензальдегіду та синтезують під зворотнім холодильником протягом 3 годин. Після охолодження одержаний осад

жовтого кольору фільтрують, промивають етанолом та діетиловим ефіром. Очистку проводять шляхом перекристалізації з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 1-(N'-{4-[5-(4-хлорофеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-2-оксо-2H-тіазол-5-іліден}-гідразоно)-антрахінону **2.31**.* Суміш 0.01 моль 4-[3-(4-хлорофеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]-5H-тіазол-2-ону **2.30** та 0.01 моль 1-[(Z)-морфоліноазо]антрацен-9,10-діону кип'ятили протягом 10 хвилин під зворотнім холодильником. Утворений осад темно-червоного кольору відфільтрували, промили водою, етанолом та діетиловим ефіром. Після висушування перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 5-піразолізаміщених азолідинонів **2.35-2.37, 2.41-2.43**.* До суміші 0.011 моль відповідного 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіду **2.14, 2.32-2.34** та 0.01 моль відповідного похідного тіазолідину (2-тіоксо-4-тіазолідинону **2.35-2.37**, 4-аміно-5H-тіазол-2-ону **2.41**, 2-амінотіазолідин-4-ону **2.42** або 2-тіоксоімідазолідин-4-ону **2.43**) в 10 мл льодяної оцтової кислоти додали 0.01 моль ацетату натрію. Реакційну суміш кип'ятили під зворотнім холодильником протягом 2 годин. Після охолодження, сформований осад відфільтровують, промивають оцтовою кислотою, водою, спиртом. Сполуки **2.36, 2.37, 2.41-2.43** перекристалізовували з суміші ДМФА-етанол (1:2), похідне **2.35** з оцтової кислоти.

*Синтез 5-(1,3-дифеніл-1H-піразол-4-ілметилен)-4-тіоксо-2-тіазолідинонів **2.38, 2.39**.* До суміші 0.01 моль 4-тіоксо-2-тіазолідинону (ізороданіну) та 0.011 моль відповідного 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіду **2.14, 2.32** в 15 мл абсолютного етанолу додали декілька кристалів етилендіаміндіацетату (ЕДДА) та кип'ятили протягом 30 хвилин. Після охолодження реакційної суміші, сформований осад відфільтрували, промили етанолом та перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 5-(1,3-дифеніл-1H-піразол-4-ілметилен)-2,4-тіазолідиндіону **2.40**.* Суміш 0.01 моль 2,4-тіазолідиндіону, 0.011 моль 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіду **2.32** та 0.015 моль ацетату амонію в 20 мл толуолу кип'ятили під зворотнім холодильником протягом 5 годин. Після охолодження осад відфільтровували,

промивали толуолом, петролейним ефіром та висушували. Перекристалізацію проводили з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 3-(1,3-дифеніл-1H-піразол-4-іл)-2-меркаптоакрилової кислоти 2.44.* 0.01 моль 5-(1,3-дифеніл-1H-піразол-4-ілметилен)-2-тіоксо-4-тіазолідинону **2.35** в 8 мл 30% розчину NaOH кип'ятили під зворотнім холодильником протягом 30 хвилин. Після завершення синтезу гарячу реакційну суміш виливали в хімічний стакан з 50 г льоду, підкисленого 11.2 мл хлоридної кислоти. Осад, що сформувався відфільтрували і промили водою. Після висушування перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез (Z)-5-((5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-іл)метиліден)-2-тіоксо-4-тіазолідинону 2.47.* Суміш еквімолярних кількостей 0.01 моль 5-хлоро-3-метил-1-феніл-1H-піразол-4-карбальдегіду **2.46**, 2-тіоксо-4-тіазолідинону (роданіну) та 0.02 моль ацетату натрію кип'ятили протягом 3 годин в 10 мл льодяної оцтової кислоти. Сформований осад жовтого кольору після охолодження відфільтрували, промили оцтовою кислотою, водою, етанолом та діетиловим ефіром. Перекристалізацію проводили з оцтової кислоти.

*Синтез (Z)-5-((5-метил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-4-іл)метил)-2-тіоксо-4-тіазолідинонів 2.48-2.49.* Суміш 0.0075 моль 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону **2.45**, 0.01 моль 5-етоксиметилен-2-тіоксо-4-тіазолідинону та 1.6 мл триетиламіну в 20 мл ацетону нагрівали в колбі із зворотним холодильником протягом 1 години. Після охолодження реакційної суміші ацетон відганяють за допомогою роторного випарювача. Реакційну масу після відгонки заливали 50 мл дистильованою водою, одержаний розчин підкислювали оцтовою кислотою до рН = 5. Одержаний осад червоного кольору відфільтрували, промивали водою і висушували. Очистку сполук проводили перекристалізацією з етанолу.

*Синтез (4Z)-4-[(5-гідрокси-3-метил-1-фенілпіразол-4-іл)метилен]-5-метил-2-фенілпіразол-3-ону 2.50. I метод.* Суміш еквімолярних кількостей 0.01 моль 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону **2.45** та триетилортоформіату в 10 мл оцтового ангідриду нагрівають на водяній лазні при інтенсивному перемішуванні протягом 1 години. Після охолодження, утворений осад промили оцтовим ангідридом, водою та

висушили. Перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2). *II метод.* Еквімолярну кількість 0.01 моль 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону **2.45** та триетилортоформіату в 10 мл оцтового ангідриду витримували протягом 72 годин при температурі 25 °С. Утворений осад червоного кольору відфільтрували, промивали оцтовим ангідридом, водою, висушували та перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 4-диметиламінометилен-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону 2.51.* 0.01 моль 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону **2.45** розчинили у 20 мл толуолу та повільно додали 0.01 моль ДМФА-ДМА (*N,N*-диметилформамід диметилацеталь) та витримували протягом 24 годин при температурі 25 °С. Утворений оранжевий осад відфільтрували, промили толуолом та петролейним ефіром. Очистку проводили шляхом перекристалізації з толуолу.

*Синтез диметиламонію 5-метил-4-((4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил)-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-1-іду 2.52.* Еквімолярну кількість 0.01 моль 4-диметиламінометилен-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону **2.51** та 2-тіоксотіазолідин-4-ону (роданіну) в 20 мл толуолу нагрівали під зворотнім холодильником протягом 8 годин. Одержаний червоний осад відфільтрували, промили толуолом та гексаном. Сполуку перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 2-[5-(4-диметиламінофеніл)-3-метил-4,5-дигідропіразол-1-іл]-5-(1,3-дифеніл-1*H*-піразол-4-ілметилен)-тіазол-4-ону 2.53.* Суміш еквімолярних кількостей 0.01 моль 3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміду, монохлорооцтової кислоти, 0.011 моль 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіду **2.32** та 0.02 моль ацетату натрію нагрівали в 10 мл оцтової кислоти в колбі із зворотнім холодильником протягом 2 годин. Після цього одержаний осад червоного кольору відфільтровують та перекристалізовують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез 3-заміщених 5-піразолілметилен-2-тіоксо-4-тіазолідинонів 2.54-2.56.* До суміші 0.012 моль 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіду **2.32** та 0.01 моль відповідного 3-заміщеного роданіну (2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропанової кислоти **2.54**, 2-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)бутендіової кислоти



**2.55**, 1-(4-гідроксифеніл)-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)піролідин-2,5-діону **2.56**) та 0.01 моль ацетату натрію додали 10 мл льодяної оцтової кислоти та нагрівали під зворотним холодильником протягом 2 год. Після завершення утворений осад **2.55**, **2.56** відфільтрували та перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2). Реакційну суміш **2.54** виливали на воду, одержаний осад відфільтровували, висушували і перекристалізували з суміші оцтова кислота-вода (1:2).

*Синтез* 3-(4-діетиламінофеніл)-2-(4-диметиламінофеніл)-5-(1,3-дифеніл-1*H*-піразол-4-ілметиле)-тіазолідин-4-ону **2.57**. Суміш 0.011 моль 1,3-дифенілпіразол-4-карбальдегіду **2.32**, 0.01 моль 3-[4-(діетиламіно)феніл]-2-(4-диметиламінофеніл)тіазолідин-4-ону та 0.015 моль *трет*-бутилату калію нагрівали в 15 мл ізопропанолу протягом 3 годин. Після охолодження, одержаний осад відфільтрували, промили ізопропанолом та перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

### Висновки до розділу 2

1. Показано, що 3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміди є ефективними *S,N*-бінуклеофільними реагентами у реакції [2+3]-циклоконденсації з монохлороцтовою кислотою та *N*-малеїнімідами як еквівалентами діелектрофільного синтону  $[C_2]^{2+}$ , в результаті чого було одержано неописані в літературі 2-піразолілзаміщені 4-тіазолідинони.

2. Показано, що використання піразолінвмісних альдегідів та амінів є ефективним для одnoreакторних трикомпонентних реакцій циклоконденсації з тіогліколевою кислотою, що дозволяє одержати 2,3-дизаміщені похідні 4-тіазолідинону.

3. Вперше встановлено, що 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид **2.16** у реакції [2+3]-циклоконденсації з монохлороцтовою кислотою утворює 3-антипірил заміщений (*Z*)-3-аміно-2-(4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразиніліден)тіазолідин-4-он за рахунок властивості до диспропорціонування та високої нуклеофільності кінцевої аміногрупи, що відкриває новий напрямок молекулярного дизайну піразолін-тіазолідинових гібридних молекул.

4. Показано, що за рахунок схильності *N*-заміщених 2-імінотіазолідинів до кислотного гідролізу при взаємодії 3-антипірилзаміщеного (*Z*)-3-аміно-2-(4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразиніліден)тіазолідин-4-ону **2.17** з алілсалциловим альдегідом в середовищі оцтової кислоти можна одержати неописаний в хімічній літературі (2*E*)-3-[(*E*)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-2-[(*E*)-[3-[(*E*)-(2-алілоксифеніл)метиленаміно]-4-оксотіазолідин-2-іліден]гідразоно]тіазолідин-4-он **2.18**.

5. Встановлено, що 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид **2.16** у однореакторному синтезі з моноклороцтовою кислотою та ароматичними альдегідами утворює 2-бензиліденгідразоно-3-піразолілзаміщений тіазолідин-4-он **2.19**, тобто введення альдегіду у реакційну систему змінює напрямок реакції, що можна пояснити зменшенням реакційної здатності амбідентного бінуклеофільного центру, яке унеможливорює наступне диспропорціонування.

6. Досліджено, що при взаємодії ізороданіну та 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну утворюється 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-он **2.23**, який є ефективним метиленактивним реагентом для проведення реакцій Кньовенагеля і одержання відповідних 5-ариліден/гетериліден похідних. Встановлено, що 5-ариліден 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-они можна одержати з кращим виходом трьохкомпонентною однореакторною реакцією ізороданіну, піразолінового аміну та ароматичного альдегіду.

7. Встановлено, що 4-піразолілзаміщені тіазолідинони за рахунок високої нуклеофільної активності метиленової групи є ефективними реагентами для реакцій азосполучення з антрахінонвмісним тріазеном.

8. Вивчено, що 1,3-дифенілпіразол/5-хлоро-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-карбальдегіди є ефективними реагентами для проведення реакції Кньовенагеля з модифікованими за положеннями 2, 3 та 4 тіазолідинонами.

9. Досліджено, що 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-он за рахунок наявності активної метиленової групи може реагувати з відповідними 5-етоксироданінами, що також дозволяє одержати різноманітні 5-іліденпохідні альтернативно до загальноприйнятої реакції Кньовенагеля.

10. Встановлено, що взаємодія 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону з триетилортоформіатом незалежно від температурних проходить з утворенням 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1*H*-піразолін-5-ону **2.50**, а не очікуваного 4-етоксиметиленапохідного.

11. Показано, що взаємодія 4-диметиламінометилена-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-он **2.51** з роданіном проходить з утворенням *диметиламонію* 5-метил-4-((4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил)-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідропіразол-1-іду **2.52**, що можна розглядати як альтернативних шлях синтезу 5-ен-4-тіазолідинонів.

12. Чистота і структура синтезованих сполук підтверджена методами  $^1\text{H}$  і  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії та рентгеноструктурним аналізом. На основі одномірних (1D) двомірних (2D) методик ЯМР (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) та рентгеноструктурного аналізу встановлено, що 5-(4-бромобензиліден)-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-он **2.24** існує у вигляді аміноформи як в кристалічному стані, так і в розчині. Рентгеноструктурний аналіз 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1*H*-піразолін-5-ону **2.50** показав, що для молекули характерна прототропна таутомерія, а також є наявність у кристалі двох таутомерних форм, що знаходяться в динамічній рівновазі.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях: [61-64], [66], [69], [73], [77-79].

## РОЗДІЛ 3

### СИНТЕЗ ПІРАЗОЛВМІСНИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛУ ТА ТІАДІАЗОЛУ ЯК БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ГІБРИДНИХ МОЛЕКУЛ

У методології пошуку нових біологічно активних молекул одним з доцільних та потенційно корисних напрямків є модифікація молекули шляхом використання структурно-споріднених гетероциклічних фрагментів для порівняльної характеристики «структура-біологічна активність». У нашому випадку мова йде про заміну тiazолідинової матриці на тiazольну у якості структурного блоку для гетероциклізації 1,2-діазольної системи та структурно-спорідненого функціоналізованого тiazольного скафолду (Рис 3.1).

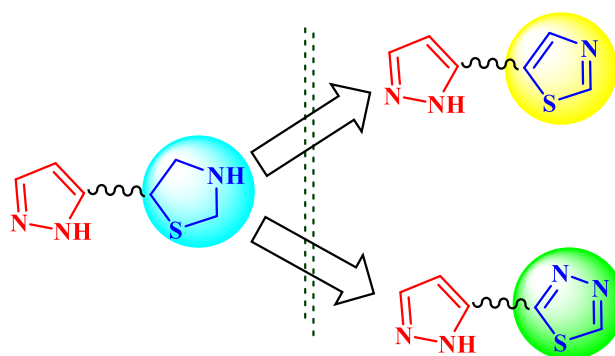


Рис. 3.1. Заміна тiazолідинової матриці на структурно-споріднені гетероцикли.

#### 3.1. Синтез 5-піразолілзаміщених *N*-(2-піридил)тіазол-2-амінів

На основі літературних джерел можна зробити висновок, що тiazолвмісні молекули є поліфармакологічними об'єктами. Серед найбільш актуальних біологічних активностей таких сполук слід виокремити протипухлинну дію, яка реалізується через різні механізми блокування росту раку, а саме інгібування MMP [86], Bcl-2 [87], HDAC [88], STAT3 [89], HEC1 [90] та ефект щодо гену супресора пухлини VHL [91]. Одним із найважливіших шляхів протипухлинної активності похідних тiazолу є інгібуванням протеїн- і ліпідкіназ, в тому числі *c*-Met кінази (антилейкемічна активність) [92], CDK1 (антимеланомна активність) [93], CLK1 (активність проти лінії клітин раку молочної залози людини) [94] та PI3K $\alpha$  (активність проти лінії клітин раку товстої кишки людини) [95]. Поряд із цими агентами на фармацевтичному ринку також доступні деякі протипухлинні препарати, що містять

тіазол: дазатиніб (інгібітор кінази BCR-ABL) [96] і дабрафеніб (інгібітор B-Raf) [97], а також тіазолвмісні кандидати в лікарські засоби, що знаходяться на стадіях клінічних/доклінічних досліджень як інгібітори BCL-XL [98] та індуктори Oct3/4 [99] (Рис 3.2).

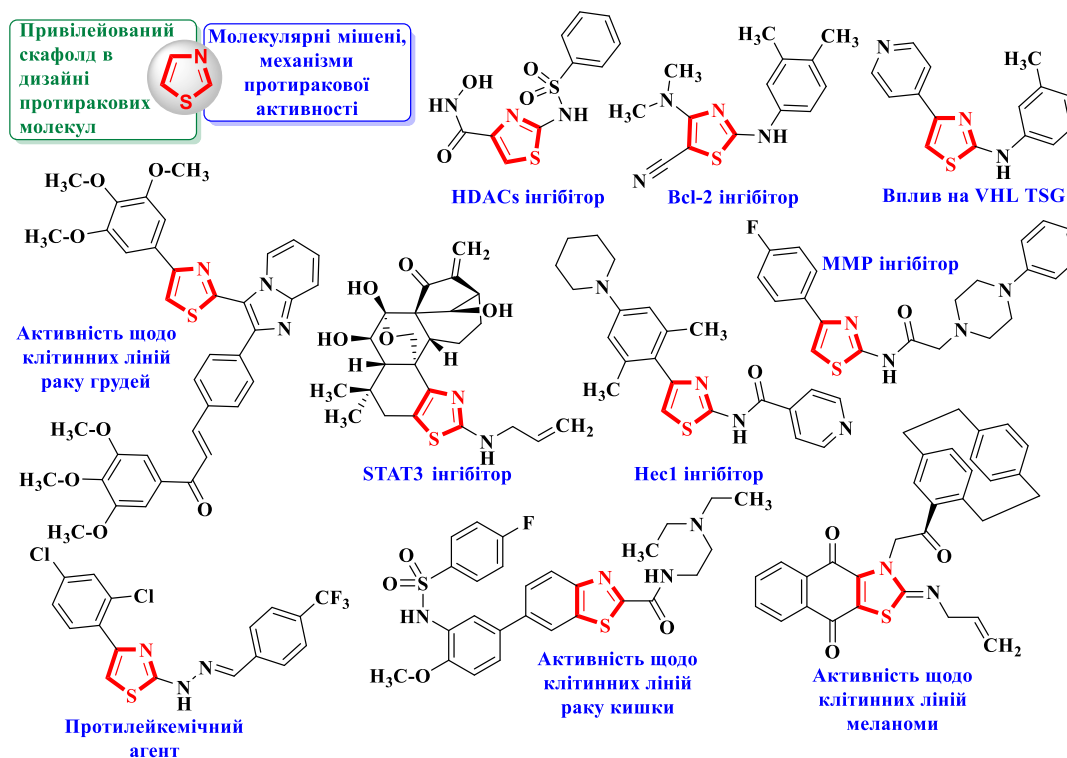


Рис. 3.2. Ядро тіазолу як привілейований скарфолд у структурі молекул з різноманітними механізмами протиракової активності.

З огляду на протиракову різноплановість похідних тіазолу доцільним є його поєднання з біологічно активним піразольним фрагментом у одній структурі, адже а це у свою чергу може призвести до потенціювання активності.

Стартовими реагентами для синтезу цільових тіазол-піразолінових кон'югатів був використаний (*E*)-3-(2-фторфеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-он **3.2**, який ми одержали шляхом конденсації Кляйзена-Шмідта 1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-етанону **3.1** з 2-фторобензальдегідом [100]. Варто відзначити, що для зазначеної реакції використано *трет*-бутилат калію як каталізатор в середовищі етанолу, що привело до більш високого виходу продукту та рівня його чистоти у порівнянні з застосуванням гідроксиду калію [101]. Взаємодія одержаного ненасиченого кетону (енону) **3.2** з гідразингідратом у середовищі етанолу

дозволила одержати піразолін-тіазол-піридиновий гібрид **3.3**. Використання середовища оцтової кислоти у зазначеній реакції приводить до додаткового ацетилювання атома Нітрогену в піразоліновому ядрі та отримання продукту **3.4** [102,103] (Рис 3.3).

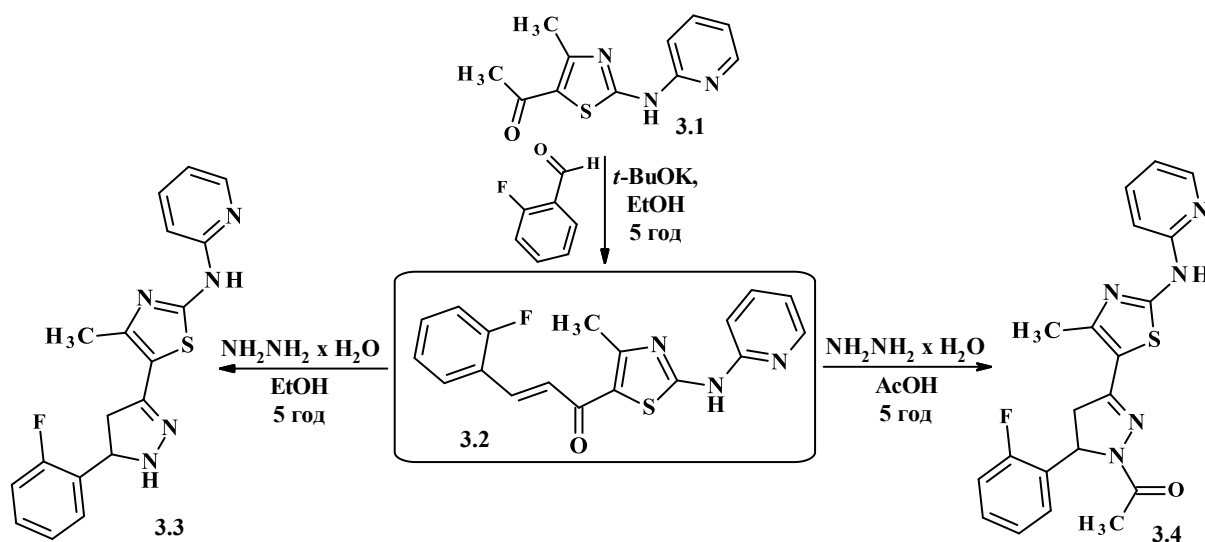


Рис. 3.3. Синтез піразолін-тіазол-піридинових гібридних молекул.

Синтезовані похідні тіазолу **3.2-3.4** – порошки жовтого кольору, розчинні при нагріванні у ДМФА, оцтовій кислоті, нерозчинні у спиртах, бензолі, толуолі, воді та діетиловому етері. Очистку синтезованих похідних **3.2-3.4** проводили шляхом перекристалізації з суміші ДМФА-етанол (1:2). Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук **3.2-3.4** наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Фізико-хімічні властивості похідних **3.2-3.4**

Сполука	Вихід, %	$T_{\text{топл.}}, ^\circ\text{C}$	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				С	Н	N	С	Н	N
<b>3.2</b>	80	222-224	$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{OS}$	63.70	4.16	12.38	63.55	4.20	12.30
<b>3.3</b>	76	188-190	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{FN}_5\text{S}$	61.17	4.56	19.82	61.25	4.65	19.70
<b>3.4</b>	71	263-265	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{FN}_5\text{OS}$	60.75	4.59	17.71	60.90	4.65	17.60

### 3.1.1. Модифікація *N*-(2-піридил)тіазол-2-аміну у реакції Міхаеля та одержання його солі

Наступний фрагмент досліджень полягав у вивченні властивостей енонового фрагменту для молекули **3.2** шляхом проведення реакції Міхаеля з відповідним електронодонорним реагентом (HS-R). Аддукт Міхаеля **3.5** отриманий взаємодією похідного **3.2** з етиловим естром 4-(2-меркаптоацетиламіно)бензойної кислоти з використанням *N*-метилпіперидину у якості основного каталізатора. Метансульфонат **3.6** синтезовано з похідного **3.2** та метансульфонової кислоти для покращення розчинності цього типу гібридних молекул [102,103] (Рис 3.4).

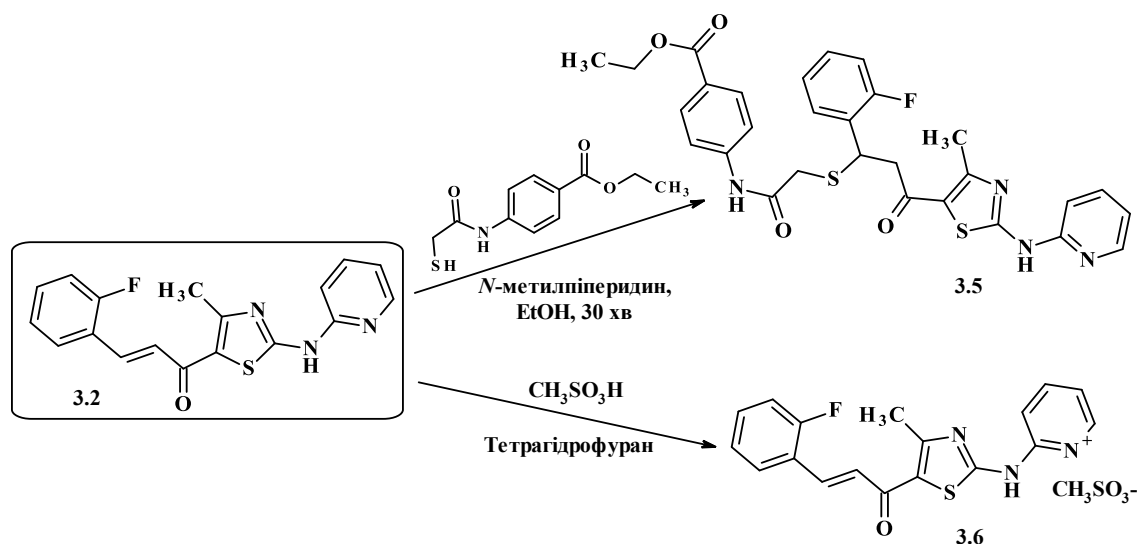


Рис. 3.4. Синтетичні модифікації похідного **3.2**.

Одержана сполука **3.5** – порошок жовтого кольору, при нагріванні розчинний у ДМФА, оцтовій кислоті та нерозчинний у спиртах, бензолі, толуолі, воді та діетиловому ефірі. Метансульфонат **3.6** – жовтий порошок, розчинний у етанолі. Фізико-хімічні властивості тіазолів **3.5**, **3.6** наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Фізико-хімічні властивості похідних тіазолу **3.5**, **3.6**

Сполука	Вихід, %	$T_{\text{топл.}}$ , °C	Брутто-формула	Вираховано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
<b>3.5</b>	81	178-180	$\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{FN}_4\text{O}_4\text{S}_2$	60.19	4.70	9.68	60.25	4.60	9.80
<b>3.6</b>	77	232-234	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_4\text{S}_2$	52.40	4.17	9.65	52.10	4.30	9.50

### 3.1.2. Спектральні характеристики синтезованих тiazолвмісних гібридів

Структура синтезованих сполук **3.2-3.6** підтверджені спектрами  $^1\text{H}$  і  $^{13}\text{C}$  ЯМР (табл. 3.3). У спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР похідних **3.2** і **3.6** фрагмент енону ( $\text{CH}=\text{CHCO}$ ) характерний двома дублетами при 7,12-7,69 м.ч. з константами спін-спінового взаємодії (КССВ)  $\sim 15,5$  Гц, що вказує на транс-конфігурацію подвійного зв'язку та існування сполук у формі *E*-ізомерів. Протони піразолінового фрагменту в сполуках **3.3** і **3.4** резонують у вигляді субспектру АВХ системи з трьох дублетів дублетів при 2.89-3.13, 3.54-4.00 та 5.00-5.64 м.ч. з відповідними КССВ. У спектрах  $^{13}\text{C}$  ЯМР наявні сигнали всіх Карбонів одержаних похідних, що підтверджує їх структуру [102,103].

Таблиця 3.3

Спектральні характеристики тiazолвмісних молекул **3.2-3.6**

Сполука	Спектр $^1\text{H}$ та $^{13}\text{C}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц)	LC-MS, $m/z$
3.2	$^1\text{H}$ ЯМР (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 2.66 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.04 (т, $J$ = 6.1 Гц, 1H, піридин), 7.12 (д, $J$ = 8.2 Гц, 1H, піридин), 7.27-7.35 (м, 2H, аром.), 7.49 (т, $J$ = 7.4 Гц, 1H, аром.), 7.51 (д, $J$ = 15.4 Гц, 1H, =CH), 7.69 (д, $J$ = 15.6 Гц, 1H, =CH), 7.78 (т, $J$ = 7.7 Гц, 1H, аром.), 7.94 (т, $J$ = 7.8 Гц, 1H, піридин), 8.42 (д, $J$ = 5.0 Гц, 1H, піридин), 11.94 (с, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР (100 MHz, DMSO- $d_6$ ): 18.7 (CH <sub>3</sub> ), 111.6 (піридин), 116.1 ( $^2J_{\text{C-F}}$ = 25.2 Гц, аром.), 117.3 (піридин), 122.2 ( $^3J_{\text{C-F}}$ = 11.3 Гц, аром.), 123.8 (=CH), 125.1 (аром.), 127.4 (аром.), 129.7 (аром.), 132.3 (тіазол), 133.5 (=CH), 138.3 (піридин), 146.6 (піридин), 150.8 (піридин), 159.8 (тіазол), 161.5 (тіазол) 161.6 (аром.), 181.3 (C=O).	342 (100.00%, [M+H] <sup>+</sup> )
3.3	$^1\text{H}$ ЯМР (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 2.36 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.89 (дд, $J$ = 16.3, 9.7 Гц, 1H, піразолін), 3.54 (дд, $J$ = 15.9, 10.7 Гц, 1H, піразолін), 5.00 (дд, $J$ = 10.7, 2.8 Гц, 1H, піразолін), 6.91 (т, $J$ = 6.2 Гц, 1H, піридин), 7.01 (д, $J$ = 8.3 Гц, 1H, піридин), 7.14 – 7.23 (м, 1H аром.+ 1H (NH піразолін)), 7.24 – 7.36 (м, 2H, аром.), 7.51 (т, $J$ = 6.8 Гц, 1H, аром.), 7.69 (т, $J$ = 7.8 Гц, 1H, піридин), 8.29 (д, $J$ = 5.0 Гц, 1H, піридин), 11.31 (с, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР (100 MHz, DMSO- $d_6$ ): 17.5 (CH <sub>3</sub> ), 42.2 (CH <sub>2</sub> , піразолін), 53.9 (CH, піразолін), 111.5 (піридин), 115.8, (аром.), 116.6 (піридин), 125.8 (аром.), 128.5 (аром.), 129.4, (аром.), 129.9 (аром.), 131.4 (тіазол), 138.2 (піридин), 147.1 (піридин), 150.6 (піридин), 155.2 (піразолін), 159.7 (тіазол), 160.6 (тіазол) 161.9 (аром.).	354 (100.00%, [M+H] <sup>+</sup> )



3.4	<p><b><sup>1</sup>H ЯМР</b> (400 MHz, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>): 2.26 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.42 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.13 (дд, <i>J</i> = 17.3, 4.6 Гц, 1H, піразолін), 4.00 (дд, <i>J</i> = 17.3, 11.9 Гц, 1H, піразолін), 5.64 (дд, <i>J</i> = 11.8, 4.6 Гц, 1H, піразолін), 6.95-7.00 (м, 1H, піридин), 7.05 (д, <i>J</i> = 8.3 Гц, 1H, піридин), 7.11-7.23 (м, 3H, аром.), 7.29-7.35 (м, 1H, аром.), 7.73 (т, <i>J</i> = 6.9 Гц, 1H, піридин), 8.35 (д, <i>J</i> = 4.0 Гц, 1H, піридин), 11.58 (с, 1H, NH). <b><sup>13</sup>C ЯМР</b> (100 MHz, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>): 17.7 (CH<sub>3</sub>), 22.1 (CH<sub>3</sub>), 43.5 (CH<sub>2</sub>, піразолін), 54.4 (CH, піразолін), 111.6 (піридин), 116.2, (<sup>2</sup><i>J</i><sub>C-F</sub> = 25.2 Гц, аром.), 117.1 (піридин), 125.1 (аром.), 127.8 (аром.), 129.2, (<sup>3</sup><i>J</i><sub>C-F</sub> = 13.8 Гц, аром.), 129.7 (<sup>3</sup><i>J</i><sub>C-F</sub> = 7.6 Гц, аром.), 132.5 (тіазол), 138.6 (піридин), 147.0 (піридин), 150.3 (піридин), 151.6 (піразолін), 159.5 (тіазол), 160.9 (тіазол) 161.5 (аром.), 167.3 (C=O).</p>	396 (100.0%, [M+H] <sup>+</sup> )
3.5	<p><b><sup>1</sup>H ЯМР</b> (400 MHz, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>): 1.30 (т, <i>J</i> = 7.1 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.52 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.29 (д, <i>J</i> = 14.5 Гц, 1H, CH<sub>2</sub>), 3.42 (д, <i>J</i> = 14.5 Гц, 1H, CH<sub>2</sub>), 3.59 (д, <i>J</i> = 7.3 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.26 (к, <i>J</i> = 7.0 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.89 (т, <i>J</i> = 7.2 Гц, 1H, CH), 7.02 (т, <i>J</i> = 6.1 Гц, 1H, піридин), 7.09 (д, <i>J</i> = 8.3 Гц, 1H, піридин), 7.11-7.19 (м, 2H, аром.), 7.22-7.29 (м, 1H, аром.), 7.53 (т, <i>J</i> = 7.7 Гц, 1H, аром.), 7.67 (д, <i>J</i> = 8.2 Гц, 2H, аром.), 7.76 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 1H, піридин), 7.87 (д, <i>J</i> = 8.3 Гц, 2H, аром.), 8.37 (д, <i>J</i> = 5.1 Гц, 1H, піридин), 10.38 (с, 1H, NH), 11.85 (с, 1H, NH). <b><sup>13</sup>C ЯМР</b> (100 MHz, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>): 14.2 (CH<sub>3</sub>), 18.5 (CH<sub>3</sub>), 35.7 (CH<sub>2</sub>), 37.7 (CH<sub>2</sub>), 46.3 (CH<sub>2</sub>), 60.4 (CH), 111.6 (піридин), 115.5 (<sup>2</sup><i>J</i><sub>C-F</sub> = 25.2 Гц, аром.), 117.2 (піридин), 118.5 (аром.), 122.6 (аром.), 124.3 (аром.), 128.4 (<sup>3</sup><i>J</i><sub>C-F</sub> = 17.4 Гц, аром.), 129.1 (аром.), 130.2 (аром.), 138.3 (піридин), 143.2 (аром.), 146.5 (піридин), 150.8 (піридин), 159.9 (тіазол), 160.3 (тіазол), 161.1 (аром.), 165.3 (C=O), 168.1 (C=O), 188.7 (C=O).</p>	579 (95.5%, [M+H] <sup>+</sup> )
3.6	<p><b><sup>1</sup>H ЯМР</b> (400 MHz, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>): 2.38 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.64 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.03 (т, <i>J</i> = 6.2 Гц, 1H, піридин), 7.11 (д, <i>J</i> = 8.3 Гц, 1H, піридин), 7.23-7.32 (м, 2H, аром.), 7.49 (т, <i>J</i> = 7.3 Гц, 1H, аром.), 7.50 (д, <i>J</i> = 15.3 Гц, 1H, =CH), 7.67 (д, <i>J</i> = 15.6 Гц, 1H, =CH) 7.78 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 1H, аром.), 7.94 (т, <i>J</i> = 7.8 Гц, 1H, піридин), 8.40 (д, <i>J</i> = 5.0 Гц, 1H, піридин), 11.96 (шс, 1H, NH). <b><sup>13</sup>C ЯМР</b> (100 MHz, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>): 18.7 (CH<sub>3</sub>), 45.8 (CH<sub>3</sub>), 111.7 (піридин), 116.0, (аром.), 117.3 (піридин), 122.2, (аром.), 123.8 (=CH), 125.1 (аром.), 127.6 (аром.), 129.7 (аром.), 132.5 (тіазол), 133.5 (=CH), 138.4 (піридин), 146.6 (піридин), 150.7 (піридин), 158.9 (тіазол), 160.4 (тіазол) 161.5 аром.), 181.3 (C=O).</p>	340 + 95 (100.0%, [M-H] <sup>+</sup> )

Спектри  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР для піразоліл-тіазолу **3.3** наведені на рисунках 3.5 та 3.6.

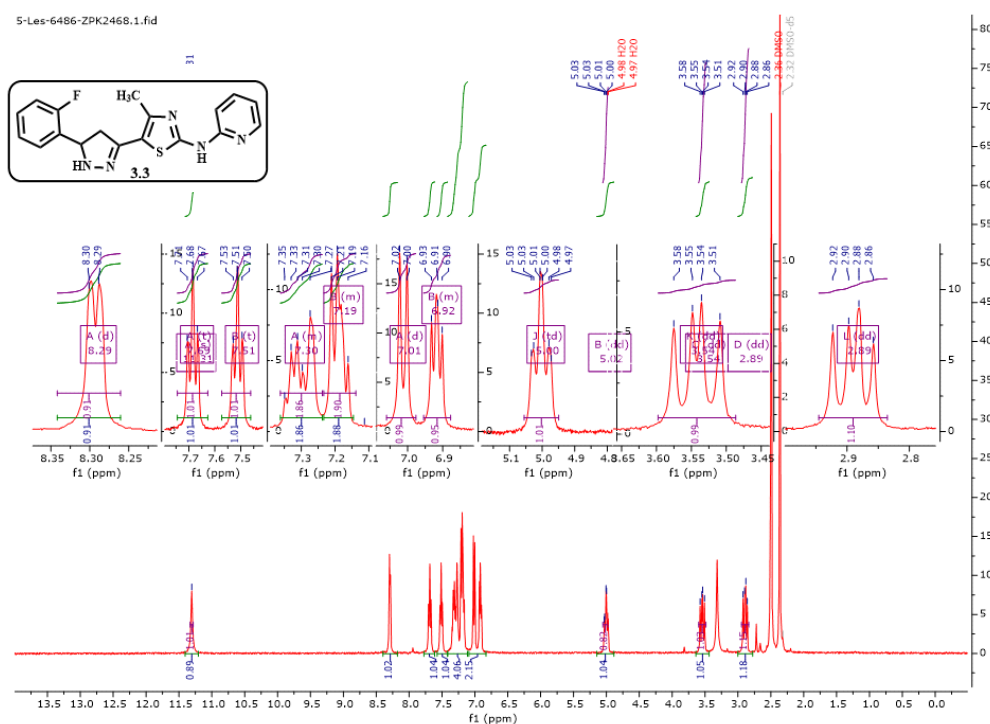


Рис. 3.5.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр 5-[5-(2-фторфеніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-3-іл]-4-метил-N-(2-піридил)тіазол-2-аміну **3.3**.

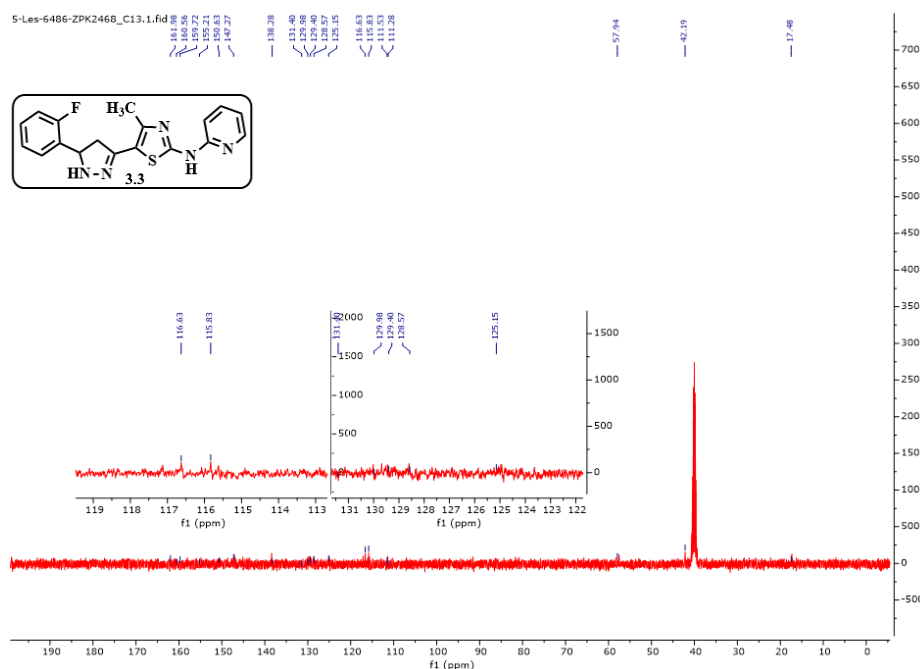


Рис. 3.6.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр 5-[5-(2-фторфеніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-3-іл]-4-метил-N-(2-піридил)тіазол-2-аміну **3.3**.

### 3.1.3. Рентгеноструктурний аналіз (*E*)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону та 1-{5-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-4,5-дигідропіразол-1-іл}-етанону

Структурні особливості синтезованих похідних **3.2** та **3.4** підтверджені рентгенографічним дослідженням. Синтезовані сполуки мають будову (*E*)-3-(2-фторофеніл)-1-[4]-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону **3.2\*DMF** та 1-{5-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-4,5-дигідропіразол-1-іл}-етанону **3.4**; кристал **3.2** знаходиться у формі сольвату диметилформаміду в молярному співвідношенні 1:1. У **3.2\*DMF** молекули основної речовини та розчинника з'єднані водневими зв'язками (Рис. 3.7-3.9, Табл. 3.4).

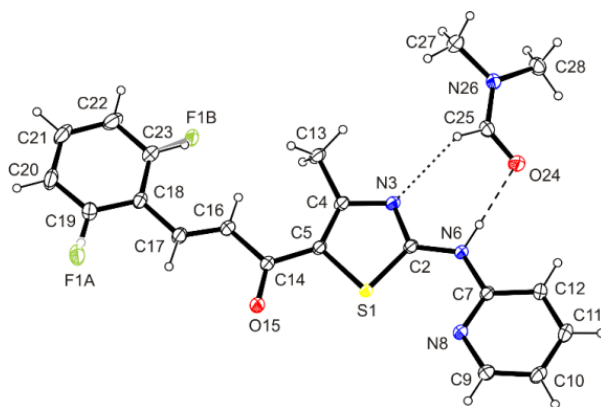


Рис. 3.7. Структура сполуки **3.2\*DMF**. Атоми, відмінні від Н, наведені як еліпсоїди зміщення з імовірністю 30%, а атоми Н – як сфери довільного розміру.

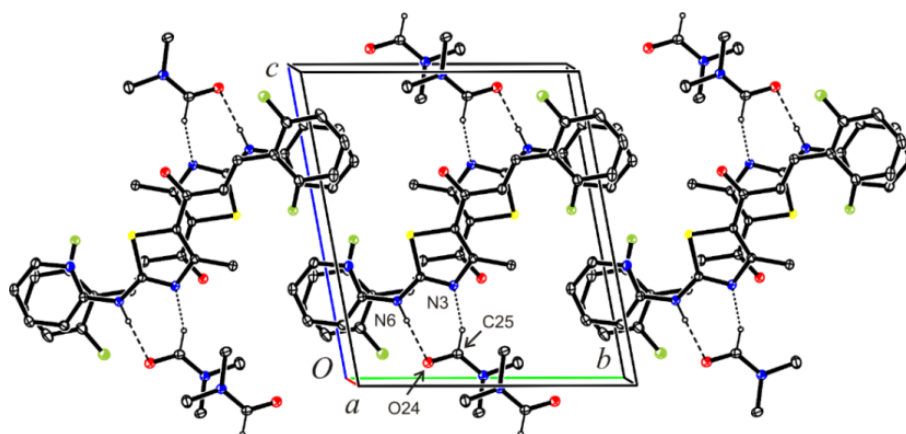


Рис. 3.8. Кристалічна структура **3.2\*DMF**.

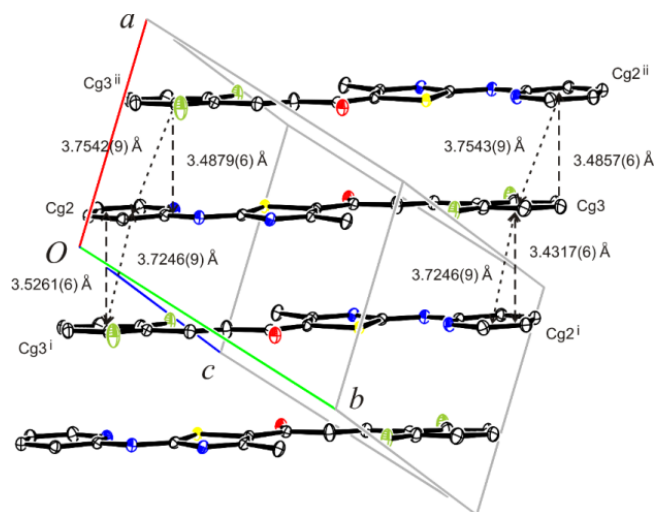


Рис. 3.9.  $\pi \cdots \pi$  Взаємодія між піридин-2-іл ( $Cg_2$ ) та 2-фторофеніл ( $Cg_2$ ) системами. (Коди симетрії: (i) 1-x,1-y,1-z, (ii) 2-x,1-y,1-z).

Таблиця 3.4

Геометрія водневого зв'язку (Å, °) для (3.2\*DMF)

$D-H \cdots A$	$D-H$	$H \cdots A$	$D \cdots A$
N6—H6 $\cdots$ O24	0.878(18)	1.966(18)	2.8418(15)
C16—H16 $\cdots$ F1B	0.95	2.12	2.806(7)
C25—H25 $\cdots$ N3	0.95	2.56	3.2011(18)

Обидві проаналізовані сполуки були кристалізовані в одній просторовій групі  $P\bar{1}$ , тому кристал 3.4 має дві незалежні молекули (A і B) в асиметричній одиниці, які відрізняються до помірного ступеня конформації (r.m.s.d. = 0.460 Å) (Рис. 3.10).

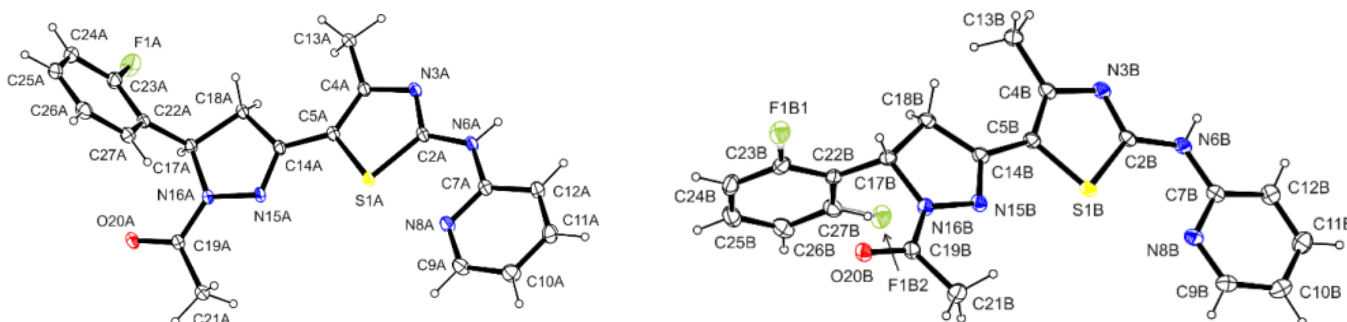


Рис. 3.10. Структура сполуки 3.4. Атоми, відмінні від H, відображаються як еліпсоїди зміщення на рівні ймовірності 30%. Атоми H зображені у вигляді сфер довільних радіусів.

Конформаційні відмінності між молекулами А і В пов'язані з кутовим перегрупуванням їхніх *o*-фторофенільних фрагментів (Рис. 3.11а). Знайдений міжплощинний кут дорівнює приблизно  $43^\circ$  (Рис. 3.11b).

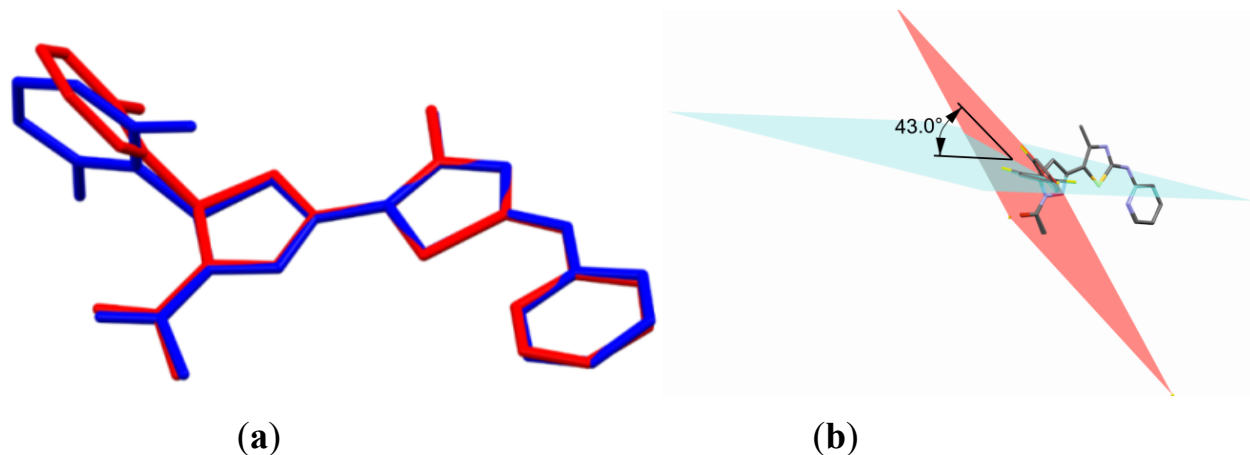


Рис. 3.11. (а) Накладення двох симетрично незалежних молекул А (червоний) і В (синій); (б) Тривимірне зображення осі із зазначеними площинами фенільного кільця в молекулах А (рожевий) і В (блакитний).

Рентгеноструктурний аналіз показав, що молекули двох досліджуваних сполук **3.2** та **3.4** містять амідинову групу ( $-\text{N}=\text{C}-\text{NH}-$ ), в якій атом Нітрогену N-3 має імінний характер, а атом Нітрогену N-6 є аміном. В обох кристалах положення амідинового атома Н було отримано з різницевої карти Фур'є та вільно уточнено. Крім того, його існування в положенні N6 було підтверджено міжмолекулярними водневими зв'язками типу  $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$  (Табл. 3.4 та 3.5, Рис 3.7, 3.12 та 3.13), в яких атом N діє як донор протону. Спостереження, зроблене для сполук **3.2** та **3.4**, є досить типовим для похідних, що містять у своїй молекулярній структурі фрагмент N-(1,3-тіазол-2-іл)піридин-2-аміну. Таку саму таутомерну форму ми виявили у 9 відомих споріднених структурах [refcodes: CUPLEH, GUPGAC, KIBTAS, ODAKIR, ODAKOH, OPAZUD, WIPYIF, XOJVAV, LEGWAZ], депонованих Cambridge Structural Database, version 5.39 [70].

## Геометрія водневого зв'язку (Å, °) для (3.2\*DMF)

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$\angle D-H\cdots A$
N6A—H6A $\cdots$ O20B	0.88(2)	1.90(2)	2.7621(16)	168(2)
N6B—H6B $\cdots$ O20A <sup>i</sup>	0.85(2)	1.93(2)	2.7784(16)	176(2)
C21B—H21B $\cdots$ N3A	0.98	2.53	3.490(2)	165
C21A—H21E $\cdots$ N3B <sup>ii</sup>	0.98	2.55	3.489(2)	161
$C-H\cdots Cg$	$C-H$	$H\cdots Cg$	$C\cdots Cg$	$\angle C-H\cdots Cg$
C9A—H9A $\cdots$ Cg1 <sup>iii</sup>	0.95	2.86	3.6228(16)	138
C18A—H18C $\cdots$ Cg2 <sup>iv</sup>	0.99	2.70	3.4533(15)	133

Коди симетрії: (i)  $x, -1+y, 1+z$ ; (ii)  $x, 1+y, -1+z$ ; (iii)  $-1+x, y, z$ ; (iv)  $1-x, 1-y, -z$ ; Cg1 = тiazольне кільце, Cg2 = фенільне кільце.

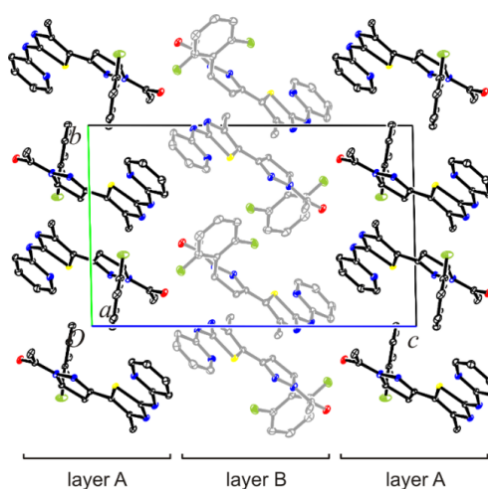


Рис. 3.12. Структура кристалу сполуки 3.4.

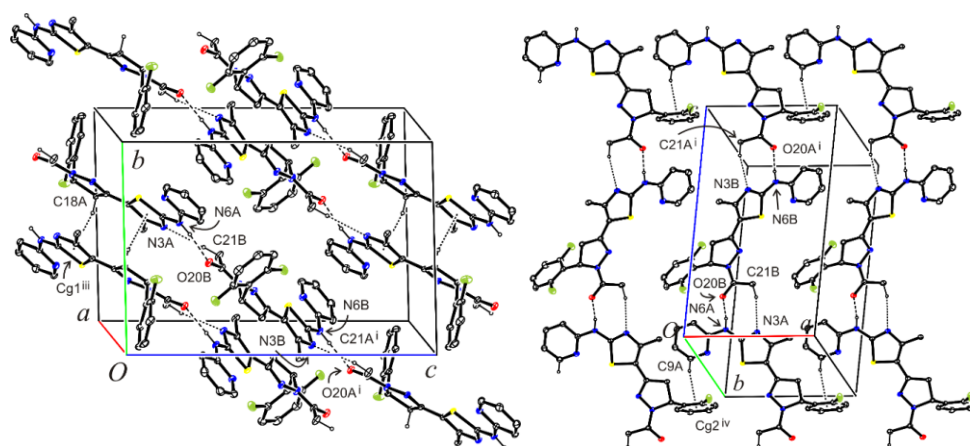


Рис. 3.13. N—H $\cdots$ O, C—H $\cdots$ N водневі зв'язки та C—H $\cdots$ Cg міжмолекулярні взаємодії у структурі кристалу 3.4. (Відображення атомів H, які не беруть участь в утворенні водневих зв'язків, було знехтуване; Cg1 = тiazол, Cg2 = феніл).

Рентгеноструктурні дослідження показали, що молекула **3.2** майже плоска в кристалі (r.m.s.d. = 0.0474 Å). Одночасно 2-піридиламіногрупа приймає синперипланарну конформацію щодо зв'язку S1–C2 4-метил-1,3-тіазольної системи. Таке розташування підтверджується торсійним кутом S1-C2-N6-C7, 2.71(19)°. Розташування 3-(2-фторофеніл)проп-2-енольної частини описується торсійними кутами C4-C5-C14-O15, O15-C14-C16-C17 та C14-C16-C17-C18 [177.59(13), -3.3(2) та -179.35(13)° відповідно]. Перші два показують, що пара подвійних зв'язків C4-C5/C14-O15 має *s*-транс-конформацію, а пара подвійних зв'язків C14-O15/C16-C17 має *s*-цис-конформацію. Третій згаданий торсійний кут вказує на транс-конфігурацію пари зв'язків C14-C16/C17-C18. Довжина зв'язку C16-C17 1.309(2) Å, знайдена в проп-2-еноїловому каркасі, підтверджує наявність подвійного зв'язку [довжина подвійного зв'язку C-C згідно літературних даних становить 1.331(1) Å] [72].

В обох незалежних молекулах А і В сполуки **3.4** тіазольна та піридинова системи розташовані синперипланарно, як у молекулі **3.2**. Торсійні кути S1-C2-N6-C7 для молекули А і В становлять -5.5(2) та 2.4(2)° відповідно. У межах 1-ацетил-5-(2-фторофеніл)-4,5-дигідро-1*H*-піразол-3-ільного фрагменту утворюється плоске піразолінове кільце з ацетильною групою та двограними кутами 2-фторофенільної системи 7.3(2) і 67.94 (4)° (молекула А) і 5.7 (3) та 84.71 (4)° (молекула В). На рисунку 3.10 показано молекулярне упакування в елементарній комірці **3.2**\*DMF. У кристалічній ґратці майже плоскі молекули основної речовини розташовані скупченнями, що ростуть уздовж осі а. У середині скупчення, також спостерігаються взаємодія між молекулами  $Cg2 \cdots Cg3^i$ ,  $Cg2 \cdots Cg3^{ii}$  (коди симетрії: (i) 1-x, 1-y, 1-z, (ii) 2-x, 1-y, 1-z; Cg2: 2-піридиніл, Cg3: 2-фторофеніл) (Рис. 3.11).

У кристалічній ґратці **3.4** спостерігаються шари, паралельні площині ab, утворені окремо молекулами А та В (Рис. 3.12). Молекули А і В із сусідніх шарів з'єднані водневими зв'язками N6A–H6A $\cdots$ O20B, N6B–H6B $\cdots$ O20A<sup>i</sup>, C21B–H21B $\cdots$ N3A та C21A–H21A $\cdots$ N3B<sup>ii</sup> у ланцюжки, що ростуть уздовж [011] напрямку. У кристалі також спостерігаються взаємодії C9A–H9A $\cdots$ Cg1<sup>iii</sup> та C18–H18C $\cdots$ Cg2<sup>iv</sup>, які з'єднують ланцюжки, утворюючи шари, що ростуть паралельно площині (011).

### 3.2. Синтез, перетворення та спектральні характеристики 2-[(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)сульфаніл]-1-(3,4-дигідропіразол-2-іл)етанону

Малі молекули, що містять піразолінові та 1,3,4-тіадіазолові скаффолди представляють важливі групи хіміотерапевтичних лікарських засобів [73,104,105]. Молекули на основі піразолінового ядра доступні на фармацевтичному ринку як лікарські засоби, спрямовані на різні типи ракових захворювань, в тому числі кризотиніб – інгібітор рецепторних тирозинкіназ c-MET, ALK і ROS1 [12-14], руксолітиніб – інгібітор JAK 1 і 2. [106,107], енкарафеніб – селективний інгібітор BRAF (BRAFi) [108] та даролутамід – антагоніст рецепторів андрогенів (AR) [109]. Похідні 1,3,4-тіадіазолу демонструють ефективність на різних моделях раку [110,111] і знаходяться на різних стадіях клінічних випробувань як інгібітори карбонангідази [112], глутамінази [113], інозинмонофосфатдегідрогенази [114] і білка KIF<sub>11</sub> (KSP, Eg5) [115]. За останні два десятиліття зросла кількість повідомлень, що описують застосування дихлороцтової кислоти (DCA) щодо деяких видів раку [116]. В даний час DCA інтенсивно вивчається та оцінюється в синергічних умовах/експериментах з іншими протипухлинними агентами синтетичного та природного походження для оптимізації протипухлинної активності [116,117] (Рис 3.14).

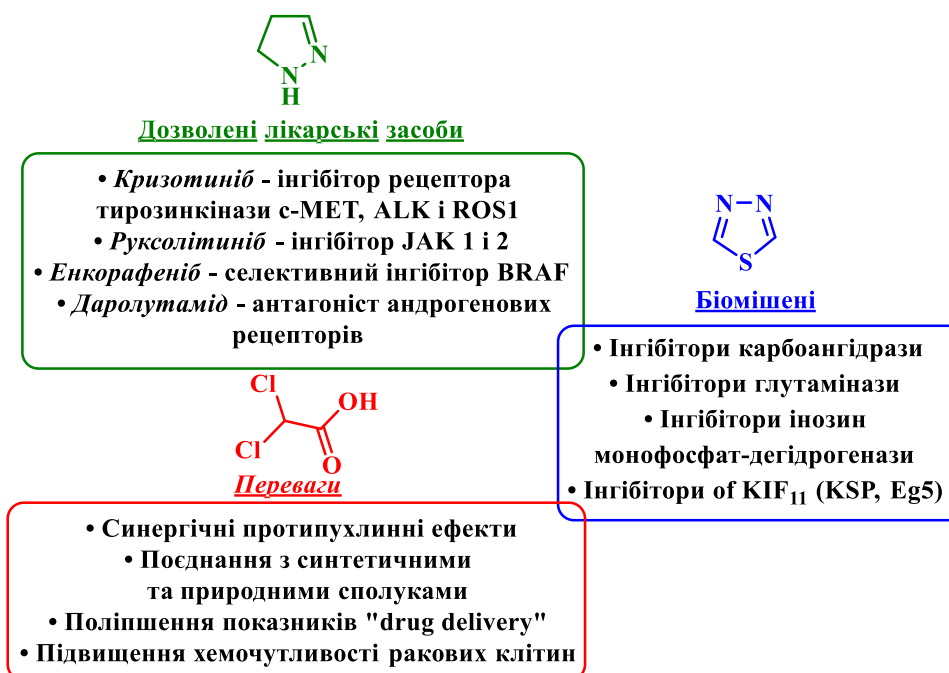


Рис. 3.14. Привілейовані протиракові структурні фрагменти.



Як вихідний реагент використано 5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-тіол, який при нагріванні з 2-хлоро-1-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]етаноном **3.7** в етанольному розчині гідроксиду калію при каталітичній участі йодиду калію утворює молекулу **3.8**. Відмінності в нуклеофільних властивостях екзоциклічних тіольної та аміногрупи 1,3,4-тіадіазолу є основною умовою селективного алкілювання [118,119]. Ацилюванням сполуки **3.8** дихлорацетилхлоридом в середовищі безводного діоксану та в присутності триетиламіну отримано цільове похідне **3.9** (Рис 3.15) [120].

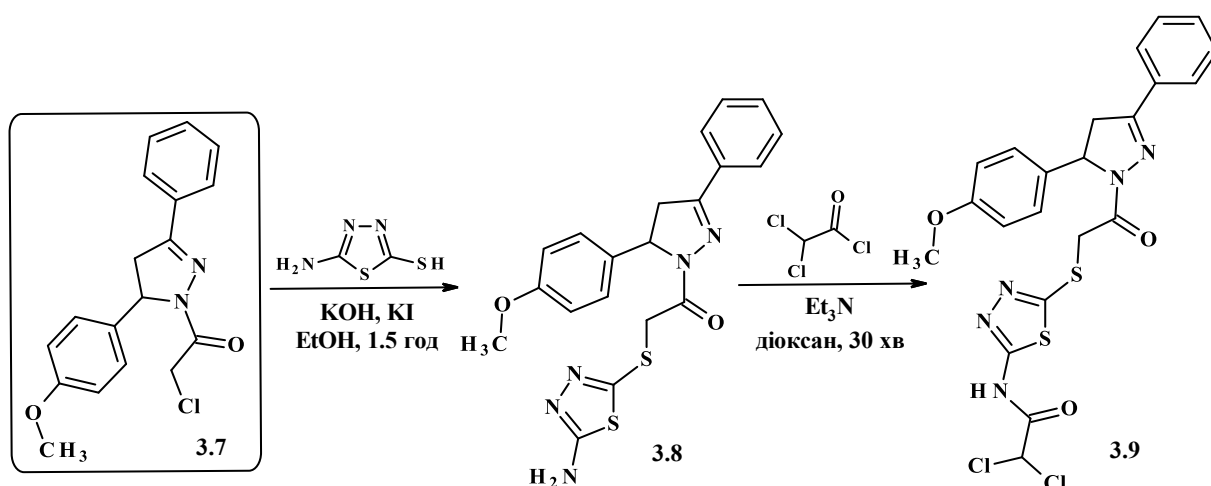


Рис. 3.15. Схема синтезу тіадіазол-піразолінів **3.8** та **3.9**.

Сполуки **3.8**, **3.9** - білі кристалічні порошки, при нагріванні розчинні у ДМФА та оцтовій кислоті. Сполука **3.8** нерозчинна у спиртах, толуолі, бензолі, воді та діетиловому етері. Похідне **3.9** при нагріванні розчинне в толуолі та бензолі. Фізико-хімічні властивості та спектральні дані синтезованих сполук наведено в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Фізико-хімічні властивості та дані елементного аналізу похідних тіазолу **3.8**, **3.9**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				С	Н	Н	С	Н	Н
<b>3.8</b>	81	209–211	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	56.45	4.50	16.46	56.62	4.63	16.58
		<sup>1</sup> H ЯМР (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 3.15 (дд, 1H, J = 4.5, 18.1 Гц, CH <sub>2</sub> ), 3.72 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.86 (дд, 1H, J = 11.8, 18.1 Гц, CH <sub>2</sub> ), 4.32 (д, 1H, J = 15.1 Гц, CH <sub>2</sub> ), 4.45 (д, 1H, J = 15.1 Гц, CH <sub>2</sub> ), 5.52 (дд, 1H, J = 4.4, 11.6 Гц,							

	Спектри $^1\text{H}$ та $^{13}\text{C}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц); LC-MS, m/z; ІЧ-спектр	CH), 6.87 (д, 2H, $J = 8.6$ Гц, аром.), 7.14 (д, 2H, $J = 8.6$ Гц, аром.), 7.29 (с, 2H, NH <sub>2</sub> ), 7.44–7.50 (м, 3H, аром.), 7.80 (д, 2H, $J = 7.5$ Гц, аром.). $^{13}\text{C}$ ЯМР (126 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 37.6 (CH <sub>2</sub> ), 42.6 (CH <sub>2</sub> ), 55.6 (CH <sub>3</sub> ), 59.8 (CHal.), 114.4 (CHar.), 127.3 (CHar.), 129.2 (CHar.), 129.3 (CHar.), 131.0 (CHar.), 131.2 (CHar.), 134.2 (CHar.), 149.9 (CHar.), 155.7 (CHar.), 158.9 (CHar.), 164.9 (CHar.), 170.4 (C=O). LC-MS (ESI+): m/z 426.2 (100%, [M + H] <sup>+</sup> ). ІЧ (KBr): 1696, 1657 (C=O), 1563 (C=C) cm <sup>-1</sup> .							
3.9	90	140–142	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	49.26	3.57	13.05	49.39	3.72	13.18
	Спектри $^1\text{H}$ та $^{13}\text{C}$ ЯМР, $\sigma$ (м.ч.), $J$ (Гц); LC-MS, m/z; ІЧ-спектр	$^1\text{H}$ ЯМР (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 3.17 (дд, 1H, $J = 4.1, 18.2$ Гц, CH <sub>2</sub> ), 3.71 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.88 (дд, 1H, $J = 11.7, 18.2$ Гц, CH <sub>2</sub> ), 4.55 (д, 1H, $J = 15.6$ Гц, CH <sub>2</sub> ), 4.69 (д, 1H, $J = 15.6$ Гц, CH <sub>2</sub> ), 5.54 (дд, 1H, $J = 4.0, 11.3$ Гц, CH <sub>2</sub> ), 6.68 (с, 1H, CH), 6.87 (д, 2H, $J = 8.2$ Гц, аром.), 7.13 (д, 2H, $J = 8.2$ Гц, аром.), 7.48 (шс, 3H, аром.), 7.80 (д, 2H, $J = 7.0$ Гц), 13.57 (шс, 1H, NH). $^{13}\text{C}$ ЯМР (126 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 37.2 (CH <sub>2</sub> , C-2), 42.7 (CH <sub>2</sub> , C-8), 55.6 (CH <sub>3</sub> , C-23), 60.0 (CHal., C-9), 66.6 (CHal., C-32), 114.5 and 127.3 i 129.3 (8*CHar., C-12,13; C-15,16; C-17,18; C-20,21), 128.7 (CHar., C-14), 131.1 (CHar., C-11), 134.1 i 134.2 (CHar.,C-10), 156.0 (2*CHar., C-7 i C-27), 159.0 (2*CHar.+ C=O, C-19 i C-24 i C-30), 164.5 (C=O, C-3). LC-MS (ESI+): m/z 538.0/540.0 (100.0%, [M + H] <sup>+</sup> ). ІЧ (KBr): 3312, 3120 (NH), 1645, 1598 (C=O), 1517 (C=C) cm <sup>-1</sup> .							

У спектрі  $^1\text{H}$  ЯМР сполуки **3.9** спостерігаються сигнали всіх протонів, що підтверджує її структуру. Так, протон аміногрупи резонував як широкий синглет при 13,57 м.ч. Ароматичні протони характеризуються трьома дублетами при 6,87, 7,13, 7,80 м.ч. і широким синглетом при 7,48 м.ч. Сигнал протону в фрагменті дихлороцтової кислоти є зміщеним у слабке магнітне поле і резонує як однопротонний синглет при 6,68 м.ч. Протони піразолінового фрагменту закономірно утворюють систему AMX і характеризуються трьома дублетами дублетів при 5,54, 3,88 і 3,17 м.ч. з відповідним константами спінової взаємодії. Протони метиленої групи є магнітно нееквівалентними і проявляються у вигляді двох однопротонних дублетів при 4,55 і 4,69 м.ч. з  $J = 15,6$  Гц. Протони метильної групи характерні синглетом при 3,71 м.ч. (Рис. 3.16).

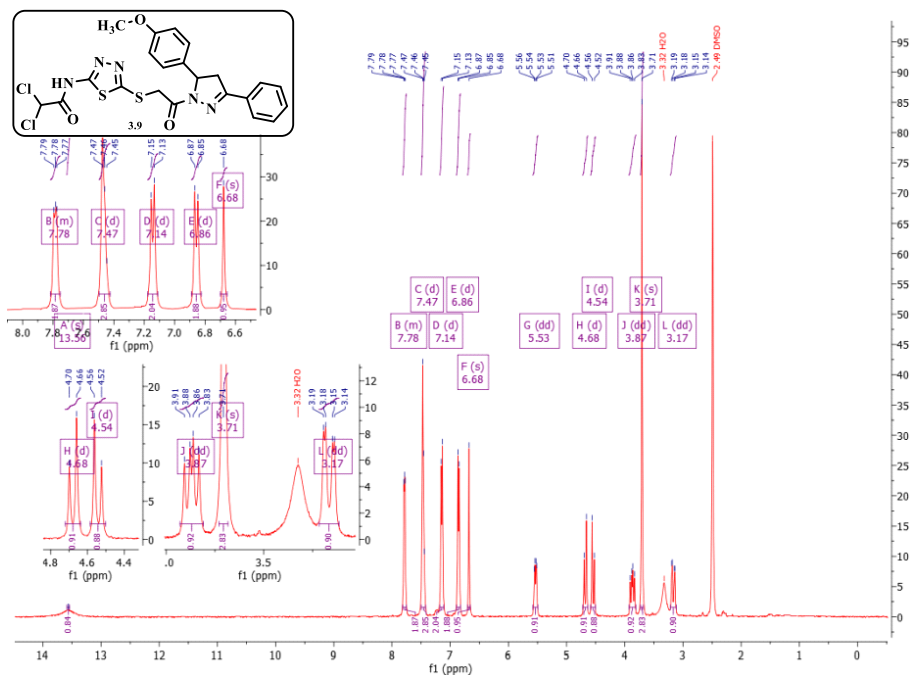


Рис. 3.16.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр 2,2-дихлоло-*N*-[5-[2-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідпропіразол-2-іл]-2-оксоетил]сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл]ацетаміду **3.9**.

Віднесення сигналів протонів здійснено на основі спектру  $^1\text{H}$  COSY (Рис. 3.17).

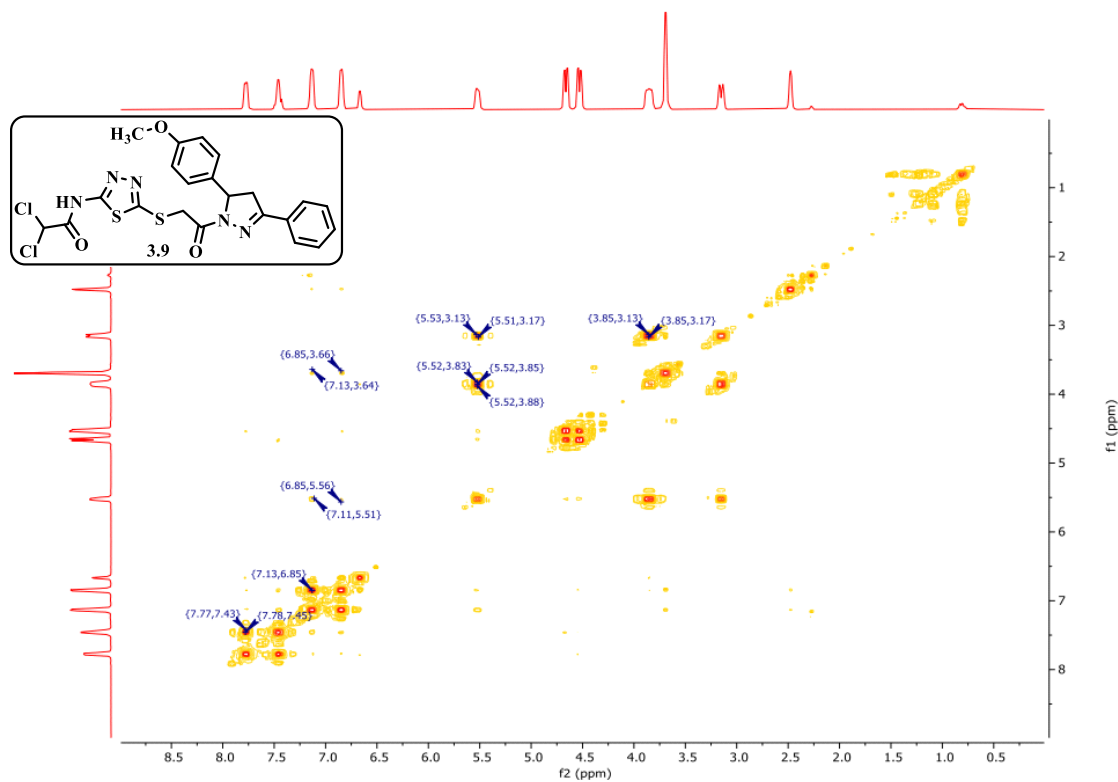


Рис. 3.17.  $^1\text{H}$  COSY спектр сполуки **3.9**.

$^{13}\text{C}$  ЯМР спектр **3.9** характеризується 15 сигналами атомів Карбону (Рис 3.18). Додаткове застосування кореляційної 2D ЯМР техніки (HSQC і HMBC) дозволяє ідентифікувати два аліфатичні, дев'ять ароматичних метинів, два метиленові, по одному один метиловому та карбонільному атомах Карбону (Рис 3.19, 3.20). Ароматичні атоми резонували в діапазоні від 114,5 до 159,0 м.ч. та деколи перекриваються один з одним та сигналом карбонільної групи (C-30). Атом  $\text{C}=\text{O}$  в в положенні 3 резонує при 164,5 м.ч.

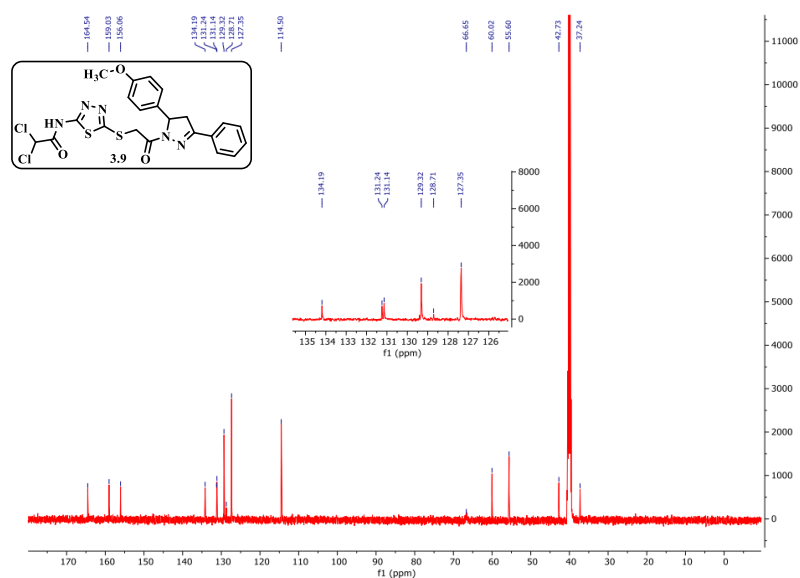


Рис. 3.18.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр сполуки **3.9**.

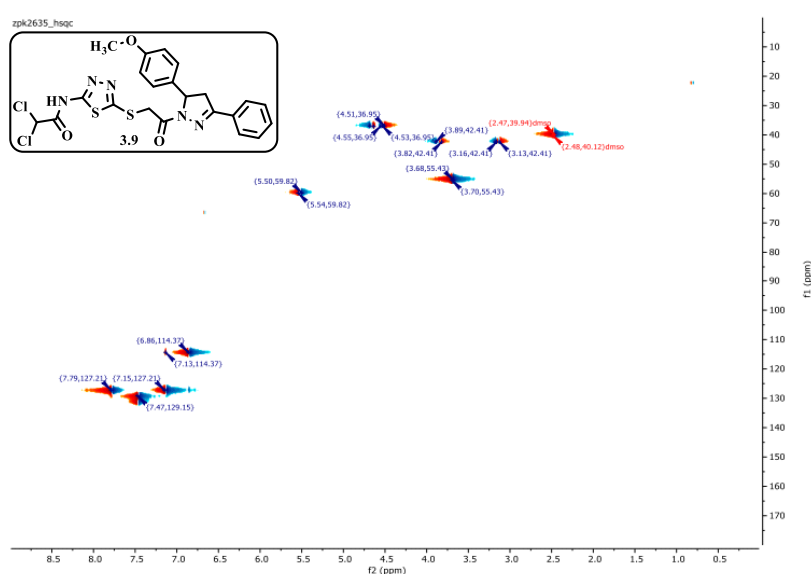


Рис. 3.19. HSQC спектр сполуки **3.9**.

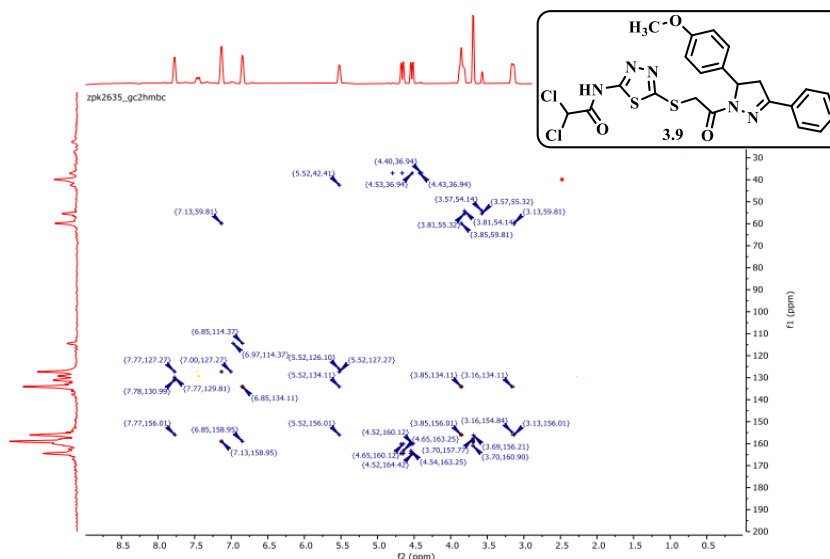


Рис. 3.20. НВМС спектр сполуки **3.9**.

В ІЧ-спектрах молекул **3.8** і **3.9** смуги поглинання при  $1696$  і  $1645\text{ cm}^{-1}$  віднесені до валентних коливань  $\text{C}=\text{O}$  відповідно. Смуги поглинання при  $3312$ ,  $3120\text{ cm}^{-1}$  з'явився в ІЧ-спектрі **3.9** і відповідав коливанням  $\text{NH}$  (Рис. 3.21).

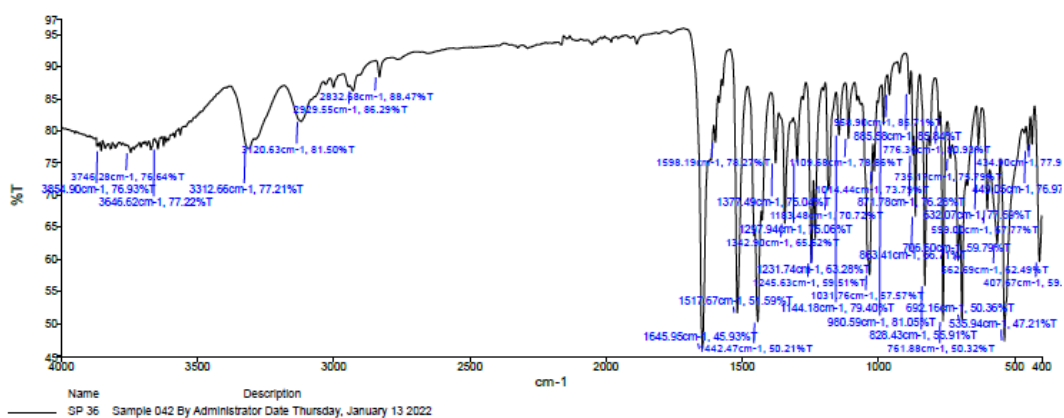


Рис. 3.21. ІЧ спектр сполуки **3.9**.

### 3.3. Синтез, перетворення та спектральні характеристики 1,5-диметил-2-феніл-4-[(5-сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно]піразол-3-ону

Наступним етапом дослідження було формування 1,3,4-тіадіазольного ядра на основі 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду **2.16**. Вихідний тіосемікарбазид **2.16** нагрівали протягом 4 годин з еквімолярною кількістю  $\text{CS}_2$  в присутності безводного карбонату калію, що дозволило одержати 1,5-диметил-2-феніл-4-[(5-сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно]піразол-3-он **3.10**. Синтез цільової

піразол-тіадіазол-тетрагідробензотіофен гібридної молекули **3.11** здійснено через стадію одержання *in situ* калійної солі та наступним алкілуванням 2-хлоро-*N*-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофен-2-іл)ацетамідом у присутності KI [121] (Рис 3.22).

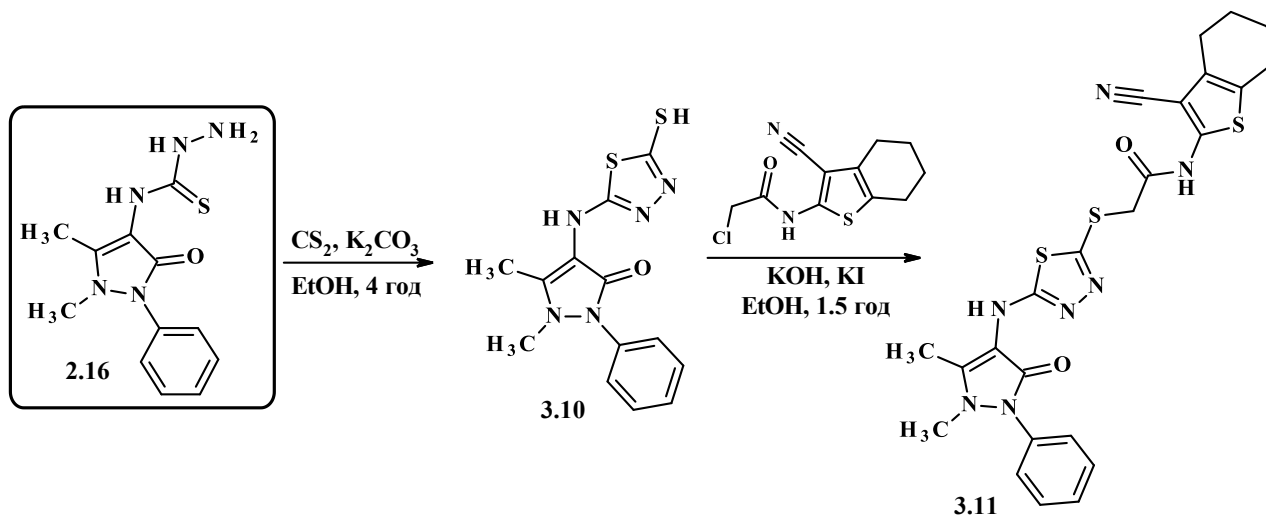


Рис. 3.22. Синтез піразол-тіадіазол-тетрагідробензотіофен похідного **3.11**.

Одержане похідне **3.10** при нагріванні розчинне у ДМФА та оцтовій кислоті, сполука **3.11** розчиняється лише у ДМФА. Піразолінвмісні 1,3,4-тіадіазоли **3.10**, **3.11** нерозчинні у спиртах, толуолі, бензолі, воді та діетиловому ефірі. Фізико-хімічні та спектральні характеристики сполук наведено в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Фізико-хімічні властивості похідних **3.10**, **3.11**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
<b>3.10</b>	86	238–240	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> OS <sub>2</sub>	48.89	4.10	21.93	49.00	4.30	22.10
	Спектр <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z;	<sup>1</sup> H ЯМР (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 2.21 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.09 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.32–7.37 (м, 3H, аром.), 7.49–7.54 (м, 2H, аром.), 8.95 (с, 1H, NH), 13.40 (с, 1H, SH). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): m/z 320.0 (100%, [M+H] <sup>+</sup> ).							
<b>3.11</b>	74	213–215	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	53.61	4.31	18.24	53.80	4.50	18.40
	Спектр <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z;	<sup>1</sup> H ЯМР (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 1.74 (с, 4H, (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> ), 2.20 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.53–2.61 (м, 4H, (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> ), 3.09 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 4.19 (с, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.32–7.37 (м, 3H, аром.), 7.48–7.54 (м, 2H, аром.), 9.23 (с, 1H, NH), 11.84 (с, 1H, NH). <sup>13</sup> C ЯМР (126 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 11.0, 22.1, 23.0, 23.8, 24.0, 36.1, 37.7, 93.5, 110.5, 114.5, 124.4, 127.1, 128.1, 129.6, 131.3, 135.3, 146.6, 150.9, 152.7, 161.7, 166.3, 171.7. LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): m/z 538.2 (100%, [M+H] <sup>+</sup> ).							

У спектрі  $^1\text{H}$  ЯМР сполуки **3.11** спостерігаються сигнали всіх характерних протонів (Рис 3.23). Так, протони NH-груп резонують вигляді синглетів при 11,84 і 9,23 м.ч. та були віднесені до амідної та вторинної аміногруп, відповідно. Протони фенільної групи в антипіриновому фрагменті резонували як два мультиплети при 7,48–7,54 і 7,32–7,37 м.ч. Синглетний сигнал протонів метиленової групи ацетамідного фрагмента проявлявся при 4,19 м.ч., тоді як вісім протонів  $(\text{CH}_2)_4$  фрагменту тетрагідробензотіофену утворили мультиплет при 2,53–2,61 м.ч. і широкий синглет при 1,74 м.ч. Дві метильні груп закономірно утворюють два трипротонні синглети при 2.20 та 3.09 м.ч.

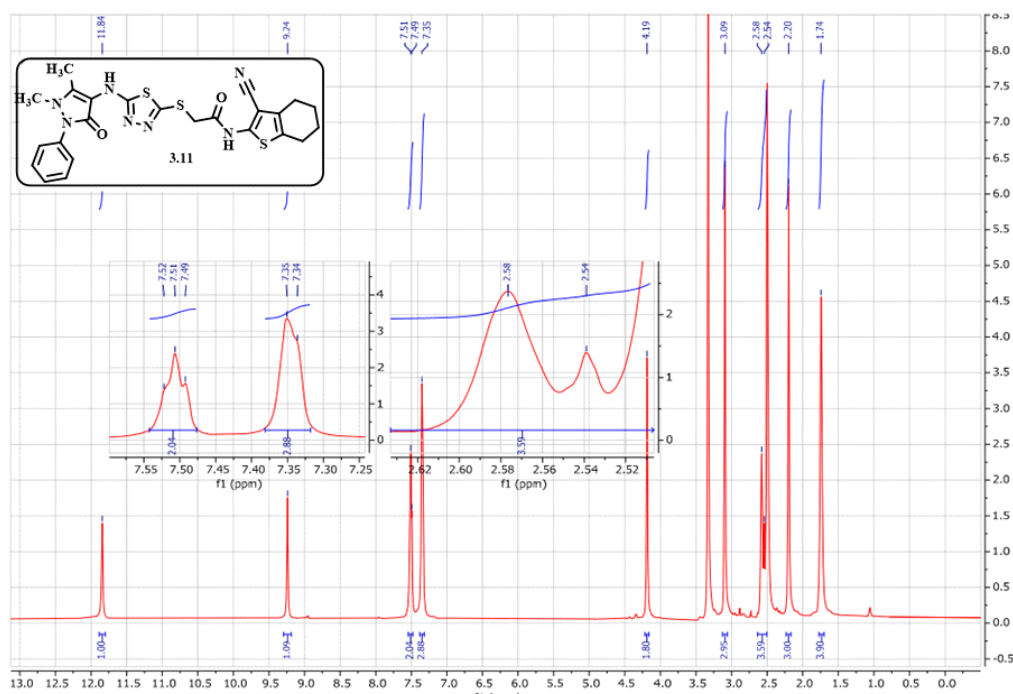


Рис. 3.23.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофен-2-іл)-2-[[5-[(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)аміно]-1,3,4-тіадіазол-2-іл]сульфаніл] ацетаміду **3.11**.

$^{13}\text{C}$  ЯМР спектр молекули **3.11** характерний сигналами Карбону груп  $\text{C}=\text{O}$  при 171,7 та 161,7 м.ч. Решта сигналів очікувано спостерігаються у відповідних ділянках для ароматичних і аліфатичних Карбонів (Рис 3.24).

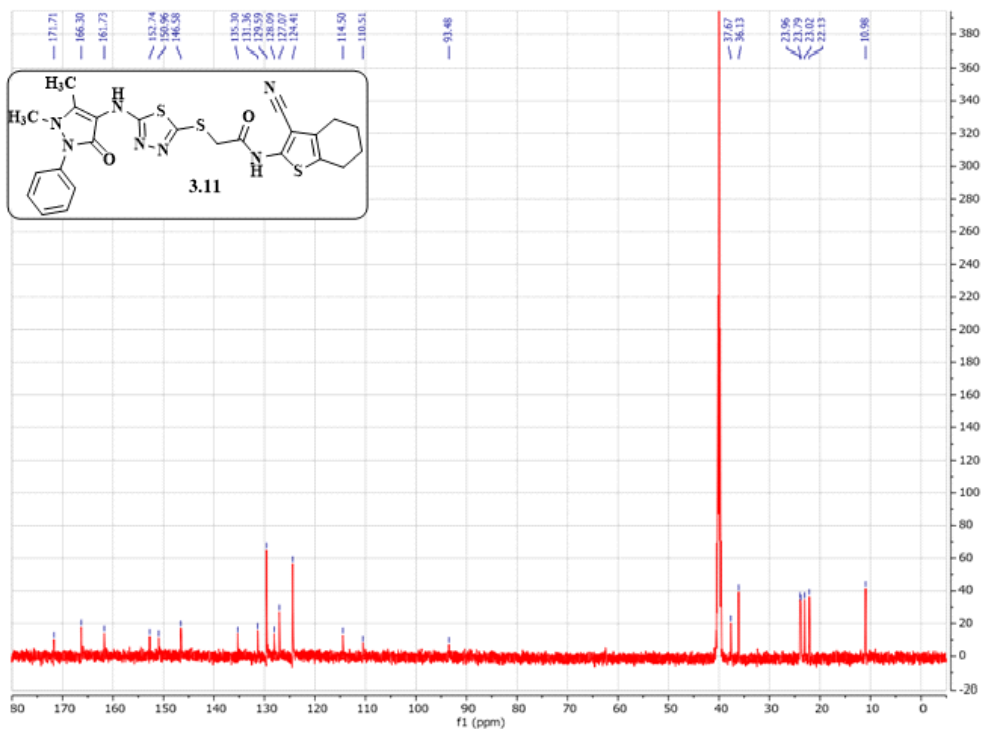


Рис. 3.24.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр сполуки **3.11**.

Хромато-мас спектр сполуки **3.11** характерний молекулярним іоном  $m/z$  538,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$  у позитивному режим іонізації і надійно підтверджує утворення піразол-тіадіазол-тетрагідробензотіофен гібридної молекули.

### 3.4. Опис експериментів

*Синтез (E)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону 3.2.* Суміш 0.01 моль 1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)тіазол-5-іл]етанону **3.1**, 0.02 моль 2-фторобензальдегіду та 0.015 моль *трет*-бутилат калію нагрівали в 15 мл етанолу під зворотним холодильником протягом 5 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури та підкислювали оцтовою кислотою до рН 7. Сформований осад жовтого кольору відфільтровували, промивали етанолом та перекристалізували із суміші ДМФА:етанол (1:2).

*Синтез 5-[5-(2-фторофеніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-3-іл]-4-метилтіазол-2-іл-}(піридин-2-іл)-аміну 3.3.* До суміші 0.01 моль (E)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону **3.2** у 15 мл метанолу повільно додавали



0.01 моль гідразин гідрату. Одержану суміш кип'ятили під зворотним холодильником протягом 1 години. Після охолодження осад жовтого кольору відфільтрували та перекристалізували із суміші ДМФА:етанол (1:2).

*Синтез 1-{5-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-4,5-дигідропіразол-1-іл}-етанону 3.4.* До суміші 0.01 моль (E)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону **3.2** у 10 мл оцтової кислоти повільно додавали 0.01 моль гідразин гідрату. Суміш кип'ятили під зворотним холодильником протягом 4 годин. Жовтий осад фільтрували та перекристалізували із суміші ДМФА:етанол (1:2).

*Синтез етил 4-[[2-[1-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)тіазол-5-іл]-3-оксопропіл]сульфанілацетил]аміно]бензоату 3.5.* Суміш 0.01 моль (E)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону **3.2**, 0.01 моль етил 4-[(2-сульфанілацетил)аміно]бензоату та 0.02 моль N-метилпіперидину кип'ятили під зворотним холодильником протягом 30 хв в 15 мл етанолу. Одержаний жовтий осад фільтрували, промивали етанолом та перекристалізували із суміші ДМФА:етанол (1:2).

*Синтез (E)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(піридин-1-ій-2-іламіно)тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону метансульфонату 3.6.* До суміші 0.01 моль (E)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону **3.2** у 15 мл безводного тетрагідрофурану повільно додавали 0.01 моль метансульфонової кислоти. Одержаний осад білого кольору фільтрували, промивали тетрагідрофураном і висушували при кімнатній температурі.

*Синтез 2-[(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)сульфаніл]-1-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідро-2H-піразол-2-іл]етанону 3.8.* Суміш 0.01 моль 2-аміно-5-меркапто-1,3,4-тіадіазолу у 10 мл етанол (10 мл) інтенсивно перемішували при 20°C та повільно додавали розчин 0.01 моль гідроксиду калію в 10 мл етанолу. Потім суміш нагрівали під зворотним холодильником протягом 15 хв. Після цього до реакційної суміші додали 0.011 моль 2-хлоро-1-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]етанону **3.7**, 0.01 моль йодиду калію і нагрівали до кипіння під зворотним холодильником протягом 1,5 години. Після завершення суміш охолоджували до

кімнатної температури. Отриманий білий осад фільтрували, промивали етанолом, діетиловим ефіром і перекристалізували із суміші ДМФА:етанол (1:2).

*Синтез* 2,2-дихлор-N-[5-[2-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідро-2H-піразол-2-іл]-2-оксоетил]сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл]ацетаміду **3.9**. Суміш 0.01 моль 2-[(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)сульфаніл]-1-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідро-2H-піразол-2-іл]етанону **3.8** та 0.01 моль триетиламіну в 10 мл безводного діоксану нагрівали до повного розчинення. Після цього до утвореного розчину при інтенсивному перемішуванні повільно додавали суміш 0.01 моль дихлорацетилхлориду у 5 мл безводного діоксану, потім суміш нагрівали до кипіння під зворотним холодильником протягом 30 хв. Після завершення реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури. Одержаний осад білого кольору фільтрували, промивали петролейним ефіром та кристалізували з толуолу.

*Синтез* 1,5-диметил-2-феніл-4-[(5-сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно]піразол-3-ону **3.10**. До суміші 0.01 моль 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду **2.16** і 0.005 моль безводного калію карбонату в 15 мл етанолу повільно додавали 0.01 моль сірковуглецю. Отриману суміш кип'ятили під зворотним холодильником при перемішуванні на магнітній мішалці протягом 4 год. Після завершення синтезу розчинник випарювали за допомогою роторного випарювача. До сформованого сухого залишку додали 25 мл дистильованої води. Одержаний білий осад відфільтрували, промили водою, висушили та перекристалізували з оцтової кислоти.

*Синтез* N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофен-2-іл)-2-[[5-[(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)аміно]-1,3,4-тіадіазол-2-іл]сульфаніл]ацетаміду **3.11**. Розчин 0.01 моль 1,5-диметил-2-феніл-4-[(5-сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно]піразол-3-ону **3.10** в 10 мл етанолу та розчин 0.01 моль КОН в 5 мл етанолу змішували і кип'ятили під зворотним холодильником протягом 15 хв. Після цього до реакційної суміші додали 0.011 моль 2-хлор-N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофен-2-іл)ацетаміду та декілька кристалів йодиду калію і продовжували кип'ятили протягом 1,5 год. Після завершення синтезу реакційну суміш охолодили до кімнатної температури і виливали у дистильовану воду.

Одержаний жовтий відфільтрували, промили водою, висушили та перекристалізували із суміші ДМФА:етанол (1:4).

### Висновки до розділу 3

1. Шляхом конденсації Кляйзена-Шмідта одержано (*E*)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-он **3.2**, на основі якого синтезовано відповідні піразолін-тіазол-піридинові гібриди **3.3** та **3.4**.

2. Досліджено, що при взаємодії енону **3.2** з етиловим естером 4-(2-меркаптоацетиламіно) бензойної кислоти утворюється аддукт Міхаеля 4-[[2-[1-(2-фторфеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)тіазол-5-іл]-3-оксопропіл]сульфанілацетил]аміно]бензоат **3.5**.

3. Для покращення біофармацевтичних характеристик (*E*)-3-(2-фторфеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону **3.2** синтезовано його сіль метансульфонової кислоти **3.6**.

4. Рентгеноструктурний аналіз похідних **3.2** та **3.4** показав, що вони містять амідинову групу (-N=C-NH-), в якій атом N-3 має імінний характер, а атом Нітрогену N-6 є аміном. Встановлено, що ацильований піразолін-тіазол-піридиновий гібрид **3.4** має дві незалежні молекули (A і B) в асиметричній комірці, які відрізняються до помірного ступеня конформації, а самі конформаційні відмінності між молекулами A і B пов'язані з кутовим перегрупуванням їхніх *o*-фторофенільних фрагментів.

5. Встановлено, що завдяки відмінності в нуклеофільних властивостях екзоциклічних тіольної та аміногрупи 1,3,4-тіадіазолу було вперше одержано 2-[(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)сульфаніл]-1-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідро-2H-піразол-2-іл]етанон **3.8**, шляхом селективного S-алкілювання піразолінвмісним хлорацетамідом **3.7**. Піразолінвмісний 1,3,4-тіадіазол **3.8** було використано для наступного N-ацилювання дихлороацетилхлоридом з утворенням гібридної молекули **3.9**.

6. Вивчено реакційну здатність 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду в якості вихідного реагенту для синтезу 1,3,4-тіадіазолів, що продемонстровано одержанням 1,5-диметил-2-феніл-4-[(5-сульфаніл-1,3,4-

тіадіазол-2-іл)аміно]піразол-3-ону **3.10**, на основі якого в реакції S-алкілювання 2-хлоро-N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофен-2-іл)ацетамідом синтезовано N- та S-функціональнозаміщене похідне **3.11**.

7. Структура і чистота синтезованих сполук підтверджена методами ІЧ,  $^1\text{H}$  і  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопії та хромато-мас спектрометрії. Для сполуки **3.9** додаткове застосування кореляційної 2D ЯМР техніки (HSQC і HMBC) дозволяє однозначно ідентифікувати в спектрах  $^{13}\text{C}$  ЯМР два аліфатичні, дев'ять ароматичних метинів, два метиленові та по одному метиловому та карбонільному атомів Карбонів.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях: [102,103], [120,121].

## РОЗДІЛ 4

### ФУНКЦІОНАЛІЗОВАНІ ПОХІДНІ ПІРАЗОЛІНУ ТА ТІАЗОЛІДИНУ У СИНТЕЗІ КОНДЕНСОВАНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СИСТЕМ

Конденсовані піразолінвмісні гетероциклічні системи характеризуються низкою цікавих синтетичних та фармакологічних особливостей, що безумовно робить їх перспективним об'єктом для досліджень [122]. Варто зазначити, що завдяки своїм властивостям 1,2-діазольні системи можуть призводити до утворення ди- та поліциклічних конденсованих і неконденсованих структур [7,25,123]. З іншої сторони похідні тiazолідинону є також відомими «building blocks» для молекулярного дизайну біологічно активних тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, хромено[2,3-*d*]тіазол-2-онів, тiazоло[4,5-*b*] піридинів, тощо [23,124]. З огляду на таку різноплановість похідних піразоліну і тiazолідину та спираючись на різноманіття їх функціональних похідних перспективним та цікавим буде апробування саме даних гетероциклів у синтетичних перетвореннях, які дозволять одержати нові похідні конденсованих гетеросистем.

#### 4.1. Синтез та спектральні характеристики 6-(3,4-дигідропіразол-2-карбоніл)-тіопірано[2,3-*d*]тіазолів

Похідні тіопірано[2,3-*d*]тіазолу є привабливими об'єктами в сучасній медичній хімії та мають широкий спектр біологічних активностей, таких як протиракова [125], протимікробна [126], противірусна [127] та протигрибкова [128]. Синтетичними попередниками тіопірано[2,3-*d*]тіазолів є 5-ен-4-тіазолідинони, які містять енонові фрагменти у своїх структурах і в зв'язку з цим характеризуються як PAINS-сполуки з низькою селективністю та високою реакційною здатністю за нуклеофільними центрами біологічних молекул [129,130] (Рис. 4.1). Застосування реакції *гетеро-Дільса–Альдера* є важливим синтетичним інструментом для трансформації 5-ен-4-тіазолідинонів до відповідних тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, що дозволяє зберегти або покращити їх фармакологічні властивості та трансформувати молекулу у non-PAINS структуру. Сучасні тенденції у синтезі тіопірано[2,3-*d*]тіазолів передбачають використання різновидів 5-арил/гетериліденізо(тіо)роданінів у якості гетеродієнів та 1,4-нафтохінону, ариліденпіровиноградної, акрилової, малеїнової, кротонової кислот

або їх похідних як дієнофілів у синтезі тіопірано[2,3-*d*]тіазолів [125-128]. Окрім цього, було показано, що особливості будови дієнофілів мають істотний вплив на біологічні властивості цільових аддуктів Дільса–Альдера, а також здатність змінювати біологічний профіль нових молекул [125]. Так, тіопірано[2,3-*d*]тіазоли з 1,4-нафтохіноновим фрагментом у молекулі [125] інгібували лінії меланоми SK-MEL-5 і раку товстої кишки OVCAR-3, тоді як структурна зміна 1,4-нафтохінону на 3,4-диметилбензоїльний фрагмент мала вплив на лінію лейкемії RPMI-8226 (Рис. 4.1).

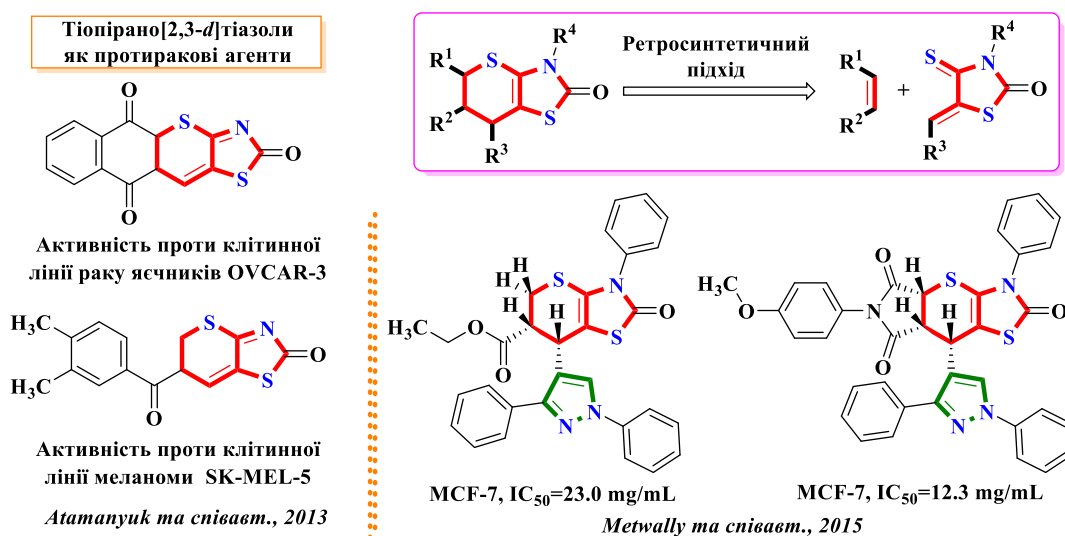


Рис 4.1. Схема ретросинтетичного підходу до тіопірано[2,3-*d*]тіазолів та деякі приклади біоактивних представників цього класу гетероциклів.

Незважаючи на широкі дослідження та приклади застосування різних типів дієнофілів для реакції *гетеро*-Дільса-Альдера, дані щодо застосування дієнів або дієнофілів з фармакологічно привабливими піразоліномісними фрагментами обмежені [21,35,126]. У роботі Metwally та співавторів повідомляється про застосування піразолінвмісного гетеродієну для розробки потенційних протипухлинних агентів, і така стратегія була успішною щодо впливу на клітинні лінії раку печінки (HEPG2) і молочної залози (MCF7) [21] (Рис. 4.1).

Вихідні для синтезу піразолінвмісні дієнофіли **4.3**, **4.4** одержані ацилюванням кротоновим ангідридом у середовищі толуолу 3-(4-метоксифеніл)-5-арил-4,5-дингідро-1*H*-піразолів **4.1**, **4.2**. Окрім цього, у вигляді реакційного середовища був апробований безводний діоксан, проте вихід та чистота цільового продукту були

дещо нижчими (таблиця 4.1). На наступному етапі у реакції *гетеро*-Дільса-Альдера дієнофілів **4.3**, **4.4** з відповідними 5-ариліден/гетериліденізороданінами як гетеродієнами (середовище оцтова кислота з присутністю гідрохінону як інгібітора полімеризації) одержано цільові сполуки **4.5-4.7** [131,132] (Рис. 4.2).

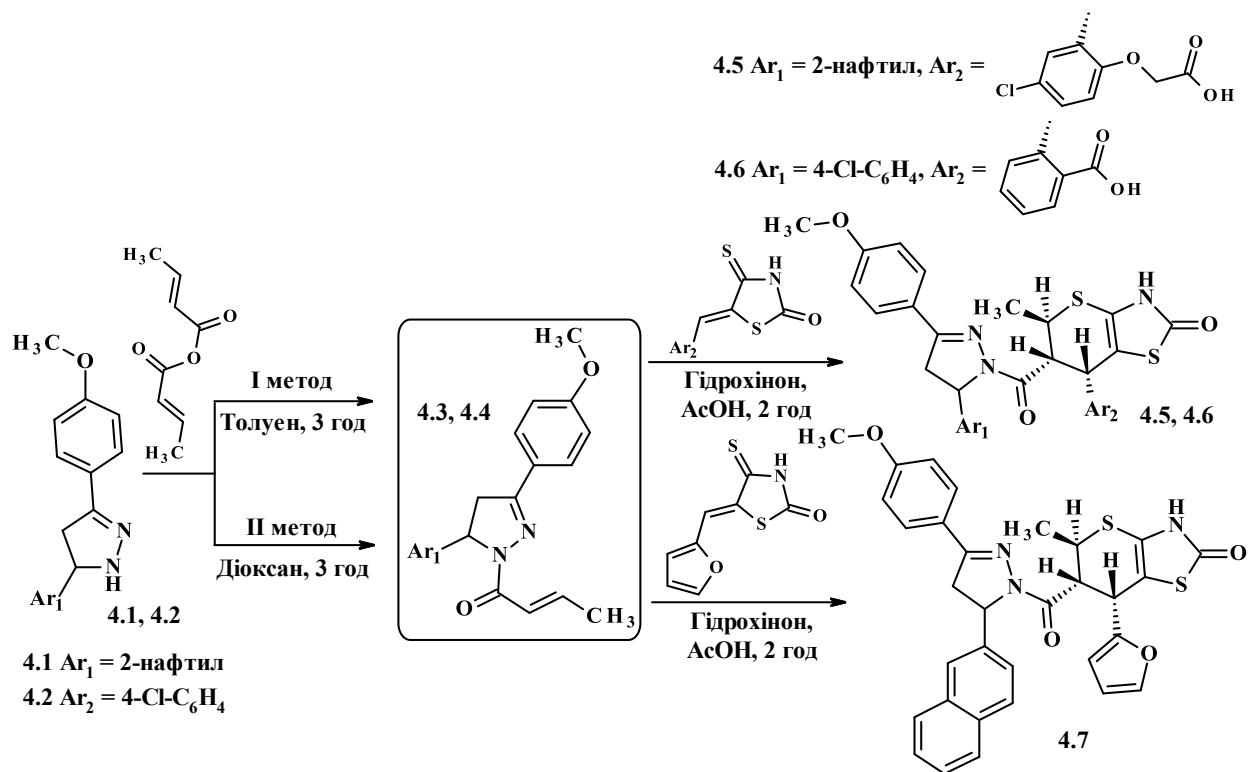


Рис 4.2. Схема синтезу тіопірано[2,3-*d*]тіазолів шляхом реакції *гетеро*-Дільса-Альдера на основі піразолінвмісних дієнофілів.

Отримані дієнофіли **4.3**, **4.4** та піразолінвмісні тіопірано[2,3-*d*]тіазоли **4.5-4.7** порошки жовтого кольору розчинні у ДМФА, оцтовій кислоті, етанолі **4.3**, **4.4**, **4.6**, толуолі **4.7** і нерозчинні у воді та діетиловому етері. Очистку сполук **4.3**, **4.4**, **4.6** проводили шляхом перекристалізації з етанолу, **4.5** - з суміші ДМФА-етанол (1:2), **4.7** - з толуолу. Структуру та чистоту синтезованих молекул підтверджено методами спектрального дослідження та елементним аналізом, які наведено у таблиці 4.1.

## Фізико-хімічні та спектральні дані синтезованих молекул 4.3-4.7

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				С	Н	N	С	Н	N
4.3	76 62*	142–144	C <sub>24</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	77.81	5.99	7.56	77.92	6.11	7.68
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 1.92 (т, J = 6.0 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.27 (дд, J = 17.8, 3.9 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> ), 3.71 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.93 (дд, J = 17.8, 11.8 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> ), 5.61 (дд, J = 11.8, 3.9 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> ), 6.79 (секст, J = 6.9 Гц, 1H, =CH), 6.88 (д, J = 8.5 Гц, 2H, аром.), 7.06 (д, J = 15.4 Гц, 1H, =CH), 7.13 (д, J = 8.5 Гц, 2H, аром.), 7.58 (дкв, J = 6.3, 3.6, 2.3 Гц, 2H, аром.), 7.93–8.01 (м, 3H, аром.), 8.10 (д, J = 7.8 Гц, 1H, аром.), 8.20 (с, 1H, аром.). <sup>13</sup> C ЯМР: 17.8, 41.6, 55.1, 59.2, 113.9, 122.6, 123.1, 126.8, 127.3, 127.5, 127.7, 128.3, 128.4, 128.7, 132.7, 133.6, 134.4, 141.2, 154.4, 158.4, 162.1 (C=O). LC-MS (ESI+): m/z 371 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.4	83 69*	149-152	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	67.70	5.40	7.89	67.83	5.30	7.75
	LC-MS, m/z	LC-MS (ESI+): m/z 355/357 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.5	74	228–230	C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>	61.75	4.32	6.00	61.89	4.43	6.11
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 1.13 (д, J = 6.5 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ), 1.89 (с, 1H), 3.24 (д, J = 17.9, 5.0 Гц, 1H, піразолін), 3.55–3.63 (м, 1H, 5-H), 3.67 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.96 (дд, J = 17.9, 11.8 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> , піразолін), 4.14 (дд, J = 10.6, 4.8 Гц, 1H, 6-H), 4.55 (д, J = 16.3 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> ), 4.68 (д, J = 16.3 Гц, 1H, CH <sub>2</sub> ), 4.87 (д, J = 4.7 Гц, 1H, 7-H), 5.35 (дд, J = 11.7, 5.1 Гц, 1H, піразолін), 6.82 (д, J = 8.5 Гц, 2H, аром.), 6.90 (д, J = 8.9 Гц, 1H, аром.), 6.96 (д, J = 2.7 Гц, 1H, аром.), 7.10 (д, J = 8.4 Гц, 2H, аром.), 7.23–7.28 (м, 2H, аром.), 7.56–7.60 (м, 2H, аром.), 7.94–8.02 (м, 2H, аром.), 8.07 (д, J = 8.6 Гц, 1H, аром.), 8.21 (с, 1H, аром.), 11.54 (с, 1H, NH), 13.02 (шс, 1H, COOH). <sup>13</sup> C ЯМР: 18.5, 33.8, 42.2, 48.2, 55.0, 59.2, 65.9, 104.1, 113.8, 114.3, 120.9, 123.3, 124.6, 126.6, 126.8, 127.3, 127.7, 128.0, 128.3, 128.4, 128.7, 128.9, 130.9, 132.7, 133.6, 134.2, 154.6, 154.7, 158.3, 166.5 (C=O), 169.8 (C=O), 170.8 (C=O). LC-MS (ESI+): m/z 700 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.6	79	194-196	C <sub>31</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub>	60.04	4.23	6.78	60.15	4.32	6.70
	Спектри <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 1.09 (д, J = 6.4 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.06 – 3.16 (м, 1H, 5-H), 3.59 – 3.66 (м, 1H, 6-H), 3.67 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.85 (дд, J = 18.1, 11.7 Гц, 1H, піразолін), 4.06 (дд, J = 11.0, 5.1 Гц, 1H, піразолін), 5.18 – 5.25 (м, 1H, 7-H), 5.51 (дд, J = 18.1, 5.0 Гц, 1H, піразолін), 6.80 (д, J = 8.3 Гц, 2H, аром.), 7.03 (д, J = 8.4 Гц, 2H, аром.), 7.24 – 7.34 (м, 2H, аром.), 7.49 (т, J = 7.6 Гц, 1H, аром.), 7.56 (д, J = 8.2 Гц, 2H, аром.), 7.70 (д, J = 7.9							



		Гц, 1H, аром.), 7.82 (д, $J = 8.3$ Гц, 2H, аром.), 11.51 (с, 1H, NH), 12.90 (шс, 1H, COOH). <b>LC-MS (ESI+):</b> $m/z$ 621/623 $[M+H]^+$ , (98.0%).							
4.7	66	164-166	$C_{32}H_{27}N_3O_4S_2$	66.07	4.68	7.22	65.92	4.78	7.10
	<b><math>^1H</math> ЯМР:</b> 1.13 (д, $J = 6.5$ Гц, 1H, $CH_3$ ), 3.24 (дд, $J = 17.9, 4.4$ Гц, 1H, піразолін), 3.55–3.63 (м, 1H, 5-H), 3.67 (с, 3H, $OCH_3$ ), 3.85 (дд, $J = 17.9, 11.8$ Гц, 1H, $CH_2$ , піразолін), 4.14 (дд, $J = 10.6, 4.8$ Гц, 1H, 6-H), 4.44 (д, $J = 4.7$ Гц, 1H, 7-H), 5.44 (дд, $J = 12.1, 4.4$ Гц, 1H, піразолін), 6.18 (д, $J = 3.3$ Гц, 1H, фуран), 6.32 (д, $J = 2.8$ Гц, 1H, фуран), 7.11 – 7.24 (м, 4H), 7.52 – 7.63 (м, 3H, аром.), 7.95 – 8.03 (м, 4H, аром.), 8.09 (т, $J = 9.0$ Гц, 1H, фуран), 8.12 – 8.23 (м, 1H, аром.), 8.25 (с, 1H, аром.), 11.48 (с, 1H, NH). <b>LC-MS (ESI+):</b> $m/z$ 582 $[M+H]^+$ , (98.5%).								

\*Розрахований вихід для похідних **4.3**, **4.4**, які були одержані у середовищі діоксану.

У спектрі  $^1H$  ЯМР сполуки **4.3** протони пропенового залишку резонували у вигляді триплету при 1,92 м.ч., секстету при 6,79 м.ч. і дублету при 7,06 м.ч. з  $J = 15,4$  Гц, що вказує на *транс*-конфігурацію подвійного зв'язку. Протони піразолінового ядра утворюють характерні сигнали у вигляді трьох дублетів дублетів при 3,27, 3,93 і 5,61 м.ч. з відповідними константами спінової взаємодії. (Рис. 4.3).

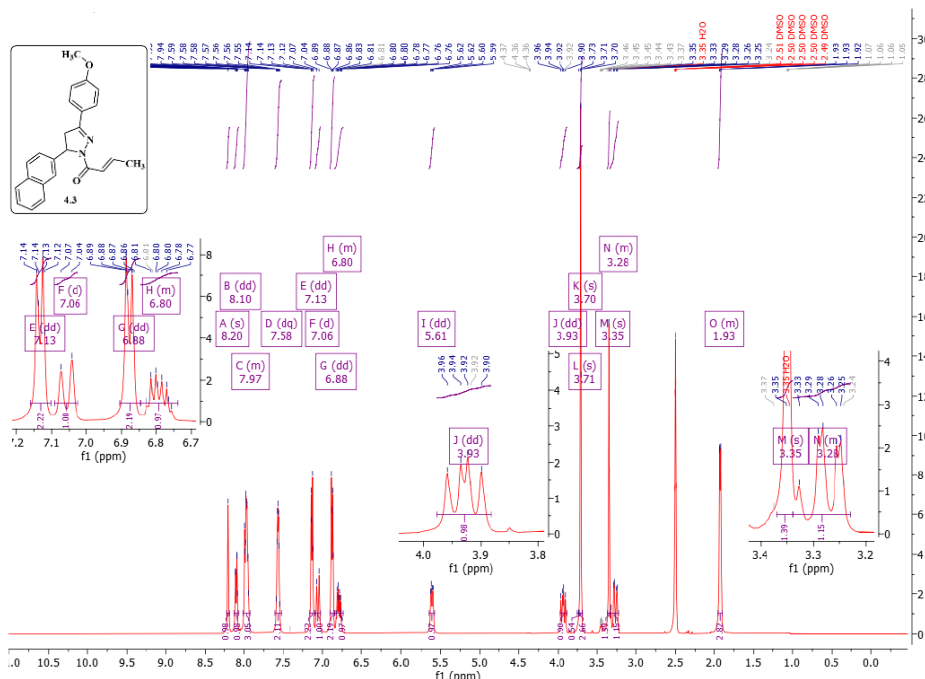


Рис. 4.3.  $^1H$  ЯМР спектр сполуки **4.3**.

У спектрі  $^{13}\text{C}$  ЯМР сполуки **4.3** сигнали груп  $\text{CH}_3$  спостерігаються при 17,8 м.ч. (C-5) і 55,1 м.ч. ( $\text{OCH}_3$ ), піразолінового фрагменту при 41,6, 59,2 і 154,4 м.ч., а карбонільна група ( $\text{C}=\text{O}$ ) ідентифіковано при 162,1 м.ч. (Рис. 4.4).

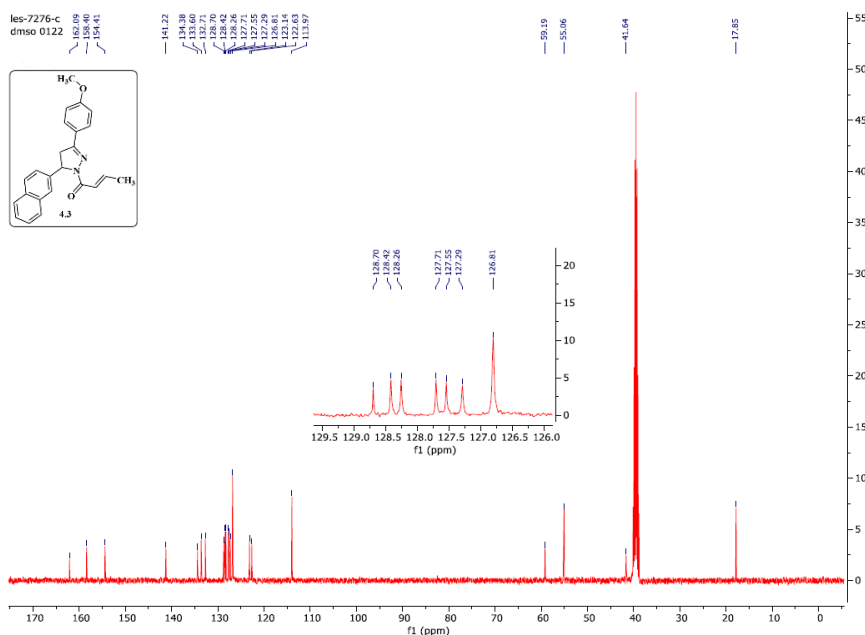


Рис. 4.4.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр сполуки **4.3**.

У спектрі  $^1\text{H}$  ЯМР похідного **4.5** протони тіопіранового кільця резонували як мультиплет при 3,55–3,63 м.ч. (5-Н), дублет дублетів при 4,14 м.ч. з  $J = 10,6$  та 4,8 Гц (6-Н) і дублет при 4,87 м.ч. з  $J = 4,7$  Гц (7-Н). Значення  $J = 4,7$  Гц для 7-Н вказує на *цис*-положення для 7-Н і 6-Н у тіопірановому кільці (Рис. 4.5).

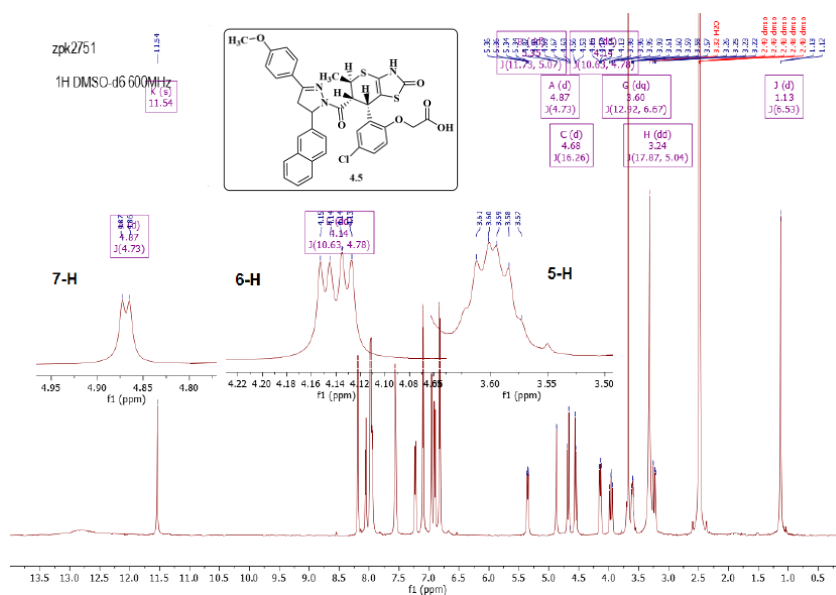


Рис. 4.5.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр сполуки **4.3**.

Спектр ROESY для **4.5** дозволив спостерігати взаємодію між протонами метильної групи в С-5 і Н-6 і між 5-Н і *орто*-протоном у фенільному кільці в С-7 (Рис 4.6, 4.7).

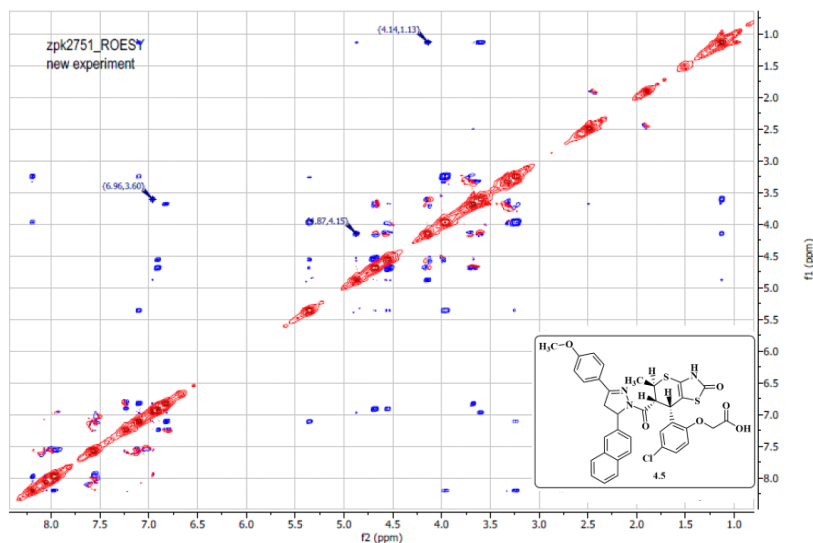


Рис. 4.6. ROESY спектр молекули **4.5**.

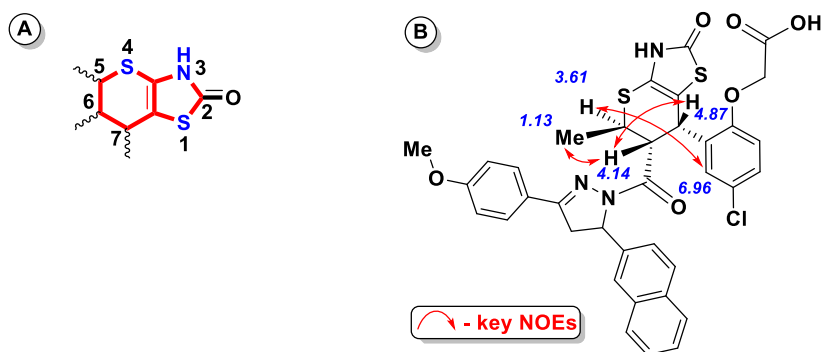


Рис 4.7. Схема нумерації атомів у тіопірано[2,3-*d*]тіазоловому ядрі (A) та ключові взаємодії у відповідному ROESY спектрі сполуки **4.5** (B).

Така спектральна картина свідчить про стереохімію протонів тіопіранового кільця, як представлено на рисунку 4.2, і була описана раніше [133]. Сигнали протонів метиленової групи в залишку оцтової кислоти є магнітно нееквівалентними і утворюють два дублети при 4,56 і 4,70 м.ч.

Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР тіопірано[2,3-*d*]тіазолу **4.5** характерний 30 сигналами Карбону, що підтверджує структуру сполуки. Так, тіопіранове кільце утворює набір сигналів при 33,8, 48,2, 114,3 і 130,9 м.ч., а один сигнал перекривався сигналом метоксигрупи при 55,0 м.ч. Сигнал Карбону метиленової групи в залишку оцтової кислоти

ідентифіковано при 65,9 м.ч. Сигнали Карбонів трьох карбонільних груп (C=O) проявляються при 166,5, 169,8 і 170,8 м.ч. (Рис. 4.8).

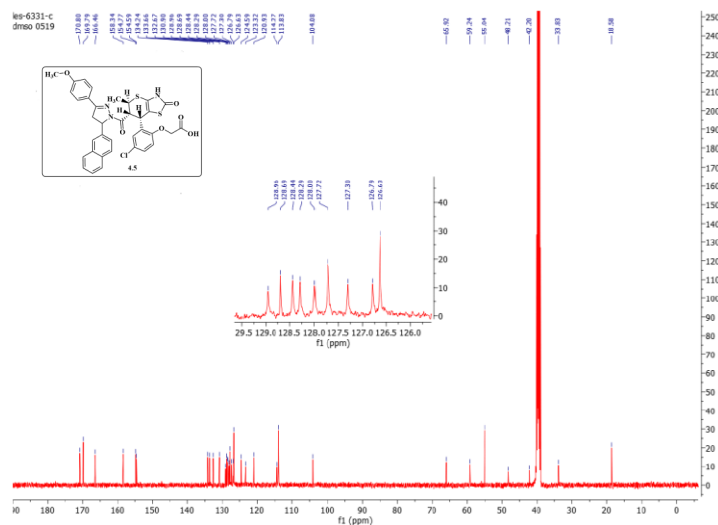


Рис. 4.8. <sup>13</sup>C ЯМР спектр сполуки 4.5.

Спектр COSY для похідного 4.5 наведено на рисунку 4.9.

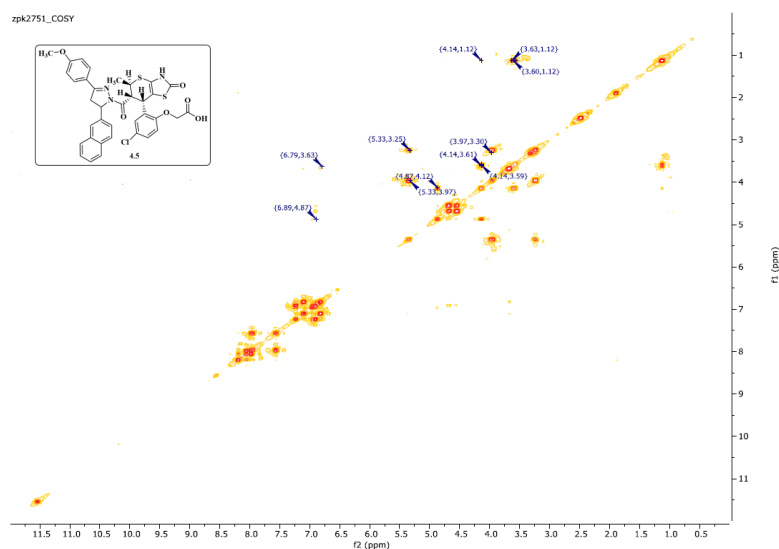


Рис. 4.9. COSY спектр молекули 4.5.

## 4.2. Синтез та спектральні характеристики 3-метил-1-фенілпіразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-d]тіазол-6(1H)-ону

Відомо, що реакція *гетеро*-Дільса-Альдера 5-ен-ізороданінів з різноманітними дієнофілами (норборнен, 2(5*H*)фуранон,  $\alpha,\beta$ -ненасичені альдегіди та карбонові кислоти, тощо) є ефективним методом синтезу тіопірано[2,3-*d*]тіазолів [125,127,133].

У нашому дослідженні ми використали 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду у конденсації Кньюенагеля для одержання похідного тіопірано[2,3-*d*]тіазолу як альтернативу гетеродієновому синтезу. Зокрема встановлено, що реакція 4-тіоксо-2-тіазолідинону (ізороданіну) та альдегіду **2.46** в середовищі оцтової кислоти приводить до утворення 3-метил-1-фенілпіразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-6(1*H*)-ону **4.8**, що можна пояснити утворенням на першій стадії ариліденпохідного, яке зазнає спонтанної внутрішньомолекулярної циклізації [134] (Рис. 4.10).

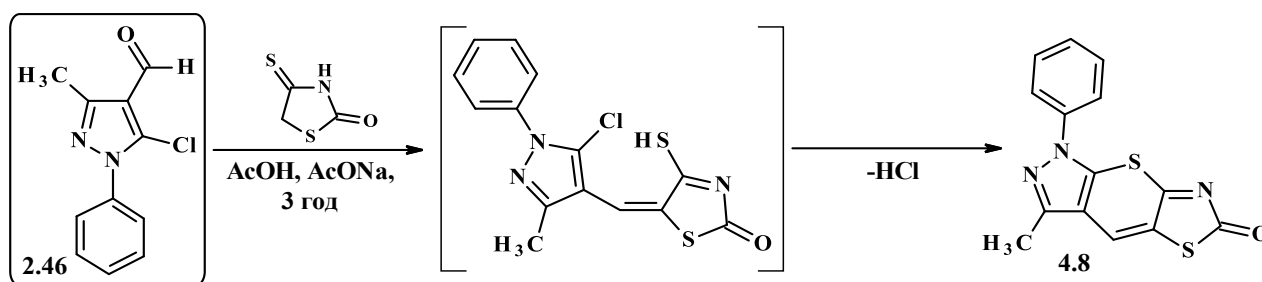


Рис. 4.10. Синтез похідного тіопірано[2,3-*d*]тіазолу **4.8**.

Синтезована сполука **4.8** – порошок жовтого кольору, розчинний у ДМФА, нерозчинний у оцтовій кислоті, спиртах, бензолі, воді та діетиловому етері. Фізико-хімічні та спектральні дані сполуки **4.8** наведено у таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики синтезованої сполуки **4.8**

Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
			C	H	N	C	H	N
52	> 240	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> OS	55.79	3.68	13.94	55.70	3.59	13.88
<b>Спектри <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z</b>								
<sup>1</sup> H ЯМР: 2.57 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.55 (т, 1H, J = 7.3 Гц, аром.), 7.67 (т, 2H, J = 7.4 Гц, аром.), 7.79 (д, 2H, J = 7.6 Гц, аром.), 8.75 (с, 1H, CH). <sup>13</sup> C ЯМР: 11.8 (CH <sub>3</sub> ), 40.4, 116.4, 122.6, 128.0, 129.4, 130.6, 135.1, 137.9 (4a-C), 149.1 (7a-C), 172.4 (2-C). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): m/z 302 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).								

#### 4.3. Синтез та спектральні характеристики 3-метил-4-феніл/гетерил-1,7-дигідро-6*H*-піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів

Відомо, що для синтезу похідних тіазолопіридину ефективним є використання похідного ізороданіну 4-аміно-5*H*-тіазол-2-ону, який вступає у реакції [3+3]-циклоконденсації з α,β-ненасиченими кетонами або α-кетокислотами [135,136].

У нашому дослідженні було апробовано 5-ариліден/гетериліден-4-тіазолідинтіони у реакції з 3-метил-1*H*-піразол-5-аміном **2.20** для одержання цільових трициклічних конденсованих піразоловмісних тіазолопіридинів **4.9-4.14** [69]. Одним з можливих продуктів цієї реакції могли б бути похідні на зразок сполуки **2.26**, яку ми отримали трикопONENTною реакцією ізороданіну, аміну **2.20** та 4-фторобензальдегіду або в реакції Кневенагеля 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-ону з альдегідом, що описано у розділі 2 дисертаційної роботи (Рис. 4.11).

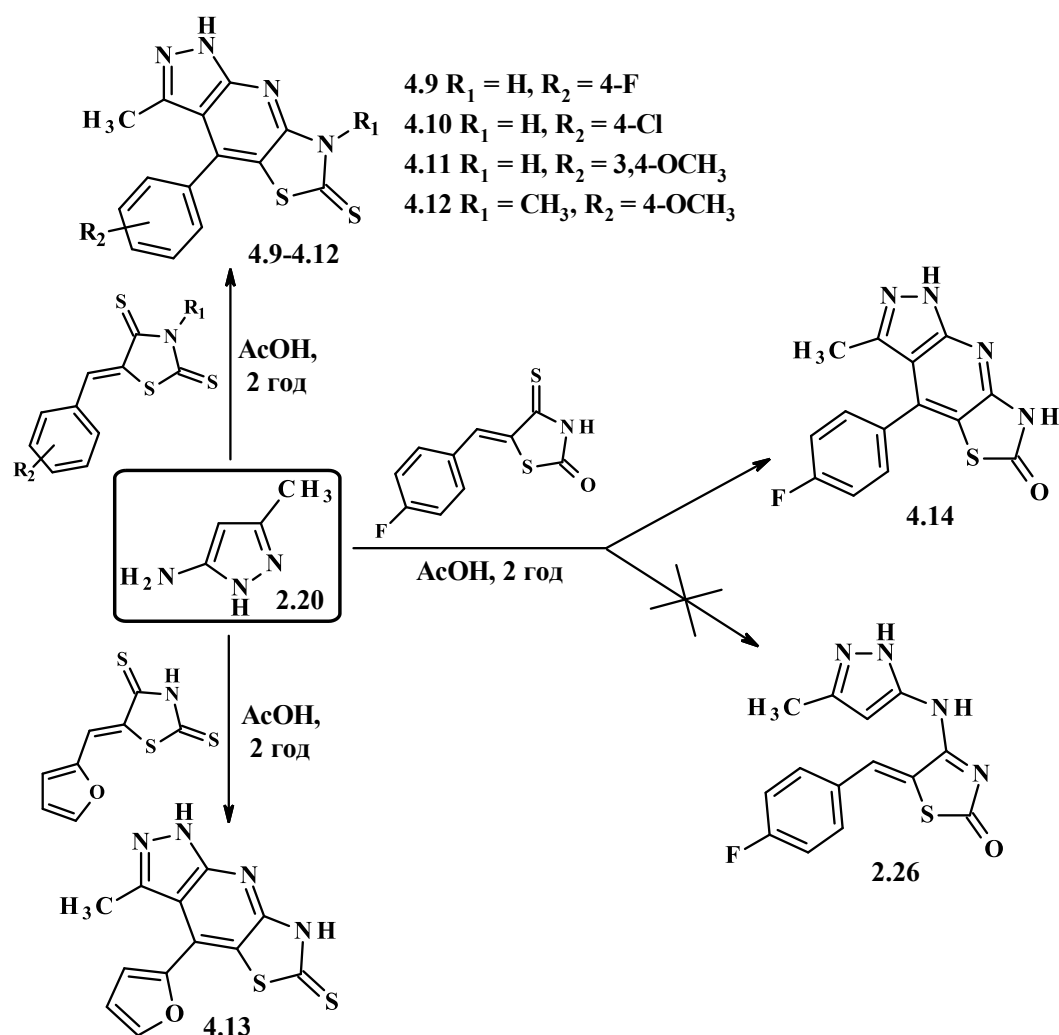


Рис. 4.11. Синтез піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів **4.9-4.14**.

Синтезовані трициклічні молекули – порошки жовтого (**4.9, 4.12, 4.14**), сірого (**4.10**), коричневого (**4.11**) та темно-фіолетового кольорів (**4.13**), які при нагріванні розчинні ДМФА та нерозчинні у оцтовій кислоті, спиртах, бензолі, воді, діетиловому ефірі. Фізико-хімічні та спектральні дані синтезованих сполук наведено у таблиці 4.3.

Фізико-хімічні властивості, дані елементного та спектрального аналізів  
синтезованих молекул 4.9-4.14

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
4.9	83	320-322	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> FN <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	53.15	2.87	17.71	53.28	2.77	17.80
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.08 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.44 (т, 2H, J = 8.5 Гц, аром.), 7.66 (т, 2H, J = 6.7 Гц, аром.), 13.42 (с, 1H, NH), 14.36 (с, 1H, NH). <sup>13</sup> C ЯМР: 15.3 (CH <sub>3</sub> ), 116.5, 117.6, 131.2, 131.3, 131.5, 131.6, 136.5, 137.1, 140.9, 142.0, 154.9, 180.6. LC-MS (ESI+): m/z 317 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.10	79	354-356	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	50.52	2.73	16.83	50.43	2.80	16.90
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.08 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.64 (д, 2H, J = 8.3 Гц, аром.), 7.68 (д, 2H, J = 8.3 Гц, аром.), 13.44 (с, 1H, NH), 14.38 (с, 1H, NH). <sup>13</sup> C ЯМР: 14.9 (CH <sub>3</sub> ), 79.0, 81.2, 109.8, 129.1, 130.5, 133.3, 134.6, 136.0, 136.5, 140.3, 191.2 (C=S). LC-MS (ESI+): m/z 333/334 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.11	72	297-299	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	53.61	3.94	15.63	53.71	3.85	15.72
	Спектри <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.15 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.80 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3.85 (с, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 7.14 (д, J = 8.8 Гц, 2H, аром.), 13.37 (с, 1H, NH), 14.29 (с, 1H, NH). LC-MS (ESI+): m/z 359 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.12	88	263-265	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> OS <sub>2</sub>	56.12	4.12	16.36	56.22	4.20	16.25
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.14 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.86 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.16 (д, J = 8.0 Гц, 2H, аром.), 7.54 (д, J = 8.0 Гц, 2H, аром.), 13.53 (с, 1H, NH). <sup>13</sup> C ЯМР: 15.0 (CH <sub>3</sub> ), 32.6 (CH <sub>3</sub> ), 55.3 (CH <sub>3</sub> ), 114.4, 121.1, 160.3, 126.2, 130.2, 137.4, 140.6, 147.3, 151.6, 152.4, 189.5 (C=S). LC-MS (ESI+): m/z 343 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.13	74	276-279	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> OS <sub>2</sub>	49.99	2.80	19.43	50.10	2.81	19.35
	Спектри <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.54 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6.85 (д, J = 3.3 Гц, 1H, фуран), 7.22 (д, J = 3.6 Гц, 1H, фуран), 8.12 (с, 1H, фуран), 13.57 (с, 1H, NH). LC-MS (ESI+): m/z 269 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.14	84	334-336	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> FN <sub>4</sub> OS	55.99	3.02	18.66	55.90	3.09	18.58
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.00 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.40 (т, J = 8.6 Гц, 2H, аром.), 7.59 (д, J = 8.3 Гц, 2H, аром.), 12.67 (с, 1H, NH), 13.23 (с, 1H, NH). <sup>13</sup> C ЯМР: 15.1 (CH <sub>3</sub> ), 109.6, 112.3, 116.1, 116.2, 116.3, 116.5, 131.2, 131.3, 131.4, 131.5, 131.6, 137.9, 140.4, 149.9, 151.1, 162.0, 164.0, 169.4 (C=O). LC-MS (ESI+): m/z 301 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР молекули **4.14** наведено на рисунку 4.12.

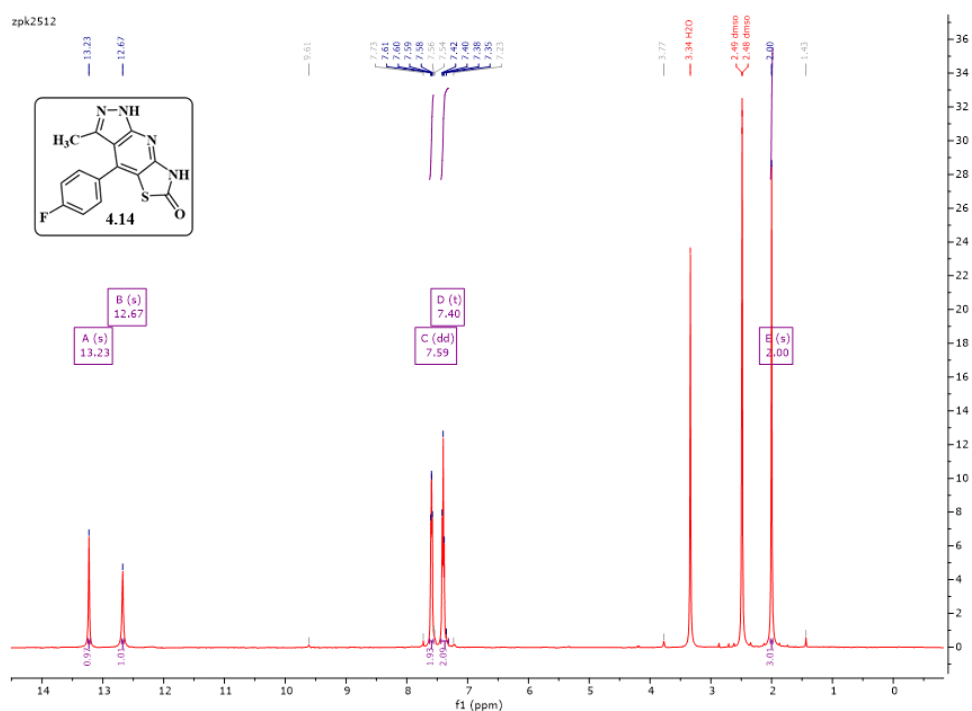


Рис. 4.12.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр сполуки **4.14**.

#### 4.3.1. Синтез 3'-метил-1',7'-дигідроспіро[циклопентан-1,4'-піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин]-6'(4*a*'*H*)-ону

Наступним етапом синтетичного дослідження було формування спіросистем на основі конденсованих піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридинів. З цією метою 3-метил-1*H*-піразол-5-амін **2.20** був апробований у реакції з 5-циклопентиліден-4-тіоксотіазолідин-2-оном в середовищі оцтової кислоти, що дозволило одержати цільове спіропохідне **4.15** (Рис. 4.13).

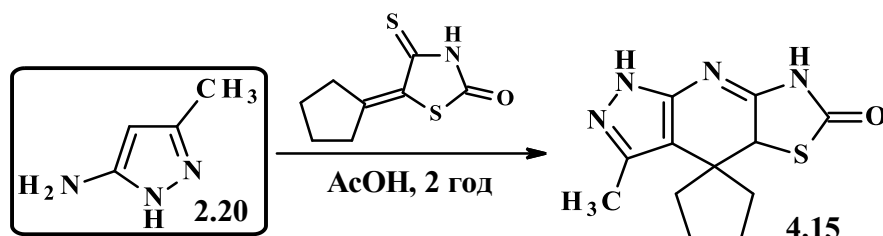


Рис. 4.13. Синтез спіропохідного **4.15**.



Одержана сполука **4.15** – кристалічний порошок сірого кольору розчинний при нагріванні у ДМФА, нерозчинний у оцтовій кислоті, спиртах, бензолі, толуолі, воді, діетиловому ефірі. Перекристалізацію проводили з суміші ДМФА-етанол (1:2). Дані спектрального, елементного аналізу та фізико-хімічні характеристики похідного **4.15** наведено у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики сполуки **4.15**

Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
			C	H	N	C	H	N
65	182-184	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> OS	54.94	5.38	21.36	60.05	5.30	21.43
<b>Спектри <sup>1</sup>H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z</b>								
<sup>1</sup> H ЯМР: 1.23-1.15 (м, 1H, циклопентан), 1.63-1.51 (м, 1H, циклопентан), 1.78 (с, 1H, циклопентан), 2.23 (д, J = 5.8 Гц, 3H, циклопентан), 2.31 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.48 (с, 1H, циклопентан), 2.75 – 2.64 (м, 1H, циклопентан), 2.88 (д, J = 5.8 Гц, 1H, циклопентан), 5.24 (с, 1H, NH), 12.13 (с, 1H, NH). LC-MS (ESI <sup>+</sup> ): m/z 263 [M+H] <sup>+</sup> , (96.0%).								

**4.4. Синтез та спектральні характеристики конденсованих тієно[2,3-с]піразолів**

Тенденції в розвитку хімії піразолін-тіазолідинових кон'югатів передбачають безпосереднє поєднання їх у одну конденсовану біциклічну структуру, проте з іншої сторони ці синтетичні процеси є технологічно складними [23,25,137,138]. У свою чергу (біо)ізостерні заміни тривалий період часу використовуються в практичній медичній хімії як джерело структурної та молекулярної модифікації. На основі Nucleus Independent Chemical Shift (NICS) [139,140] за теорією функціональної густини (DFT) Flood A. та співавтори встановили, що для заміни ароматичного бензольного ядра у молекулярних структурах можна використовувати тіазол і тіофен, які за особливостями своєї структури є потенційно подібними за властивостями [141]. Така особливість дає підґрунтя для пошуку нових конденсованих гетероциклічних молекул на основі тієно[2,3-с]піразолів як потенційно біологічно активних сполук (Рис. 4.14).

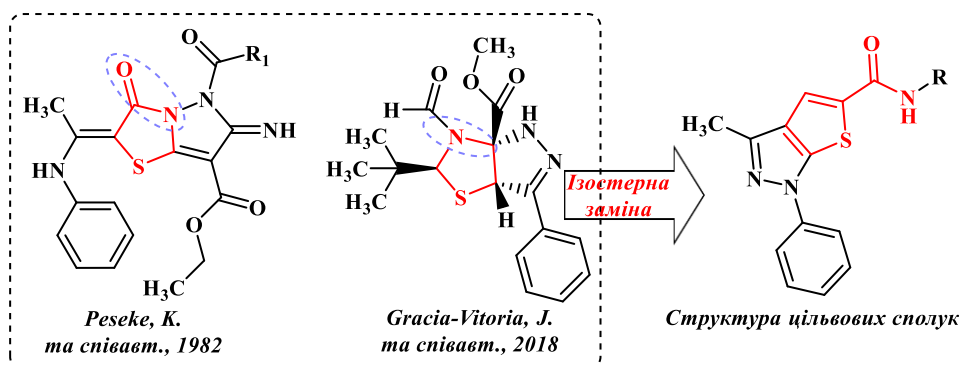


Рис. 4.14. Обґрунтування синтезу тієно[2,3-с]піразолів.

Ми запропонували підхід до формування конденсованих тієно[2,3-с]піразолів на основі взаємодії 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду **2.46** з 2-меркапто-*N*-фенілацетамидами, що дозволило з задовільними виходами та чистотою одержати цільові тієно[2,3-с]піразолів-5-карбоаміди **4.16-4.18**. Аналогічно взаємодія альдегіду **2.46** з 2-(2-меркаптоацетил)гідразин-1-карботіоамідом призвела до утворення похідного **4.19** (Рис. 4.15).

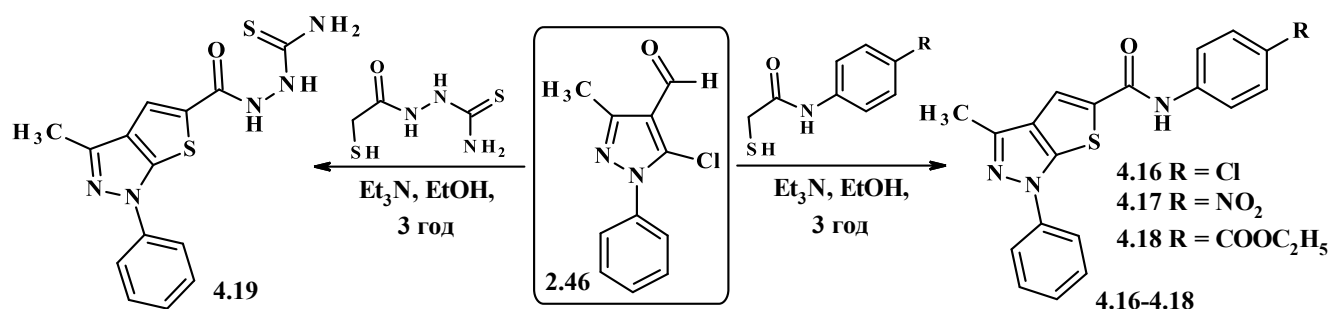


Рис. 4.15. Синтез тієно[2,3-с]піразолів.

Синтезовані тієно[2,3-с]піразоли – сірий (**4.16**), жовтий (**4.17**), білі (**4.18**, **4.19**) кристалічні порошки, при нагріванні розчинні в ДМФА, оцтовій кислоті, нерозчинні у спиртах, толуолі, бензолі, воді та діетиловому етері. Перекристалізацію проводили з оцтової кислоти (**4.16**, **4.18**), суміші ДМФА-етанол (1:2) (**4.17**) та ацетонітрилу (**4.19**). Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук, дані елементного та спектрального аналізу наведено в таблиці 4.5.

Фізико-хімічні властивості, дані елементного та спектрального аналізу

синтезованих сполук **4.16-4.19**

Сполука	Вихід, %	T <sub>топл.</sub> , °C	Брутто-формула	Вирахувано, %			Знайдено, %		
				C	H	N	C	H	N
4.16	84	204-206	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>3</sub> OS	62.04	3.84	11.42	62.13	3.77	11.50
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.49 (с, 3H, CH <sub>3</sub> , піразол), 7.29 (т, J = 7.4 Гц, 1H, аром.), 7.38 (д, J = 8.6 Гц, 2H, аром.), 7.55 (т, J = 7.8 Гц, 2H, аром.), 7.72 (д, J = 8.4 Гц, 4H, аром.), 8.16 (с, 1H, тіофен), 10.43 (с, 1H, NH піразол). <sup>13</sup> C ЯМР: 13.1 (CH <sub>3</sub> ), 117.4, 119.3, 122.0, 126.1, 127.8, 129.1, 130.4, 131.2, 137.4, 138.0, 139.0, 142.4, 144.5, 160.9 (C=O). LC-MS (ESI+): m/z 368 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.17	76	292-294	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	60.31	3.73	14.81	60.40	3.80	14.75
	Спектри <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.60 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.38 (с, 1H, CH), 7.64 (шс, 2H, аром.), 7.79 (шс, 2H, аром.), 8.06 (шс, 2H, аром.), 8.31 (шс, 3H, аром.), 10.81 (шс, 1H, NH). LC-MS (ESI+): m/z 379 [M+H] <sup>+</sup> , (92.5%).							
4.18	81	238-240	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	65.17	4.72	10.36	65.08	4.65	10.42
	Спектри <sup>1</sup> H та <sup>13</sup> C ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 1.28 (т, J = 7.1 Гц, 3H, CH <sub>3</sub> , етил), 2.49 (с, 3H, CH <sub>3</sub> , піразол), 4.25 (кв, J = 7.0 Гц, 2H, CH <sub>2</sub> , етил), 7.29 (т, J = 7.4 Гц, 1H, аром.), 7.55 (т, J = 7.6 Гц, 2H, аром.), 7.70 (д, J = 8.0 Гц, 2H, аром.), 7.85 (д, J = 8.2 Гц, 2H, аром.), 7.92 (д, J = 8.5 Гц, 2H, аром.), 8.21 (с, 1H, тіофен), 10.58 (с, 1H, NH). <sup>13</sup> C ЯМР: 13.1 (CH <sub>3</sub> ), 14.6 (CH <sub>3</sub> ), 60.9 (CH <sub>2</sub> ), 117.4, 119.7, 119.7, 125.0, 126.1, 130.4, 130.6, 131.2, 137.1, 139.0, 142.5, 143.5, 144.6, 161.2 (C=O), 165.7 (C=O). LC-MS (ESI+): m/z 406 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							
4.19	82	220-222	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> OS <sub>2</sub>	50.74	3.95	21.13	50.85	4.09	21.04
	Спектри <sup>1</sup> H ЯМР, σ (м.ч.), J (Гц); LC-MS, m/z	<sup>1</sup> H ЯМР: 2.50 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.32 (т, J = 7.3 Гц, 1H, аром.), 7.59 (т, J = 7.8 Гц, 2H, аром.), 7.74 (д, J = 8.1 Гц, 2H, аром.), 7.93 (с, 2H, тіофен+NH), 9.41 (с, 2H, NH <sub>2</sub> ), 10.56 (с, 1H, NH). LC-MS (ESI+): m/z 332 [M+H] <sup>+</sup> , (100.0%).							

#### 4.5. Опис експериментів

Синтез 1-[3-(4-метоксифеніл)-5-арил-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-бут-2-ен-1-онів **4.3**, **4.4**. І метод – по 0.01 моль відповідного 3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-4,5-дигідро-1H-піразолу та кротонового ангідриду кип'ятили протягом 3 годин під зворотним холодильником у 20 мл толуолу (II метод – кип'ятили в середовищі безводного діоксану). Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури та

розчинник випарювали за допомогою роторного випарювача, одержаний рідкий залишок жовтого кольору виливали на холодну воду. Отриманий порошок жовтого кольору відфільтровували, висушували та перекристалізували з етанолу.

*Синтез* *rel*-(5*R*,6*R*,7*S*)-6-[5-(4-метоксифеніл)-3-арил-3,4-дигідропіразол-2-карбоніл]-5-метил-7-феніл-3,5,6,7-тетрагідропірано[2,3-*d*]тіазол-2-онів **4.5**, **4.6** та *rel*-(5*R*,6*R*,7*S*)-7-(2-фурил)-6-[5-(4-метоксифеніл)-3-(2-нафтил)-3,4-дигідропіразол-2-карбоніл]-5-метил-3,5,6,7-тетрагідропірано[2,3-*d*]тіазол-2-ону **4.7**. Суміш 0.01 моль відповідного 1-[3-(4-метоксифеніл)-5-арил-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-бут-2-ен-1-ону **4.3**, **4.4** та 5-ариліден/гетериліденізороданіну ([4-хлоро-2-(2-оксо-4-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-фенокс]-оцтової кислоти **4.5**, 2-(2-оксо-4-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-бензойної кислоти **4.6**, 5-фуран-2-ілметилен-4-тіоксотіазолідин-2-ону **4.7**) кип'ятили в льодяній оцтовій кислоті протягом 2 годин в присутності 0.001 моль гідрохінону. Після охолодження реакційної суміші одержаний осад **4.5** відфільтрували та перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2), реакційну суміш **4.6**, **4.7** виливали на воду, сформований осад відфільтрували, висушували та перекристалізували зі спирту (**4.6**) або толуолу (**4.7**).

*Синтез* 3-метил-1-фенілпіразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-6(1*H*)-ону **4.8**. Суміш 0.01 моль 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду **2.46**, ізороданіну та ацетату натрію в середовищі оцтової кислоти нагрівали під зворотним холодильником протягом 2 годин. Після охолодження одержаний осад жовтого кольору промивали оцтовою кислотою, водою, етанолом та діетиловим ефіром. Перекристалізацію проводили з оцтової кислоти.

*Синтез* 3-метил-4-феніл/гетерил-1,7-дигідро-6*H*-піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів **4.9-4.14**. Еквімолярну кількість 0.01 моль 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну **2.20** та відповідного 5-ариліден/гетериліденізо(тіо)роданіну нагрівали протягом двох годин в середовищі оцтової кислоти. Після охолодження, сформований осад відфільтровували, висушували та перекристалізували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез* 3'-метил-1',7'-дигідроспіро[циклопентан-1,4'-піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин]-6'(4*a*'*H*)-ону **4.15**. До 0.01 моль 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну **2.20**

додавали 0.01 моль 5-циклопетиліден-4-тіоксотіазолідин-2-ону в середовищі оцтової кислоти та кип'ятили під зворотним холодильником протягом 2 годин. Після завершення синтезу реакційну суміш охолоджували, сформований осад відфільтрували та перекристалізовували з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*Синтез тієно[2,3-с]піразолів-5-карбоамідів/гідразин-1-карботіаміду 4.18-4.19.*

Суміш 0.01 моль 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегіду **2.46**, 0.01 моль відповідних 2-меркапто-*N*-фенілацетамідів/2-(2-меркаптоацетил)гідразин-1-карботіоаміду та 0.01 моль триетиламіну кип'ятили в середовищі абсолютного етанолу протягом 3 год. Після завершення реакції та охолодження реакційної суміші сформований осад, відфільтрували, промили етанолом та висушували. Очистку одержаних сполук проводили перекристалізацією з оцтової кислоти **4.16, 4.18**, суміші ДМФА-етанол (1:2) **4.17** або ацетонітрилу **4.19**.

#### Висновки до розділу 4

1. Показано, що 1-[3-(4-метоксифеніл)-5-арил-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-бут-2-ен-1-они є ефективними реагентами для синтезу нових тіопірано[2,3-*d*]тіазолів за реакцією *гетеро*-Дільса-Альдера.

2. За допомогою 2D ЯМР дослідження сполук **4.5** для тіопіранового кільця встановлено взаємодію між протонами метильної групи в С-5 і Н-6 і між 5-Н і *орто*-протоном у фенільному кільці в С-7. Підтверджено *цис*-конфігурацію 7-Н і 6-Н протонів тіопіранового ядра.

3. Показано, що 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегід у конденсації Кньюенагеля з ізороданіном є ефективним реагентом для синтезу конденсованого піразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазолу **4.8**, що дозволяє відкрити альтернативний до реакції *гетеро*-Дільса-Альдера шлях одержання конденсованих систем такого типу.

4. Досліджено, що 3-метил-1*H*-піразол-5-амін при взаємодії з 5-ариліден/гетерилідентіо(ізо)роданінами є універсальним реагентом для синтезу трициклічних піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіонів.

5. Показано, що 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегід у гетероциклізації з 2-меркапто-*N*-фенілацетамидами та 2-(2-меркаптоацетил)гідразин-1-карботіоамідом дозволяє одержати серії різноманітних тієно[2,3-с]піразолів, що відкриває новий шлях для потенційних ізостерних замінів між тiazольним та тіофеновим ядрами у дизайні біологічно активних молекул.

6. Структура та склад синтезованих молекул підтверджено елементним аналізом, методами хромато-мас-спектрометрії,  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$ , 2D ЯМР-спектроскопії.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях: [69], [131,132], [134].

## РОЗДІЛ 5

### БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІДИНУ З ПІРАЗОЛІНОВИМ ФРАГМЕНТОМ У МОЛЕКУЛАХ

Синтезовані нами піразолінвмісні 4-тіазолідинони та тіазоли стали об'єктами вивчення їх біологічної активності. Напрямки фармакологічного скринінгу були окреслені та охарактеризовані попередніми даними про біологічні властивості піразолін-тіазолідинів на основі досвіду кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького та сучасних літературних даних [28-30,33,39, 44,55,86].

Протипухлинна активність синтезованих сполук вивчались методом високоефективного біологічного скринінгу згідно міжнародної наукової програми Національного інституту раку США *Developmental Therapeutic Program (DTP NCI)* (Бетезда, Меріленд, США), а також у співпраці з науковою групою чл.-кор. НАН України, проф. Р.С. Стойки (Інститут біології клітини НАН України, Львів) та науковою групою професорів Кшиштофа та Анни Белявських (кафедри біотехнології, фармацевтичного факультету, медичного університету Бялистоку, Бялисток, Польща (Krzysztof and Anna Bielawski, Department of Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Bialystok, Bialystok, Poland)). Вивчення протимікробної, протигрибкової та протизапальної активностей сполук проводилося під керівництвом доктора філософії Ю.Т. Конечного на базі кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (Табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Систематизовані результати скринінгу біологічних активностей

Активність	Сполуки-кандидати	Сполуки з високим рівнем активності
Протипухлинна (ІБК НАН України/Medical University of Bialystok)	25	8
Протипухлинна (DTP NCI)	3	1
Протимікробна/ протигрибкова	22	10
Протизапальна	1	1

## 5.1. Протиракова активність піразолін-тіазолідинів

### 5.1.1. Цитотоксична дія *in vitro* піразолін-тіазолідинових кон'югатів на пухлинні та псевдонормальні клітини

Нові синтезовані 5-(1,3-дифенілпіразол-4-іліден)заміщені 4-тіазолідинони стали об'єктами вивчення цитотоксичної дії *in vitro* на клітинах ссавців різного тканинного походження за допомогою МТТ тесту [77,142,143] (Рис. 5.1, Додаток В).

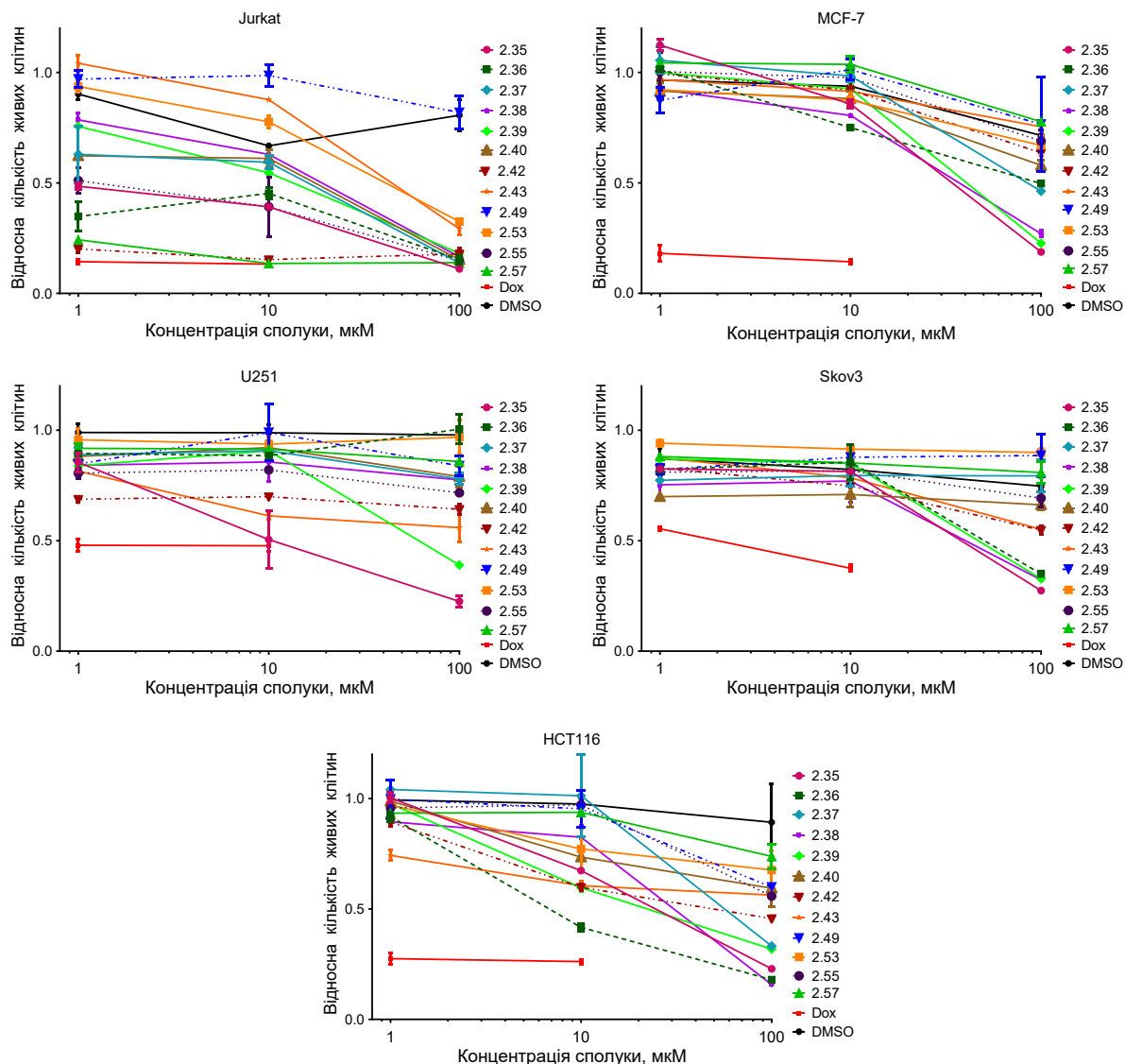


Рис. 5.1. Цитотоксичний вплив 2.35-2.43, 2.49, 2.53, 2.55, 2.57 на клітини лінії Jurkat, MCF-7, U251, Skov3 HCT116 (МТТ тест, 72 год інкубації клітин).

Похідні 2.35, 2.39 і 2.38 проявили виражену цитотоксичну дію на клітини MCF-7 карциноми молочної залози людини. Показник цитотоксичності  $IC_{50}$  для сполуки



**2.35** становив 57,4 мкМ, для **2.38** – 60,4 мкМ, для **2.39** – 64,7 мкМ, **2.37** – 92,3 мкМ, **2.36** – 97,0 мкМ. Похідне **2.35** пригнічувало ріст клітини лінії U251 гліобластоми людини із  $IC_{50}$  10,2 мкМ, в свою чергу **2.39** було менш токсичним для даної лінії ( $IC_{50}$  79,8 мкМ). Сполуки **2.35**, **2.39**, **2.38** і **2.36** також пригнічували ріст клітин Skov3 карциноми яєчника людини при  $IC_{50}$  для сполуки **2.35** – 37,5 мкМ, для **2.38** – 40,3 мкМ, для **2.39** – 47,1 мкМ, **2.36** – 50,9 мкМ. Похідне **2.36** проявило ефект щодо HCT116 колоректальної карциноми на рівні  $IC_{50}$  8,42 мкМ. Сполуки **2.35**, **2.39**, **2.38**, **2.37** і **2.42** також проявили виражену цитотоксичну дію на клітини лінії HCT-116, причому  $IC_{50}$  становило для **2.39** – 40,2 мкМ, **2.35** – 43,6 мкМ, для **2.38** – 53,3 мкМ, для **2.42** – 70,5 мкМ, для **2.37** – 77,5 мкМ (Рис. 5.1, 5.2, Додаток В).

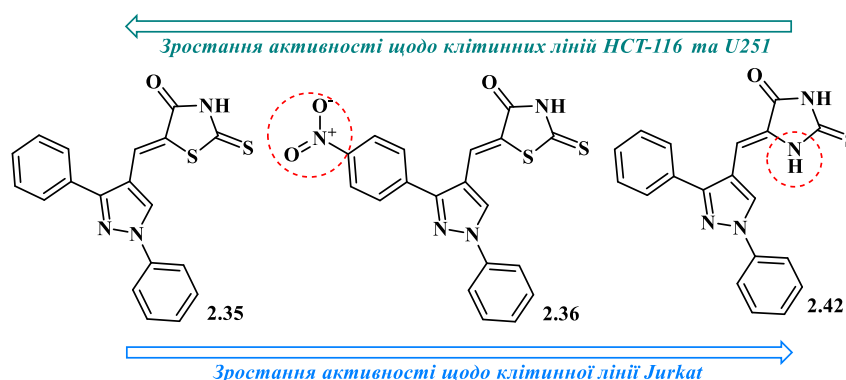


Рис. 5.2. Сполуки з найвищою протираковою цитотоксичністю.

Встановлено, що клітини лінії Jurkat Т-лейкозу людини володіють найбільшою чутливістю *in vitro* щодо дії нових піразолінвмісних молекул. Так, похідне 2-тіоксо-4-імідазолідинону **2.42** проявило найвиразніший ефект ( $IC_{50}$  0,62 мкМ). Похідні 4-тіазолідинону **2.57**, **2.36**, **2.35** проявили цитотоксичні властивості практично одного рівня -  $IC_{50}$  – 0,67 мкМ, 0,74 мкМ та 0,97 мкМ відповідно.

Значення  $IC_{50}$  для сполуки **2.39** становило 21,1 мкМ, для **2.35** – 0,97 мкМ, для **2.38** – 37,1 мкМ, для **2.37** – 27,2 мкМ, для **2.55** – 1,60 мкМ, для **2.40** – 31,0 мкМ, для **2.53** – 64,4 мкМ, для **2.43** – 67,2 мкМ (рис. 5). Речовина **2.49** була нетоксичною для клітин лінії Jurkat ( $IC_{50} > 100$  мкМ). Для доксорубіцину, обраному як еталонний препарат,  $IC_{50}$  для усіх досліджуваних пухлинних клітин становило 0,58-2,2 мкМ (Рис 5.1, 5.3, Додаток В).

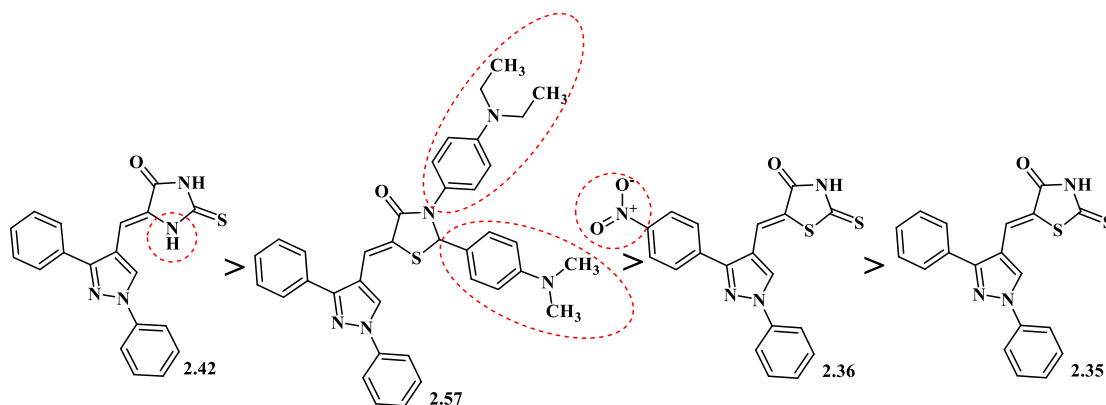


Рис. 5.3. Найактивніші піразолін-тіазолідинові гібриди щодо клітиної лінії Jurkat T-лейкозу людини (розташовані за спаданням ефекту).

Таким чином, **2.35** володіє виразною антипроліферативною активністю *in vitro* щодо досліджуваних пухлинних клітин. Клітини Jurkat T-лейкозу людини показали високу чутливість до дії нових 5-ен піразоліл заміщених похідних тіазолідинону.

Усі досліджувані 5-(1,3-дифенілпіразол-4-іліден)заміщені 4-тіазолідинони були малотоксичними для псевдонормальних кератиноцитів людини лінії HaCaT [144] (Рис. 5.4, Додаток Б).

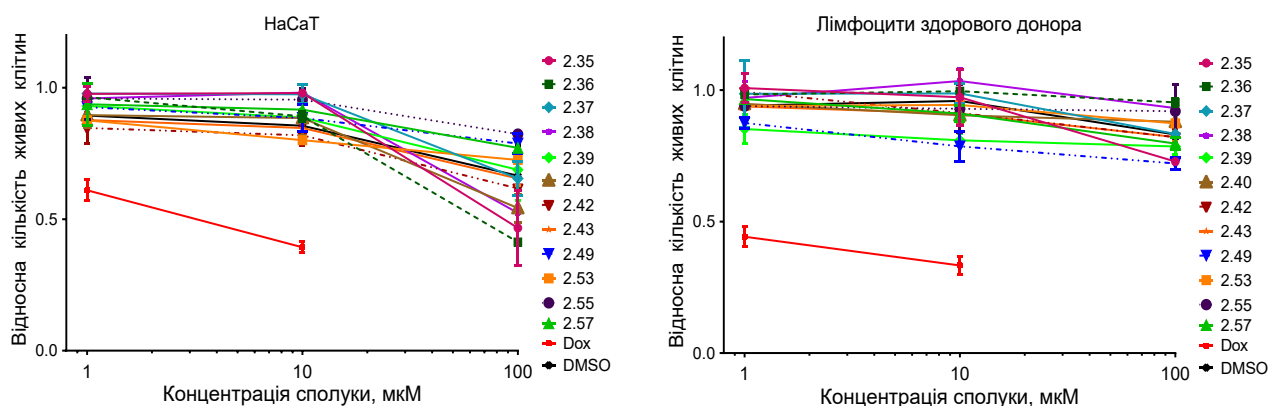


Рис. 5.4. Цитотоксичний вплив **2.35-2.43**, **2.49**, **2.53**, **2.55**, **2.57** клітини лінії HaCaT (за даними МТТ після 72 год інкубації клітин) та на ізольовані лімфоцити клінічно-здорового донора (МТТ тест, 48 год інкубації клітин).

Лише для сполуки **2.36**  $IC_{50}$  становило 83,6 мкМ щодо клітин лінії HaCaT. Для інших досліджуваних сполук  $IC_{50}$  було  $>100$  мкМ.  $IC_{50}$  доксорубіцину для клітин лінії

HaCaT становив 5,21 мкМ. Ізольовані лімфоцити клінічно-здорового донора були нечутливі ( $IC_{50} > 100$  мкМ) до дії тестованих похідних (Рис. 5.4, Додаток В). Отже, досліджувані молекули були малотоксичними для псевдонормальних кератиноцитів людини лінії HaCaT та ізольованих лімфоцитів клінічно-здорового донора.

На рисунку 5.5 представлено динаміку зміни кількості живих клітин U251 гліобластоми людини, MCF-7 карциноми молочної залози людини, Jurkat Т-лейкозу людини за дії похідних **2.13**, **2.15**, **2.19**, **2.23**, **2.26**, **3.10**, **4.9**, **4.10**, доксорубіцину (позитивний контроль), ДМСО (негативний контроль).

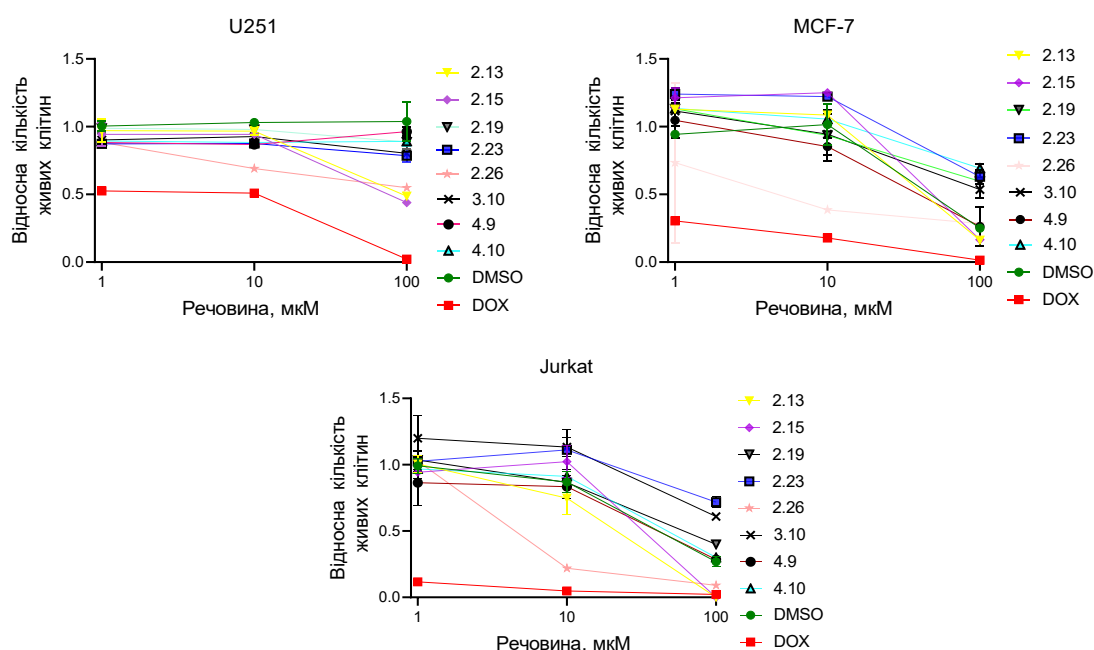


Рис. 5.5. Цитотоксичний вплив **2.13**, **2.15**, **2.19**, **2.23**, **2.26**, **3.10**, **4.9**, **4.10** на клітини лінії U251, MCF-7, Jurkat (MTT тест, 72 год інкубації клітин).

Під час скринінгу інших класів синтезованих сполук було встановлено, що неконденсований  $(5Z)$ -5-[(4-фторофеніл)метилен]-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]тіазол-2-он **2.26** має виражену цитотоксичну дію на клітини ліній MCF-7 і Jurkat з показником  $IC_{50}$  в межах 2,15-7,90 мкМ, на відміну від конденсованих піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіонів **4.9**, **4.10** з показниками  $IC_{50}$  щодо клітин лінії MCF-7 15,51 мкМ та 16,96 мкМ відповідно (Рис. 5.6, Додаток В). Інші похідні проявили менш виражений цитотоксичний вплив на досліджувані лінії пухлинних

клітин: **2.19** – 15,59 мкМ, **2.13** – 20,97 мкМ, **2.23** – 20,76 мкМ, **3.10** – 20,94 мкМ, **2.15** – 66,23 мкМ. Показник  $IC_{50}$  сполуки **2.13** щодо клітин Jurkat становить – 16,47 мкМ, **2.19** – 20,46 мкМ, **3.10** – 17,66 мкМ. Клітини U251 були малочутливими до дії досліджуваних сполук. Доксорубіцин проявив більш виражену цитотоксичність щодо пухлинних клітин лінії Jurkat, U251 і MCF-7 (Рис. 5.5, Додаток В). Таким чином, сполука **2.26** володіє виразною антипроліферативною активністю щодо пухлинних клітин MCF-7 і Jurkat при  $IC_{50}$  в межах 2,15-7,90 мкМ. Клітини U251 були малочутливими до дії всіх досліджуваних сполук.

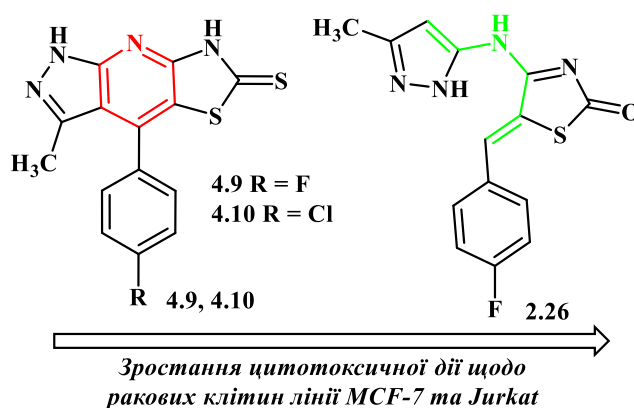


Рис. 5.6. Структури неконденсованих/конденсованих піразолін-тіазолідинів у оптимізації цитотоксичної активності.

### 5.1.2. Селективність дії нових піразолілзаміщених похідних тіазолідинону

Пошук цитотоксичних препаратів з високою селективністю дії щодо пухлинних клітин може мати вирішальне значення для підвищення показників виживання пацієнтів із метастазуючими формами онкопатологій [145]. Для вивчення селективної дії досліджуваних речовин розраховували індекс селективності (SI) як відношення  $IC_{50}$  сполуки для нормальних клітин щодо значення  $IC_{50}$  речовини для пухлинних клітин. Досліджувані сполуки вважали селективними, якщо  $SI > 3$  та неселективні, якщо  $SI < 3$  [146,147]. Найвищий індекс селективності досліджуваних сполук був для клітин Jurkat Т-лейкозу людини. Показник SI **2.35** становив 103,09 для клітин Jurkat, **2.38** = 2,70, **2.40** = 3,23, **2.37** = 3,68, **2.39** = 4,74, **2.55** = 62,5, **2.36** = 112,97, **2.57** = 149,25, **2.42** = 161,29. Сполука **2.35** була селективною щодо клітин U251 гліобластоми людини ( $SI = 9,8$ ), а сполука **2.36** – для клітин HCT116 колоректальної карциноми

людини (SI = 9,93). Доксорубіцин був селективним щодо пухлинних клітин лінії U251 (SI = 4,74), MCF-7 (SI = 6,95), HCT116 (SI = 7,89), Jurkat (SI = 8,98) (Табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Індекс селективності (SI) похідних **2.35-2.43, 2.49, 2.53, 2.55, 2.57**

Сполука	MCF-7	U251	Skov3	HCT116	Jurkat	HaCaT	Лімфоцити
<b>2.35</b>	1,74	9,80	2,67	2,29	103,09	1	1
<b>2.36</b>	0,86	0,84	1,64	9,93	112,97	1	0,84
<b>2.37</b>	1,08	1	1	1,29	3,68	1	1
<b>2.38</b>	1,66	1	2,48	1,88	2,70	1	1
<b>2.39</b>	1,55	1,25	2,12	2,49	4,74	1	1
<b>2.40</b>	1	1	1	1	3,23	1	1
<b>2.42</b>	1	1	1	1,42	161,29	1	1
<b>2.43</b>	1	1	1	1	1,48	1	1
<b>2.49</b>	1	1	1	1	1	1	1
<b>2.53</b>	1	1	1	1	1,55	1	1
<b>2.55</b>	1	1	1	1	62,5	1	1
<b>2.57</b>	1	1	1	1	149,25	1	1
<b>Dox</b>	6,95	4,74	2,37	7,89	8,98	1	5,48

Індекс селективності (IC) =  $IC_{50}$  для клітин лінії HaCaT /  $IC_{50}$  щодо певної лінії пухлинних (нормальних клітин).

Оскільки лейкозні клітини були чутливі до дії піразолізаміщених похідних тіазолідинону, також було розраховано індекс селективності сполук щодо ізольованих лімфоцитів з крові клінічно-здорового донора, що наведено у таблиці 5.3. Сполука **2.35** була селективною щодо клітин Jurkat T-лейкозу людини (SI = 103,09). Індекс селективності **2.40** = 3,23, **2.37** = 3,68, **2.39** = 4,74, **2.55** = 62,5, **2.57** = 149,25, **2.36** = 135,14, **2.42** = 161,29. Отже, сполуки **2.35, 2.38, 2.39, 2.37, 2.36, 2.42, 2.57, 2.55, 2.40** проявили селективну дію щодо клітин Jurkat T-лейкозу, речовина **2.35** – щодо клітин гліобластоми U251, сполука **2.36** – для клітин колоректальної карциноми HCT116.

Таблиця 5.3

Індекс селективності (SI) сполук **2.35-2.43, 2.49, 2.53, 2.55, 2.57**

Сполука	MCF-7	U251	Skov3	HCT116	Jurkat	HaCaT	Лімфоцити
<b>2.35</b>	1,74	9,80	2,67	2,29	103,09	1,06	1
<b>2.36</b>	1,03	1	1,96	11,88	135,14	1,20	1
<b>2.37</b>	1,08	1	1	1,29	3,68	1	1

## Закінчення таблиці 5.3

<b>2.38</b>	1,66	1	2,48	1,88	2,70	1	1
<b>2.39</b>	1,55	1,25	2,12	2,49	4,74	1	1
<b>2.40</b>	1	1	1	1	3,23	1	1
<b>2.42</b>	1	1	1	1,42	161,29	1	1
<b>2.43</b>	1	1	1	1	1,48	1	1
<b>2.49</b>	1	1	1	1	1	1	1
<b>2.53</b>	1	1	1	1	1,55	1	1
<b>2.55</b>	1	1	1	1	62,5	1	1
<b>2.57</b>	1	1	1	1	149,25	1	1
<b>Dox</b>	1,27	0,86	0,43	1,44	1,63	0,18	1

Індекс селективності (IC) = IC<sub>50</sub> ізольованих лімфоцитів крові клінічно-здорового донора / IC<sub>50</sub> щодо певної лінії пухлинних (нормальних) клітин.

## 5.2. Протиракова активність тіазолвмісних молекул

### 5.2.1. *In vitro* дослідження протипухлинної активності за програмою DTP NCI

Для попередньої оцінки протипухлинної активності синтезованих нових похідних тіазолу було проведено скринінгове дослідження сполук **3.3**, **3.4** і **3.5** Національним інститутом раку (NCI, Бетезда, США) в рамках Developmental Therapeutic Program (DTP). Первинний скринінг (Додаток Г) на панелі з 60 ліній ракових клітин в одній концентрації (10<sup>-5</sup> М) проводили згідно з протоколом NCI [148-152]. Найактивнішим протираковим агентом виявилася сполука **3.5**. Вона пригнічувала більш ніж на 50% ріст усіх 60 досліджуваних ліній ракових клітин з діапазоном росту -76,78 – 41,12%. Більше того, ця сполука виявила не тільки цитостатичну дію, але й цитотоксичні властивості, викликаючи загибель ракових клітин. Недрібноклітинний рак легень (NCI-H460, NCI-H522), меланома (LOX IMVI, SK Mel-2), рак товстої кишки (Colo 205, HCT-15, HT29, KM12) і ЦНС (SF-539, U251) клітинні лінії виявилися найбільш чутливими до дії сполуки **3.5**.

Порівняно зі сполукою **3.5** піразолін-піридин-тіазоли **3.3** і **3.4** показали помірну протипухлинну активність із середнім відсотком росту клітин ~ 50%. Тому додаткове введення піразолінового фрагмента в структуру досліджуваних сполук призводить до певної втрати протипухлинного ефекту, що, тим не менше, є потенційно цікавим для конструювання нових протиракових молекул. Так, лейкозні клітини ліній CCRF-

CEM, HL-60(TB), K-562, SR, клітини раку легень лінії NCI-H522, меланоми лінії MDA-MB-435, а також раку молочної залози MDA-MB-468 були найбільш чутливими до дії сполуки **3.3**. Для сполуки **3.4** також спостерігалась селективність протипухлинної дії щодо клітинних ліній лейкемії (K-562, SR), меланоми (SK Mel-5) та раку молочної залози (T-47D).

Беручи до уваги значне інгібування росту ракових клітин сполукою **3.5**, її було обрано для поглибленого скринінгу у широкому діапазоні концентрацій [148-152]. Сполука **3.5** пригнічувала ріст усіх досліджених ліній ракових клітин у мікромольних концентраціях (Додаток Г). Середні значення параметра  $GI_{50}$  (молярна концентрація сполуки, яка пригнічує 50% росту клітин) становила 31,7 мкМ. TGI (молярна концентрація сполуки, що призводить до повного інгібування росту клітин) і  $LC_{50}$  (молярна концентрація сполуки, що призводить до 50% чистої загибелі клітин) були переважно  $>100$  мкМ. Важливо відзначити, що сполука **3.5** була активною в діапазоні концентрацій 2,52-8,29 мкМ щодо наступних клітинних ліній: RPMI-8226 (лейкемія); NCI-H226 (недрібноклітинний рак легені); SNB-75, SF 539 (рак ЦНС); M14, MDA-MB-435 (меланома); UO-31, RXF 393 (рак нирки); MDA-MB-468 (рак молочної залози). Досліджувана молекула показала найвищу ефективність відносно меланоми лінії LOX IMVI, оскільки рівень цитотоксичності був на субмікромольному рівні (0,312 мкМ).

Індекси селективності для сполуки **3.5** розраховували шляхом розділення значення  $MG\_MID$   $GI_{50}$  повної панелі (мкМ) з **3.5** на значення індивідуального параметра для кожної лінії клітин (мкМ). Співвідношення від 3 до 6 означає помірну селективність, співвідношення більше 6 вказує на високу селективність до відповідної клітинної лінії, тоді як сполуки, які не відповідають жодному з цих критеріїв, оцінюються як неселективні [153]. На рівні  $GI_{50}$  похідне **3.5** не виявило селективності дії проти певних типів раку ( $SI = 0,61-1,41$ ). Водночас, щодо окремих ліній, найкращі показники SI спостерігалися у ліній: RXF 393 (рак нирки,  $SI = 12,2$ ) та LOX IMVI (меланома,  $SI = 101,6$ ) (Додаток Г).

## 5.2.2. МТТ аналіз оцінки життєздатності пухлинних і псевдонормальних клітин та впливу синтезованих молекул

Враховуючи результати попередньої оцінки (NCI) протипухлинного потенціалу тiazолvмісних молекул, синтезовані сполуки були досліджені на їх цитотоксичну активність на панелі ліній пухлинних та псевдонормальних клітин (Додаток В), серед яких клітини раку товстої кишки (HCT-116, HCT-116 p53 (-/-)), молочної залози (MCF-7), легенів (A549), яєчників (Skov3), шийки матки (KB3-1) та лейкемії (Jurkat, HL-60). Сполуки **3.2** і **3.5** проявили подібну цитотоксичну дію відносно пухлинних клітин, IC<sub>50</sub> становило від 0,57 мкМ до 7,8 мкМ залежно від клітинної лінії. Похідне **3.6** було менше активним порівняно з сполуками **3.2** і **3.5**. Нові синтезовані похідні мали низьку токсичність (IC<sub>50</sub>>50 мкМ) щодо псевдонормальних ембріональних клітин нирки людини (HEK293), мишачих макрофагів лінії J774.2 та епідермальних кератиноцитів людини лінії HaCaT, проте BALB-3T3 (нормальні фібробласти миші) були чутливими до дії цих сполук, IC<sub>50</sub> коливалося від 7,18 до 34,16 мкМ. Значення IC<sub>50</sub> для сполук **3.3** і **3.4** коливалося від 30 мкМ до понад 50 мкМ (Рис. 5.7).

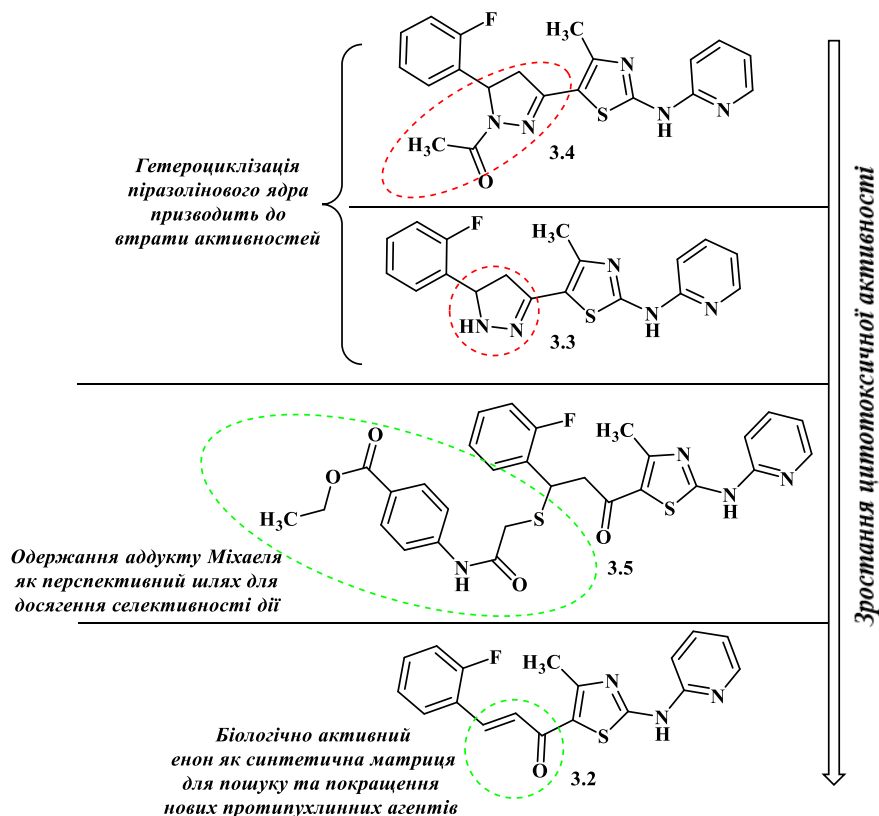


Рис. 5.7. Тiazолvмісні молекули як об'єкти вивчення цитотоксичного ефекту.



Зважаючи на отримані дані, сполуки **3.2** і **3.5** мають подібну цитотоксичну активність. Слід зазначити, що ці сполуки були менш токсичними для нормальних клітин порівняно з доксорубіцином, який використовується як позитивний контроль. У випадку клітин Skov3 похідне **3.5** було більш активним, і  $IC_{50}$  становило 7,87 мкМ порівняно з  $IC_{50} > 50$  для сполуки **3.2**. Ще дві сполуки **3.3** і **3.4**, які відрізняються від гетероциклів **3.2** і **3.5** наявністю піразолінового фрагмента, показали значно нижчу активність (Рис. 5.7) [102,103].

### 5.2.2.1. Протиракова активність сполуки **3.5** в часовому діапазоні

Дані дії сполуки **3.5** у часовому діапазоні були отримані в результаті проведення 24, 48, 72 і 124-годинних МТТ тестів на клітинній лінії MCF-7 (\*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$  порівняно із контролем). Виявлено сильну кореляцію між часом інкубації та цитотоксичним потенціалом цієї сполуки. Активна дія розвивається лише після 48 годин впливу сполуки на клітини. Нове похідне тіазолу вбиває 19,9% клітин раку молочної залози протягом 24 годин інкубації, та 90% клітин протягом 124 годин (Рис. 5.8). Цю особливість можна пояснити різницею у життєздатності клітин порівняно з результатами NCI, які були отримані на 48-й годині інкубації клітин з похідним **3.5**. Результат, отриманий на цю часову точку інкубації клітин MCF-7 з сполукою **3.5** у концентрації 10 мкМ, корелює, певною мірою, з даними скринінгу NCI. Протягом 48 годин інкубації 43% клітин гинули ( $IC_{50}$  становило  $> 10$  мкМ).

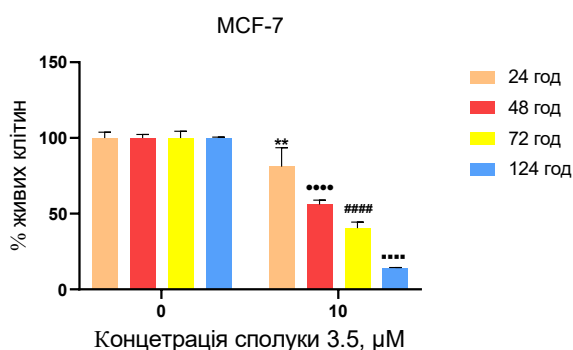


Рис. 5.8. Часозалежна активність сполуки **3.5** на клітинній лінії MCF-7.

### 5.2.2.2. Оцінка інгібування росту клітин сполукою 3.5 за допомогою клоногенного тесту

Клоногенний тест перевіряє кожну висіяну клітину на її здатність зазнавати «необмеженого» поділу [154]. Нове похідне **3.5** чинило сильний вплив на здатність клітин до утворення колоній. У концентрації 1 мкМ клоногенний ріст клітин MCF-7 знижувався до 36%. Доксорубіцин, який використовувався як позитивний контроль, значно активніше інгібував ріст клітин у колоніях, утворювалося лише 3% колоній порівняно з контролем (Рис. 5.9 А). Після інкубації клітин з 10 мкМ сполуки **3.5** протягом 10 днів, утворення колоній не спостерігалось (Рис. 5.9 В). ДМСО у концентрації, еквівалентній 10 мкМ сполуки **3.5**, підвищував здатність клітин рости в колоніях.

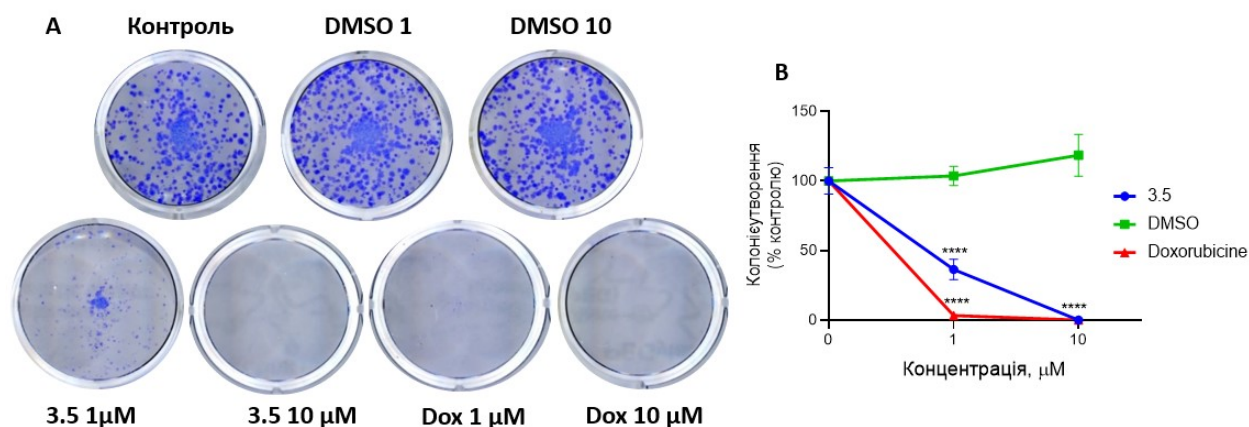


Рис. 5.9. Клоногенний тест, виконаний шляхом інкубації клітин MCF-7 зі сполукою **3.5** протягом 10 днів. **А.** Репрезентативні лунки культури клітин, що демонструють результати аналізу клоногенної виживаності. **В.** Графік відображає втрату здатності клітин MCF-7 до колонієутворення (клітини інкубовані із сполукою **3.5**, ДМСО та доксорубіцином у вказаних концентраціях) (\*\*\*\* $p < 0,0001$  порівняно з контролем).

### 5.2.2.3. Оцінка інгібування пухлиногенності *in vitro* за допомогою клоногенного аналізу у напіврідкому агаровому середовищі

Тестування ліків у тривимірному 3D форматі, як наприклад, напіврідкий агар, добре корелює з умовами *in vivo* [155]. У разі інкубації клітин раку молочної залози

MCF-7 з досліджуваною сполукою **3.5** спостерігалось помітне дозозалежне пригнічення утворення колоній (Рис. 5.10 В). Розмір колоній (більшість колоній <50 мкм (Рис. 5.10 А), і їх кількість були значно меншими порівняно із контролем та ДМСО. Проте, ці колонії були більшими порівняно із тими, які утворювались при інкубації із доксорубіцином, як позитивним контролем.

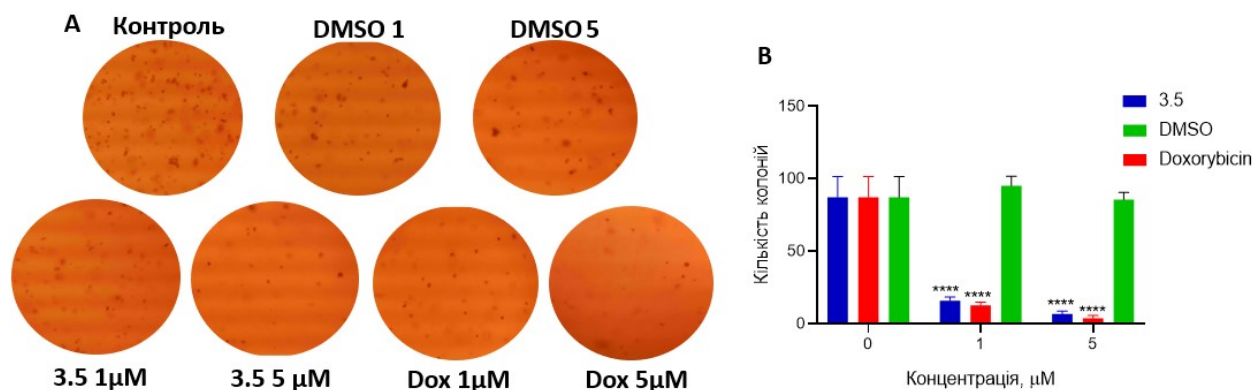


Рис. 5.10. Сполука **3.5** зменшує розмір і кількість колоній клітин MCF-7. (12-й день). **А.** Репрезентативні лунки з утвореними колоніями. **В.** Графік дозозалежного пригнічення утворення колоній сполукою **3.5** (\*\*\*\* $p < 0,0001$  порівняно з контролем).

Результати клоногенних тестів показали, що сполука **3.5** дозозалежно пригнічує життєздатність клітин MCF-7. Результати цих тестів узгоджуються між собою та кожен має певні переваги, зокрема перевагою напіврідкого агару здатність з його допомогою оцінити виживаність клітин, які можуть проліферувати незалежно від прикріплення [156,157]. Загалом ці дані показали, що похідне **3.5** виявляло значну протипухлинну активність щодо клітин раку молочної залози.

#### 5.2.2.4. Цитоморфологічні зміни, індуковані молекулами **3.2** та **3.5**

Наступним етапом наших досліджень було вивчення морфологічних змін в клітинах KB-3-1 при дії двох найбільш активних сполук **3.2** та **3.5**. Більшість клітин, оброблених сполукою **3.5**, демонстрували зміни в ядерній морфології, подібні до «мітотичної катастрофи» (Рис. 5.11 I,J). Крім того, ми спостерігали багатоядерні гігантські клітини. Таким чином, сполука **3.5** може викликати генетичну нестабільність в інкубованих клітинах, що призводить до таких морфологічних змін.

Похідне **3.2**, синтетичний прекурсор **3.5** (Рис. 5.11 G,H), і цисплатин (Рис. 5.11 E,F), який використовувався як позитивний контроль, викликали значно менше пошкодження ДНК у клітинах KB3-1, однак, клітини з «мітотичними катастрофами» також спостерігалися. Доксорубіцин, як позитивний контроль, (Рис. 5.11 C,D) більшою мірою індукував пошкодження клітинної мембрани та утворення мембранних випинань, порівняно з ефектом сполук **3.2** і **3.5**. Конденсований хроматин, який є характерною ознакою апоптозу, спостерігався під дією всіх досліджуваних сполук. Необроблені клітини в контролі (Рис. 5.11 A,B) мали морфологію, характерну для клітин лінії KB3-1.

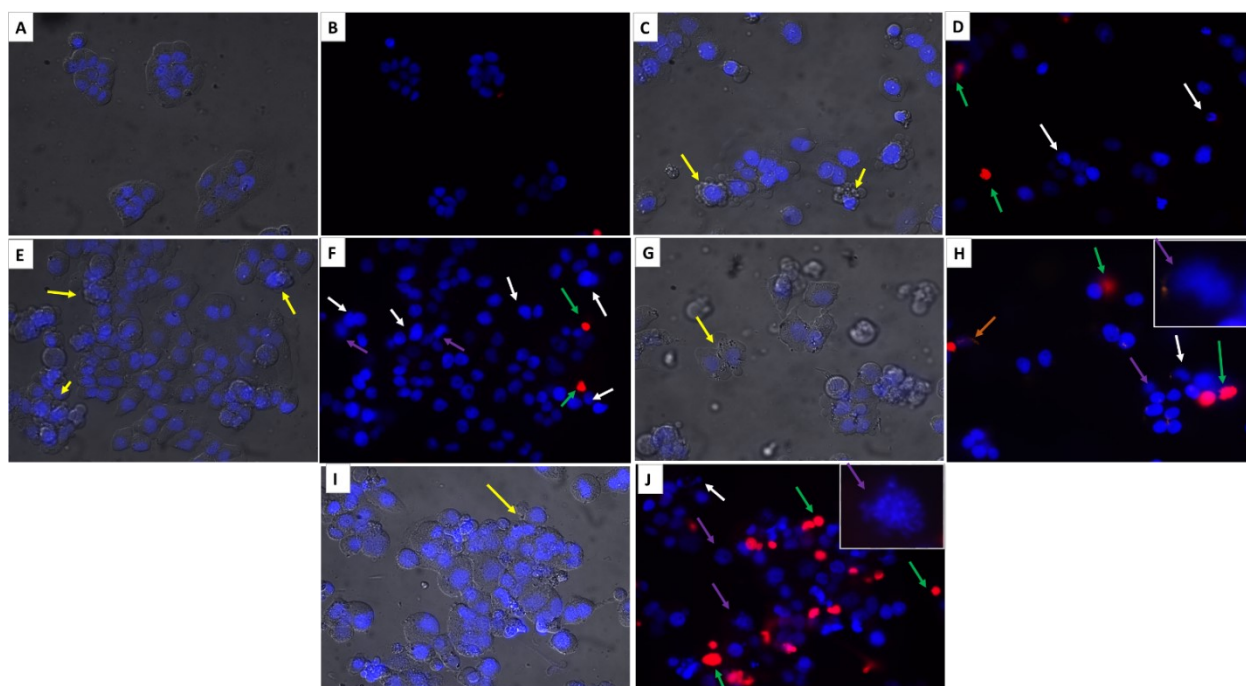


Рис. 5.11. Морфологічні зміни у клітинах KB3-1 після 48 год інкубації із сполуками **3.2** і **3.5**, цисплатином у концентрації 5 мкМ та доксорубіцином у концентрації 1 мкМ. Клітини фарбували флуоресцентними барвниками Hoechst 33342 та PI. Жовта стрілка вказує на випинання мембрани, біла - конденсований хроматин, зелена - мертві клітини, фіолетова - мітотичну катастрофу, а червона - багатоядерні клітини (збільшення  $\times 400$ ).

Спостереження змін у клітинній морфології є важливим показником для моніторингу відповіді клітин на вплив сполуки та аналізу механізмів її дії. Для порівняння подібності змін морфології під дією досліджуваних похідних

використовували два різні позитивні контролі доксорубіцин і цисплатин. У всіх досліджених випадках морфологічні зміни в клітинах KB-3-1 були подібні до тих, що викликані цисплатином. Також було досліджено здатність нових сполук до флуоресценції (Рис. 5.12). Сполуки **3.2** і **3.5** демонстрували червоно-жовту флуоресценцію в клітинах MCF-7. Таким чином, можна припустити, що сполуки проникають у клітини, а похідне **3.5** часозалежно накопичується поблизу ядра.

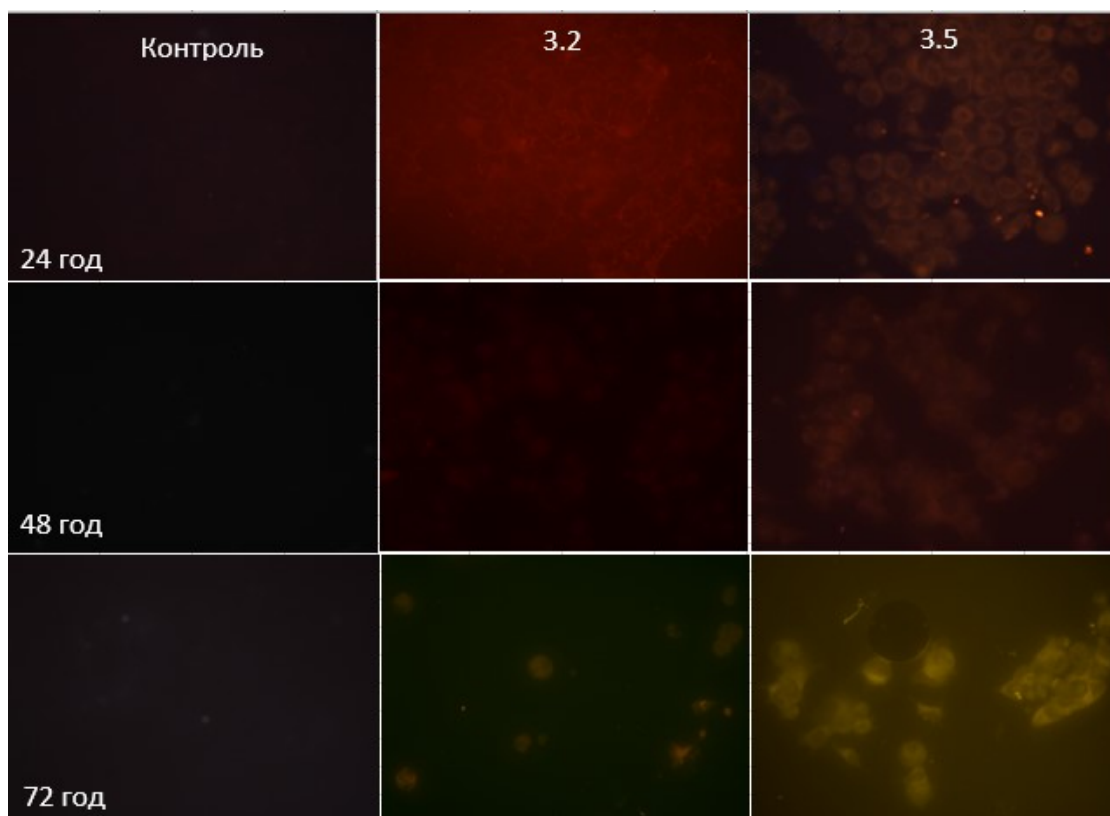


Рис. 5.12. Червоно-жовта флуоресценція сполук **3.2** і **3.5** в клітинах MCF-7. Клітини інкубували з похідними піридинтіазолу в концентрації 5 мкМ протягом 24, 48 і 72 год. Збільшення  $\times 400$ .

#### 5.2.2.5. Здатність нових гібридних піридин-тіазолів взаємодіяти із одно- та двонитковою ДНК

Оскільки досліджувані сполуки викликають морфологічні зміни в ядрі, ми дослідили їх можливість взаємодіяти із ДНК. Для цього було використано реакцію окислення  $\text{KMnO}_4$  (ця реакція дає можливість вивчення селективного окиснення піримідинових основ, зокрема тимідину, у неспарених або одноланцюгових ділянках ДНК, які утворюються внаслідок взаємодії із речовиною, перманганатом калію).

Сполуки, які взаємодіють з ДНК, спотворюють її дуплексну структуру, піддаючи піримідинові основи окисленню  $\text{KMnO}_4$ , утворені продукти можна виявити за допомогою UV/VIS спектрофотометрії, що дозволяє ідентифікувати різні класи ДНК-зв'язуючих сполук (наприклад ДНК інтеркалятори та алкілюючі агенти) [158].

Результати проведених досліджень вказують на подібну тенденцію перманганатного окислення ДНК сперми лосося, і дослідні сполуки сильніше взаємодіють із одноланцюговою ДНК, ніж з дволанцюговою ДНК (Рис. 5.13).

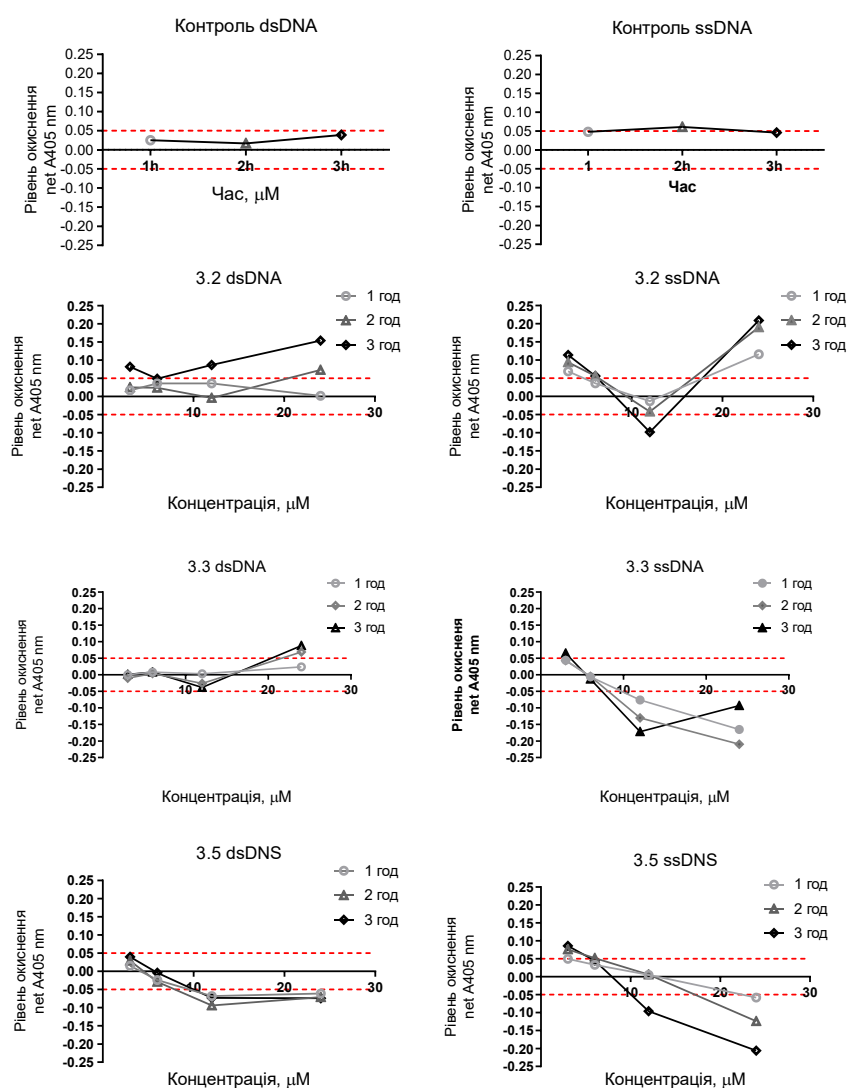


Рис. 5.13. Рівень окислення піримідинових основ у неспарених або одноланцюгових ділянках ДНК, які утворюються внаслідок взаємодії із речовиною, перманганатом калію. Сполуки, що зв'язують ДНК, були визначені як такі, що належать до груп, де чиста зміна поглинання між нулем і різними точками часу становила  $>0,05$  або  $<-0,05$  (червона лінія).

Усі досліджувані похідні показали дозо- та часозалежну взаємодію. NetAbs для реакції з одноланцюговою ДНК становила від -0,098 до 0,209 для сполуки **3.2**, від 0,206 до 0,086 – для **3.5** та від -0,214 до 0,082 – для **3.3**. При порівнянні впливу сполук на дволанцюгову ДНК **3.2** показала найсильніший вплив на її структуру, порівняно з **3.3** і **3.5**. Зміна абсорбції між нульовою та різними часовими точками коливалася від -0,004 до 0,154 (**3.2**) і від -0,094 до 0,04 (**3.5**). Сполука **3.3** найменшою мірою взаємодіяла з дволанцюговою ДНК, NetAbs становила від -0,038 до 0,088.

### 5.2.2.6. Здатність синтезованих похідних тіазолу індукувати апоптоз шляхом зниження потенціалу мітохондріальної мембрани

Апоптоз є природним запрограмованим механізмом, необхідним для підтримки гомеостазу в організмі, а у випадку ракових клітин це ефективний і важливий процес, що призводить до їх загибелі [159]. Оцінка індукції апоптозу була здійснена за допомогою проточної цитометрії після 24 годин інкубації клітин раку молочної залози MCF-7 зі сполуками **3.5** і **3.6** (обидві у концентрації 5 мкМ) (Рис. 5.14).

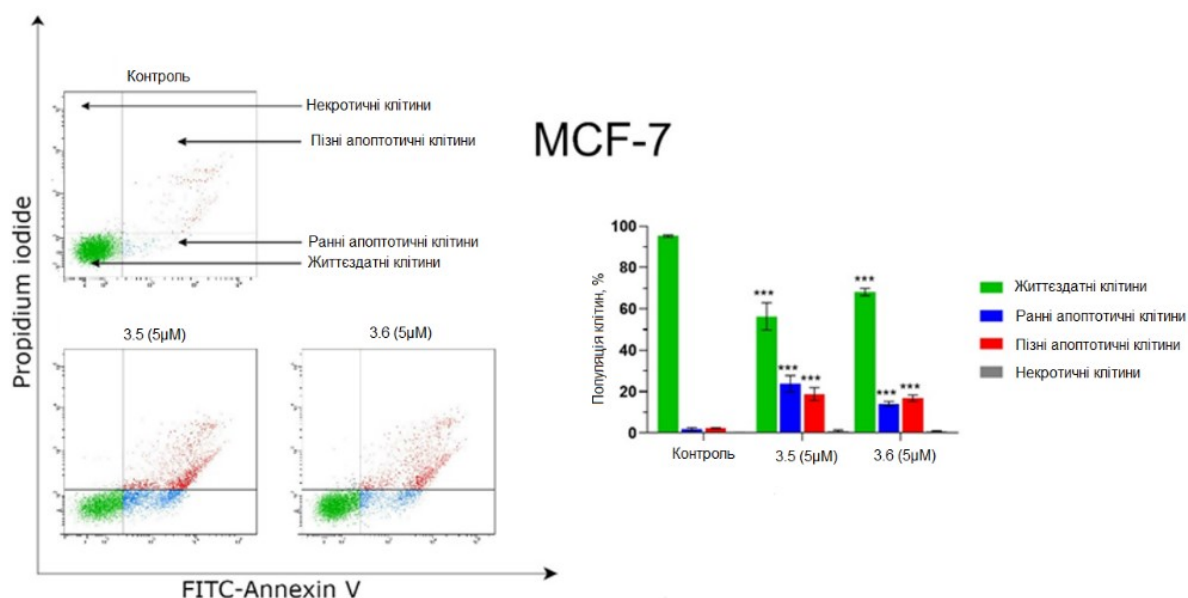


Рис. 5.14. Аналіз індукції апоптозу в клітинах MCF-7 після 24 годин інкубації зі сполуками **3.5** (5 мкМ) та **3.6** (5 мкМ).

У цьому дослідженні для вимірювання апоптозу використовували аннексин V-FITC і PI (пропідію йодид). Сполуки **3.5** і **3.6** призвела до значного збільшення

кількості апоптотичних клітин (ранніх і пізніх) у популяції клітин лінії MCF-7:  $42,7 \pm 7,0\%$  апоптотичних клітин було виявлено для сполуки **3.5** і  $31,0 \pm 1,9\%$  - для сполуки **3.6** (Рис. 5.14). Кількість апоптотичних клітин була значно збільшена у дослідних зразках порівняно з контролем ( $4,4 \pm 0,6\%$ ). Зменшення потенціалу мітохондріальної мембрани (ММР,  $\Delta\Psi_m$ ) є однією з найбільш ранніх змін, які спостерігаються під час апоптозу [159]. Апоптоз, який проходить мітохондріальним шляхом, демонструє підвищення проникності внутрішньої та зовнішньої мітохондріальної мембрани, що пов'язано зі зміною трансмембранного мітохондріального потенціалу [160] (Рис. 5.15).

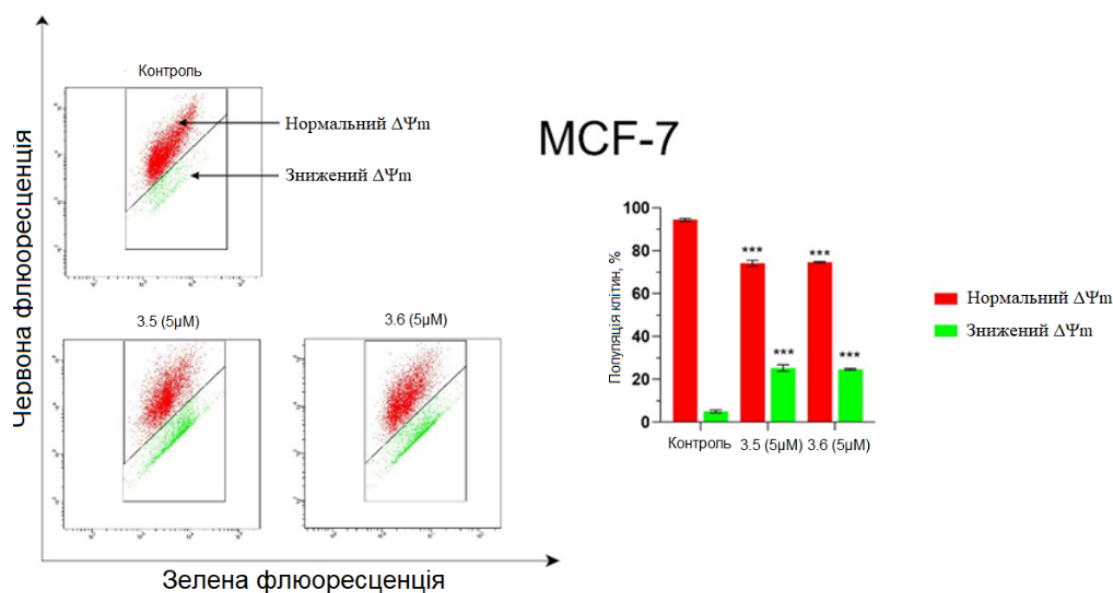


Рис. 5.15. Цитофлуориметричний аналіз змін потенціалу мітохондріальної мембрани ( $\Delta\Psi_m$ ) у клітинах раку молочної залози MCF-7 після 24 годин інкубації зі сполуками **3.5** (5 мкМ) та **3.6** (5 мкМ).

У цьому дослідженні ми використовували проточний цитометр і катіонний барвник JC-1 для визначення змін  $\Delta\Psi_m$  клітин раку молочної залози (лінія MCF-7), оброблених протягом 24 годин сполуками **3.5** і **3.6** у концентрації 5 мкМ. В обох досліджуваних сполуках спостерігалась значна зміна  $\Delta\Psi_m$  (Рис. 5.15).  $25,3 \pm 1,5\%$  та  $24,7 \pm 0,4\%$  популяції клітин MCF-7, оброблених відповідно сполуками **3.5** і **3.6** мали деполаризовані мітохондрії. У контролі було лише  $5,1 \pm 0,7\%$  клітин зі зниженим  $\Delta\Psi_m$ .



Ці дані свідчать про те, що апоптоз, індукований сполуками **3.5** і **3.6**, може відбуватися внутрішнім шляхом, що проявляється зменшенням  $\Delta\Psi_m$ .

#### 5.2.2.7. Інгібування PARP1 в клітинах лінії MCF-7

Відомо, що тiazолvмісні сполуки були розроблені як потужні інгібітори полі-АДФ-рибopolімерази (PARP) (PARPi) [161,162]. Білки, які беруть участь у репарації одно- та двониткових розривів ДНК, є основними мішенями цих інгібіторів [163]. Такі молекули зупиняють процес репарації, тим самим сприяючи перетворенню одноланцюгових розривів у дволанцюгові. Було виявлено, що інгібітори PARP1 блокують одне і те ж місце в каталітичному центрі але при цьому можуть мати різну клінічну ефективність. Молекули PARPi можуть порушувати алостерію PARP1 двома способами: 1) стимулювати вивільнення PARP-1 з ДНК і 2) сприяти утриманню. Ці досліджені механізми допомагають у моделюванні більш ефективних PARPi, який сприяють незворотному зв'язуванню PARP у місці розриву ДНК, створюючи пошкодження, що призводить до цитотоксичної дії, особливо в пухлинних клітинах з недостатчею компенсаторних ферментів репарації [164]. Застосування таких препаратів разом з іншими інгібіторами репарації ДНК може допомогти подолати стійкість до ліків та відіграє важливу роль у розвитку концепції синтетичної летальності.

Інгібування PARP1 *in vitro* досліджували попередньо проінкубувавши клітини MCF-7 флузопарібом (Fluzoparib), інгібітором PARP1, у нетоксичних концентраціях 5, 10 та 15 мкМ на протязі 3 годин. У таких дозах він не мав значного інгібуючого ефекту на ріст клітин, і зниження їх життєздатності спостерігалось лише на 10-12% порівняно з контрольними (необробленими) клітинами. Значення  $IC_{50}$  флузопарібу становило 47 мкМ. Етап преінкубації використовувався для зв'язування молекул PARP1, потенційних мішеней досліджуваних сполук, щоб перевірити, чи вплине попереднє інгібування на зменшення активності сполук **3.2** і **3.5**. Було виявлено, що попередня інкубація клітин MCF-7 з інгібітором PARP1 знижує більш ніж у 3 рази їх чутливість до молекули **3.5**.  $IC_{50}$  цієї сполуки становило 3,53 мкМ і збільшувалась до 13,95 мкМ у разі преінкубації клітин із флузопарібом (10 мкМ). Преінкубація клітин

із флузопарібом знижувала їх чутливість до сполуки **3.2** менш вираженим чином, порівняно з дією сполуки **3.5**.  $IC_{50}$  чистої сполуки **3.2** становила 3,9 мкМ та 6,86 мкМ – за умови попередньої інкубації (Рис. 5.16). Оскільки попередня інкубація клітин MCF-7 з інгібітором PARP1 знижувала чутливість цих клітин до сполуки **3.5**, можна припустити, що **3.5** також є інгібітором PARP1.

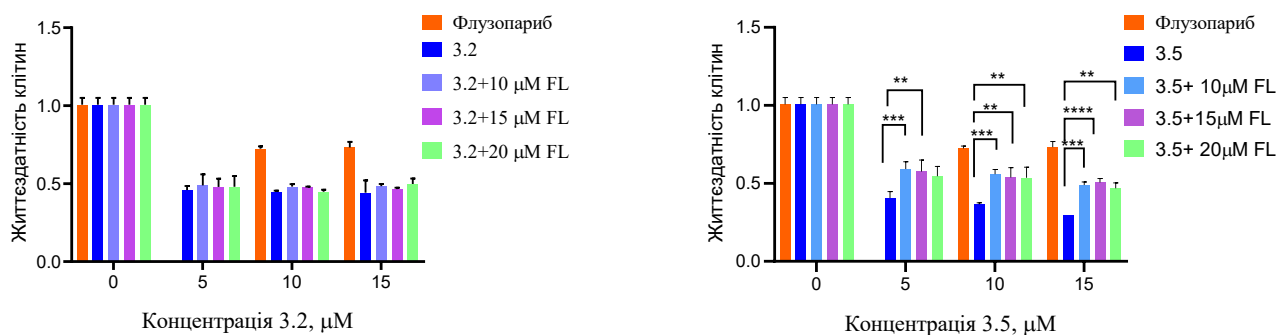


Рис. 5.16. Попередня інкубація клітин MCF-7 з інгібітором PARP1 флузопарібом знижувала їх чутливість до обробки сполуками **3.2** і **3.5**. Дані МТТ тесту, 72 години інкубації клітин із досліджуваними сполуками **3.2** і **3.5** (\*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ ).

Відповідно до теорії синтетичної летальності, основний фермент ексцизійної репарації PARP1 є критичним для компенсації втрати активності деяких інших репараційних білків, таких як BRCA1/2 (гени, асоційовані з раком молочної залози) [165]. У нашому дослідженні ми використали інгібітори MGMT (O-6-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази) та BRCA1 для блокування компенсаторних механізмів репарації ДНК і для вивчення потенційної хімічної синтетичної летальності сполуки **3.5** та цих інгібіторів (Рис. 5.17). Попередня інкубація клітин MCF-7 з ломегуатрібом у 3 рази підвищила їх чутливість до сполуки **3.5**,  $IC_{50}$  потенційного інгібітора PARP становило 2,28 мкМ і 0,72 мкМ у випадку інкубації з інгібітором MGMT ломегуатрібом. Подібна тенденція була отримана із брактопіном, але без статистичної достовірності. У разі інгібування BRCA1  $IC_{50}$  сполуки **3.5** становило 0,70 мкМ.

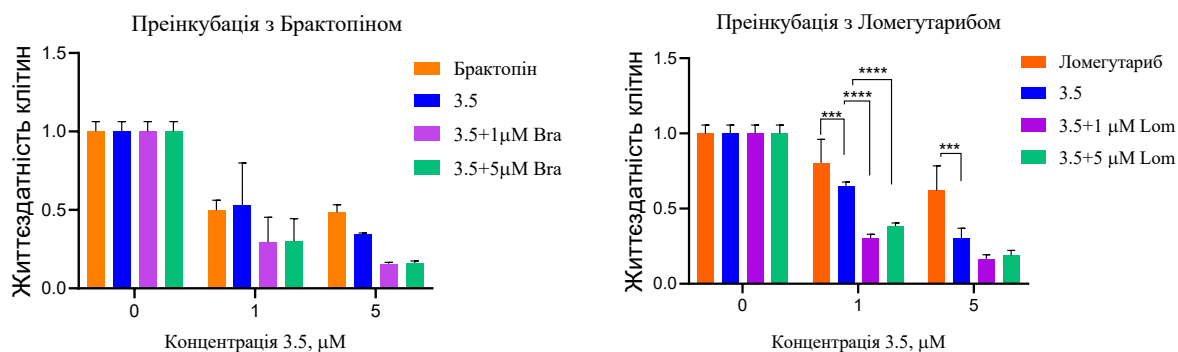


Рис. 5.17. Хімічні синтетично-летальні взаємодії між інгібуванням PARP1 сполукою **3.5** та інгібуванням BRCA1, MGMT. Дані MTT, 72 години інкубації (\*\*\*) $p < 0,001$ , \*\*\*\*) $p < 0,0001$ ).

Виявлено, що комбінація сполуки **3.5** з інгібітором MGMT показала синергетичну активність щодо клітин MCF-7 порівняно з їх окремою дією. Ця особливість може бути цікавою для подальшого вивчення дії цієї сполуки на мутантні за геном MGMT клітини, а також разом із ДНК-зв'язуючими препаратами. Пошук ефективних молекул і комбінацій ліків є залишається актуальним для розробки високоефективної хіміотерапії. Нова комбінація ліків, націлена на різні критичні метаболічні шляхи, може призвести до подолання резистентності раку, підвищити чутливість ракових клітин до хіміотерапевтичних препаратів і зменшити токсичність на здорові тканини організму [166].

### 5.2.3. Молекулярний докінг похідного 3.5

Для прогнозування можливого механізму дії протипухлинної дії сполук проведено докінгові дослідження. ПоліАДФ-рибозополімерази PARPs (PARP1 [167] і PARP2 [168]) були обрані для симуляції *in silico*. Найвищі енергії зв'язування та константи інгібування  $K_i$  продемонструвала сполука **3.5** для обох ферментів PARPs (табл. 5.4). Крім того, показники інгібування вищі порівняно з новим препаратом Талазопариб (Talzenna від Pfizer), що дозволяє припустити що сполука **3.5** має потужний фармакологічний профіль. Незважаючи на позитивні результати біологічних досліджень, сполука **3.2** показала невисоку енергію зв'язування обома

молекулами PARP. Цей факт дозволяє припустити, що основний цитотоксичний механізм дії сполуки **3.2** є іншим або пов'язаний з іншими типами ферментів PARP.

Таблиця 5.4

Результати молекулярного докінгу досліджуваних сполук

Сполука	PARP1 ( PDB 7KK4)		PARP2 (PDB 4PJV)	
	Енергія зв'язування	Константа інгібування Ki, nM	Енергія зв'язування	Константа інгібування Ki, nM
<b>3.2</b>	-7,84	1790	-8,08	1190
<b>3.3</b>	-8,75	384,91	-8,93	283,37
<b>3.4</b>	-9,32	147,71	-8,70	421,20
<b>3.5</b>	-9,95	50,82	-9,19	33,94
<b>Fluzoparib</b>	-11,88	1,97	-10,90	10,25
<b>Olaparib</b>	-12,72	0,473	-11,39	4,46
<b>Talazoparib</b>	-9,51	107,62	-9,98	48,61

Сполука **3.5** зв'язує бічний активний центр PARP1 за допомогою інтенсивних водневих зв'язків і різних типів Pi взаємодій. Крім того, молекула утворює слабкі вуглець-водневі зв'язки з Ser864 (Рис. 5.18).

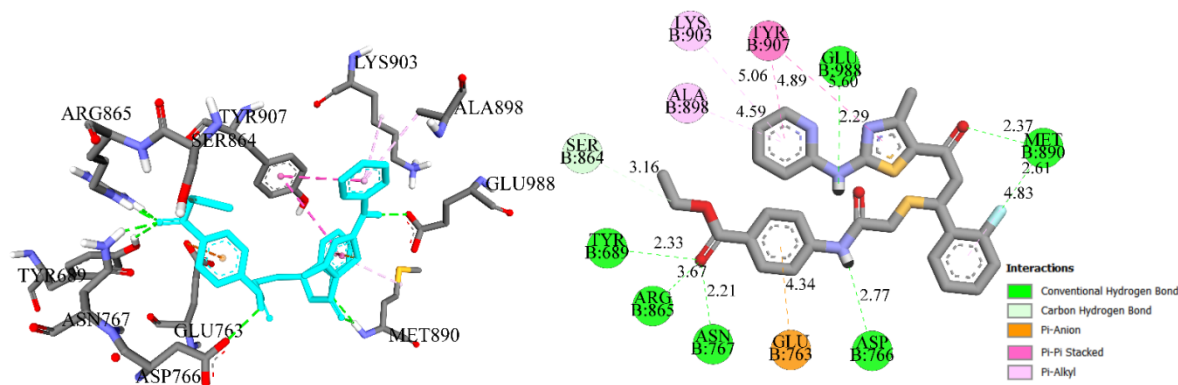


Рис. 5.18. Зв'язування найкраще генерованого конформера **3.5** з PARP1 (PDB 7KK4).

Сполука **3.5** утворює комплекс із PARP2 таким же чином, утворюючи 5 водневих зв'язків із Tyr473, Glu558, ASN434, Glu335 і Tyr455 (Рис. 5.19). Крім того, всі ароматичні кільця молекули утворюють різні типи гідрофобних взаємодій з тими ж амінокислотами та Lys469 і Met456. Слід зазначити, що взаємодія сполуки **3.5** з PARPs відрізняється від інших інгібіторів PARP. Молекула не займає кишені

зв'язування бензаміду PARP (Gly863 і Ser904 в PARP1) і (Gly429 і Ser470 в PARP2) [168]. Крім того, структура сполуки **3.5** не відповідає стандартному структурному каркасу інгібіторів PARP, які складаються з трьох частин: бензамідного фармакофора, ароматичного лінкера та вторинного або ароматичного аміну [169]. Докінгове моделювання та біологічні аналізи дозволяють зробити припущення про сполуку **3.5** як новий тип інгібітора PARPs, що необхідно підтвердити в подальших дослідженнях.

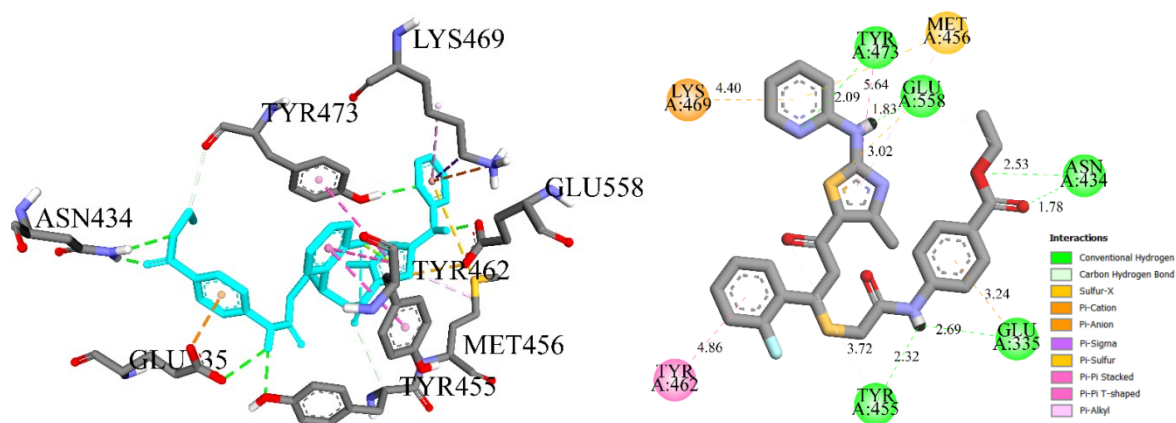


Рис. 5.19. Зв'язування найкраще генерованого конформера сполуки **3.5** з PARP2 (PDB 4PJV).

### 5.3. Протимікробна та протигрибкова активності

Проведено скринінг протимікробної дії 22 сполук методом дифузії в агар (метод «колодязів») [170,171] та методом серійних розведень [171,172] (розщеплення резазурину в бульйоні), використовуючи референс-культури та клінічні ізоляти мікроорганізмів, виділених від пацієнтів з інфекціями пов'язаними з наданням медичної допомоги, ізольованих від пацієнтів з локальних закладів охорони здоров'я. Всі клінічні ізоляти мали різні патерни антимікробної резистентності та були полірезистентними до антибіотиків (MDR) (Додатки Д, Е) [78].

Найбільш активними щодо Грам (+) мікроорганізмів були піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіони **4.9**, **4.10** та 5-ариліден-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-он **2.26** (МІК для *Streptococcus* 0,83 мМ), як щодо клінічного, так і щодо референтного штамів стафілококів (МІК для **4.9** та **4.10** 0,79 мМ та 0,75

мМ, відповідно). Варто зауважити, що така кореляція «структура-дія» є повністю протилежною по відношенню до протиракової активності даних молекул (Рис. 5.6, 5.20). Методом дифузії в агар активність щодо Грам (+) бактерій проявили також 5-(1,3-дифеніл-1*H*-піразол-4-ілметилен)-тіазолідини **2.40**, **2.37**.

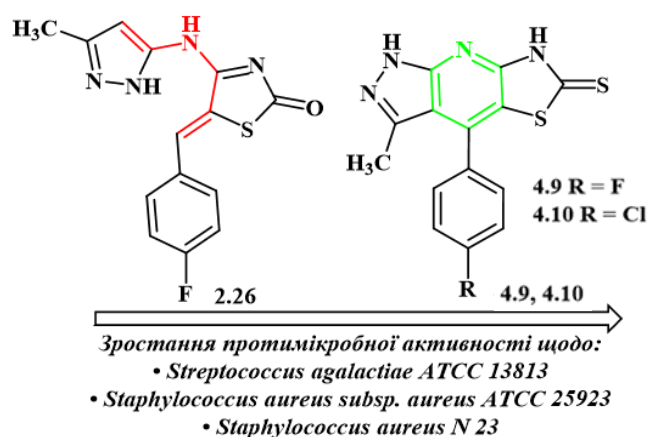


Рис. 5.20. Піразолін-тіазолідини як протимікробні агенти.

Щодо грибків найкращу активність проявили 5-(1,3-дифеніл-1*H*-піразол-4-ілметилен)-4-тіазолідинони (МІК для **2.40** для *Sacharomyces cerevisiae* 0,82 мМ) та 1,5-диметил-2-феніл-4-[(5-сульфаніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно]піразол-3-он (МІК для **3.10** для *Candida albicans* 67 0,78 мМ). Методом дифузії в агар активність щодо грибків проявили також деякі 2-{2-[5-(4-диметиламінофеніл)-3-метил-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4,5-дигідротіазол-5-іл}-*N*-фенілацетаміди **2.12**, **2.11**. Сполуки проявили незначну активність щодо Грам (-) бактерій. Найкращу активність проявила сполука **2.36** щодо *Klebsiella pneumoniae* 189 (МІК 0,61 мМ).

#### 5.4. Протизапальна активність похідного **2.40** *in vivo*

За даними скринінгу протимікробної дії сполука **2.40** виявила активність щодо грампозитивного референтного штаму *Staphylococcus aureus*, а також найкращу дію щодо грибків роду *Sacharomyces cerevisiae* (Додатки Д, Е), що стало основою для дослідження протизапальної активності *in vivo* [78] (Рис. 2.21).

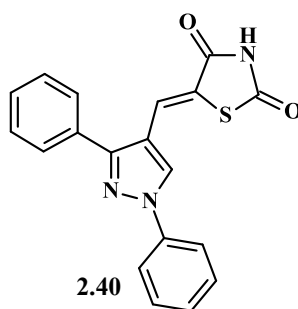


Рис. 5.21. Структура досліджуваної молекули.

Дорослих самців щурів лінії Wistar надав віварій ЛНМУ імені Данила Галицького (Львів, Україна). Щури були акліматизовані протягом 1 тижня перед експериментами. Їм дозволили вільний доступ до води, а також до стандартної дієти для гризунів і утримували в кімнаті для експериментальних тварин з кондиціонером (температура: 22-24 °С, вологість: 50-65%, і 12-годинний цикл світло/темрява). Усі процедури на тваринах суворо відповідали стандартам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких і наукових цілей» (Страсбург, 1985). Директиви Ради Європи № 2010/63 / ЄС та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» зі змінами «440-IX від 14.01.2020. Щурів випадковим чином розділили на три групи (n = 3-4 щури на групу): Група 1 (AL) – Артрит (ад'ювант) + сполука **2.4** (L), Група 2 – Артрит Контроль (Ад'ювант Фрейнда) (A), Група 3 – контроль без ад'юванту та сполуки **2.4** (K). Додатково була задіяна Група щурів № 4, якій додавали лише досліджувану сполуку **2.4** та вивчали композицію пристінкової мікробіоти тонкої кишки (Табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Групи щурів, які були залучені в експеримент

Група	Абревіатура групи	Опис групи	Досліджена мікробіота
1 (n=4)	A+L	Ад'ювант (A) + Сполука <b>2.4</b> (L)	Транзиторна фекальна мікробіота
2 (n=4)	A	Ад'ювант (A)	Транзиторна фекальна мікробіота
3 (n=3)	K	Контроль без ад'юванту та сполуки <b>2.4</b> (K)	Транзиторна фекальна мікробіота
4 (n=4)	L	Контроль сполуки <b>2.4</b> без ад'юванту (L)	Пристінкова постійна мікробіота

Щурі з артритом отримували похідне **2.4** (5 мг/кг) у групі 1. Тварини отримували гранульований корм і воду *ad libitum*. Для індукції артриту 0,1 мл ад'юванту вводили внутрішньошкірно в подушечку лівої задньої лапи щурам, за винятком контрольної групи [173]. Усіх щурів досліджували на предмет гострого запального ураження артритом. Лікування проводили з 5 по 15 день. Протягом усього курсу дослідження дотримувались стандартних протоколів.

Після вилучення щурів з експерименту транзиторну (фекалії) та пристінкову (зразок товстої кишки) мікробіоту і відправляли на секвенування геномної 16S рРНК (Novogene, Пекін, Китай), щоб вивчити видовий склад мікробної спільноти в кожному зразку, точність ідентифікації складала 97%. Результати проаналізовано наступними методами: аналізом альфа- та бета-різноманітностей, аналізу головних координат (PCoA), неметричного багатовимірного масштабування (NMDS), метод невваженого попарного групування з середнім арифметичним (UPGMA), аналіз подібності (ANOSIM, T-test, AMOVA, ADONIS), метод головних компонент (МГК) [174].

Результат МГК показаний на рисунку 5.22, де група AL більш схожа на групу К, ніж на групу А. Мікробіота контрольної та AL-груп була більш подібною до контрольної. Це може означати можливе відновлення кишкової мікробіоти після лікування запалення досліджуваною сполукою **2.4**. Пристінкова мікробіота групи L за своїм складом суттєво відрізнялась від інших груп, а відсутність 16S рРНК ідентифікації пристінкової мікробіоти у групах К, AL, А не дозволяє статистично-достовірно порівнювати результати пристінкової та транзиторної мікробіоти.

Статистичний аналіз відмінностей між видами продемонстрував зменшення чисельності класу коріобактерій в групі А за рахунок ад'ювантного запалення [175] і повернення до контрольного рівня ( $p < 0,05$ ) після застосування досліджуваної сполуки **2.4** (Додаток Є (1)).



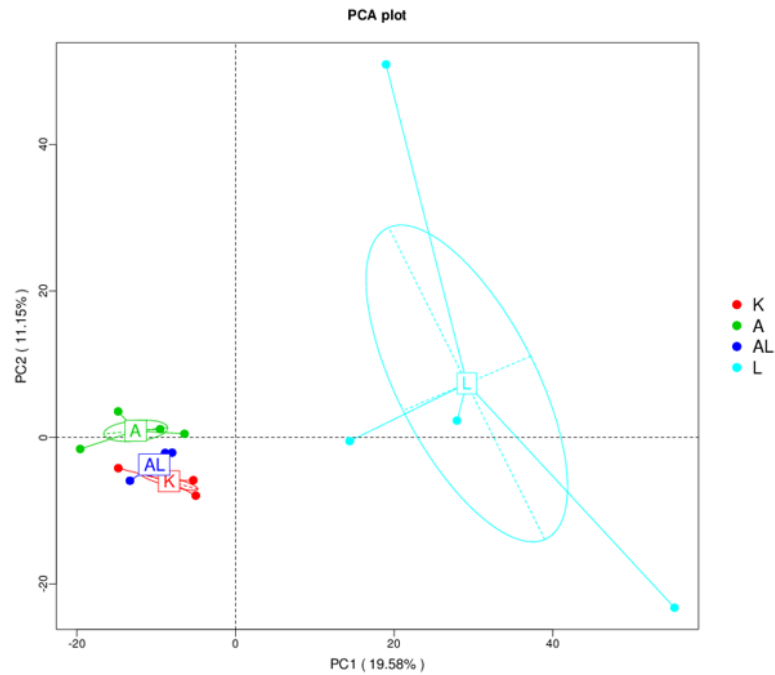


Рис 5.22. Результат МГК.

Спостерігалось достовірне збільшення ( $p < 0,05$ ) чисельності бактерій рядів *Coriobacteriales* і *Aeromonadales* під впливом досліджуваної сполуки **2.4** (Додаток Є (2)) та статистично достовірне ( $p < 0,05$ ) зменшення кількості бактерій родини і роду *Neisseriaceae* (Додаток Є (3,4)). у групі AL порівняно з групою А. Також відзначено статистично достовірне збільшення кількості бактерій родини *Succivibrionaceae*, що може свідчити про непряму протизапальну дію сполуки **2.4** (Додаток Є (3)) [176,177]. У ході експерименту було виявлено значне збільшення *Faecalibacterium prausnitzii* (Додаток Є (4,5)), які є протизапальними коменсалами та використовуються як пробіотичні штами для лікування хвороби Крона та інших запальних захворювань [178,179]. Також було досліджено статистично значуще збільшення кількості бактерій роду *Blautia* в групі AL порівняно з групою А. Бактерії цього роду можуть продукувати бутират, який має протизапальну дію і використовується для лікування запальних захворювань кишечника [180-182]. У групі AL кількість бактерій роду *Lachnospiraceae* значно зросла порівняно з контролем і групою А, що може свідчити про здатність сполуки **2.4** індукувати розмноження бактерій роду *Lachnospiraceae*, що у свою чергу також продукують бутират, який сприяє цілісності кишкового бар'єру [183,184]. Кількість інших бактерій роду *Collinsella* значно зменшилася у групі А

порівняно з контролем, але не було значних змін порівняно з групою AL (Додаток Є (4)). *Collinsella* є прозапальними мікроорганізмами, які можуть спричинити запалення, викликане колінселою, і в довгостроковій перспективі впливають на рівень глюкози та ожиріння [185-187]. Досліджувана сполука істотно не пригнічує або не потенціює ріст бактерій роду *Collinsella*. Виявлено достовірне збільшення ( $p < 0.05$ ) кількості бактерій роду *Anaerobiospirillum* у групі AL порівняно з контролем, без суттєвого збільшення в групі А, що можна пояснити ад'ювантним запаленням. Було доведено, що *Anaerobiospirillum* викликає діарею у людей, бактеріємії та інші запальні реакції, і ця група бактерій має сильний зв'язок із функцією печінки [188,189]. Значно збільшилася кількість бактерій *Faecalibacterium prausnitzii* та водночас спостерігалось зменшення бактерій *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, які є пробіотичними штамами та можуть мати протизапальну дію [190-192] (Додаток Є (5)).

### Висновки до розділу 5

1. Скринінгові дослідження біологічних активностей синтезованих сполук дозволили виділити ряд перспективних агентів з протипухлинною, протимікробною, протигрибковою і протизапальною діями.

2. На основі дослідження протипухлинної активності при використанні МТТ тесту ідентифіковано високоактивні сполуки з групи 5-(1,3-дифенілпіразол-4-іліден)заміщених 4-азолідинонів з найкращою цитотоксичною дією на окремі ракові клітини, серед яких клітинні лінії Jurkat Т-лейкозу людини володіють найбільшою чутливістю до молекул **2.35**, **2.36**, **2.42**, **2.57** з задовільними індексами селективності дії. Досліджувані молекули були малотоксичними для псевдонормальних кератиноцитів людини лінії HaCaT та ізольованих лімфоцитів клінічно-здорового донора.

3. Встановлено, що (5*Z*)-5-[(4-фторофеніл)метилен]-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]тіазол-2-он **2.26** має виражену цитотоксичну дію на клітини ліній MCF-7 (карциноми молочної залози людини) і Jurkat (Т-лейкозу людини) з показником  $IC_{50}$  в межах 2,15-7,90 мкМ, на відміну від структурно споріднених конденсованих

піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіонів **4.9**, **4.10** з показниками IC<sub>50</sub> щодо клітин лінії MCF-7 15,51 мкМ та 16,96 мкМ відповідно, що дозволяє чітко дозволяє встановити деякі закономірності кореляції «структура – дія».

4. За результатами дослідження протипухлинної активності похідних тіазолу за програмою DTP NCI ідентифіковано високоактивну молекулу **3.5** з суттєвим цитотоксичним впливом на клітинні лінії лейкемії, недрібноклітинного рак легень, меланоми, раку нирки та молочної залози.

5. Встановлено, що сполука **3.5** характеризує є потенційним інгібітором PARP1/2 та індуктором апоптозу, причому молекула взаємодіє з PARP за механізмом не характерним для інших інгібіторів PARP, тому є багатообіцяючою об'єктом для її поглибленого дослідження, в тому числі в поєднанні з інгібіторами ферментів репарації ДНК або з агентами, що взаємодіють з ДНК.

6. На основі вивчення протимікробної активності було досліджено, що найбільш активними щодо Грам (+) мікроорганізмів були піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіони **4.9**, **4.10**, на відміну від їх структурних попередників 5-ариліден 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-ону **2.26**, що є протилежною картиною кореляції «структура-дія» у порівнянні до протиракової активності даних молекул.

7. Піразоліл-тіазолідиндіон **2.40** проявив активність щодо грампозитивного референтного штаму *Staphylococcus aureus*, а також найкращу дію щодо грибків роду *Sacharomyces cerevisiae* та статистично достовірно індукував ріст мікроорганізмів-продуцентів протизапальних агентів (бутират та інші), таких як *Blautia*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Succinivibrionaceae*, *Coriobacteriales*, що свідчить про його непряму протизапальну дію.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях: [77,78], [102,103].

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено ефективні методи синтезу і одержано 70 нових гетероциклічних гібридних молекул на основі 4-азолідинонів, тiazолів, піразолів, тіадіазолів, тіопірано[2,3-*d*]тіазолів та тієно[2,3-*c*]піразолів, встановлена їх будова, вивчено фізико-хімічні параметри та біологічну активність. На основі комплексу досліджень, що включав органічний синтез, біологічні і фармакологічні дослідження, а також *in silico* розрахунки методами молекулярного дизайну ідентифіковано нові високоактивні сполуки з протипухлинною (9 речовин), протимікробною та протигрибковою (10 речовин) та протизапальною (1 сполука) діями і задовільними токсикометричними параметрами.

2. Показано, що 3-метил-5-феніл-4,5-дигідропіразол-1-карботіоаміди є ефективними *S,N*-бінуклеофільними реагентами у реакції [2+3]-циклоконденсації з такими еквівалентами діелектрофільного синтону  $[C_2]^{2+}$  як монохлорооцтова кислота та *N*-малеїміди, в результаті чого було одержано неописані в літературі 2-піразолілзаміщені 4-тіазолідинони.

3. Вперше встановлено, що 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид утворює продукти різної структури в залежності від умов проведення [2+3]-циклоконденсації з монохлорооцтовою кислотою (середовище та введення додаткових реагентів), що відкриває шлях до неописаних в хімічній літературі важкодоступних біциклічних похідних 4-тіазолідинону - 3-антипірил-(*Z*)-3-аміно-2-(4-оксотіазолідин-2-іліден)гідразиніліден)тіазолідин-4-онів та (2*E*)-3-[(*E*)-арилметиленаміно]-2-[(*E*)-[3-[(*E*)-арилметиленаміно]-4-оксотіазолідин-2-іліден]гідразоно]тіазолідин-4-онів, а також очікуваних 2-ариліденгідразоно-3-піразоліл-4-тіазолідинонів. Крім того, 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазид є ефективним реагентом для дизайну піразоліл-тіадізолічних гібридних молекул.

4. Показано, що використання піразолінвмісних альдегідів та амінів є ефективним підходом для опрацювання мультикомпонентних реакцій циклоконденсації з тіогліколевою кислотою, що дозволяє одержати потенційно біологічно активні 2,3-дизаміщені похідні 4-тіазолідинону.

5. Вперше встановлено, що 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну при взаємодії з 4-тіазолідинтіонами (похідними ізо- та тіороданіну), дозволяє реалізувати різні напрямки синтетичного пошуку. Так, при взаємодії ізороданіну та 3-метил-1*H*-піразол-5-аміну утворюється 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-он, який є ефективним метиленактивним реагентом для проведення реакцій Кньюенагеля і азозосполучення, що дозволяє одержати серії 5-заміщених похідних, а аміноліз 5-ариліден-4-тіазолідинтіонів приводить до оригінальних трициклічних піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіонів.

6. Запропоновано системні підходи до дизайну біологічно активних 5-піразолілметилен-4-тіазолідинонів, які полягали у реакції Кньюенагеля 1,3-дифенілпіразол- та 5-хлоро-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-карбальдегідів з 4-тіазолідинами, взаємодії 5-етокси-4-тіазолідинонів з 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-оном та 4-диметиламінометилен-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону з 2-тіоксо-4-тіазолідинами. Зазначені підходи можуть використовуватися альтернативно в залежності від поставленого завдання та властивостей окремих реагентів.

7. Вперше встановлено, що взаємодія 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-ону з триетилортоформіатом незалежно від температурних проходить з утворенням 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1*H*-піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1*H*-піразолін-5-ону, а не очікуваного 4-етоксиметиленапохідного.

8. Вперше встановлено, що продукти конденсації Кляйзена-Шмідта на прикладі (*E*)-3-(2-фторофеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону є ефективними реагентами для перетворень за еноновим фрагментом, що продемонстровано одержанням піразолін-тіазол-піридинових гібридних молекул за реакцією [2+3]-циклоконденсації з гідрозин-гідратом та реакцією Міхаеля з етиловим естром 4-(2-меркаптоацетиламіно)бензойної кислоти. Зазначені підходи дозволяють здійснити молекулярний дизайн проакцепторів Міхаеля для розв'язання проблеми PAINS у сучасній медичній хімії.

9. Показано, що 1-[3-(4-метоксифеніл)-5-арил-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-бут-2-ен-1-они є ефективними дієнофілами у реакції *гетеро*-Дільса-Альдера, що відкриває

регіо- та діастереоселективний підхід до синтезу нових піразолілзаміщених тіопірано[2,3-*d*]тіазолів як біологічно активних сполук.

10. Показано, що 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегід при взаємодії із ороданином, 2-меркапто-*N*-фенілацетамідами та 2-(2-меркаптоацетил)гідразин-1-карботіоамідом є ефективним реагентом для синтезу конденсованих піразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазолів та тієно[2,3-*c*]піразолів, що відкриває нові шляхи для молекулярного дизайну фармакологічно привабливих конденсованих гетероциклічних систем.

11. Вперше ідентифіковано високу групову протипухлинну активність 5-(1,3-дифенілпіразол-4-іліден)заміщених 4-ті(імід)азолідинонів, які характерні високою селективністю дії щодо клітинної лінії Jurkat Т-лейкозу людини та невисокою токсичністю на псевдонормальні кератиноцити людини лінії HaCaT та ізольованих лімфоцити клінічно-здорового донора.

12. Ідентифіковано (5*Z*)-5-[(4-фторофеніл)метилен]-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]тіазол-2-он з вираженою цитотоксичною дією ( $IC_{50} \sim 2,15-7,90$  мкМ) на клітини ліній MCF-7 (карциноми молочної залози людини) і Jurkat (Т-лейкозу людини) на відміну від структурно близьких конденсованих піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-тіонів з помірним протираковим ефектом, що дозволяє трактувати перевагу неконденсованих гетероциклічних систем такого типу над спорідненими конденсованими для дизайну потенційних протиракових агентів.

13. За результатами скринінгу протипухлинної активності похідних тіазолу за програмою DTP NCI ідентифіковано високоактивний 4-[[2-[1-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)тіазол-5-іл]-3-оксопропіл]сульфанілацетил]аміно]бензоат з суттєвим цитотоксичним впливом на клітинні лінії лейкемії, меланоми недрібноклітинного рак легень, рак нирки та молочної залози. Встановлено, що зазначена сполука є потенційним інгібітором PARP1/2 та індуктором апоптозу, тому є багатообіцяючим об'єктом для поглибленого дослідження, в тому числі в поєднанні з інгібіторами ферментів репарації ДНК або з агентами, що взаємодіють з ДНК.

14. На основі вивчення протимікробної активності встановлено, що найбільш активними щодо Грам (+) мікроорганізмів були піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-

6-тіони на відміну від їх структурних попередників 5-ариліден-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-онів, що є протилежною картиною кореляції «структура-дія» у порівнянні до протираковою активністю даних молекул.

15. Ідентифіковано 5-(1,3-дифеніл-1*H*-піразол-4-ілметилен)-2,4-тіазолідиндіон з суттєвим ефектом щодо грампозитивного референтного штаму *Staphylococcus aureus* та високою активністю щодо грибків роду *Sacharomyces cerevisiae*. Сполука-хіт статистично достовірно індукувала ріст мікроорганізмів-продуцентів протизапальних агентів *Blautia*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Succinivibrionaceae*, *Coriobacteriales*, що свідчить про непряму протизапальну дію і відкриває шлях до дизайну мультитаргетних біологічно активних молекул.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Abbas, S.Y., Al-Harbi, R.A. and El-Sharief, M.A.S., 2020. Synthesis and anticancer activity of thiourea derivatives bearing a benzodioxole moiety with EGFR inhibitory activity, apoptosis assay and molecular docking study. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 198, p.112363.
2. Canudo-Barreras, G., Ortego, L., Izaga, A., Marzo, I., Herrera, R.P. and Gimeno, M.C., 2021. Synthesis of new thiourea-metal complexes with promising anticancer properties. *Molecules*, 26(22), p.6891.
3. Parmar, D.R., Soni, J.Y., Guduru, R., Rayani, R.H., Kusurkar, R.V., Vala, A.G., Talukdar, S.N., Eissa, I.H., Metwaly, A.M., Khalil, A. and Zunjar, V., 2021. Discovery of new anticancer thiourea-azetidine hybrids: Design, synthesis, in vitro antiproliferative, SAR, in silico molecular docking against VEGFR-2, ADMET, toxicity, and DFT studies. *Bioorganic Chemistry*, 115, p.105206.
4. Tessmann, J.W., Buss, J., Begnini, K.R., Berneira, L.M., Paula, F.R., de Pereira, C.M.P., Collares, T. and Seixas, F.K., 2017. Antitumor potential of 1-thiocarbamoyl-3, 5-diaryl-4, 5-dihydro-1H-pyrazoles in human bladder cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, pp.37-46.
5. Saueressig, S., Tessmann, J., Mastelari, R., da Silva, L.P., Buss, J., Segatto, N.V., Begnini, K.R., Pacheco, B., de Pereira, C.M.P., Collares, T. and Seixas, F.K., 2018. Synergistic effect of pyrazoles derivatives and doxorubicin in claudin-low breast cancer subtype. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 98, pp.390-398.
6. Palaska, E., Aydin, F., Ucar, G. and Erol, D., 2008. Synthesis and Monoamine Oxidase Inhibitory Activities of 1-Thiocarbamoyl-3, 5-diphenyl-4, 5-dihydro-1H-pyrazole Derivatives. *Archiv der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 341(4), pp.209-215.
7. Havrylyuk, D., Zimenkovsky, B., Vasylenko, O., Zaprutko, L., Gzella, A. and Lesyk, R., 2009. Synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety and evaluation of their anticancer activity. *European journal of medicinal chemistry*, 44(4), pp.1396-1404.



8. Farghaly, A.R., Esmail, S., Abdel-Hafez, A., Vanelle, P. and El-Kashef, H., 2012. New pyrazole derivatives of potential biological activity. *Arkivoc*, 7, pp.228-241.
9. Nikpassand, M., Fekri, L.Z. and Taherkhorsand, H., 2017. Green synthesis of novel 2-pyrazolyl-1, 3-thiazolidine-4-ones using 2-oxoimidazolidine-1, 3-disulfonic acid. *Heterocyclic Communications*, 23(6), pp.429-432.
10. Keyhani, A., Nikpassand, M., Fekri, L.Z. and Kefayati, H., 2022. One-pot Synthesis of a New Category of 2-aryl-quinazolinones Using OImDSA as an Efficient Heterocyclic Medium. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 25(2), pp.267-273.
11. Bekhit, A.A. and Fahmy, H.T., 2003. Design and Synthesis of Some Substituted 1H-Pyrazolyl-oxazolidines or 1H-Pyrazolyl-thiazolidines as Anti-inflammatory-Antimicrobial Agents. *Archiv der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 336(2), pp.111-118.
12. El-Bordany, E.A., Abdel Aziz, A., Abou-Elmagd, W.S. and Hashem, A.I., 2018. Synthesis and Spectroscopic Characterization of some Novel Pyrazoloquinoline, Pyrazolyltetrazine, and Thiazolidinone Derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 55(1), pp.291-296.
13. Chavan, A.S., Kharat, A.S., Bhosle, M.R., Dhumal, S.T. and Mane, R.A., 2021. Water mediated and Baker's yeast accelerated novel synthetic protocols for tetrahydrobenzo [a] xanthene-11-ones and pyrazolo[3,4-b]quinolines. *Synthetic Communications*, 51(13), pp.1963-1973.
14. Abumelha, H.M., 2020. Synthesis and antioxidant assay of new nicotinonitrile analogues clubbed thiazole, pyrazole and/or pyridine ring systems. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(3), pp.1011-1022.
15. Khanna, L., Singhal, S., Jain, S.C. and Khanna, P., 2020. Spiro-Indole-Coumarin Hybrids: Synthesis, ADME, DFT, NBO Studies and In Silico Screening through Molecular Docking on DNA G-Quadruplex. *ChemistrySelect*, 5(11), pp.3420-3433.
16. Alves, A.J., Alves, N.G., Caratão, C.C., Esteves, M.I., Fontinha, D., Bártolo, I., Soares, M.I., Lopes, S.M., Prudêncio, M., Taveira, N. and Pinho e Melo, T.M., 2020. Spiro-lactams as novel antimicrobial agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 20(2), pp.140-152.

17. Alves, N.G., Bártolo, I., Alves, A.J., Fontinha, D., Francisco, D., Lopes, S.M., Soares, M.I., Simões, C.J., Prudêncio, M., Taveira, N. and e Melo, T.M.P., 2021. Synthesis and structure-activity relationships of new chiral spiro- $\beta$ -lactams highly active against HIV-1 and Plasmodium. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 219, p.113439.
18. Ji, D.S., Luo, Y.C., Hu, X.Q. and Xu, P.F., 2020. Enantioselective synthesis of spirorhodanine-pyran derivatives via organocatalytic [3+ 3] annulation reactions between pyrazolones and rhodanine-derived ketoesters. *Organic letters*, 22(3), pp.1028-1033.
19. Masumoto, E., Nagabuchi, H., Kashige, N., Okabe-Nakahara, F., Miake, F., Yamagata, K. and Maruoka, H., 2019. Synthesis and dna cleavage activity of novel spiro [cyclobutathiazole-4, 4'-pyrazole] derivatives. *Heterocycles*, 99(1), pp.669-679.
20. Awasthi, A., Yadav, P., Kumar, V. and Tiwari, D.K., 2020.  $\alpha$ -Amino Acids Mediated C– C Double Bonds Cleavage in Diastereoselective Synthesis of Aza-Spirocyclic Pyrazolones. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 362(20), pp.4378-4383.
21. Metwally, N.H., Badawy, M.A. and Okpy, D.S., 2015. Synthesis and anticancer activity of some new thiopyrano[2,3-d]thiazoles incorporating pyrazole moiety. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 63(7), pp.495-503.
22. Moskalenko, Z.I. and Shumelyak, G.P., 1974. Action of phosphorus pentasulfide on 5-acetamidothiohydantoins and 4-bromo-5-acetamidopyrazoles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 10(7), pp.813-815.
23. Koyioni, M., Manoli, M. and Koutentis, P.A., 2014. Synthesis of Fused 1, 2, 4-Dithiazines and 1, 2, 3, 5-Trithiazepines. *The Journal of organic chemistry*, 79(20), pp.9717-9727.
24. Ammar, Y.A., Mohamed, Y.A., El-Hagali, G.A.M., El-Aal, A.A. and El-Gaby, M.S.A., 2010. Some Cyclization Reactions with 2-Ethoxycarbonylmethylidene-4, 5-Dihydro-4-Thiazolinone. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 185(7), pp.1386-1394.
25. Takahashi, Y., Hashizume, M., Shin, K., Terauchi, T., Takeda, K., Hibi, S., Murata-Tai, K., Fujisawa, M., Shikata, K., Taguchi, R. and Ino, M., 2012. Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationships of Novel Pyrazolo[5,1-b]thiazole Derivatives as Potent

and Orally Active Corticotropin-Releasing Factor 1 Receptor Antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(19), pp.8450-8463.

26. Mohamed, K.S., Elbially, E.E. and Fadda, A.A., 2022. Synthesis of novel heterocycles comprising benzothiazole moiety and their antimicrobial evaluations. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 42(8), pp.5585-5598.

27. Sabbah, D.A., Hajjo, R. and Sweidan, K., 2020. Review on epidermal growth factor receptor (EGFR) structure, signaling pathways, interactions, and recent updates of EGFR inhibitors. *Current topics in medicinal chemistry*, 20(10) pp.815-834.

28. Arunachalam, S., Ramalingam, S., Lachmanan, G.N. and Nagarajan, S., 2022. Design and characterization of core scaffold pyrazolone fused thiazolidinone analogues as potent anticancer agents. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 21(11), pp.2429-2437.

29. Afifi, O.S., Shaaban, O.G., Abd El Razik, H.A., El, S.E.D.A.S., Ashour, F.A., El-Tombary, A.A. and Abu-Serie, M.M., 2019. Synthesis and biological evaluation of purine-pyrazole hybrids incorporating thiazole, thiazolidinone or rhodanine moiety as 15-LOX inhibitors endowed with anticancer and antioxidant potential. *Bioorganic chemistry*, 87, pp.821-837.

30. Shepeta, Y.L., Lozynskyi, A.V., Tomkiv, Z.V., Grellier, P. and Lesyk, R.B., 2020. Synthesis and evaluation of biological activity of rhodanine-pyrazoline hybrid molecules with 2-(2, 6-dichlorophenylamino)-phenylacetamide fragment. *Biopolymers & Cell*, 36(2), p.133.

31. Hu, S., Sun, Y., Meng, Y., Wang, X., Yang, W., Fu, W., Guo, H., Qian, W., Hou, S., Li, B. and Rao, Z., 2015. Molecular architecture of the ErbB2 extracellular domain homodimer. *Oncotarget*, 6(3), p.1695.

32. Fakhry, M.M., Mahmoud, K., Nafie, M.S., Noor, A.O., Hareeri, R.H., Salama, I. and Kishk, S.M., 2022. Rational Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Pyrazoline-Based Antiproliferative Agents in MCF-7 Cancer Cells. *Pharmaceuticals*, 15(10), p.1245.

33. Othman, I.M., Alamshany, Z.M., Tashkandi, N.Y., Gad-Elkareem, M.A., Abd El-Karim, S.S. and Nossier, E.S., 2022. Synthesis and biological evaluation of new derivatives of thieno-thiazole and dihydrothiazolo-thiazole scaffolds integrated with a pyrazoline

nucleus as anticancer and multi-targeting kinase inhibitors. *RSC advances*, 12(1), pp.561-577.

34. Potter, C.P.S. and Harris, A.L., 2003. Diagnostic, prognostic and therapeutic implications of carbonic anhydrases in cancer. *British journal of cancer*, 89(1), pp.2-7.

35. Metwally, N.H. and El-Desoky, E.A., 2023. Novel Thiopyrano [2, 3-d] thiazole-pyrazole Hybrids as Potential Nonsulfonamide Human Carbonic Anhydrase IX and XII Inhibitors: Design, Synthesis, and Biochemical Studies. *ACS Omega*, 8(6), pp.5571–5592.

36. Tugrak, M., Gul, H.I., Sakagami, H. and Gulcin, I., 2020. Synthesis, cytotoxic, and carbonic anhydrase inhibitory effects of new 2-(3-(4-methoxyphenyl)-5-(aryl)-4, 5-dihydro-1 H-pyrazol-1-yl) benzo [d] thiazole derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(7), pp.2762-2768.

37. Ahmadian, M., Suh, J.M., Hah, N., Liddle, C., Atkins, A.R., Downes, M. and Evans, R.M., 2013. PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nature medicine*, 19(5), pp.557-566.

38. Bo, Q.L., Chen, Y.H., Yu, Z., Fu, L., Zhou, Y., Zhang, G.B., Wang, H., Zhang, Z.H. and Xu, D.X., 2016. Rosiglitazone pretreatment protects against lipopolysaccharide-induced fetal demise through inhibiting placental inflammation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 423, pp.51-59.

39. Abdellatif, K.R., Fadaly, W.A., Kamel, G.M., Elshaier, Y.A. and El-Magd, M.A., 2019. Design, synthesis, modeling studies and biological evaluation of thiazolidine derivatives containing pyrazole core as potential anti-diabetic PPAR- $\gamma$  agonists and anti-inflammatory COX-2 selective inhibitors. *Bioorganic chemistry*, 82, pp.86-99.

40. Bratenko, M., Perepelytsya, O., Yaremii, I., Kupchanko, K., Panasenko, N. and Vovk, M., 2021. Synthesis and Hypoglycemic Activity of the Derivatives of 4-(1, 3-Thiazolidine-5-Ylidene) Pyrazole-3-Carbonic Acid and its Esters. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(6), pp.14403-14412.

41. Flefel, E.M., El-Sofany, W.I., Al-Harbi, R.A. and El-Shahat, M., 2019. Development of a novel series of anticancer and antidiabetic: spirothiazolidines analogs. *Molecules*, 24(13), p.2511.

42. Kumar, P., Duhan, M., Sindhu, J., Kadyan, K., Saini, S. and Panihar, N., 2020. Thiazolidine-4-one clubbed pyrazoles hybrids: Potent  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors with NLO properties. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(4), pp.1573-1587.
43. Lamberte, L.E. and van Schaik, W., 2022. Antibiotic resistance in the commensal human gut microbiota. *Current Opinion in Microbiology*, 68, p.102150.
44. Idrees, M., Kola, S. and Siddiqui, N.J., 2019. Synthesis, characterization and antimicrobial screening of some novel 5-(benzofuran-2-yl)-N'-(2-substituted-4-oxothiazolidin-3-yl)-1-phenyl-1h-pyrazole-3-carboxamide derivatives. *Rasayan J Chem*, 12(4), pp.1725-1733.
45. Shah, P.J., 2021. Preparation, characterization, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of novel pyrazole-thiazole derivatives. *Indian Journal of Chemistry-Section B (IJC-B)*, 60(9), pp.1223-1229.
46. Kerru, N., Gummidi, L., Bhaskaruni, S.V., Maddila, S.N. and Jonnalagadda, S.B., 2020. Ultrasound-assisted synthesis and antibacterial activity of novel 1, 3, 4-thiadiazole-1 H-pyrazol-4-yl-thiazolidin-4-one derivatives. *Monatshefte Für Chemie-Chemical Monthly*, 151, pp.981-990.
47. Mine, Y., Watanabe, Y., Sakamoto, H., Hatano, K., Kuno, K., Higashi, Y., Kamimura, T., Matsumoto, Y., Tawara, S., Matsumoto, F. and Kuwahara, S., 1993. In vitro antibacterial activity of FK037, a novel parenteral broad-spectrum cephalosporin. *The Journal of antibiotics*, 46(1), pp.71-87.
48. Mor, S. and Khatri, M., 2022. Synthesis, antimicrobial evaluation,  $\alpha$ -amylase inhibitory ability and molecular docking studies of 3-alkyl-1-(4-(aryl/heteroaryl) thiazol-2-yl)indeno[1,2-c]pyrazol-4(1H)-ones. *Journal of Molecular Structure*, 1249, p.131526.
49. Schweitzer, B.I., Dicker, A.P. and Bertino, J.R., 1990. Dihydrofolate reductase as a therapeutic target. *The FASEB journal*, 4(8), pp.2441-2452.
50. Bhosle, A. and Chandra, N., 2016. Structural analysis of dihydrofolate reductases enables rationalization of antifolate binding affinities and suggests repurposing possibilities. *The FEBS Journal*, 283(6), pp.1139-1167.
51. Ibrahim, S.A., Fayed, E.A., Rizk, H.F., Desouky, S.E. and Ragab, A., 2021. Hydrazonoyl bromide precursors as DHFR inhibitors for the synthesis of bis-thiazolyl

pyrazole derivatives; antimicrobial activities, antibiofilm, and drug combination studies against MRSA. *Bioorganic Chemistry*, 116, p.105339.

52. Conaghan, P.G., 2012. A turbulent decade for NSAIDs: update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity. *Rheumatology international*, 32, pp.1491-1502.

53. Maghraby, M.T.E., Abou-Ghadir, O.M., Abdel-Moty, S.G., Ali, A.Y. and Salem, O.I., 2020. Novel class of benzimidazole-thiazole hybrids: The privileged scaffolds of potent anti-inflammatory activity with dual inhibition of cyclooxygenase and 15-lipoxygenase enzymes. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 28(7), p.115403.

54. Pratik, K., Arun, K., Neha, S., Bhumika, Y., Anshuman, S. and Kumar, G.S., 2018. Synthesis, characterization of ethyl 5-(substituted)-1H-pyrazole-3-carboxylate derivative as potent anti-inflammatory agents. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 17(1), pp.32-38.

55. Tageldin, G.N., Fahmy, S.M., Ashour, H.M., Khalil, M.A., Nassra, R.A. and Labouta, I.M., 2018. Design, synthesis and evaluation of some pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives bearing thiazolidinone moiety as anti-inflammatory agents. *Bioorganic chemistry*, 80, pp.164-173.

56. Rocha, A.C., Fernandes, E.S., Quintão, N.L., Campos, M.M. and Calixto, J.B., 2006. Relevance of tumour necrosis factor- $\alpha$  for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. *British journal of pharmacology*, 148(5), p.688.

57. Abd El-Karim, S.S., Mohamed, H.S., Abdelhameed, M.F., Amr, A.E.G.E., Almehizia, A.A. and Nossier, E.S., 2021. Design, synthesis and molecular docking of new pyrazole-thiazolidinones as potent anti-inflammatory and analgesic agents with TNF- $\alpha$  inhibitory activity. *Bioorganic chemistry*, 111, p.104827.

58. Mukherjee, D., 2017. Traditional NSAIDs and coxibs: is one better than the other?. *European Heart Journal*, 38(23), pp.1851-1852.

59. Holota, S.M., Derkach, H.O., Demchuk, I.L., Vynnytska, R.B., Antoniv, O.I., Furdychko, L.O., Slyvka, N.Y., Nektegayev, I.O. and Lesyk, R.B., 2019. Synthesis and in

vivo evaluation of pyrazoline-thiazolidin-4-one hybrid Les-5581 as a potential non-steroidal anti-inflammatory agent. *Biopolymers and Cell*, 35(6), pp.437-447.

60. Lesyk, R.B. and Zimenkovsky, B.S., 2004. 4-Thiazolidones: centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry. *Current Organic Chemistry*, 8(16), pp.1547-1577.

61. Юшин, І.М., Лозинський, А.В., Федусевич, О.М., Вовчук, О.Я. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових 5-заміщених 2-піразолілітіазол-4-онів як потенційних біологічно активних сполук. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*, Т. 13, №2(33), с.214-218.

62. Yushyn, I., Fedusevych, O.-M. and Lesyk R., 2019. A hybrid pharmacophore approach in the synthesis of novel pyrazoline-thiazolidinone conjugates. *14th Bialystok International Medical Congress for Young Scientists*. Bialystok, Poland, 17-18 May 2019, p.48.

63. Юшин, І., Лозинський, А. та Лесик Р., 2019. Синтез нових неконденсованих тіазолідин-піразольних кон'югатів на основі гібрид-фармакофорного підходу. *XVII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2019»*. Львів, Україна, 2-5 червня 2019, с.У37.

64. Юшин, І.М., Гойдик, М.В. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових похідних 2-піразолілізаміщених тіазолідинілацетамідів як потенційних біологічно активних сполук. *VIII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»*, Тернопіль, Україна, 23-24 вересня 2020, с.17-18.

65. Mohareb, R.M., Shams, H.Z. and Elkholy, Y.M., 1992. The uses of 4-phenyl-3-thiosemicarbazide in heterocyclic synthesis: novel synthesis of thiazole, pyrazole and 1, 3, 4-thiadiazine derivatives. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 72(1-4), pp.93-102.

66. Юшин, І.М., Гзелля, А. та Лесик, Р.Б., 2021. Синтез та хімічні перетворення нових тіазолідинонів як потенційних біологічно активних сполук. *Науково-практична конференція з міжнародною участю «Current trends in pharmaceutical*

*chemistry and standardization of medicines*», Тернопіль, Україна, 25-26 травня 2021, с.73.

67. Kurzer, F. and Wilkinson, M., 1970. Chemistry of carbonylhydrazone and thiocarbonylhydrazone. *Chemical Reviews*, 70(1), pp.111-149.

68. Pinson, J.A., Schmidt-Kittler, O., Frazzetto, M., Zheng, Z., Jennings, I.G., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Chalmers, D.K. and Thompson, P.E., 2012. Synthesis and pharmacological evaluation of 4-iminothiazolidinones for inhibition of PI3 kinase. *Australian journal of chemistry*, 65(10), pp.1396-1404.

69. Юшин, І., Гзелля, А. та Лесик Р., 2021. Синтез нових гетероциклічних систем з піразол-тіазольними фрагментами у молекулах як потенційних біологічно активних сполук. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2021»*, Запоріжжя, Україна, 25-26 листопада 2021, с.100.

70. Groom, C.R., Bruno, I.J., Lightfoot, M.P. and Ward, S.C., 2016. The Cambridge structural database. *Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials*, 72(2), pp.171-179.

71. Pyrih, A., Łapiński, A., Zięba, S., Lesyk, R., Jaskolski, M. and Gzella, A.K., 2023. Proton tautomerism and stereoisomerism of 4-amino-1, 3-thiazol-2 (5H)-one derivatives bearing substituents with opposite electronic effects: Synthesis, structure and spectroscopic studies. *Journal of Molecular Structure*, 1274, p.134441.

72. Allen, F.H., Kennard, O., Watson, D.G., Brammer, L., Orpen, A.G. and Taylor, R., 1987. Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (12), pp.S1-S19.

73. Lozynskyi, A., Holota, S., Yushyn, I., Sabadakh, O., Karpenko, O., Novikov, V. and Lesyk, R., 2021. Synthesis and Biological Activity Evaluation of Polyfunctionalized Anthraquinonehydrazones. *Letters in Drug Design & Discovery*, 18(2), pp.199-209.

74. Siddamurthi, S., Gutti, G., Jana, S., Kumar, A. and Singh, S.K., 2020. Anthraquinone: a promising scaffold for the discovery and development of therapeutic agents in cancer therapy. *Future medicinal chemistry*, 12(11), pp.1037-1069.



75. Lozynskyi, A., Sabadakh, O., Luchkevich, E., Taras, T., Vynnytska, R., Karpenko, O., Novikov, V. and Lesyk, R., 2018. The application of anthraquinone-based triazenes as equivalents of diazonium salts in reaction with methylene active compounds. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 193(7), pp.409-414.
76. Chulovska Z, C.T., Drapak, I., Chaban, I. and Nektegaev, I., 2021. Synthesis of some C5 substituted 4-phenylimino-thiazolidin-2-ones as possible anti-inflammatory agents. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(1), pp.8009-8017.
77. Рисенко, Г., Фінюк, Н., Юшин, І., Генега, А., Лесик, Р. та Стойка Р., 2022. Антинеопластична дія нових 5-ен-4-тіазолідинонів з піразоліліновими фрагментами у молекулах. *XVIII міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології»*, Львів, Україна, 6-7 жовтня 2022, с.18-19.
78. Konechnyi, Y., Rumynska, T., Yushyn, I. and Lesyk, R., 2022. Newly synthesized 5-pyrazolyl substituted 2,4-thiazolidinedione as potential anti-inflammatory and antimicrobial agent. *ESCMID-ASM Joint Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance*, Dublin, Ireland, 4-7 October 2022, <https://www.escmid.org/dates-events/escmid-conferences/escmidasm-conference-2022>.
79. Юшин, І. та Лесик Р., 2021. Синтез нових піразолілзаміщених 5-ен-4-тіазолідинонів як потенційних біологічно активних сполук. *XVIII наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021»*, Львів, 31 травня - 2 червня 2021, с.У8.
80. Wrzeciono, U., 1975. Über das verhalten einiger 5-pyrazolon-und 3,5-pyrazolidindionderivate gegenüber natriumborhydrid. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 12, pp. 2293-2304.
81. Gupta, A., Iqbal, S., Roohi, Hussain, M.K., Zaheer, M.R. and Shankar, K., 2022. Visible Light-Promoted Green and Sustainable Approach for One-Pot Synthesis of 4, 4'-(Arylmethylene) bis (1H-pyrazol-5-ols), In Vitro Anticancer Activity, and Molecular Docking with Covid-19 Mpro. *ACS omega*, 7(38), pp.34583-34598.
82. Trilleras, J., Quiroga, J., Cobo, J., Low, J.N. and Glidewell, C., 2005. Hydrogen-bonded chains in 3-(5-chloro-3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)-1-(4-methoxyphenyl) propenone and 3-(5-chloro-3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)-1-(3, 4, 5-

- trimethoxyphenyl) propenone. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 61(6), pp.o414-o416.
83. Farrugia, L.J., 2012. WinGX and ORTEP for Windows: an update. *Journal of Applied Crystallography*, 45(4), pp.849-854.
84. Dolomanov, O.V., Bourhis, L.J., Gildea, R.J., Howard, J.A. and Puschmann, H., 2009. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. *Journal of applied crystallography*, 42(2), pp.339-341.
85. Spek, A.L., 2009. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 65(2), pp.148-155.
86. Ge, L., Hu, Q., Shi, M., Yang, H. and Zhu, G., 2017. Design and discovery of novel thiazole derivatives as potential MMP inhibitors to protect against acute lung injury in sepsis rats via attenuation of inflammation and apoptotic oxidative stress. *RSC advances*, 7(52), pp.32909-32922.
87. Patel, S., Patle, R., Parameswaran, P., Jain, A. and Shard, A., 2019. Design, computational studies, synthesis and biological evaluation of thiazole-based molecules as anticancer agents. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 134, pp.20-30.
88. Anh, D.T., Hai, P.T., Park, E.J., Jun, H.W., Kang, J.S., Kwon, J.H., Anh, V.T., Han, S.B. and Nam, N.H., 2020. Exploration of certain 1, 3-oxazole-and 1, 3-thiazole-based hydroxamic acids as histone deacetylase inhibitors and antitumor agents. *Bioorganic Chemistry*, 101, p.103988.
89. Shen, X., Zhao, L., Chen, P., Gong, Y., Liu, D., Zhang, X., Dai, L., Sun, Q., Lou, J., Jin, Z. and Zhang, B., 2019. A thiazole-derived oridonin analogue exhibits antitumor activity by directly and allosterically inhibiting STAT3. *Journal of Biological Chemistry*, 294(46), pp.17471-17486.
90. Hu, C.M., Zhu, J., Guo, X.E., Chen, W., Qiu, X.L., Ngo, B., Chien, R., Wang, Y.V., Tsai, C.Y., Wu, G. and Kim, Y., 2015. Novel small molecules disrupting Hec1/Nek2 interaction ablate tumor progression by triggering Nek2 degradation through a death-trap mechanism. *Oncogene*, 34(10), pp.1220-1230.
91. Hay, M.P., Turcotte, S., Flanagan, J.U., Bonnet, M., Chan, D.A., Sutphin, P.D., Nguyen, P., Giaccia, A.J. and Denny, W.A., 2010. 4-Pyridylanilinothiazoles that selectively

target von Hippel– Lindau deficient renal cell carcinoma cells by inducing autophagic cell death. *Journal of medicinal chemistry*, 53(2), pp.787-797.

92. de Santana, T.I., de Oliveira Barbosa, M., de Moraes Gomes, P.A.T., da Cruz, A.C.N., da Silva, T.G. and Leite, A.C.L., 2018. Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new thiazole derivatives. *European journal of medicinal chemistry*, 144, pp.874-886.

93. Aly, A.A., Bräse, S., Hassan, A.A., Mohamed, N.K., El-Haleem, L.E.A., Nieger, M., Morsy, N.M., Alshammari, M.B., Ibrahim, M.A. and Abdelhafez, E.M., 2020. Design, synthesis, and molecular docking of paracyclophanyl-thiazole Hybrids as novel CDK1 inhibitors and apoptosis inducing anti-melanoma agents. *Molecules*, 25(23), p.5569.

94. Suma, V.R., Sreenivasulu, R., Rao, M.V.B., Subramanyam, M., Ahsan, M.J., Alluri, R. and Rao, K.R.M., 2020. Design, synthesis, and biological evaluation of chalcone-linked thiazole-imidazopyridine derivatives as anticancer agents. *Medicinal Chemistry Research*, 29(9), pp.1643-1654.

95. Xie, X.X., Li, H., Wang, J., Mao, S., Xin, M.H., Lu, S.M., Mei, Q.B. and Zhang, S.Q., 2015. Synthesis and anticancer effects evaluation of 1-alkyl-3-(6-(2-methoxy-3-sulfonylamino pyridin-5-yl) benzo [d] thiazol-2-yl) urea as anticancer agents with low toxicity. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 23(19), pp.6477-6485.

96. McCormack, P.L. and Keam, S.J., 2011. Dasatinib. *Drugs*, 71(13), pp.1771-1795.

97. Ballantyne, A.D. and Garnock-Jones, K.P., 2013. Dabrafenib: first global approval. *Drugs*, 73(12), pp.1367-1376.

98. Lessene, G., Czabotar, P.E., Sleebs, B.E., Zobel, K., Lowes, K.N., Adams, J.M., Baell, J.B., Colman, P.M., Deshayes, K., Fairbrother, W.J. and Flygare, J.A., 2013. Structure-guided design of a selective BCL-XL inhibitor. *Nature chemical biology*, 9(6), pp.390-397.

99. Cheng, X., Yoshida, H., Raoofi, D., Saleh, S., Alborzina, H., Wenke, F., Göhring, A., Reuter, S., Mah, N., Fuchs, H. and Andrade-Navarro, M.A., 2015. Ethyl 2-((4-Chlorophenyl) amino) thiazole-4-carboxylate and derivatives are potent inducers of Oct3/4. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(15), pp.5742-5750.

100. Войтира, М.Н., 2018. *Синтез та біологічна активність похідних тіазолідину з піридиноним фрагментом у молекулах*. Кандидат наук. Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького.
101. Lozynskyi, A.V., Yushyn, I.M., Konechnyi, Y.T., Roman, O.M., Matiykiv, O.V., Smaliukh, O.V., Mosula, L.M., Polovkovych, S.V. and Lesyk, R.B., 2021. Synthesis and evaluation of biological activity of 1-[2-amino-4-methylthiazol-5-yl]-3-arylpropenones. *Biopolymers and Cell*, (5), pp.389-399.
102. Ivasechko, I., Yushyn, I., Roszczenko, P., Senkiv, J., Finiuk, N., Lesyk, D., Holota, S., Czarnomysy, R., Klyuchivska, O., Khylyuk, D., Kashchak, N., Gzella, A., Bielawski, K., Bielawska, A., Stoika, R., Lesyk, R., 2022. Development of Novel Pyridine-Thiazole Hybrid Molecules as Potential Anticancer Agents. *Molecules*, 27(19), p.6219.
103. Ivasechko, I., Yushyn, I., Senkiv, J., Lesyk, D., Stoika, R. and Lesyk, R., 2021. Development of novel thiazole derivatives as potential anticancer agents. *X Konwersatorium Chemii Medycznej*. Lublin, Poland, 3-5 September 2021, p.P92.
104. Edrees, M.M., Melha, S.A., Saad, A.M., Kheder, N.A., Gomha, S.M. and Muhammad, Z.A., 2018. Eco-friendly synthesis, characterization and biological evaluation of some novel pyrazolines containing thiazole moiety as potential anticancer and antimicrobial agents. *Molecules*, 23(11), p.2970.
105. Altıntop, M.D., Sever, B., Özdemir, A., Ilgın, S., Atlı, Ö., Turan-Zitouni, G. and Kaplancıklı, Z.A., 2018. Synthesis and evaluation of a series of 1, 3, 4-thiadiazole derivatives as potential anticancer agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 18(11), pp.1606-1616.
106. Yang, L.P. and Keating, G.M., 2012. Ruxolitinib. *Drugs*, 72(16), pp.2117-2127.
107. Harrison, C., Kiladjian, J.J., Al-Ali, H.K., Gisslinger, H., Waltzman, R., Stalbovskaya, V., McQuitty, M., Hunter, D.S., Levy, R., Knoops, L. and Cervantes, F., 2012. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *New England Journal of Medicine*, 366(9), pp.787-798.
108. Dummer, R., Ascierto, P.A., Gogas, H.J., Arance, A., Mandalá, M., Liskay, G., Garbe, C., Schadendorf, D., Krajsova, I., Gutzmer, R. and Chiarion-Sileni, V., 2018. Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-

mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 19(5), pp.603-615.

109. Zurth, C., Koskinen, M., Fricke, R., Prien, O., Korjamo, T., Graudenz, K., Denner, K., Bairlein, M., Von Buehler, C.J., Wilkinson, G. and Gieschen, H., 2019. Drug–drug interaction potential of darolutamide: in vitro and clinical studies. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 44(6), pp.747-759.

110. Aliabadi, A., 2016. 1,3,4-Thiadiazole based anticancer agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 16(10), pp.1301-1314.

111. Szeliga, M., 2020. *Thiadiazole derivatives as anticancer agents. Pharmacological Reports*, 72(5), pp.1079-1100.

112. Askin, S., Tahtaci, H., Türkeş, C., Demir, Y., Ece, A., Çiftçi, G.A. and Beydemir, Ş., 2021. Design, synthesis, characterization, in vitro and in silico evaluation of novel imidazo [2, 1-b][1, 3, 4] thiadiazoles as highly potent acetylcholinesterase and non-classical carbonic anhydrase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 113, p.105009.

113. Lee, P., Malik, D., Perkons, N., Huangyang, P., Khare, S., Rhoades, S., Gong, Y.Y., Burrows, M., Finan, J.M., Nissim, I. and Gade, T.P., 2020. Targeting glutamine metabolism slows soft tissue sarcoma growth. *Nature communications*, 11(1), pp.1-15.

114. De Monte, C., Carradori, S., Secci, D., D'Ascenzio, M., Guglielmi, P., Mollica, A., Morrone, S., Scarpa, S., Aglianò, A.M., Giantulli, S. and Silvestri, I., 2015. Synthesis and pharmacological screening of a large library of 1, 3, 4-thiadiazolines as innovative therapeutic tools for the treatment of prostate cancer and melanoma. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 105, pp.245-262.

115. Infante, J.R., Patnaik, A., Verschraegen, C.F., Olszanski, A.J., Shaheen, M., Burris, H.A., Tolcher, A.W., Papadopoulos, K.P., Beeram, M., Hynes, S.M. and Leohr, J., 2017. Two Phase 1 dose-escalation studies exploring multiple regimens of lironesib (LY2523355), an Eg5 inhibitor, in patients with advanced cancer. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 79(2), pp.315-326.

116. Tataranni, T. and Piccoli, C., 2019. Dichloroacetate (DCA) and cancer: an overview towards clinical applications. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.

117. Serrano-Sterling, C., Becerra, D., Portilla, J., Rojas, H., Macías, M. and Castillo, J.C., 2021. Synthesis, biological evaluation and X-ray crystallographic analysis of novel (E)-2-cyano-3-(het) arylacrylamides as potential anticancer agents. *Journal of Molecular Structure*, 1244, p.130944.
118. El Ashry, E.S.H., Ramadan, E.S., Amer, M.R., El Kilany, Y., Badawy, M.E. and Rabea, E.I., 2019. Synthesis and Antioxidant Activity of Novel 5-amino-2-alkyl/glycosylthio-1, 3, 4-thiadiazoles: Regioselective Alkylation and Glycosylation of the 5-amino-1,3,4-thiadiazole-2-thiol Scaffold. *Current Organic Synthesis*, 16(5), pp.801-809.
119. Drapak, I.V., Zimenkovsky, B.S., Slaby, M.V., Holota, S.M., Perekhoda, L.O., Yaremkevych, R.V. and Nektegayev, I.O., 2021. Synthesis and diuretic activity of novel 5-amino-1, 3, 4-thiadiazole-2-thiol derivatives. *Biopolymers & Cell*, 37(1), p.33.
120. Yushyn, I., Holota, S. and Lesyk, R., 2022. 2,2-Dichloro-N-[5-[2-[3-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydro-2H-pyrazol-2-yl]-2-oxoethyl]sulfanyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl] acetamide. *Molbank*, 2022(1), p.M1328.
121. Holota, S., Yushyn, I., Khyluk, D., Vynnytska, R. and Lesyk, R., 2021. N-(3-Cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiophen-2-yl)-2-[[5-[(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenylpyrazol-4-yl) amino]-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl] acetamide. *Molbank*, 2021(2), p.M1211.
122. Rao, R.N. and Chanda, K., 2020. An assessment study of known pyrazolopyrimidines: chemical methodology and cellular activity. *Bioorganic Chemistry*, 99, p.103801.
123. Zhao, Z., Dai, X., Li, C., Wang, X., Tian, J., Feng, Y., Xie, J., Ma, C., Nie, Z., Fan, P. and Qian, M., 2020. Pyrazolone structural motif in medicinal chemistry: Retrospect and prospect. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 186, p.111893.
124. Patel, J.J., Morja, M.I. and Chikhaliya, K.H., 2020. An efficient synthesis of designed 4-thiazolidinone fused pyrimidine derivatives as potent antimicrobial agents. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(10), pp.3531-3543.
125. Atamanyuk, D., Zimenkovsky, B., Atamanyuk, V. and Lesyk, R., 2014. 5-Ethoxymethylidene-4-thioxo-2-thiazolidinone as versatile building block for novel biorelevant small molecules with thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazole core. *Synthetic Communications*, 44(2), pp.237-244.

126. Metwally, N.H., Badawy, M.A. and Okpy, D.S., 2018. Green synthesis of some new thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazoles using lemon juice and their antibacterial activity. *Synthetic Communications*, 48(19), pp.2496-2509.
127. Lozynskyi, A., Golota, S., Zimenkovsky, B., Atamanyuk, D., Gzella, A. and Lesyk, R., 2016. Synthesis, anticancer and antiviral activities of novel thiopyrano [2,3-d] thiazole-6-carbaldehydes. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 191(9), pp.1245-1249.
128. Zhang, Y., Wang, S., Wu, S., Zhu, S., Dong, G., Miao, Z., Yao, J., Zhang, W., Sheng, C. and Wang, W., 2013. Facile construction of structurally diverse thiazolidinedione-derived compounds via divergent stereoselective cascade organocatalysis and their biological exploratory studies. *ACS Combinatorial Science*, 15(6), pp.298-308.
129. Baell, J.B. and Nissink, J.W.M., 2018. Seven Year Itch: Pan-Assay Interference Compounds (PAINS) in 2017 Utility and Limitations. *ACS chemical biology*, 13(1), pp.36-44.
130. Sun, J., Zhong, H., Wang, K., Li, N. and Chen, L., 2021. Gains from no real PAINS: Where 'Fair Trial Strategy' stands in the development of multi-target ligands. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(11), pp.3417-3432.
131. Yushyn, I., Holota, S., Ivantsiv, O. and Lesyk, R., 2022. rel-2-[4-Chloro-2-[(5R, 6R, 7S)-6-[5-(4-methoxyphenyl)-3-(2-naphthyl)-3, 4-dihydropyrazole-2-carbonyl]-5-methyl-2-oxo-3,5,6,7-tetrahydrothiopyrano[2,3-d]thiazol-7-yl]phenoxy]acetic Acid. *Molbank*, 2022(3), p.M1410.
132. Yushyn, I. and Lesyk, R., 2021. Synthesis of new thiopyrano[2,3-d]thiazole derivatives bearing pyrazoline moiety as potential biological active compounds. *Paul Ehrlich Euro-PhD Network Virtual Meeting 2021*, Zoom platform, Catanzaro, Italy, 26-28 July 2021, p.105
133. Zelisko, N., Atamanyuk, D., Vasylenko, O., Bryhas, A., Matychuk, V., Gzella, A. and Lesyk, R., 2014. Crotonic, cinnamic, and propiolic acids motifs in the synthesis of thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazoles via hetero-Diels–Alder reaction and related tandem processes. *Tetrahedron*, 70(3), pp.720-729.

134. Lozynskyi, A., Zimenkovsky, B., Yushyn, I., Kaminsky, D., Karpenko, O., Gzella, A.K. and Lesyk, R., 2020. Synthesis of new structurally diverse thiazolidinone-derived compounds based on reaction of isorhodanine with ortho-substituted aldehydes,  $\alpha$ -keto- and  $\beta$ -aroylacrylic acids. *Journal of Molecular Structure*, 1217, p.128448.
135. Lozynskyi, A., Zimenkovsky, B., Radko, L., Stypula-Trebas, S., Roman, O., Gzella, A.K. and Lesyk, R., 2018. Synthesis and cytotoxicity of new thiazolo [4, 5-b] pyridine-2 (3H)-one derivatives based on  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated ketones and  $\alpha$ -ketoacids. *Chemical Papers*, 72(3), pp.669-681.
136. Komaritsa, I.D., 1989. Reaction of 4-iminothiazolidinone-2 with acetoacetic ester. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 25(11), pp.1297-1299.
137. Gracia-Vitoria, J., Osante, I., Cativiela, C., Merino, P. and Tejero, T., 2018. Self-regeneration of chirality with L-cysteine through 1, 3-dipolar cycloadditions between diazoalkanes and enantiomerically pure thiazolines: experimental and computational studies. *The Journal of organic chemistry*, 83(7), pp.3960-3972.
138. Peseke, K., Vogel, C., Blaesche, J. and Kollhof, K.H., 1982. Synthesen mit 1, 3-Dithietanen. XIII. Synthesen von kondensierten Heterocyclen aus substituierten 5-Thioxo- $\Delta^3$ -pyrazolin-4-carbonsäureestern. *Journal für Praktische Chemie*, 324(4), pp.639-651.
139. Schleyer, P.V.R., Maerker, C., Dransfeld, A., Jiao, H. and van Eikema Hommes, N.J., 1996. Nucleus-independent chemical shifts: a simple and efficient aromaticity probe. *Journal of the American Chemical Society*, 118(26), pp.6317-6318.
140. Cyranski, M.K., Krygowski, T.M., Katritzky, A.R. and Schleyer, P.V.R., 2002. To what extent can aromaticity be defined uniquely?. *The Journal of Organic Chemistry*, 67(4), pp.1333-1338.
141. Flood, A., Trujillo, C., Sanchez-Sanz, G., Kelly, B., Muguruza, C., Callado, L.F. and Rozas, I., 2017. Thiophene/thiazole-benzene replacement on guanidine derivatives targeting  $\alpha_2$ -Adrenoceptors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 138, pp.38-50.
142. Scudiero, D.A., Shoemaker, R.H., Paull, K.D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T.H., Currens, M.J., Seniff, D. and Boyd, M.R., 1988. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer research*, 48(17), pp.4827-4833.



143. Гарманчук, Л.В., 2012. Методичні рекомендації до спецпрактикуму «Культура клітин та клонування». I та II частини, 2013.
144. Khomami, A., Rahimi, M., Tabei, A., Saniee, P., Mahboubi, A., Foroumadi, A., Коорaei, N.N. and Almasirad, A., 2019. Synthesis and docking study of novel 4-thiazolidinone derivatives as anti-gram-positive and Anti-H. pylori agents. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 19(3), pp.239-249.
145. Sadeghi-Naini, A., Zhou, S., Gangeh, M.J., Jahedmotlagh, Z., Falou, O., Ranieri, S., Azrif, M., Giles, A. and Czarnota, G.J., 2015. Quantitative evaluation of cell death response in vitro and in vivo using conventional-frequency ultrasound. *Oncoscience*, 2(8), p.716.
146. Badisa, R.B., Darling-Reed, S.F., Joseph, P., Cooperwood, J.S., Latinwo, L.M. and Goodman, C.B., 2009. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. *Anticancer research*, 29(8), pp.2993-2996.
147. Da'i, M., Meilinasary, K.A., Suhendi, A. and Haryanti, S., 2019. Selectivity Index of *Alpinia galanga* Extract and 1'-Acetoxychavicol Acetate on Cancer Cell Lines. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 10(2), pp.95-100.
148. Allen, F.H., Kennard, O., Watson, D.G., Brammer, L., Orpen, A.G. and Taylor, R., 1987. Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (12), pp.S1-S19.
149. Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A. and Gray-Goodrich, M., 1991. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 83(11), pp.757-766.
150. Boyd, M.R. and Paull, K.D., 1995. Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug development research*, 34(2), pp.91-109.
151. Boyd, M.R. and Teicher, B.A., 1997. *Cancer drug discovery and development*. Humana Press, New York, 2, pp.23-43.
152. Shoemaker, R.H., 2006. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nature Reviews Cancer*, 6(10), pp.813-823.

153. Rostom, S.A., 2006. 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. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(19), pp.6475-6485.
154. Franken, N.A., Rodermond, H.M., Stap, J., Haveman, J. and Van Bree, C., 2006. Clonogenic assay of cells in vitro. *Nature protocols*, 1(5), pp.2315-2319.
155. Anderson, S.N., Towne, D.L., Burns, D.J. and Warrior, U., 2007. A high-throughput soft agar assay for identification of anticancer compound. *SLAS Discovery*, 12(7), pp.938-945.
156. Horibata, S., Vo, T.V., Subramanian, V., Thompson, P.R. and Coonrod, S.A., 2015. Utilization of the soft agar colony formation assay to identify inhibitors of tumorigenicity in breast cancer cells. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (99), p.e52727.
157. Wani, K.D., Kitture, R., Ahmed, A., Choudhari, A.S., Koppikar, S.J., Kale, S.N. and Kaul-Ghanekar, R., 2011. Synthesis, characterization and in vitro study of Curcumin-functionalized Citric acid-Capped Magnetic (CCF) Nanoparticles as drug delivery agents in cancer. *Journal of Bionanoscience*, 5(1), pp.59-65.
158. Garas, A., Webb, E., Pillay, V., MacPhee, D., Denny, W., Zeller, H. and Cotton, R., 2009. A novel and simple method of screening compounds for interaction with DNA: A validation study. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 678(1), pp.20-29.
159. Gornowicz, A., Bielawska, A., Czarnomysy, R., Gabryel-Porowska, H., Muszyńska, A. and Bielawski, K., 2015. The combined treatment with novel platinum (II) complex and anti-MUC1 increases apoptotic response in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 408, pp.103-113.
160. Czarnomysy, R., Radomska, D., Muszyńska, A., Hermanowicz, J.M., Prokop, I., Bielawska, A. and Bielawski, K., 2020. Evaluation of the anticancer activities of novel transition metal complexes with berenil and nitroimidazole. *Molecules*, 25(12), p.2860.
161. Dunn, D., Husten, J., Ator, M.A. and Chatterjee, S., 2012. Novel poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(1), pp.222-224.

162. Chadha, N., Jaggi, A.S. and Silakari, O., 2017. Structure-based design of new poly (ADP-ribose) polymerase (PARP-1) inhibitors. *Molecular Diversity*, 21, pp.655-660.
163. Zhang, W.T., Ruan, J.L., Wu, P.F., Jiang, F.C., Zhang, L.N., Fang, W., Chen, X.L., Wang, Y., Cao, B.S., Chen, G.Y. and Zhu, Y.J., 2009. Design, synthesis, and cytoprotective effect of 2-aminothiazole analogues as potent poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 52(3), pp.718-725.
164. Zandarashvili, L., Langelier, M.F., Velagapudi, U.K., Hancock, M.A., Steffen, J.D., Billur, R., Hannan, Z.M., Wicks, A.J., Krastev, D.B., Pettitt, S.J. and Lord, C.J., 2020. Structural basis for allosteric PARP-1 retention on DNA breaks. *Science*, 368(6486), p.eaax6367.
165. Senhaji Mouhri, Z., Goodfellow, E. and Jean-Claude, B., 2017. A type I combi-targeting approach for the design of molecules with enhanced potency against BRCA1/2 mutant-and O6-methylguanine-DNA methyltransferase (mgmt)-expressing tumour cells. *BMC cancer*, 17, pp.1-12.
166. Wang, H.L., Ma, X., Guan, X.Y., Song, C., Li, G.B., Yu, Y.M. and Yang, L.L., 2022. Potential synthetic lethality for breast cancer: A selective sirtuin 2 inhibitor combined with a multiple kinase inhibitor sorafenib. *Pharmacological Research*, 177, p.106050.
167. Ryan, K., Bolaños, B., Smith, M., Palde, P.B., Cuenca, P.D., VanArsdale, T.L., Niessen, S., Zhang, L., Behenna, D., Ornelas, M.A. and Tran, K.T., 2021. Dissecting the molecular determinants of clinical PARP1 inhibitor selectivity for tankyrase1. *Journal of Biological Chemistry*, 296.
168. Aoyagi-Scharber, M., Gardberg, A.S., Yip, B.K., Wang, B., Shen, Y. and Fitzpatrick, P.A., 2014. Structural basis for the inhibition of poly (ADP-ribose) polymerases 1 and 2 by BMN 673, a potent inhibitor derived from dihydropyridophthalazinone. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications*, 70(9), pp.1143-1149.
169. Sandhu, D., Antolin, A.A., Cox, A.R. and Jones, A.M., 2022. Identification of different side effects between PARP inhibitors and their polypharmacological multi-target rationale. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 88(2), pp.742-752.
170. EUCAST. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method Version 8.0 January, 2020. *Eur Soc Clin Microbiol Infect Diseases* [online]. Available

- from: [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/2020\\_manuals/Manual\\_v\\_8.0\\_EUCAST\\_Disk\\_Test\\_2020.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2020_manuals/Manual_v_8.0_EUCAST_Disk_Test_2020.pdf) [Accessed 1 January 2020].
171. Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibnsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), pp.71-79.
172. EUCAST. EUCAST reading guide for broth microdilution, 2020. *EUCAST Read Guid broth microdilution* [online]. Available at: [www.eucast.org](http://www.eucast.org) [Accessed 1 January 2020].
173. Kumar, R., Singh, S., Saksena, A.K., Pal, R., Jaiswal, R. and Kumar, R., 2019. Effect of *Boswellia serrata* extract on acute inflammatory parameters and tumor necrosis factor- $\alpha$  in complete Freund's adjuvant-induced animal model of rheumatoid arthritis. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 9(2), p.100.
174. Avershina, E., Frisli, T. and Rudi, K., 2013. De novo semi-alignment of 16S rRNA gene sequences for deep phylogenetic characterization of next generation sequencing data. *Microbes and environments*, 28(2), pp.211-216.
175. Sougiannis, A.T., VanderVeen, B.N., Enos, R.T., Velazquez, K.T., Bader, J.E., Carson, M., Chatzistamou, I., Walla, M., Pena, M.M., Kubinak, J.L. and Nagarkatti, M., 2019. Impact of 5 fluorouracil chemotherapy on gut inflammation, functional parameters, and gut microbiota. *Brain, behavior, and immunity*, 80, pp.44-55.
176. Zhang, L., Zhang, T.J., Li, Y. and Xiong, W.J., 2022. Shenqi Yanshen Formula (SQYSF) protects against chronic kidney disease by modulating gut microbiota. *Bioengineered*, 13(3), pp.5625-5637.
177. Thomas, C., Minty, M., Canceill, T., Loubières, P., Azalbert, V., Tercé, F., Champion, C., Burcelin, R., Barthet, P., Laurencin-Dalicioux, S. and Blasco-Baque, V., 2021. Obesity drives an oral microbiota signature of female patients with periodontitis: a pilot study. *Diagnostics*, 11(5), p.745.
178. Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L.G., Gratadoux, J.J., Blugeon, S., Bridonneau, C., Furet, J.P., Corthier, G. and Grangette, C., 2008. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified

- by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(43), pp.16731-16736.
179. Zhang, M., Qiu, X., Zhang, H., Yang, X., Hong, N., Yang, Y., Chen, H. and Yu, C., 2014. Faecalibacterium prausnitzii inhibits interleukin-17 to ameliorate colorectal colitis in rats. *PloS one*, 9(10), p.e109146.
180. Zhou, D.A., Pan, Q., Xin, F.Z., Zhang, R.N., He, C.X., Chen, G.Y., Liu, C., Chen, Y.W. and Fan, J.G., 2017. Sodium butyrate attenuates high-fat diet-induced steatohepatitis in mice by improving gut microbiota and gastrointestinal barrier. *World journal of gastroenterology*, 23(1), p.60.
181. Facchin, S., Vitulo, N., Calgaro, M., Buda, A., Romualdi, C., Pohl, D., Perini, B., Lorenzon, G., Marinelli, C., D'Inca, R. and Sturniolo, G.C., 2020. Microbiota changes induced by microencapsulated sodium butyrate in patients with inflammatory bowel disease. *Neurogastroenterology & Motility*, 32(10), p.e13914.
182. Aguilera-Correa, J.J., Madrazo-Clemente, P., Martínez-Cuesta, M.D.C., Peláez, C., Ortiz, A., Sánchez-Niño, M.D., Esteban, J. and Requena, T., 2019. Lyso-Gb3 modulates the gut microbiota and decreases butyrate production. *Scientific reports*, 9(1), pp.1-10.
183. Zhang, J., Song, L., Wang, Y., Liu, C., Zhang, L., Zhu, S., Liu, S. and Duan, L., 2019. Beneficial effect of butyrate-producing Lachnospiraceae on stress-induced visceral hypersensitivity in rats. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 34(8), pp.1368-1376.
184. Zhang, B., Yue, R., Chen, Y., Huang, X., Yang, M., Shui, J. and Peng, Y., 2020. The herbal medicine scutellaria-coptis alleviates intestinal mucosal barrier damage in diabetic rats by inhibiting inflammation and modulating the gut microbiota. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, pp.1-17.
185. Gomez-Arango, L.F., Barrett, H.L., Wilkinson, S.A., Callaway, L.K., McIntyre, H.D., Morrison, M. and Dekker Nitert, M., 2018. Low dietary fiber intake increases Collinsella abundance in the gut microbiota of overweight and obese pregnant women. *Gut microbes*, 9(3), pp.189-201.
186. Gao, X., Zhang, H., Li, K., Shi, Y., Guo, X., Wang, L. and Li, D., 2021. Sandalwood seed oil improves insulin sensitivity in high-fat/high-sucrose diet-fed rats associated with altered intestinal microbiota and its metabolites. *Food & Function*, 12(20), pp.9739-9749.

187. Yin, X., Peng, J., Zhao, L., Yu, Y., Zhang, X., Liu, P., Feng, Q., Hu, Y. and Pang, X., 2013. Structural changes of gut microbiota in a rat non-alcoholic fatty liver disease model treated with a Chinese herbal formula. *Systematic and Applied Microbiology*, 36(3), pp.188-196.
188. Li, Y., Rahman, S.U., Huang, Y., Zhang, Y., Ming, P., Zhu, L., Chu, X., Li, J., Feng, S., Wang, X. and Wu, J., 2020. Green tea polyphenols decrease weight gain, ameliorate alteration of gut microbiota, and mitigate intestinal inflammation in canines with high-fat-diet-induced obesity. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 78, p.108324.
189. Wu, Q., Zhang, X., Zhao, Y. and Yang, X., 2020. High l-carnitine ingestion impairs liver function by disordering gut bacteria composition in mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(20), pp.5707-5714.
190. Shelby, R.D., Mar, P., Janzow, G.E., Mashburn-Warren, L., Tengberg, N., Navarro, J.B., Allen, J.M., Wickham, J., Wang, Y., Bailey, M.T. and Goodman, S.D., 2022. Antibacterial and anti-inflammatory effects of *Lactobacillus reuteri* in its biofilm state contribute to its beneficial effects in a rat model of experimental necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery*, 57(7), pp.1382-1390.
191. Garcia, V.G., Miessi, D.M.J., da Rocha, T.E., Gomes, N.A., Nuernberg, M.A.A., de Medeiros Cardoso, J., Ervolino, E. and Theodoro, L.H., 2022. The effects of *Lactobacillus reuteri* on the inflammation and periodontal tissue repair in rats: A pilot study. *The Saudi Dental Journal*, 34(6), pp.516-526.
192. Liu, Y., Fatheree, N.Y., Mangalat, N. and Rhoads, J.M., 2010. Human-derived probiotic *Lactobacillus reuteri* strains differentially reduce intestinal inflammation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*.

## ДОДАТКИ

Додаток А

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові статті*

1. Ivasechko, I., Yushyn, I., Roszczenko, P., Senkiv, J., Finiuk, N., Lesyk, D., Holota, S., Czarnomysy, R., Klyuchivska, O., Khylyuk, D., Kashchak, N., Gzella, A., Bielawski, K., Bielawska, A., Stoika, R. and Lesyk, R., 2022. Development of Novel Pyridine-Thiazole Hybrid Molecules as Potential Anticancer Agents. *Molecules*, 27(19), p.6219. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27196219> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів біологічних досліджень, підготовка статті до друку).

2. Yushyn, I., Holota, S., Ivantsiv, O. and Lesyk, R., 2022. rel-2-[4-Chloro-2-[(5R, 6R, 7S)-6-[5-(4-methoxyphenyl)-3-(2-naphthyl)-3, 4-dihydropyrazole-2-carbonyl]-5-methyl-2-oxo-3,5,6,7-tetrahydrothiopyrano[2,3-d]thiazol-7-yl]phenoxy]acetic Acid. *Molbank*, 2022(3), p.M1410. DOI: <https://doi.org/10.3390/M1410> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

3. Yushyn, I., Holota, S. and Lesyk, R., 2022. 2,2-Dichloro-N-[5-[2-[3-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydro-2H-pyrazol-2-yl]-2-oxoethyl]sulfanyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl] acetamide. *Molbank*, 2022(1), p.M1328. DOI: <https://doi.org/10.3390/M1328> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

4. Holota, S., Yushyn, I., Khylyuk, D., Vynnytska, R. and Lesyk, R., 2021. N-(3-Cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiophen-2-yl)-2-[[5-[(1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenylpyrazol-4-yl) amino]-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl] acetamide. *Molbank*, 2021(2), p.M1211. DOI: <https://doi.org/10.3390/M1211> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, узагальнення результатів біологічних досліджень, підготовка статті до друку).

5. Lozynskyi, A., Holota, S., Yushyn, I., Sabadakh, O., Karpenko, O., Novikov, V. and Lesyk, R., 2021. Synthesis and Biological Activity Evaluation of Polyfunctionalized

Anthraquinonehydrazones. *Letters in Drug Design & Discovery*, 18(2), pp.199-209. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570180817999200802032844> (Особистий внесок автора: синтез 1-(N'-{4-[5-(4-хлорфеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-2-оксо-2H-тіазол-5-іліден}-гідрозон)-антрахінону, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, узагальнення результатів біологічних досліджень, підготовка статті до друку).

6. Lozynskyi, A., Zimenkovsky, B., Yushyn, I., Kaminskyu, D., Karpenko, O., Gzella, A.K. and Lesyk, R., 2020. Synthesis of new structurally diverse thiazolidinone-derived compounds based on reaction of isorhodanine with ortho-substituted aldehydes,  $\alpha$ -keto- and  $\beta$ -aroylacrylic acids. *Journal of Molecular Structure*, 1217, p.128448. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128448> (Особистий внесок автора: синтез 3-метил-1-фенілпіразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-d]тіазол-6(1H)-ону, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

7. Юшин, І.М., Лозинський, А.В., Федусевич, О.М., Вовчук, О.Я. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових 5-заміщених 2-піразолілтіазол-4-онів як потенційних біологічно активних сполук. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*, Т. 13, №2(33), с.214-218. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207117> (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, інтерпретація спектрів  $^1\text{H}$  ЯМР, підготовка статті до друку).

#### Тези доповідей

1. Yushyn, I., Fedusevych, O.-M. and Lesyk R., 2019. A hybrid pharmacophore approach in the synthesis of novel pyrazoline-thiazolidinone conjugates. *14th Bialystok International Medical Congress for Young Scientists*. Bialystok, Poland, 17-18 May 2019, p.48. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

2. Юшин, І., Лозинський, А. та Лесик Р., 2019. Синтез нових неконденсованих тіазолідин-піразольних кон'югатів на основі гібрид-фармакофорного підходу. *XVII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2019»*. Львів, Україна, 2-5 червня 2019, с.У37. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).



3. Юшин, І.М., Гойдик, М.В. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових похідних 2-піразолілзаміщених тiazолідиніацетамідів як потенційних біологічно активних сполук. *VIII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»*, Тернопіль, Україна, 23-24 вересня 2020, с.17-18. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

4. Юшин, І.М., Лозинський, А.В., Федусевич, О.-М., Винницька, Р.Б. та Лесик, Р.Б., 2020. Синтез нових похідних 5-(3-метил-5-оксо-1-фенілпіразолідин-4-ілметилен)-4-тіазолідинону як потенційних біологічно активних сполук. *Науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження»*, Івано-Франківськ, Україна, 19-20 травня 2020, с.143-144. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

5. Юшин, І.М., Гзелля, А. та Лесик, Р.Б., 2021. Синтез та хімічні перетворення нових тiazолідинонів як потенційних біологічно активних сполук. *Науково-практична конференція з міжнародною участю «Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines»*, Тернопіль, Україна, 25-26 травня 2021, с.73. (Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

6. Юшин, І. та Лесик Р., 2021. Синтез нових піразолілзаміщених 5-ен-4-тіазолідинонів як потенційних біологічно активних сполук. *XVIII наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021»*, Львів, 31 травня - 2 червня 2021, с.У8. (Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).

7. Yushyn, I. and Lesyk, R., 2021. Synthesis of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazole derivatives bearing pyrazoline moiety as potential biological active compounds. *Paul Ehrlich Euro-PhD Network Virtual Meeting 2021*, Zoom platform, Catanzaro, Italy, 26-28

July 2021, p.105 (*Особистий внесок автора: експериментальна частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку*).

8. Ivasechko, I., Yushyn, I., Senkiv, J., Lesyk, D., Stoika, R. and Lesyk, R., 2021. Development of novel thiazole derivatives as potential anticancer agents. *X Konferencja Chemii Medycznej*. Lublin, Poland, 3-5 September 2021, p.P92. (*Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності, підготовка тез до друку*).

9. Юшин, І., Гзелля, А. та Лесик Р., 2021. Синтез нових гетероциклічних систем з піразол-тіазольними фрагментами у молекулах як потенційних біологічно активних сполук. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2021»*, Запоріжжя, Україна, 25-26 листопада 2021, с.100. (*Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку*).

10. Рисенко, Г., Фінюк, Н., Юшин, І., Генега, А., Лесик, Р. та Стойка Р., 2022. Антинеопластична дія нових 5-ен-4-тіазолідинонів з піразоліліновими фрагментами у молекулах. *XVIII міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології»*, Львів, Україна, 6-7 жовтня 2022, с.18-19. (*Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів біологічної активності, підготовка тез до друку*).

11. Konechnyi, Y., Rumynska, T., Yushyn, I. and Lesyk, R., 2022. Newly synthesized 5-pyrazolyl substituted 2,4-thiazolidinedione as potential anti-inflammatory and antimicrobial agent. *ESCMID-ASM Joint Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance*, Dublin, Ireland, 4-7 October 2022, <https://www.escmid.org/dates-events/escmid-conferences/escmidas-conference-2022>. (*Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів, підготовка тез до друку*).

### АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. 14th Bialystok International Medical Congress for Young Scientists. Bialystok, Poland, 17-18 May 2019 – публікація тез, усна доповідь.
2. XVII Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2019», Львів, 2-5 червня 2019 р. – публікація тез, усна доповідь.
3. VIII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів», Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р. – публікація тез.
4. Науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження», Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р. – публікація тез.
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines», Тернопіль, 25-26 травня 2021 р. – публікація тез, усна доповідь.
6. XVIII наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2021», Львів, 31 травня - 2 червня 2021 р. – публікація тез, усна доповідь.
7. Paul Ehrlich Euro-PhD Network Virtual Meeting 2021, Zoom platform, Catanzaro, Italy, 26-28 July 2021 – публікація тез, стендова доповідь.
8. X Konwersatorium Chemii Medycznej. Lublin, Poland, 3-5 September 2021 – публікація тез.
9. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю. «Запорізький фармацевтичний форум - 2021», Запоріжжя, 25-26 листопада 2021 р. – публікація тез, усна доповідь.
10. XVIII міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», Львів, 6-7 жовтня 2022 р. – публікація тез.
11. ESCMID-ASM Joint Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance, Dublin, Ireland, 4-7 October 2022 – публікація тез.

## Додаток В

Значення IC<sub>50</sub> досліджуваних сполук на панелі ракових та псевдонормальних клітинних ліній, н/д – не досліджено (МТТ тест, 72 години інкубації, μМ, M ± SD)

Сполука	IC <sub>50</sub> , мкМ													
	MCF-7	U251	Skov3	HCT-116	HCT-116 p53 (-/-)	Jurkat	HL-60	A549	KB3-1	J774.2	HEK-293	BALB-3T3	HaCaT	Ізольовані лімфоцити
2.13	20,97 ±0,01	99,01 ±0,03	н/д	н/д	н/д	16,47 ±0,09	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
2.15	26,23 ±0,04	96,96 ±0,02	н/д	н/д	н/д	85,13 ±0,09	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
2.19	15,59 ±0,08	>100	н/д	н/д	н/д	20,46 ±0,01	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
2.23	20,76 ±0,01	>100	н/д	н/д	н/д	>100	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
2.26	2,15 ±0,02	>100	н/д	н/д	н/д	7,90 ±0,01	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
2.35	57,4 ±0,42	10,2 ±0,08	37,5 ±0,61	43,6 ±0,62	н/д	0,97 ±0,02	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	94,6 ±0,43	>100
2.36	97,0 ±0,62	>100	50,9 ±0,33	8,42 ±0,14	н/д	0,74 ±0,02	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	83,6 ±0,54	>100
2.37	92,3 ±0,56	>100	>100	77,5 ±0,39	н/д	27,2 ±0,12	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.38	60,4 ±0,41	>100	40,3 ±0,29	53,3 ±0,26	н/д	37,1 ±0,15	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.39	64,7 ±0,38	79,8 ±0,41	47,1 ±0,18	40,2 ±0,20	н/д	21,1 ±0,04	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.40	>100	>100	>100	>100	н/д	31,0 ±0,08	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100

## Продовження додатка В

2.42	>100	>100	>100	70,5 ±0,31	н/д	0,62 ±0,02	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.43	>100	>100	>100	>100	н/д	67,2 ±0,28	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.49	>100	>100	>100	>100	н/д	>100	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.53	>100	>100	>100	>100	н/д	64,4 ±0,29	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.55	>100	>100	>100	>100	н/д	1,60 ±0,08	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
2.57	>100	>100	>100	>100	н/д	0,67 ±0,02	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	>100	>100
3.2	1,86 ±0,90	н/д	>50	2,90 ±1,03	2,81 ±0,16	5,20 ±0,10	0,57 ±0,35	4,56 ±0,22	7,42 ±0,22	>50	>50	7,18 ±0,21	>50	н/д
3.3	>50	н/д	>50	>50	34,54 ±1,02	>50	н/д	33,13 ±1,32	13,08 ±0,52	>50	45,36 ±2,26	34,16 ±1,70	>50	н/д
3.4	45,37 ±2,20	н/д	39,59± 2,37	>50	29,12 ±1,45	>100	н/д	63,35± 3,81	24,88± 0,74	>50	н/д	н/д	>50	н/д
3.5	2,79 ±1,31	н/д	7,87 ±0,23	6,11 ±0,24	3,43 ±0,90	5,36 ±0,16	н/д	8,05 ±0,24	7,63 ±0,38	>50	>50	7,79 ±0,38	>50	н/д
3.6	4,30 ±0,98	н/д	н/д	7,27 ±0,27	н/д	н/д	>10	н/д	3,96 ±1,23	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
3.10	20,94 ±0,04	>100	н/д	н/д	н/д	17,66 ±0,05	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
4.9	15,51 ±0,03	>100	н/д	н/д	н/д	93,80 ±0,06	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
4.10	16,96 ±0,02	>100	н/д	н/д	н/д	83,56 ±0,02	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
Dox	1,04 ±0,80	1,1 ±0,21	3,20 ±0,10	0,90 ±0,09	1,19 ±1,30	1,17 ±0,12	0,38 ±0,50	2,00 ±0,35	4,00 ±1,30	1,74 ±1,10	1,29 ±0,87	3,18 ±0,25	5,21 ±0,86	0,95 ±0,20

## Дані скринінгу протиракової активності в концентрації 10 мкМ (DTP NCI)

Сполука	Середній ріст, %	Діапазон зростання, %	Найбільш чутливі лінії ракових клітин / ріст %	Позитивний цитостатичний ефект <sup>1</sup>	Позитивний цитостатичний ефект <sup>2</sup>
3.3	50,64	-18,90 – 118,83	CCRF-CEM (Leukemia) / 19,12 HL-60(TB) (Leukemia) / 4,96 K-562 (Leukemia) / 15,13 SR (Leukemia) / 12,44 NCI-H522 (Non-Small Cell Lung Cancer) / -18,90 MDA-MB-435 (Melanoma) / -17,91 MDA-MB-468 (Brest Cancer) / -13,74	25 / 60	3 / 60
3.4	51,48	12,53 – 95,32	K-562 (Leukemia) / 15,62 SR (Leukemia) / 12,53 SK Mel-5 (Melanoma) / 17,75 T-47D (Brest Cancer) / 14,27	32 / 59	0 / 59
3.5	-2,78	-76,78 – 41,12	NCI-H460 (Non-Small Cell Lung Cancer) / -40,69 NCI-H522 (Non-Small Cell Lung Cancer) / -22,73 Colo 205 (Colon Cancer) / -34,08 HCT-15 (Colon Cancer) / -42,04 HT29 (Colon Cancer) / -28,32 KM12 (Colon Cancer) / -59,82 SF-539 (CNS Cancer) / -27,26 U251 (CNS Cancer) / -70,41 LOX IMVI (Melanoma) / -76,78 SK Mel-2 (Melanoma) / -31,22	35 / 60	25 / 60

<sup>1</sup> Співвідношення між кількістю клітинних ліній із відсотком росту від 0 до 50 до загальної кількості клітинних ліній. <sup>2</sup> Співвідношення між кількістю клітинних ліній із відсотком зростання <0 та загальною кількістю клітинних ліній

## Вплив сполуки 3.5 на ріст окремих пухлинних ліній клітин (DTP NCI)

Хвороба	Клітинні лінії	GI <sub>50</sub> , μM	Індекс селективності (SI)
Лейкемія	CCRF-CEM	18,6	1,70
	HL-60(TB)	21,4	1,48
	K-562	30,4	1,04
	MOLT-4	32,2	0,98
	RPMI-8226	8,29	3,82
	SR	24,1	1,32
	<b>MG MID</b>	<b>22,5</b>	<b>1,41</b>
Недрібноклітинний рак легень	A549/ATCC	75,7	0,42
	EKVX	19,0	1,67
	HOP-62	37,5	0,85
	HOP-92	12,5	2,54
	NCI-H226	2,52	12,6
	NCI-H23	22,7	1,40
	NCI-H322M	25,4	1,25
	NCI-H460	31,2	1,02
	NCI-H522	21,6	1,45
	<b>MG MID</b>	<b>27,6</b>	<b>1,14</b>
Рак товстої кишки	COLO 205	>100	0,32
	HCC-2998	23,1	1,37
	HCT-116	23,0	1,38
	HCT-15	25,8	1,23
	HT29	58,3	0,54
	KM12	55,6	0,57
	SW-629	75,3	0,42
	<b>MG MID</b>	<b>51,6</b>	<b>0,61</b>
Рак ЦНС	SF-268	43,1	0,74
	SF-295	32,2	0,98
	SF-539	32,5	0,98
	SNB-19	36,9	0,86
	SNB-75	3,58	8,85
	U251	47,8	0,66
	<b>MG MID</b>	<b>32,7</b>	<b>0,97</b>
Меланома	LOX IMVI	0,312	101,6
	MALME-3M	25,4	1,25
	M14	19,4	1,63
	MDA-MB-435	26,3	1,21
	SK-MEL-2	44,9	0,71
	SK-MEL-28	38,7	0,82

## Продовження додатка Г

	SK_MEL-5	18,6	1,70
	UACC-257	38,4	0,83
	UACC-62	16,1	1,97
	<b>MG MID</b>	<b>25,3</b>	<b>1,25</b>
Рак яєчників	IGROV-1	12,1	2,62
	OVCAR-3	31,7	1,00
	OVCAR-4	66,1	0,48
	OVCAR-5	74,4	0,43
	OVCAR-8	53,6	0,59
	NCI/ADR-RES	24,1	1,32
	SKOV-3	26,0	1,22
	<b>MG MID</b>	<b>41,1</b>	<b>0,77</b>
Рак нирки	786-0	24,8	1,28
	A498	69,2	0,33
	ACHN	45,6	0,70
	CAKI-1	11,5	2,76
	RXF 393	2,59	12,2
	SN12C	28,0	1,13
	TK-10	82,3	0,39
	UO-31	3,19	9,94
	<b>MG MID</b>	<b>33,4</b>	<b>0,95</b>
Рак простати	PC-3	23,8	1,33
	DU-145	67,2	0,47
	<b>MG MID</b>	<b>45,5</b>	<b>0,70</b>
Рак молочної залози	MCF-7	15,4	2,06
	MDA-MB-231/ATCC	19,3	1,64
	HS 578T	14,9	2,13
	BT-549	14,7	2,16
	T-47D	18,0	1,76
	MDA-MB-468	4,24	7,48
	<b>MG MID</b>	<b>14,4</b>	<b>2,20</b>
<b>MG MID</b>		<b>31,7</b>	



Результати дослідження протимікробної та протигрибкової дії синтезованих молекул (d затримки росту (мм))

Сполука	Грам (-)				Грам (+)			Грибки		
	Референтні штами		Клінічні штами		Референтні штами		Клінічні штами	Референтні штами	Клінічні штами	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>Raoultella terrigena</i> ATCC 33257	<i>Klebsiella pneumoniae</i> N189	<i>Aeromonas hydrophila</i> N196	<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i> N23	<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	<i>Candida albicans</i> N67	<i>Sacharomyces cerevisiae</i> N84
2.10	н/д	0,0	0,0	н/т	н/д	0,0	8,0	0,0	0,0	н/д
2.11	н/д	10,0	0,0	н/д	н/д	0,0	0,0	0,0	30,0	н/д
2.12	н/д	0,0	0,0	н/д	н/д	0,0	0,0	0,0	25,0	н/д
2.13	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	0,0
2.15	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,6	0,0	25,0	н/д	12,8
2.19	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	н/д	18,3
2.23	7,0	0,0	14,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	н/д
2.26	7,0	0,0	0,0	0,0	22,9	17,5	13,4	н/д	20,0	н/д
2.36	7,0	0,0	13,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	14,0
2.37	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	н/д	15,2

## Продовження додатка Д

<b>2.39</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	7,0	0,0	0,0	19,0	н/д	н/д
<b>2.40</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,0	0,0	20,0	22,0	25,8
<b>2.42</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	0,0
<b>2.43</b>	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	22,0	14,9
<b>2.49</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	14,0	0,0	н/д	25,0	н/д
<b>2.53</b>	7,0	0,0	13,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	н/д	0,0
<b>2.55</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	19,0	0,0
<b>2.57</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	16,7
<b>3.10</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	н/д	24,0	26,6
<b>4.9</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	15,9	17,3	15,0	0,0	н/д	17,5
<b>4.10</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	19,9	22,0	14,4	0,0	н/д	18,9
<b>Контроль (ДМСО)</b>	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	18,0	17,0
<b>Vancomycin</b>	н/д	н/д	н/д	н/д	32,0	32,0	11,4	н/д	н/д	н/д
<b>Ciprofloxacin</b>	35,0	42,0	20,0	27,0	н/д	35,0	9,0	н/д	н/д	н/д
<b>Clotrimazole</b>	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	18,0	11,0	10,0

\*похибка складала  $\pm 0.1-0.6$  мм; н/д-не досліджено, Ванкоміцин 30 г (зона затримки росту 17–21 мм для *S. aureus*); Ципрофлоксацин 5 г (зона затримки росту 25–33 мм для *P. aeruginosa*, 22–30 мм для *S. aureus*, 30–40 мм для *E.coli*); Клотримазол 10 г (зона затримки росту 12–17 мм для *Candida spp.*; діаметр лунки 5,5 мм

## Додаток Е

Протимікробна/протигрибкова дії найактивніших молекул (розведення в якому спостерігали затримку рослу/Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) мМ)

Сполуки	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 189	<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813	<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i> N 23	<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	<i>Candida albicans</i> 67	<i>Sacharomyces cerevisiae</i> N84
2.15	н/д	н/д	1\2 1,13 мМ	н/д	1\4 0,56 мМ	н/д	н/д
2.23	1\2 2,55 мМ	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
2.26	н/д	1\4 0,83 мМ	1\1 3,31 мМ	1\1 3,31 мМ	н/д	н/д	н/д
2.36	1\4 0,61 мМ	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
2.37	н/д	н/д	1\1 2,46 мМ	н/д	н/д	н/д	н/д
2.40	н/д	н/д	1\1 2,88 мМ	н/д	н/д	н/д	1\4 0,82 мМ
2.53	1\2 0,93	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
3.10	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	1\4 0,78 мМ	1\2 1,57 мМ
4.9	н/д	1\2 1,58 мМ	1\4 0,79 мМ	1\4 0,79 мМ	н/д	н/д	н/д

*Продовження додатка Е*

<b>4.10</b>	н/д	1\2 1,5 мМ	1\4 0,75 мМ	1\4 0,75 мМ	н/д	н/д	н/д
<b>Контроль</b>	1\2 6,39 мМ	1\1 12,79 мМ	1\1 12,79 мМ	1\1 12,79 мМ	1\4 3,19 мМ	1\2 6,39 мМ	1\2 6,39 мМ
<b>Vancomycin</b>	н/д	<0,5 мМ	<0,5 мМ	<0,5 мМ	н/д	н/д	н/д
<b>Ciprofloxacin</b>	<0,5 мМ	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
<b>Clotrimazole</b>	н/д	н/д	н/д	н/д	<0,5 мМ	<0,5 мМ	<0,5 мМ

\* н/д – не досліджено

### Міжгруповий Т-тест К та AL до різних класів бактерій

