
СИНТЕЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК

Рекомендована д. хім. наук, проф. В. С. Матійчуком
УДК 616-093 + 547.789
DOI 10.11603/2312-0967.2017.2.7876

СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ПОХІДНИХ 5-АМІНОМЕТИЛЕН-2-ТІОКСОТІАЗОЛІДИН-4-ОНІВ

© Г. О. Деркач¹, С. М. Голота^{2,3}, Я. О. Труфін², О. М. Роман², Г. М. Семенців²,
І. Л. Демчук², І. І. Сороневич³, Р. В. Куцик¹, Філіп Грельє⁴, Р. Б. Лесик²

¹Івано-Франківський національний медичний університет

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

³Львівський медичний інститут

⁴Національний музей історії природи, Париж, Франція

e-mail: roman.lesyk@gmail.com, golota.serg@gmail.com

Мета роботи. Синтез нових похідних 5-амінометилена-2-тіоксотіазолідин-4-онів як перспективних сполук для хімічних перетворень та фармакологічного скринінгу.

Матеріали і методи. Ключові вихідні реагенти синтезовані за відомими методиками із комерційно доступних реактивів. Спектри ПМР одержаних сполук знімалися на приладі Varian VXR-400, розчинник DMSO-d₆, стандарт – тетраметилсилан. LC-MS спектри отримані на приладі Finnigan MAT INCOS-50. Дані елементного аналізу на вміст карбону, водню та азоту відповідають розрахованим (±0,3%). Температури плавлення визначали на приладі ВУСНІ В-545. Вивчення протитрипаносомної активності сполук *in vitro* проводилося в Національному музеї історії природи (Франція) та полягало у визначенні інгібуючої концентрації IC₅₀ сполук на штамі *Trypanosoma brucei brucei* (ТБВ). Дослідження протимікробної активності *in vitro* проводилося методом дифузії в агар. Визначення протипухлинної активності синтезованих сполук виконувалося у рамках міжнародної наукової програми DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (NCI, Бетезда, Меріленд, США).

Результати й обговорення. На основі раніше запропонованого синтетичного підходу до 5-*R,R'*-амінометиленапохідних-4-тіазолідинонів отримано серію 5-амінометилена-2-тіоксотіазолідин-4-онів (5-амінометилена-роданінів). Вперше запропоновано ефективний метод синтезу 5-амінометилена-2-тіоксотіазолідин-4-ону, який базується на амінолізі відповідного 5-етоксиметиленазаміщеного при дії гідрокарбонату амонію в спиртовому середовищі. Вперше досліджено реакційну здатність 5-феніл-3,4-дигідро-2*H*-піразол-3-карбонової кислоти в реакції амінолізу з 5-етоксиметилена-2-тіоксотіазолідин-4-оном. Структура синтезованих сполук підтверджена комплексом методів ЯМР- та мас-спектрометрій. Досліджено *in vitro* антитрипаносомну, протимікробну та протипухлинну активність синтезованих сполук.

Висновки. Запропоновано методи синтезу та отримано ряд оригінальних похідних з 5-амінометилена-роданіновим каркасом як перспективних реагентів для хімічних перетворень та потенційних об'єктів для фармакологічного скринінгу. Ідентифіковано сполуки-хіти для дизайну потенційних антитрипаносомних та протимікробних агентів.

Ключові слова: 5-амінометилена-2-тіоксотіазолідин-4-они; спектральні характеристики; антитрипаносомна, протимікробна, протипухлинна активності.

Вступ. Похідні 4-тіазолідинону є предметом системних досліджень у медичній хімії протягом останніх десятиріч [1–3]. Проте значна частина наукових праць присвячена вивченню методів синтезу та фармакологічним властивостям різноманітних 5-ліденопохідних зазначених гетероциклів. Тоді як 5-амінометилена-4-тіазолідинони залишаються маловивченими об'єктами. З позицій молекулярного дизайну трансформація 5-арил/гетериліденових фрагментів до 5-амінометиленового має ряд переваг. Зокрема, не порушується кон'югація 4-тіазолідинового циклу, що дуже часто є визначальним для реалізації біологічного ефекту. Окрім того, інтродукція NH-груп в потенційні біофорні угруповання забезпе-

чує можливість формування додаткових міжмолекулярних зв'язків з рецепторами та зберігає структурну гнучкість замісника в аміновому фрагменті. Поряд з тим створюються умови для отримання водорозчинних неорганічних/органічних солей як варіанту оптимізації структури хітів та значно розширюються можливості для синтетичної варіабельності. Таким чином, вивчення похідних 5-амінометилена-4-тіазолідинонів є актуальним питанням сучасної органічної та медичної хімії. Дана робота є продовженням циклу праць, присвячених синтетичним перетворенням та пошуку потенційних біологічно активних сполук з використанням 5-етокси-4-тіазолідинового фрагмента [4, 5].

Матеріали і методи. Вихідні реагенти синтезовані за відомими методиками із комерційно доступних реактивів. ^1H -ЯМР спектри знімалися на приладі Varian Gemini 400 MHz використовуючи тетраметилсилан (ТМС) як внутрішній стандарт та DMSO- d_6 як розчинник. Температури плавлення визначали на приладі ВУСНІ В-545. Чистоту та індивідуальність одержаних сполук підтверджено методом тонковерстової хроматографії (пластинки Merck, покриті *silica gel 60 F254*, елюент-суміш бензол-етилацетат 2:1). Дані елементного аналізу на вміст карбону, гідрогену та нітрогену відповідають розрахованим ($\pm 0,3\%$). Вивчення протитрипаносомної активності сполук проводилося в Національному музеї історії природи (Франція). *In vitro* дослідження полягали у визначенні інгібуючої концентрації IC_{50} сполук на штамі *Trypanosoma brucei brucei* (ТБВ). Експеримент проводився на 96-лункових мікропластинах із культуральним середовищем та відповідним штамом паразита (ТБВ) у концентрації 10^5 клітин/мл для серії двократних розведень досліджуваних сполук від 10 мкг/мл до 4.88 нг/мл. За негативний контроль обрано лунки з розчином ДМСО, середовищем та клітинами паразитів. Пластини інкубувалися при 37 °С в атмосфері 5% CO_2 протягом 24 год з наступним додаванням 20 мкл барвника Alamar Blue. Після 4-годинного інкубування вимірювали флуоресценцію. Відсотки росту паразитів визначалися за рівнем флуоресценції барвника Alamar Blue, а IC_{50} – за дозозалежною кривою відсоткового росту паразитів від концентрації досліджуваних сполук.

Вивчення протимікробної активності синтезованих сполук виконано методом дифузії в агар. На поверхню поживного агару в чашках Петрі рівномірно висівали стандартизовані за оптичним стандартом мутності (концентрація 1×10^7 КУО/мл) суспензіями тест-культур. В лунки агару діаметром 4.0 ± 0.1 мм вносили по 20 мкл розчинів досліджуваних сполук (концентрація 1000 мкг/мл) у розчині спирт/DMSO/вода 2 : 1 : 1. Після культивування впродовж 24–48 год визначали діаметри зон затримки росту тест-культур. Одержували цифрові зображення посівів на чашках, обробку яких здійснювали за допомогою комп'ютерної програми UTHSCSA ImageTool 2.0 (The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996). Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики. У контрольні лунки вносили чистий розчинник. Як основні тест-об'єкти використано метицилінчутливий штам *S. aureus* «Івасишин» (MSSA), метицилінрезистентні штами *S. aureus* ICA-5 (MRSA), *S. haemolyticus* (MRSH) «Бугрин», які характеризуються високим рівнем резистентності до β -лактамних антибіотиків, але принципово відрізняються за механізмами цієї резистентності, а також антибіотикочутливі *E. coli* та *Ps. Aeruginosa* та штами дріжджоподібних грибів *Candida albicans* ST-1 та *Candida tropicalis*.

Протипухлинна активність синтезованих сполук вивчалась у рамках міжнародної наукової програми DTP

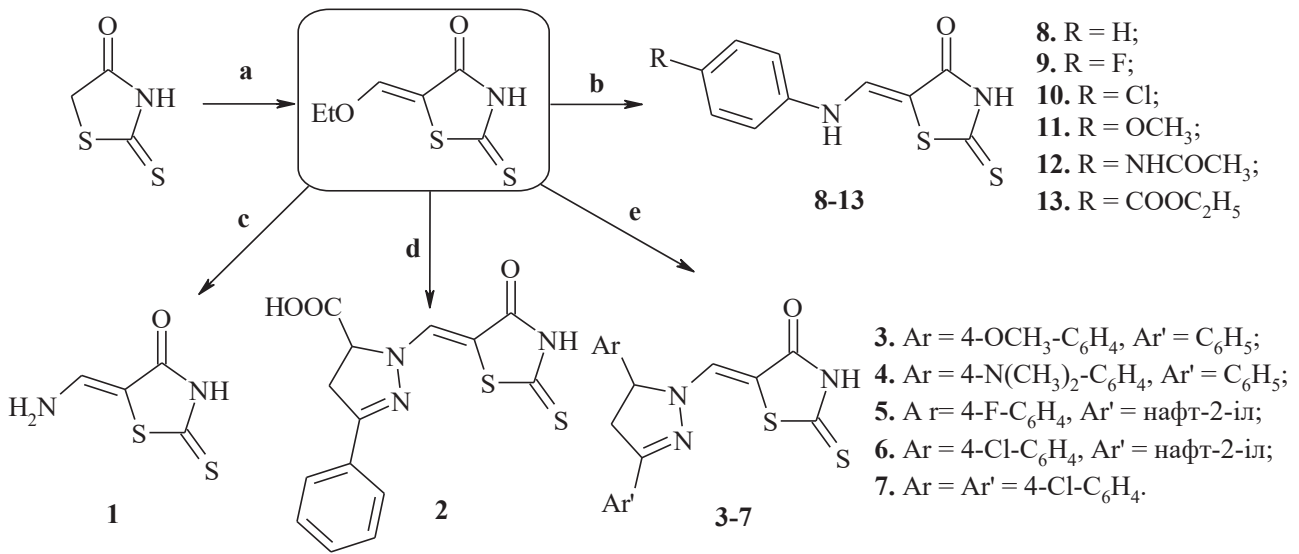
(*Developmental Therapeutic Program*) Національного інституту раку (NCI, Бетезда, Меріленд, США) [6–9].

Результати й обговорення. Як стартовий реагент використано 5-етоксиметилен-2-тіоксотіазолідин-4-он, отриманий за відомою методикою [10]. При взаємодії вище згаданого 5-етоксипохідного з гідрокарбонатом амонію в середовищі етанолу нами отримано раніше не описаний в хімічній літературі 5-амінометилен-2-тіоксотіазолідин-4-он (**1**) (рис. 1). Структура сполуки **1** (енамін з термінальною аміногрупою) доведена методами ЯМР- та мас-спектроскопій. Запропонований синтетичний прийом може бути з успіхом адаптований для отримання інших 5-амінометиленпхідних 4-тіазолідонового ряду, а відповідні незаміщені 5-амінометилен-4-тіазолідинони є зручними матрицями для побудови баз залежностей «структура – біологічна активність» та перспективними реагентами для хімічних трансформацій. Зважаючи на значний фармакологічний потенціал 4-тіазолідино-піразолінових кон'югатів [11] нами розширені препаративні можливості названих сполук і в якості нуклеофіла та потенційного фармакофора вперше апробована 5-феніл-3,4-дигідро-2H-піразол-3-карбонова кислота, що дозволило синтезувати сполуку **2** (рис. 1). Також у реакціях нуклеофільного заміщення 5-етоксиметилен-2-тіоксотіазолідин-4-ону з 3,5-діарил-4,5-дигідро-1H-піразолами та *п*-заміщеними анілінами отримано 5-амінометиленпхідні **3-13** (рис. 1).

Структура синтезованих сполук підтверджена з використанням комплексу методів ЯМР- та мас-спектрометрій. Так, в мас-спектрі сполуки **1** присутній лише один пік з сигналом заряду 161 (100 %), що відповідає M_r+1 . У ^1H ЯМР спектрі сполуки **1** спостерігається однопотонний триплет при 7.43 м.ч., що відповідає протону іліденового залишку; несиметричний двопротонний дублет при 7.75 м.ч., який відповідає протонам аміногрупи енаміну та чіткий синглет атому гідрогену при ендочиклічному атомі азоту при 12.72 м.ч. Похідні **2-7** характеризуються субспектром сигналів піразолінового фрагмента у вигляді набору дублетів дублетів при 3.30-4.10 та мультиплету в ділянці 4.90-5.10 м.ч.

Для синтезованих похідних **1, 2, 6-13** досліджена антитрипаносомна активність щодо *Trypanosoma brucei brucei* (табл. 1).

У загальному, синтезовані похідні характеризуються задовільними параметрами протитрипаносомної дії. Спостерігається чітка залежність ефекту від природи субституентів в енаміновому фрагменті. 5-Амінометиленроданін **1** не проявляє трипаносомного ефекту. Найактивнішими виявились похідні з ді(арил)піразоліновими замісниками **6, 7**, проте заміна одного з арильних радикалів на карбоксильну групу (**2**) призводить до повної втрати активності. Деяко менш активними є похідні з фенільним та *п*-галогенофенільними субституентами **8, 9, 10**, тоді як



а) As₂O, HC(OEt)₃; б) *p*-заміщені аніліни; в) NH₄HCO₃; г) 5-феніл-3,4-дигідро-2*H*-піразол-3-карбонова кислота; е) 3,5-діарил-4,5-дигідро-1*H*-піразоли.

Рис. 1. Синтез похідних 5-амінометилена-2-тіоксотіазолідина-4-ону **1-13**.

Таблиця 1. Антитрипаносомна активність (IC₅₀, мкг/мл) синтезованих сполук щодо *Trypanosoma brucei brucei*

Сполука	<i>Trypanosoma brucei brucei</i> , IC ₅₀ , мкг/мл	Сполука	<i>Trypanosoma brucei brucei</i> , IC ₅₀ , мкг/мл
1	>50	9	13.4 ± 1.6
2	>50	10	9,3 ± 0.4
6	5.05 ± 0.28	11	>50
7	1.43 ± 0.43	12	>50
8	18.9 ± 1.7	13	>50
ВАН	>50	ВАН	>50
Pentamidine	2.4 ± 0.28 nM	Pentamidine	2.4 ± 0.28 nM

p-метокси-, *p*-ацетиламіно- та *p*-карбетоксифенільні заміщені виявились взагалі неактивними.

При дослідженні прямої протимікробної дії сполуки **2** встановлено, що її активність майже вдвічі пере-

вищує значення контролю щодо *S. tropicalis* та метицилінрезистентного штаму *S. Aureus* (рис. 2). Також сполука **2** демонструє дещо нижчий рівень активності щодо *S. haemolyticus*, *E. coli* та метицилінчутливого

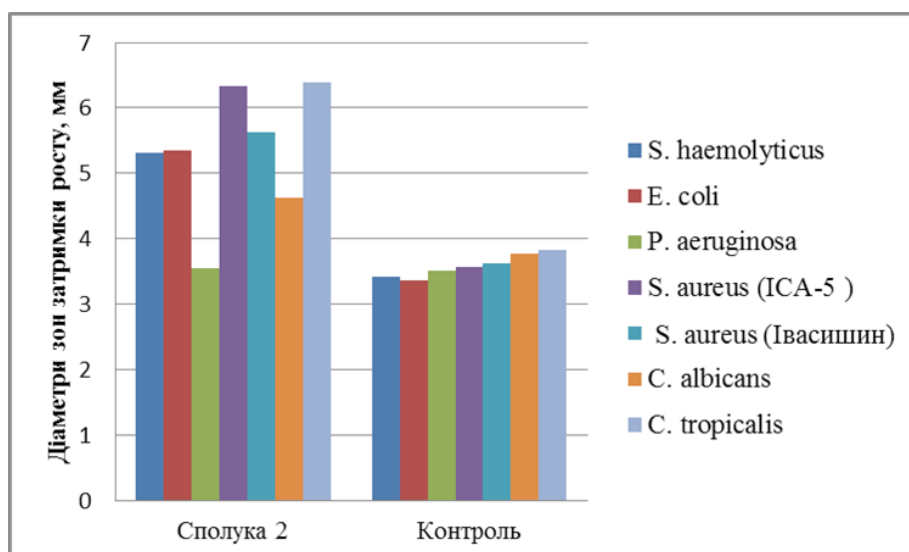


Рис. 2. Протимікробна дія сполуки **2** (діаметри зон пригнічення росту, мм).

штаму *S. aureus*. Таким чином, за рівнем активності та наявністю в молекулі карбоксильної групи, що дозволяє синтезувати водорозчинні солі, сполука **2** становить значний інтерес як потенційний протимікробний агент для структурної оптимізації та поглиблених досліджень.

Для сполук **10**, **11**, **13** проводилось вивчення протипухлинної активності в концентрації 10^{-5} моль/л *in vitro* на 60 лініях ракових клітин, що охоплюють прак-

тично весь спектр онкологічних захворювань людини (лінії раку легень, молочної залози, яєчників, лейкемії, раку товстої кишки, нирок, меланоми, раку простати та ЦНС). Тестовані сполуки **10**, **11**, **13** не проявляють помітної протипухлинної активності і середні значення мітотичної активності становлять $96.90 \div 101.01$ %. Слід вказати помірний вплив сполук на окремі клітинні лінії раку товстого кишечника, молочної залози та лінії лейкемії (табл. 2).

Таблиця 2. Протипухлинна активність сполук **10**, **11**, **13** в концентрації 10^{-5} моль/л *in vitro* на 60 лініях ракових клітин

Сполука	Середня мітотична активність, %	Діапазон мітотичної активності, %	Найчутливіші лінії ракових клітин та їх мітотична активність на фоні сполук (% росту)
10	96.90	73.40÷112.73	HCT-116 (73.40) рак товстого кишечника
11	101.01	88.39÷113.25	HS 578T (88.39) рак молочної залози
13	98.11	67.96÷119.65	SR (67.96) лейкемія

Висновки. 1. Запропоновано ефективний метод синтезу 5-амінометилен-2-тіоксотіазолідин-4-ону, який базується на амінолізі відповідного 5-етоксиметиленроданіну при дії гідрокарбонату амонію в спиртовому середовищі та може бути з успіхом адаптований для отримання інших 5-амінометиленпохідних 4-тіазолідонового ряду.

2. Апробовано в реакції амінолізу 5-етоксиметиленроданіну 5-феніл-3,4-дигідро-2H-піразол-3-карбонної кислоти, що розглядається як метод введення потенційного фармакофору з покращеними молекулярними характеристиками у «4-тіазолідинонове» ядро.

3. Досліджено антитрипаносомну, протимікробну та протипухлинну активність синтезованих сполук, що дозволило ідентифікувати сполуки-хіти та окреслити напрямки оптимізації їх структури.

Автори статті висловлюють щире подяку д-ру В. Л. Нарайанану (Dr. V.L. Narayanan, Drug Synthesis and Chemistry, National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA) за проведене *in vitro* тестування протипухлинної активності.

Експериментальна частина

Синтез 5-амінометилен-2-тіоксотіазолідин-4-ону (1). У круглодонну колбу поміщають по 0.01 моль 5-етоксиметилен-2-тіоксотіазолідин-4-ону та гідрокарбонату амонію, додають 10 мл етилового чи ізопропілового спирту. Суміш нагрівають із зворотним холодильником протягом 2 год. Після охолодження реакційної суміші утворений осад відфільтровують та перекристалізують з етанолу.

Загальна методика синтезу похідних 5-амінометилен-2-тіоксотіазолідин-4-ону (2-13). У круглодонну колбу поміщають по 0.01 моль 5-етоксиметилен-2-тіоксотіазолідин-4-ону та відповідного амінопохідного, додають 10 мл етилового чи ізопропілового спирту. Суміш нагрівають із зворот-

ним холодильником протягом 2 год. Після охолодження утворений осад відфільтровують та перекристалізують з сумішки ДМФА - етанол.

5-Амінометилен-2-тіоксотіазолідин-4-он (1). Вихід – 67 %, Т.пл. – 176-178 °С. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 7.43 т (1H, -CH=), 7.75 д (2H, NH_2), 12.72 с (1H, NH). ESI-MS: m/z 161 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%). Вирахувано, %: С, 29.99; Н, 2.52; N, 17.48. $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$. Знайдено, %: С, 29.80; Н, 2.70; N, 17.60.

2-(4-Оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-5-феніл-3,4-дигідро-2H-піразол-3-карбонна кислота (2). Вихід – 62 %, Т.пл. – 221-223 °С. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 3.58 дд, 3.70 дд, 4.96 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 7.50–7.57 м (3H, C₆H₅), 7.75-7.85 м (2H, C₆H₅), 7.95с (1H, -CH=), 13.00 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 334 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%). Вирахувано, %: С, 50.44; Н, 3.33; N, 12.60. $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$. Знайдено, %: 50.60; Н, 3.50; N, 12.70.

5-[5-(4-Метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (3). Вихід – 84 %, Т.пл. >250 °С. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 1.32 с (3H, CH₃), 3.51 дд, 3.84 дд, 5.03 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 6.70–7.50 м (9H, C₆H₅, C₆H₄), 7.90 с (1H, -CH=), 13.40 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 396 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%). Вирахувано, %: С, 60.74, Н, 4.33, N, 10.62. $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$. Знайдено, %: С, 60.90, Н, 4.50, N, 10.70.

5-[5-(4-Диметиламинофеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (4). Вихід – 77 %, Т.пл. – >250 °С. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 1.18 с (6H, 2*CH₃), 3.45 дд, 3.80 дд, 4.91 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 6.60–7.50 м (9H, C₆H₅, C₆H₄), 7.80 с (1H, -CH=), 13.00 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 413 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100%). Вирахувано, %: С, 61.74, Н, 4.93, N, 13.71. $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$. Знайдено, %: С, 61.90, Н, 5.00, N, 13.90.

5-[3-(Нафт-2-іл)-5-(4-флуорофеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (5). Вихід – 80 %, Т.пл. –

>250 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 3.54 дд, 3.89 дд, 5.02 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 6.80–7.70 м (11H, C₁₀H₇, C₆H₄), 7.90 с (1H, -CH=), 13.20 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 434 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 63.72, Н, 3.72, N, 9.69. C₂₃H₁₆FN₃OS₂. Знайдено, %: С, 63.90, Н, 3.90, N, 9.80.

5-[3-(Нафт-2-іл)-5-(4-хлорофеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (6). Вихід – 88 %, Т.пл. – >250 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 3.51 дд, 3.95 дд, 5.11 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 6.80–7.70 м (11H, C₁₀H₇, C₆H₄), 7.90 с (1H, -CH=), 13.10 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 450 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 61.39, Н, 3.58, N, 9.34. C₂₃H₁₆ClN₃OS₂. Знайдено, %: С, 61.50, Н, 3.70, N, 9.50.

5-[3,5-Біс-(4-хлорофеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (7). Вихід – 74 %, Т.пл. – >250 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 3.56 дд, 4.07 дд, 5.19 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 6.90–7.50 м (8H, 2*С₆H₄), 8.00 с (1H, -CH=), 13.00 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 435 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 52.54, Н, 3.02, N, 9.67. C₁₉H₁₃Cl₂N₃OS₂. Знайдено, %: С, 52.60, Н, 3.10, N, 9.80.

5-Феніламінометилен-2-тіоксотіазолідин-4-он (8). Вихід – 69 %, Т.пл. – 233-235 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 3.40 дд, 3.87 дд, 4.89 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 6.90–7.50 м (5H, C₆H₅), 8.00 д (1H, -CH=), 10.10 д (1H, NH), 13.40 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 237 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 50.83, Н, 3.41, N, 11.85. C₁₀H₈N₂OS₂. Знайдено, %: С, 50.90, Н, 3.60, N, 11.90.

5-[(4-Флуорофеніламіно)метилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (9). Вихід – 65 %, Т.пл. – 229-231 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 3.45 дд, 3.94 дд, 4.99 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 7.00–7.50 м (4H, C₆H₄), 8.10 д (1H, -CH=), 10.20 д (1H, NH), 13.10 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 255 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 47.23, Н,

2.77, N, 11.02. C₁₀H₇FN₂OS₂. Знайдено, %: С, 47.40, Н, 2.90, N, 11.20.

5-[(4-Хлорофеніламіно)метилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (10). Вихід – 60 %, Т.пл. – >250 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч., (J, Гц): 3.51 дд, 3.91 дд, 4.93 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 7.20 д, 7.40 д (4H, C₆H₄), 8.00 д (1H, -CH=), 10.10 д (1H, NH), 13.00 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 272 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 44.36, Н, 2.61, N, 10.35. C₁₀H₇ClN₂OS₂. Знайдено, %: С, 44.50, Н, 2.80, N, 10.50.

5-[(4-Метоксифеніламіно)метилен]-2-тіоксотіазолідин-4-он (11). Вихід – 78 %, Т.пл. – >250 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 1.30 с (3H, CH₃), 3.46 дд, 4.01 дд, 5.03 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 7.10 д, 7.40 д (4H, C₆H₄), 7.90 д (1H, -CH=), 10.00 д (1H, NH), 12.90 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 267 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 49.61, Н, 3.78, N, 10.52. C₁₁H₁₀N₂O₂S₂. Знайдено, %: С, 49.80, Н, 3.90, N, 10.70.

N-{4-[(4-Оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)аміно]феніл}ацетамід (12). Вихід – 77 %, Т.пл. – >250 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 2.30 с (3H, CH₃), 3.45 дд, 3.92 дд, 4.89 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 7.20 д, 7.50 д (4H, C₆H₄), 7.90 д (1H, -CH=), 10.20 д (1H, NH), 12.60 с (1H, NH), 13.30 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 294 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 49.13, Н, 3.78, N, 14.32. C₁₂H₁₁N₃O₂S₂. Знайдено, %: С, 49.30, Н, 3.90, N, 14.50.

Етиловий естер 4-[(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)аміно]бензоатної кислоти (13). Вихід – 61 %, Т.пл. – 241-244 °C. $^1\text{H NMR}$, δ , м.ч.: 1.10 т (3H, CH₃), 3.40 дд, 3.85 дд, 4.89 м (3H, CH-CH₂, піразолін), 4.10 кв (2H, CH₂), 7.30 д, 7.60 д (4H, C₆H₄), 8.00 д (1H, -CH=), 10.30 д (1H, NH), 13.20 шс (1H, NH). ESI-MS: m/z 309 [M+H]⁺ (100%). Вираховано, %: С, 50.63, Н, 3.92, N, 9.08. C₁₃H₁₂N₂O₃S₂. Знайдено, %: С, 50.80, Н, 4.00, N, 9.20.

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 5-АМИНОМЕТИЛЕН-2-ТИОКСОТИАЗОЛИДИН-4-ОНА

Г. О. Деркач¹, С. Н. Голота^{2,3}, Я. О. Труфин², А. М. Роман², Г. Н. Семенцев², И. Л. Демчук²,
И. И. Сороневич³, Р. В. Куцык¹, Филипп Грелье⁴, Р. Б. Лесык²

¹Ивано-Франковский национальный медицинский университет

²Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

³Львовский медицинский институт

⁴Национальный музей истории природы, Париж, Франция

e-mail: roman.lesyk@gmail.com, golota.serg@gmail.com

Цель работы. Синтез производных 5-аминометилен-2-тиоксотиазолидин-4-она как перспективных соединений для химических превращений и фармакологического скрининга.

Материалы и методы. Ключевые исходные реагенты синтезированные по известным методикам из коммерчески доступных реактивов. Спектры ПМР синтезированных соединений снимались на приборе Varian VXR-400, растворитель DMSO-d₆, стандарт – тетраметилсилан. LC-MS спектры получены на приборе Finnigan MAT INCOS-50. Данные элементного анализа на содержание углерода, азота и водорода соответствуют рассчитанным ($\pm 0,3\%$). Температуры плавления определяли на приборе ВУСНІ В-545. Изучение протитрипаносомной активности

соединений *in vitro* проводилось в Национальном музее истории природы (Франция) и заключались в определении IC_{50} соединений на штамме *Trypanosoma brucei brucei* (ТБВ). Исследование противомикробной активности *in vitro* проводилось методом диффузии в агар. Определение противоопухолевой активности синтезированных соединений выполнялось в рамках международной научной программы (Developmental Therapeutic Program) Национального института рака (NCI, Бетезда, Мэриленд, США).

Результаты и обсуждение. На основе ранее предложенного синтетического подхода к 5-R,R'-аминометилен-4-тиазолидинонам получена серия производных с 5-аминометилен-2-тиоксотиазолидин-4-она. Впервые предложен эффективный метод синтеза 5-аминометилен-2-тиоксотиазолидин-4-она, основанный на аминоллизе соответствующего 5-этоксиметиленпроизводного при воздействии гидрокарбоната аммония в спиртовой среде. Впервые исследована реакционная способность 5-фенил-3,4-дигидро-2H-пиразол-3-карбоновой кислоты в реакции аминоллиза с 5-этоксиметилен-2-тиоксотиазолидин-4-оном. Структура синтезированных соединений подтверждена комплексом методов ЯМР и масс-спектрометрий. Исследована *in vitro* антитрипаносомная, противомикробная и противоопухолевая активность синтезированных соединений.

Выводы. Предложены методы синтеза и получен ряд оригинальных производных с 5-аминометилен-2-тиоксотиазолидин-4-она как перспективных реагентов для химических превращений и потенциальных объектов для фармакологического скрининга. Идентифицированы соединения-хиты для дизайна потенциальных антитрипаносомных и противомикробных агентов.

Ключевые слова: 5-аминометилен-2-тиоксотиазолидин-4-оны; спектральные характеристики; антитрипаносомная, противомикробная, противоопухолевая активности.

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 5-AMINOMETHYLENE-2-THIOXOTIAZOLIDIN-4-ONES DERIVATIVES

G. O. Derkach¹, S. M. Golota^{2,3}, Ya. O. Trufin², O. M. Roman², G. M. Sementsiv², I. L. Demchuk², I. . Soronovych³, R.V. Kutsyk¹, Philippe Grellier⁴, R. B. Lesyk²

¹Ivano-Frankivsk National Medical University,

²Danylo Halytskyi Lviv National Medical University

³Lviv Medical Institute,

⁴Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

e-mail: roman.lesyk@gmail.com, golota.serg@gmail.com

The aim of the work. Synthesis of 5-aminomethylene-2-thioxothiazolidine-4-ones derivatives as promising compounds for chemical transformations and pharmacological screening.

Materials and Methods. The key starting reagents were synthesized by known methods from commercially available reagents. The NMR spectra of the synthesized compounds were taken on a Varian VXR-400 instrument, DMSO-*d*₆ solvent, tetramethylsilane standard. LC-MS spectra were obtained on a Finnigan MAT INCOS-50 instrument. Elemental analysis for carbon, hydrogen and nitrogen content corresponds to the calculated ($\pm 0.3\%$). The melting points were determined on a BÜCHI B-545 apparatus. The study of the antitripanosomal activity of compounds *in vitro* was carried out at the Museum National d'Histoire Naturelle (France) and consisted in the determination of IC_{50} on the strain *Trypanosoma brucei brucei* (ТБВ). The study of antimicrobial activity *in vitro* was carried out by diffusion into agar. Determination of the antitumor activity of synthesized compounds was carried out within the framework of the international scientific program DTP (Developmental Therapeutic Program) of the National Cancer Institute (NCI, Bethesda, Maryland, USA).

Results and Discussion. Based on the previously proposed synthetic approach to 5-R,R'-aminomethylene-4-thiazolidinones, series of 5-aminomethylene-2-thioxothiazolidine-4-one derivatives were obtained. An effective method for the synthesis of 5-aminomethylene-2-thioxothiazolidin-4-one was proposed based on the aminolysis of the corresponding 5-ethoxymethylene derivative under the action of ammonium hydrogen carbonate in an alcoholic medium. The reactivity of 5-phenyl-3,4-dihydro-2H-pyrazole-3-carboxylic acid in the aminolysis reaction with 5-ethoxymethylene-2-thioxothiazolidin-4-one was investigated for the first time. The structure of synthesized compounds were confirmed by a complex of NMR and mass spectrometric methods. *In vitro* antitripanosomal, antimicrobial and antitumor activities of synthesized compounds were studied.

Conclusions. Some synthetic methods were proposed and raw of original derivatives of 5-aminomethylene-2-thioxothiazolidine-4-one as promising reagents for chemical transformations and potential objects for pharmacological screening are obtained. Hit-compounds were identified for the design of potential antitripanosomal and antimicrobial agents.

Key words: 5-aminomethylene-2-thioxothiazolidin-4-ones; spectral characteristics; antitripanosomal, antimicrobial, antitumor activity.

Список літератури

1. Lesyk R. B. 4-Thiazolidones: Centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry / R. B. Lesyk, B. S. Zimenkovsky // *Curr. Org. Chem.* – 2004. – Vol. 8. – P. 1547–1577.
2. Design, synthesis and biological evaluation of 3-aryl-rhodanine benzoic acids as anti-apoptotic protein bcl-2 inhibitors / H. Fu, X. Hou, L. Wang [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2015. – Vol. 25. – P. 5265–5269.
3. Novel 2-thioxothiazolidin-4-one inhibitors of bacterial murD ligase targeting d-glu- and diphosphate-binding sites / T. Tomašić, A. Kovač, M. Simčić, [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – P. 3964–3975.
4. 5-Ethoxymenylidene moiety as a useful tool for design of biologically active molecules among 4-thiazolidinone derivatives / S. Golota, Ya. Trufin, Ya. Shylych [et al.] // *Modern Directons in Chemistry, Biology, Pharmacy and Biotechnology, Lviv.* – 2015. – P. 71–75.
5. Synthesis and study of antimicrobial properties of 5-R,R'-aminomethylene derivatives of thiazolidine-2,4-dione and 4-thioxothiazolidine-2-one / G. Derkach, S. Golota, V. Zasadko [et al.] // *Журнал органічної та фармацевтичної хімії.* – т. 14, вип. 3(55). – 2016. – С. 32–37.
6. Boyd M. R. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen / M. R. Boyd, K. D. Paull // *Drug Development Research.* – 1995. – Vol. 34. – P. 91–109.
7. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay / M. C. Alley, D. A. Scudiero, P. A. Monks [et al.] // *Cancer Research.* – 1988. – Vol. 48. – P. 589–601.
8. Grever M. R. The national cancer institute: cancer drug discovery and development program / M. R. Grever, S. A. Schepartz, B. A. Chabner // *Seminars in Oncology.* – 1992. – №6. – P. 622–638.
9. Shoemaker R. H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen / R. H. Shoemaker // *Nature Reviews Cancer.* – 2006. – Vol. 6. – P. 813–823.
10. Lo Ch.-P. 5-Alkoxy-methylenerhodanines and their reactions with Rhodanines / Ch.-P. Lo, W. J. Croxall // *JACS.* – 1954. – Vol. 76. – P. 4166–4169.
11. Havrylyuk D. Synthetic approaches, structure activity relationship and biological applications for pharmacologically attractive pyrazole/pyrazoline–thiazolidine–based hybrids / D. Havrylyuk, O. Roman, R. Lesyk // *Eur. J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 113. – P. 145–166.

References

1. Lesyk RB, Zimenkovsky BS. 4-Thiazolidones: Centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry. *Curr Org Chem* 2004;8: 1547-77.
2. Fu H, Hou X, Wang L, Dun Y, Yang X, Fang H. Design, synthesis and biological evaluation of 3-aryl-rhodanine benzoic acids as anti-apoptotic protein bcl-2 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2015;25: 5265-69.
3. Tomašić T, Kovač A, Simčić M, Blanot D, Grdadolnik S, Gobec S [et al.]. Novel 2-Thioxothiazolidin-4-one inhibitors of bacterial MurD ligase targeting D-glu- and diphosphate-binding Sites. *Eur. J. Med. Chem.* 2011;46: 3964-75.
4. Golota S, Trufin Ya, Shylych Ya, Derkach G, Kutsyk R, Zimenkovsky B [et al.]. 5-Ethoxymenylidene moiety as a useful tool for design of biologically active molecules among 4-thiazolidinone derivatives. *Modern Directons in Chemistry, Biology, Pharmacy and Biotechnology, Lviv.* 2015; 71-75.
5. Derkach G, Golota S, Zasadko V, Soronovych I, Kutsyk R, Lesyk R Synthesis and study of antimicrobial properties of 5-R,R'-aminomethylene derivatives of thiazolidine-2,4-dione and 4-thioxothiazolidine-2-one. *J Org Pharm Chem* 2016;3(55): 32-37.
6. Boyd M, Paull K. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug Development Research.* 1995;34: 91-109.
7. Alley M, Scudiere D, Monks A, Hursey M, Czerwinski M, Fine D [et al.] Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay *Cancer Research.* 1988;48: 589-601.
8. Grever M, Schepartz S, Chabner B. The national cancer institute: cancer drug discovery and development program. *Seminars in Oncology.* 1992;6: 622-38.
9. Shoemaker R. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen *Nature Reviews Cancer.* 2006;6: 813-23.
10. Lo Ch.-P, Croxall W. 5-Alkoxy-methylenerhodanines and their Reactions with Rhodanines. *JACS.* 1954;76: 4166–69.
11. Havrylyuk D., Roman O., Lesyk R. Synthetic approaches, structure activity relationship and biological applications for pharmacologically attractive pyrazole/pyrazoline–thiazolidine–based hybrids. *Eur J Med Chem.* 2016;113: 145-66.

Отримано 03.04.2017