МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ТКАЧЕНКО ПАВЛО ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 547.772+547.779.1

ПОШУК БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В РЯДУ МОДИФІКОВАНИХ ПОХІДНИХ 3(5)-АМІНОПІРАЗОЛУ

15.00.02 — фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті, Міністерство охорони здоров'я України

Науковий керівник: доктор хімічних наук, професор
ЖУРАВЕЛЬ ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА
Харківська медична академія післядипломної освіти,
завідувач кафедри клінічної біохімії, судово-медичної токсикології та фармації

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
КОВАЛЕНКО СЕРГІЙ МИКОЛАЙОВИЧ
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,
професор кафедри органічної хімії

доктор фармацевтичних наук, професор
ДЕМЧЕНКО АНАТОЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ
Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя,
професор кафедри хімії та фармації

Захист відбудеться « 5 » травня 2021 р. о $13^{\underline{00}}$ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «___» квітня 2021 р.

В.о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради,
професор О.А. Рубан

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Серед мільйонного різномаїття органічних структур лише декілька тисяч хемотипів застосовуються в медичній практиці як лікарські субстанції. Попри бурхливий розвиток комп'ютерних технологій селекції і прогнозування властивостей віртуальних сполук та безсумнівні технологічні переваги комбінаторної хімії поява принципово нової молекули, а тим більш впровадження її в медичну практику з кожним роком стає все більш ресурсоємною задачею. Створення ідеальних ліків взагалі залишається нездійсненною мрією. Тим не менш, системна і кропітка робота з перебору усіх можливих структур та дослідження їх впливу на живий організм в межах університетських лабораторій все ще залишаються ключовими етапами розробки потенційних фармацевтичних агентів.

Особливої актуальності проблема вибору базової структури набуває за необхідності розробки протимікробних засобів, оскільки терапія цими препаратами досить часто обмежується чи навіть унеможливлюється розвитком резистентності мікроорганізмів, а за останні 15 років не відкрито жодного нового класу антибіотиків.

Похідні амінопіразолів з об'ємними замісниками досить часто привертають увагу науковців з медичної хімії, оскільки такі молекули мають значний потенціал для забезпечення ефективної ліганд-рецепторної взаємодії і можуть бути базовими структурами для розробки лікарських субстанцій. З 1884 року і по нині в медичній практиці препаратами першої лінії знеболення залишаються похідні піразолону-5. На сьогодні відомі протипухлинні засоби, зокрема Кризотініб, Бінуклеїн та Баросептиб, які є антагоністами рецепторів факторів росту та ауророкінази. Препарати Силденафіл та Целекоксиб є селективними інгібіторами ЦГМФ та ЦОГ-2. Ряд фармацевтичних агентів, що містять фрагмент аміно-заміщеного піразолу, мають виражену нейролептичну, снодійну та анксіолітичну дію, деякі з них в доклінічних випробуваннях довели ефективність в лікуванні хвороби Альцгеймера. Тим не менш, робота по вивченню нових сполук та нових видів біологічних та фармацевтичних ефектів зазначеного класу сполук продовжується. На увагу заслуговують дослідження з пошуку інгібіторів моноамінооксидази (*E. Palaska*, 2008), інгібіторів протеїн кінази BRAF (*J. Liu*, 2012), препаратів для лікування метастатичної меланоми (*A. Gorden*, 2013). В останній час активізувалась робота з пошуку противірусних агентів серед малих молекул з остовом 5-амінопіразолу (*G.Yang*, 2021) та зростає увага до протигрибкових властивостей таких сполук (*M. F. El Shehry*, 2018).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційну роботу виконано згідно плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Хімічний синтез і аналіз біологічно активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (номер державної реєстрації 0103U000475, термін дії 2003–2013 рр.), «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (номер державної реєстрації 0114U000943, термін дії 2014-2019 р.р.), та «Молекулярний дизайн і цілеспрямований синтез нових біологічно активних органічних речовин та їх фокусованих комбінаторних

бібліотек» (№ 0114U000944).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є синтез біологічно активних речовин в ряду модифікованих похідних 3(5)-амінопіразолів, вивчення їх будови з застосуванням сучасних фізико-хімічних методів та дослідження біологічної активності з метою пошуку ефективних фармакологічних агентів протимікробної дії.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені такі задачі:

- провести аналіз літературних джерел та оцінити хімічний та фармакологічний потенціал сполук, які містять фрагмент піразолу;
- розробити методики та здійснити синтез полізаміщених піразолів, зокрема 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-метилтіопіразолів та 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-алкіл/ариламіно)піразолів, дослідити реакції їх алкілування та ацилування;
- здійснити реакції гетероциклізації 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразолів та 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-ариламіно)піразолів з α-галогенокетонами та β-дикарбонільними реагентами;
- оцінити перспективність пошуку біологічно активних речовин серед синтезованих сполук методами комп'ютерного прогнозування та фармакологічного скринінгу біологічної активності;
- розробити підходи до побудови комбінаторних бібліотек на основі базової структури 3(5)-амінопіразолу, здійснити синтез однієї з них;
- визначити найбільш активні сполуки для подальших фармакологічних випробувань;
- для речовини, рекомендованої для поглиблених досліджень, розробити проект методик контролю якості.

Об'єкт дослідження – синтез та дослідження властивостей модифікованих похідних 3(5)-амінопіразолів з потенційною антимікробною активністю.

Предмет дослідження – способи одержання; хімічні, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразолів, 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-ариламіно)піразолів, 2-метил/арил-6-метилтіо-7-арилсульфоніл-1*H*-імідазо[1,2-*b*]піразолів, 2-метилтіо-3-фенілсульфонілпіразоло[1,5-*a*]піримідинів, 2-метилтіо-3-фенілсульфонілпіразоло[1,5-*a*]піримідин-7(4*H*)-онів; визначення профілю біологічної активності; фармакологічний скринінг; стандартизація найбільш активної субстанції.

Методи дослідження – методи органічного синтезу, фізичні та фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (^{1}H, ^{13}C ЯМР-спектроскопія, гомо- і гетероядерні кореляційні методики (NOESY, COSY, HMBC), хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз, ІЧ-, УФ-спектроскопія, ТШХ, ВЕРХ), методи комп'ютерного прогнозування біологічної активності (PASS-прогнозування, докінгові дослідження), мікробіологічний скринінг, аналіз та узагальнення одержаних результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено узагальнення даних щодо цілеспрямованої модифікації базового фрагмента 3(5)-амінопіразолу та розроблено підходи до побудови комбінаторних бібліотек лінійних

та конденсованих похідних на їх основі з метою отримання речовин з протимікробною та протигрибковою активністю.

Розроблено способи синтезу ряду нових полізаміщених піразолів, зокрема 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-метилтіопіразолів та 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-алкіл/ариламіно)піразолів, досліджено реакції їх алкілування та ацилювання.

Досліджено хімічну поведінку 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразолів та 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-ариламіно)піразолів в реакціях з α-галогенокетонами та α,β-дикарбонільними реагентами. Доведено, що взаємодія з галогенокетонами приводить до утворення похідних імідазо[1,2-*b*]піразолу; взаємодія з α,β-дикарбонільними сполуками – до похідних піразоло[1,5-*a*]піримідину чи піразоло[1,5-*a*]піримідин-7(4*H*)-ону.

Визначено фармакологічний профіль нових синтезованих речовин із залученням методів віртуального скринінгу, сплановано та здійснено біологічні дослідження синтезованих сполук на наявність протимікробної та протигрибкової активності. Вперше визначено спектр і рівень протимікробної активності синтезованих речовин по відношенню до музейних та клінічних штамів мікроорганізмів – збудників інфекційних та гнійно-запальних захворювань та досліджено можливість формування *in vitro* стійкості грибів роду *Candida* до синтезованих сполук.

Встановлені закономірності зв'язку «хімічна будова – антибактеріальна активність» в ряду полізаміщених похідних піразолу, що були протестовані на наявність антибактеріальної активності.

За результатами фармакологічного скринінгу обрано сполуки-хіти для подальших фармакологічних випробувань.

В рамках виконання дисертаційної роботи синтезовано близько 100 нових сполук, не описаних раніше в літературі, структура та індивідуальність яких підтверджена методами ^{1}H, ^{13}C ЯМР-, хромато-мас-спектрометрії, елементного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів підтверджена патентом на корисну модель України.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено синтетичні підходи до одержання систематичних рядів похідних 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-заміщених піразолів, що дозволяє суттєво розширити можливості цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин серед зазначеного ряду сполук. Розроблено препаративні методики синтезу 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-метилтіопіразолів, 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-алкіл/ариламіно)піразолів, 2-метил/арил-6-метилтіо-7-арилсульфоніл-1*H*-імідазо[1,2-*b*]піразолів, 2-метилтіо-3-фенілсульфонілпіразоло[1,5-*a*]піримідинів, 2-метилтіо-3-фенілсульфонілпіразоло[1,5-*a*]піримідин-7(4*H*)-онів.

Вивчення протимікробної активності одержаних речовин довело високий потенціал зазначених похідних для розробки протимікробних та протигрибкових агентів, а результати оцінки можливості формування стійкості грибів роду *Candida* до цих сполук підтвердили перспективність даного науково-практичного напряму. Встановлені елементи залежності «структура–активність» до-

зволили визначити основні шляхи цілеспрямованої модифікації молекули з метою покращення протимікробних властивостей, і можуть бути корисним підґрунтям при розробці субстанцій антибактеріальної та фунгіцидної дії.

За результатами біологічних випробувань для подальшої розробки в якості субстанції протигрибкової дії запропоновано 4-(4'-хлорофеніл)сульфо-3-етилтіо-5-амінопіразол, для якого розроблено проект МКЯ.

Результати досліджень впроваджено у науково-дослідну та навчальну роботу кафедри фармацевтичної і токсикологічної хімії Таджицького державного медичного університету ім. Абуалі ібні Сіно, кафедри фармації Таджицького національного університету, кафедри токсикологічної та аналітичної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри технології органічних речовин та фармацевтичних препаратів ДВНЗ УДХТУ, кафедри фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету, кафедри клінічної біохімії, судово-медичної токсикології та фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти.

Особистий внесок здобувача. Особистий внесок здобувача полягає у систематизації літературних даних, а саме проведенні пошуку та аналізу літературних джерел щодо методів синтезу, властивостей та активності досліджуваних сполук. Здобувачем проведені експериментальні дослідження, обробка отриманих результатів, формулювання основних положень і висновків дисертаційної роботи. Постановку завдань та обговорення результатів досліджень виконано разом з науковим керівником д. х. н., проф. Журавель І. О.

Співавторами наукових публікацій є науковий керівник та науковці, які брали участь у вивченні фізико-хімічних та біологічних властивостей описаних у роботі речовин. Експерименти з ЯМР, хромато-мас і мас-спектрометричні дослідження проведені на базі Enamin Ltd (к. хім. н. Борисов О. В.), дослідження протимікробної активності проводились на базі ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова НАМН» (к. мед. наук Казмірчук В. В.), МКЯ розроблено на базі Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ (консультативна підтримка к.фарм.н. Завада О.О.).

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на XXI International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student (Харків, 2015), III Междунар. науч.-практич. конф. студентов и молодых ученых, посв. 25-летию независимости Республики Казахстан (Алматы, 2016), VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю (Харків, 2017), XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student (Харків, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 5 статей (3 з них у фахових виданнях, 2 – у закордонних), тези 4 доповідей на наукових конференціях різного рівня, отримано 1 патент України на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 6 розділів, загальних висновків та списку використаних джерел. Обсяг основного тексту дисертації становить 114 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 18 таблицями, 57 рисунками та 9 схемами. Список використаних джерел містить 185 найменувань.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

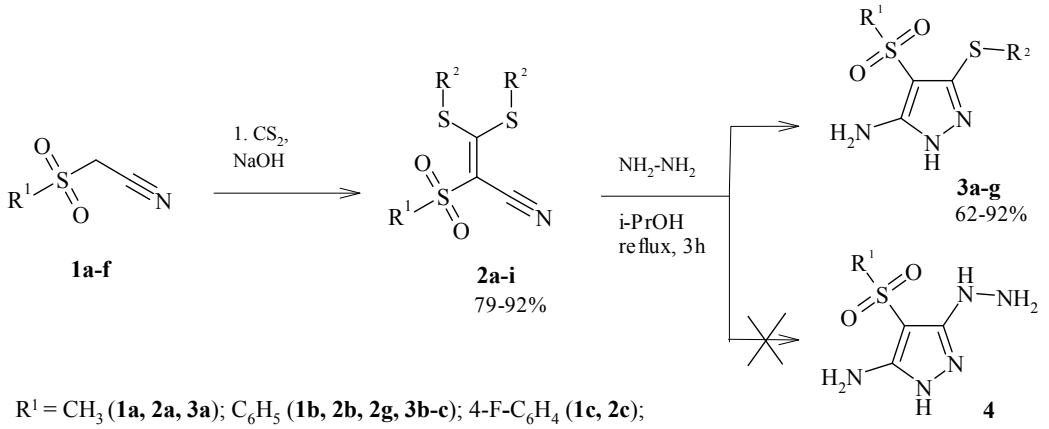
Розділ 1. Біологічна активність та синтез сполук, що містять фрагмент 3(5)-амінопіразолу (огляд літератури). Завдяки синтетичній доступності та широкому спектру біологічної активності сполук з фрагментом 3(5)-амінопіразолу важливим є можливість отримання чисельних бібліотек нових структур за умови вдосконалення методик синтезу. Модифікація зазначеного циклу різноманітними замісниками або його залучення до складних гетероциклічних систем може бути шляхом до нових лікарських засобів. Даний літературний огляд висвітлює різні аспекти синтезу та використання досліджуваних сполук в фармацевтичній та інших галузях.

Розділ 2. Вибір напряму досліджень. Матеріали і методи. Дано обгрунтування вибору напряму досліджень, наведено опис методів хімічних та мікробіологічних досліджень, методів віртуального прогнозування, які були використані при виконанні роботи.

Розділ 3. 4-Алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразоли та 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-ариламінопіразоли. Із усіх відомих на сьогодні стратегій побудови циклу амінопіразолу, найбільш поширеною і ефективною залишається циклізація метиленактивних нітрилів з гідразин-гідратом.

Синтез 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразолів, продуктів їх алкілування та ацилування. Як вихідні сполуки нами обрано алкіл/арилсульфонілацетонітрили **1**, які в реакції з сірковуглецем та метилйодидом утворюють *S,S*-ацеталі **2**, і далі при кип'ятінні з гідразин-гідратом циклізуються у відповідні 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразоли **3** (схема 1).

Схема 1

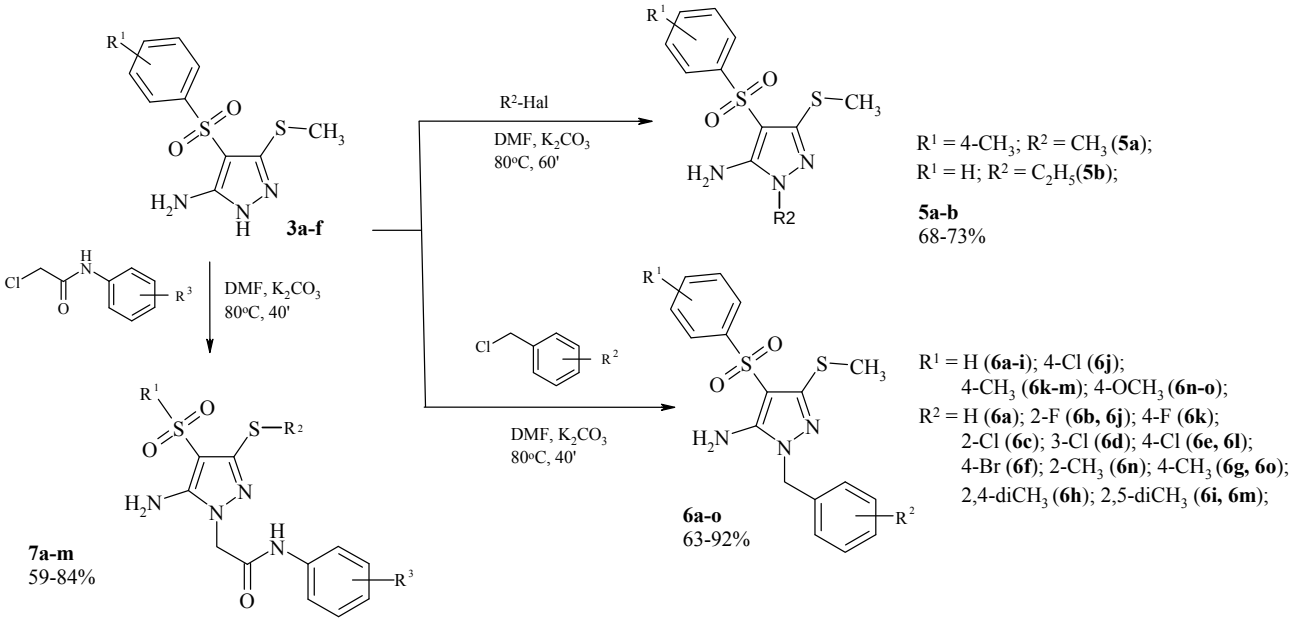


R^1 = CH_3 (**1a, 2a, 3a**); C_6H_5 (**1b, 2b, 2g, 3b-c**); 4-F-C_6H_4 (**1c, 2c**); 4-Cl-C_6H_4 (**1d, 2d, 2h, 3d-e**); 4-CH_3-C_6H_4 (**1e, 2e, 2i, 3f**); 4-OCH_3-C_6H_4 (**1f, 2f, 3g**);
R^2 = CH_3 (**2a-f, 3a-b, 3d, 3g**); C_2H_5 (**2g-i, 3c, 3e-f**)

Формування циклічної системи піразолу підтверджено даними ^{1}H ЯМР-спектрів, а саме наявністю синглетного сигналу протону NH-групи піразольного циклу близько δ 12.00 м.ч. та сигналів аміногрупи в межах δ 5.80…6.10 м.ч. Слід зазначити, що в ході реакції не відбувається утворення можливої домішки відповідного 5-аміно-3-гідразинопіразолу **4**, на відміну від аналогічної взаємодії заміщених [1,2,4]оксадіазол-5-ілацетонітрилів з гідразин-гідратом, де зареєстровано утворення 3-гідразино-4-([1,2,4]оксадіазол-5-іл)-1*H*-піразол-5-амінів. Також ми не спостерігали заміщення тіометильної групи на амінну функцію

при спробі провести взаємодію сполук **3** з амінами.Наступним етапом перетворень стало селективне алкілування 5-аміно-3-метилтіопіразолів **3**. В якості алкілуючих агентів обрано фармакологічно привабливі алкілгалогеніди, бензилхлориди та *N*-арилхлорацетаміди з арильними фрагментами, що не містять токсикогенних чи обтяжуючих замісників (схема 2). Такий прийом дозволяє швидко одержувати значні масиви однотипових сполук з широким набором замісників в окремих фрагментах молекул.

Схема 2



Реакцію проводили в ДМФА в присутності поташа (K_2CO_3). В результаті одержано виключно продукти N^1-алкілування 5-амінопіразолів, що підтверджується відсутністю в ^{1}H-ЯМР-спектрах продуктів реакції сигналів NH-протонів вихідного гетероциклу та наявністю взаємодії між протонами CH_2 фрагмента ацетаміду (біля 4.80 м.ч.) та аміногрупи (близько 6.50 м.ч.) у спектрах NOESY (рис. 1). Взаємодія між CH_2-протонами ацетамідного фрагмента і S-CH_3-протонами відсутня.

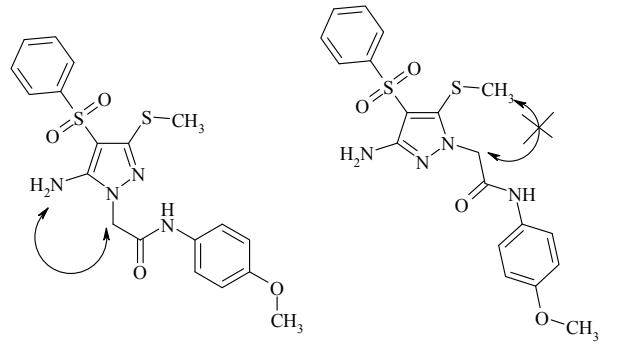
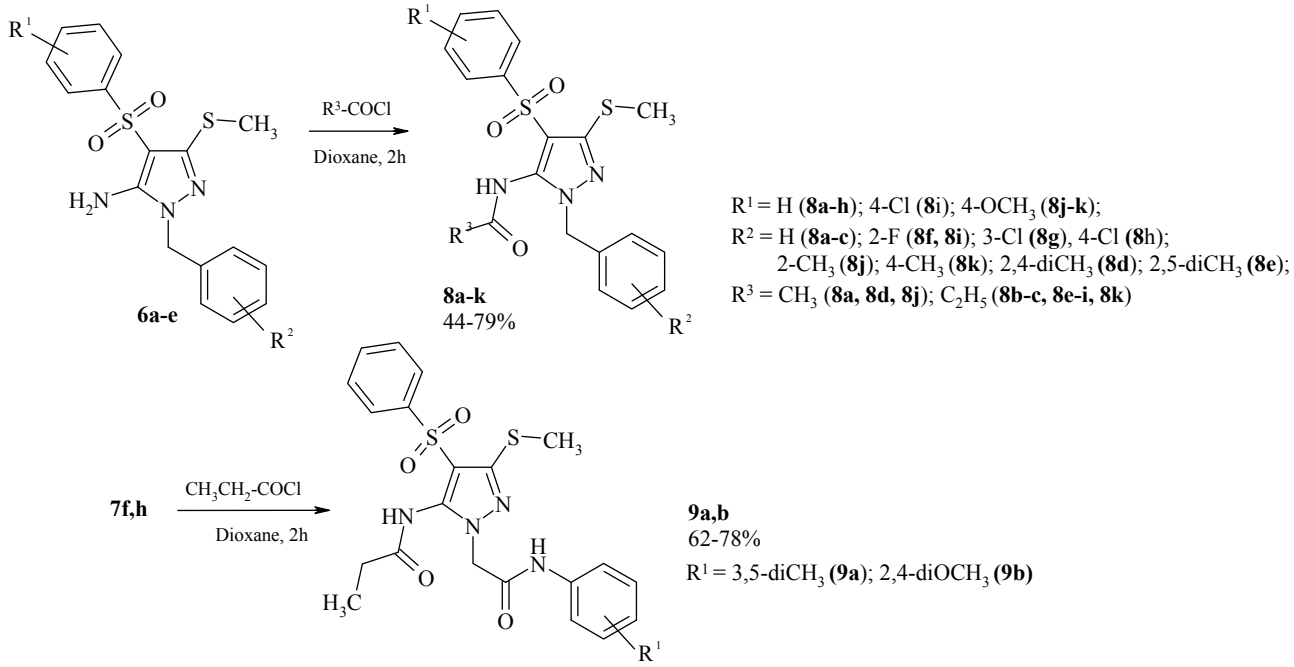


Рис. 1 Взаємодія протонів за даними NOESY-експеримента для 5-аміно-4-(4'-метоксифеніл)сульфоніл-3-метилтіопіразолу **7e**.

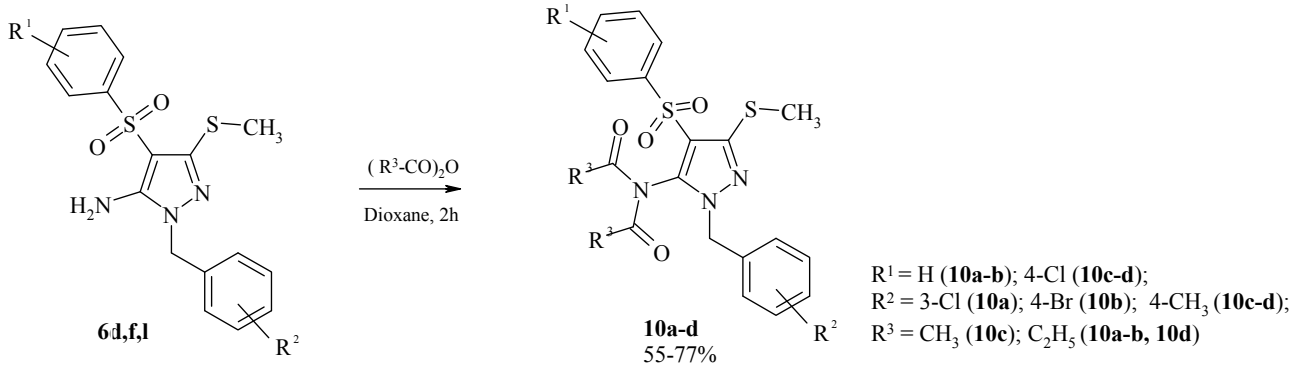
Низку N^1-заміщених 5-амінопіразолів **6** і **7** було перетворено на відповідні 5-(*N*-ациламіно)похідні за реакцією із хлорангідридами карбонових кислот, а саме з ацетилхлоридом та пропіонілхлоридом (схема 3). В ^{1}H-ЯМР-спектрах продуктів моноацилування **8** сигнали *NH*-протонів спостерігаються в межах 10.20 ... 10.30 м.ч.

Схема 3



Використання в цій взаємодії надлишку ангидридів карбонових кислот (оцтової, пропіонової) призводить до утворення 5-(*N,N*-діациламіно)похідних **10** (схема 4). В спектрах ПМР продуктів реакції сигнали *NH*-протонів відсутні, а сигнали протонів ацильних фрагментів спостерігаються при 0.80 ... 0.85 м.ч. та 2.35 ... 2.55 м.ч. із подвійною інтегральною інтенсивністю.

Схема 4

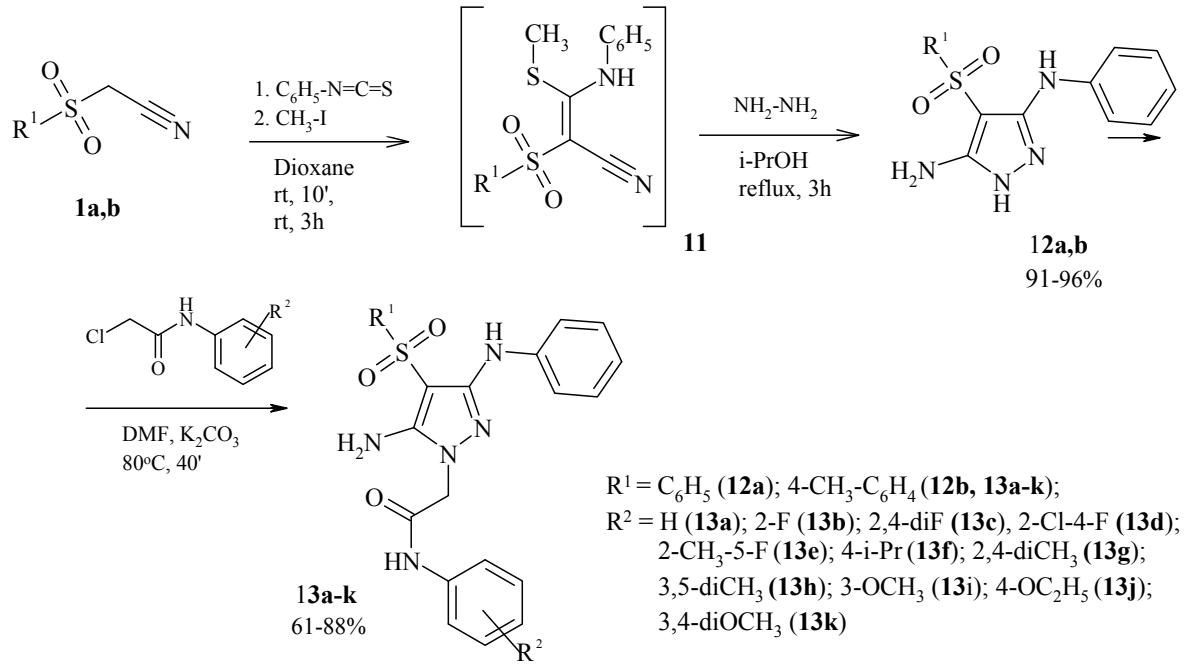


Синтез 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-алкіламінопіразолів та продуктів їх алкілування. Використання в реакції з арилсульфонілацетонітрилами **1** арилізотіоціанатів в присутності метилйодиду дозволяє перейти до біоізостерних 3-ариламінопохідних 5-амінопіразолів. *N,S*-Ацеталі **11** при кип'ятінні з гідразин-гідратом в пропанолі-2 утворюють 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-ариламінопіразоли **12**, що підтверджено даними ^{1}H ЯМР-спектрів, а саме: наявністю синглетного сигналу протону NH-групи піразольного циклу при δ 11.95–12.15

м.ч., сигналів аміногрупи в межах δ 6.50–6.55 м.ч. та синглетного сигналу NH-протону *N*-ариламіногрупи (близько 7.20 м.ч.).

Алкілування 5-аміно-3-ариламінопіразолів **12** *N*-арилхлорацетамідами також відбувається селективно за положенням N^1 5-амінопіразолу з утворенням тетразаміщених структур **13** (схема 5).

Схема 5



Дизайн комбінаторної бібліотеки полізаміщених піразолів на основі базової структури 5-аміно-4-алкіл/арилсульфонілпіразолу. Враховуючи можливий фармакологічний потенціал похідних 5-амінопіразолів нами здійснено дизайн бібліотеки 5-аміно-4-алкіл/арилсульфоніл-3-заміщених піразолів з метою пошуку речовин з протимікробною та протигрибковою дією.

Ключова ідея проекту – поєднання в одній структурі низки фрагментів, які є фармакофорними угрупуваннями з прогнозуємою активністю: ядра 5-амінопіразолу, сульфоарильного та тіоалкільного радикалів. Розроблені синтетичні протоколи досить легко масштабуються на високопродуктивний формат і дозволяють швидко згенерувати і синтезувати комбінаторну бібліотеку.

Вихідні *building-blocks* – 5-аміно-4-алкіл/арилсульфоніл-3-алкілтіопіразоли та 5-аміно-4-алкіл/арилсульфоніл-3-алкіл/ариламінопіразоли одержували циклізацією *S,S*- чи *S,N*-ацеталей на основі алкіл/арилсульфонілацетонітрилів з гідразингідратом. З метою збільшення різномаїття амінної компоненти, зокрема за рахунок вторинних амінів, та враховуючи високу токсичність ізотіоціанатів нами апробована методика одержання *S,N*-ацеталей за двостадійною схемою, а саме взаємодією *S,S*-ацеталей з амінами в киплячому ізопропанолі.

Запропонована стратегія дозволила створити багатовимірну матрицю сполук з пошаговою зміною фрагментів молекули (понад 900 сполук). Представлена бібліотека полізаміщених піразолів на основі базової структури 5-аміно-4-алкіл/арилсульфонілпіразолу може бути використана в різноманітних скринінгових процедурах як віртуальних, так і в реальних тестуваннях на культурах

клітин, на ферментах чи біологічних об’єктах. Зручні протоколи дали змогу з використанням декількох синтетичних процедур одержати низку речовин з максимально доступними та доцільними замісниками (з урахуванням синтетичних, фармакологічних, токсикологічних, технологічних та фінансових обмежень) (рис.2).

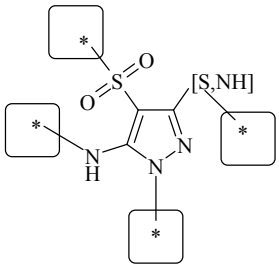


Рис. 2 Напрямки модифікації базової структури 5-амінопіразолу для побудови комбінаторної бібліотеки

Встановлення профілю біологічної активності синтезованих сполук (PASS-прогнозування). Комп'ютерна система прогнозування спектру біологічної активності PASS C&T (Prediction Activity Spectra for Substances: Complex & Training) широко застосовується в сучасних технологіях розробки фармацевтичних субстанцій. Даний підхід було використано для з’ясування доцільності пошуку речовин протимікробної та протигрибкової дії в ряду полізаміщених похідних 5-амінопіразолу. Результати розрахунків засвідчили наявність високого потенціалу протимікробної активності, а також значну ймовірність впливу на цетральну нервову систему людини (антипсихотична, антидепресантна, антипаркінсонічна активність).

За результатами комп’ютерного скринінгу відібрано ряд сполук для проведення експериментального вивчення їх впливу на мікробну клітину та на гриби роду *Candida.*

Розділ 4. Реакції гетероциклізації за участю 3(5)-амінопіразолів. Структурний фрагмент піразолу як моноцикл, так і в складі поліядерних систем, є частиною багатьох важливих сполук природного або синтетичного походження. Зокрема, у фармацевтичній практиці велика група лікарських препаратів із різноспрямованою дією, з хімічної точки зору відноситься саме до похідних піразолу. Важливою є здатність функціонально заміщених піразолів вступати в різноманітні реакції гетероциклізації, включаючи утворення двоядерних сполук, які представляють найбільш перспективний пласт речовин для біологічного скринінгу.

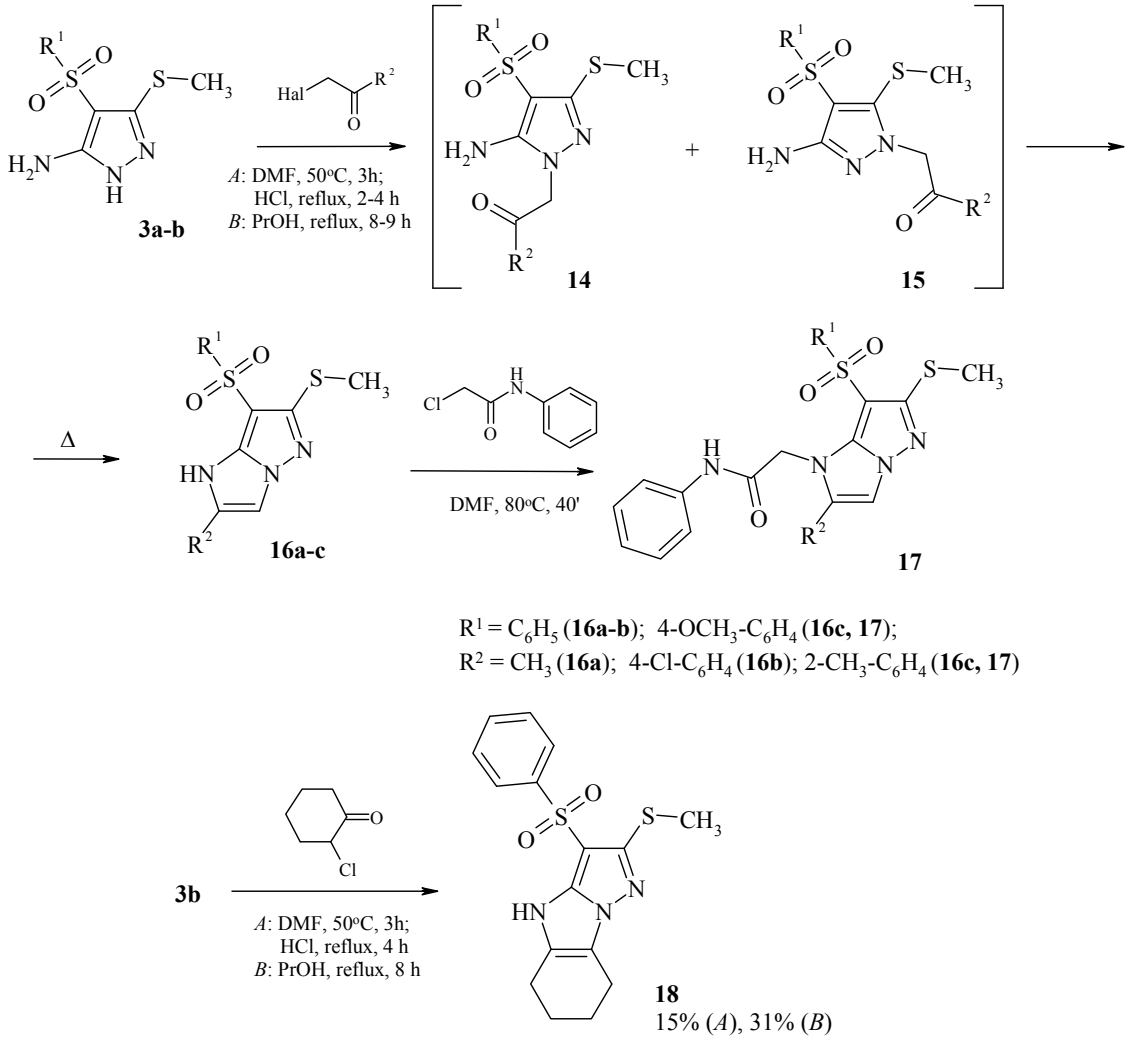
Взаємодія 5-аміно-4-арилсульфоніл-3-метилтіопіразолів з α-галогенокетонами. З метою з’ясування поведінки 4-арилсульфоніл-3-заміщених 5-амінопіразолів в реакціях гетероциклізації досліджено їх взаємодію з α-галогенокетонами (хлорацетоном, фенацилбромідами та 2-хлорциклогексаноном) з утворенням полізаміщених імідазо[1,2-*b*]піразолів як нових потенційних біологічно активних речовин. Слід зазначити, що існують декілька синтетичних процедур формування імідазо[1,2-*b*]піразолів, більшість з яких є багатостадійні та трудомісткі.

Нами розроблено та апробовано два методи синтезу. Перший полягає в проведенні попереднього алкілування ендоциклічного атома нітрогену вихід-

них 5-амінопіразолів **3** у присутності калій карбонату. На відміну від взаємодії заміщених 5-амінопіразолів з *N*-арилхлорацетамідами, що перебігає виключно з виділенням продуктів N^1-алкілування, в даній реакції за даними ТШХ (елюент: хлороформ – метанол – ацетонітрил 30:3:1) та ^{1}Н-ЯМР-спектроскопії утворюється суміш ізомерних продуктів алкілування **14** і **15**. Співвідношення ізомерів, в залежності від природи алкілуючого агента, становить близько 60:40% (з аналізу ^{1}Н-ЯМР-спектрів).

Далі за процедурою сирий продукт (масляний залишок) переносили в спиртовий розчин, додавали концентровану хлористоводневу кислоту та нагрівали. У цьому випадку відбувається циклізація ізомеру **14** з утворенням 2-метил/арил-6-метилтіо-7-арилсульфоніл-1*H*-імідазо[1,2-*b*]піразолу **16**, а інший позиційний ізомер залишається в маточному розчині (схема 6). Чистота отриманих сполук доведена хроматографічно, структура підтверджена даними ^{1}Н ЯМР-спектроскопії.

Схема 6



Використання другого способу – кип'ятіння вихідних реагентів в пропанолі-1 дозволило дещо збільшити вихід кінцевого продукту і виключити етап роботи з маслянистим продуктом, хоча іноді реакція не досягла кінця і було важко позбутися домішок нециклізованого продукту.

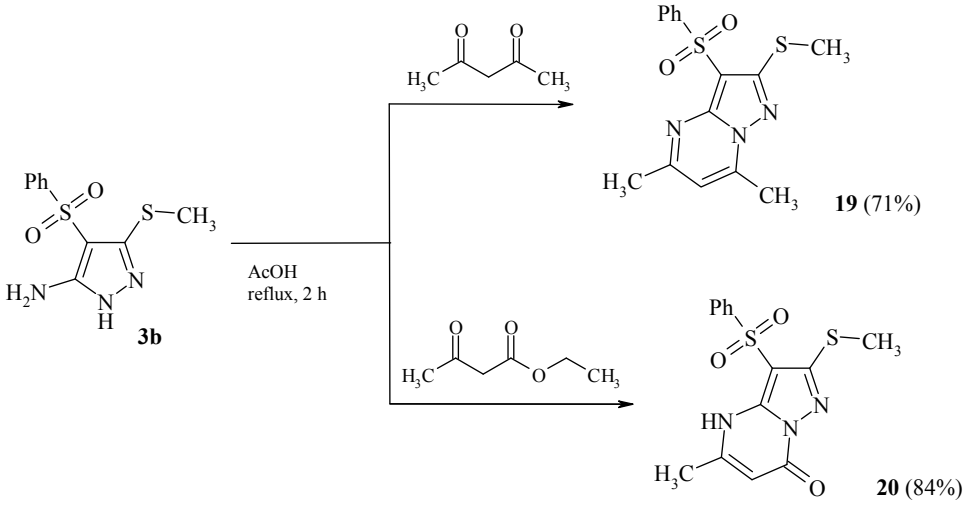
В спектрах ^{1}H-ЯМР продуктів циклізації **16a-c** характеристичними є синглетні сигнали CH-протонів циклу імідазолу в межах δ 8.19…8.32 м.ч. та сигнал NH-протону імідазолу (при δ 12.61…12.75 м.ч.).

Пірольний атом нітрогену поліциклічної системи імідазо[1,2-*b*]піразолу піддається алкілуванню. Зокрема, використовуючи стандартну процедуру, в реакції **16c** з *N*-(феніл)хлороацетамідом було виділено сполуку **17**.

Проведення циклізації 5-аміно-4-фенілсульфоніл-3-метилтіопіразолу **3b** з α-хлороциклогексанону за *методом B* дозволило вдвічі збільшити віхід кінцевого продукту – 1-фенілсульфоніл-2-метилтіо-4,6,7,8-тетрагідро-5*H*-3,3a,8-триазациклопента[*a*]індену **18**.

Взаємодія 5-аміно-4-арилсульфоніл-3-заміщених піразолів з α,β-дикарбонільними сполуками. Використання в зазначеному перетворенні α,β-дикарбонільних сполук дозволило перейти до полізаміщених азолоазинових систем. Так в реакції 4-фенілсульфоніл-3-метилтіо-5-амінопіразолу **3b** з ацетилацетоном та ацетооцтовим естером, виділено речовини з конденсованою системою піразоло[1,5-*a*]піримідину **19** та піразоло[1,5-*a*]піримідин-4-ону **20** (схема 7).

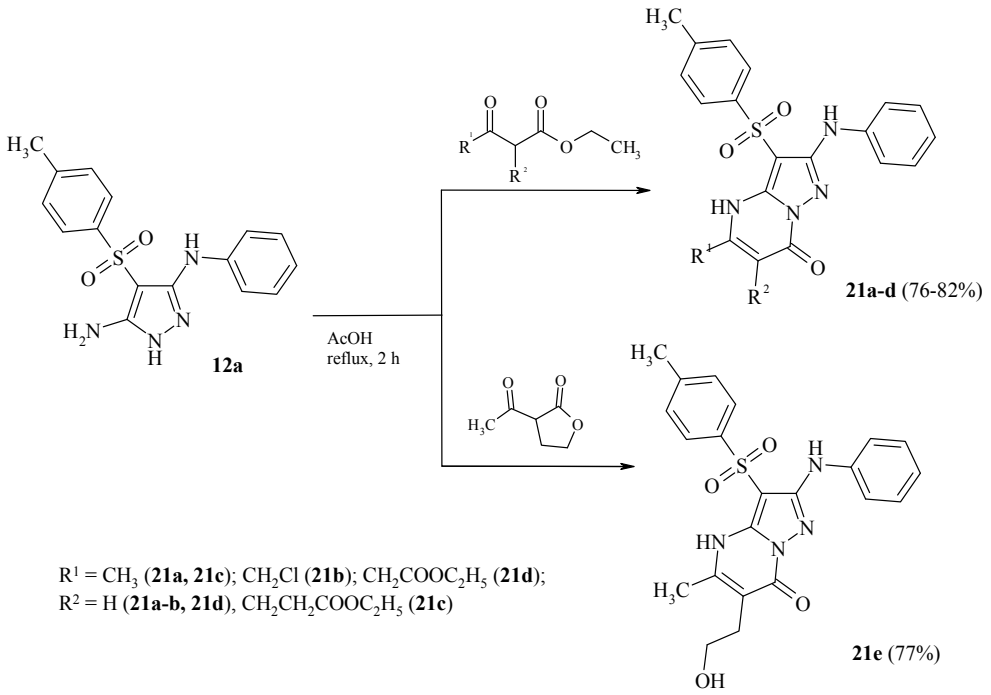
Схема 7



На прикладі 4-арилсульфоніл-3-феніламіно-5-амінопіразолу **12a** проведено реакцію з більш широким набором заміщених естерів ацетооцтової кислоти. Реакція відбувається з добрими виходами в досить короткий час (близько двох годин).

Взаємодія з 3-ацетилтетрагідрофуран-2-оном супроводжувалась розкриттям тетрагідрофуранового циклу і утворенням оксіетильного похідного **21e**, на відміну від подібної реакції за участю 5-аміно-4-оксадіазолілпіразолів, де авторами зареєстровано утворення *O*-ацетильного продукту (схема 8).

Схема 8



Розділ 5. Обговорення результатів дослідження протимікробної активності модифікованих похідних 3(5)-амінопіразолу. Докінгові дослідження показали високий афінітет значної частини синтезованих речовин до активного сайту дигідроптероатсинтази (ДГПС), підтвердили їх здатність конкурентно інгібувати сайт та завдавати антимікробну дію, що підтвердило доцільність дослідження антибактеріальних властивостей даного ряду сполук. За результатами *in silico* скринінгу для дослідження антибактеріальних властивостей було відібрано 46 сполук, що мали найліпші значення скорингових функцій до активного сайту дигідроптероатсинтази і перевищували такі для нативних лігандів – сульфатіазолу та сульфаніламіду, що є аналогами за структурою синтезованих речовин.

Вивчення протимікробної та фунгіцидної дії синтезованих сполук проводили в лабораторії протимікробних засобів ДУ «ІМІ ім. І.І.Мечнікова НАМН України» під керівництвом к.м.н., ст.н.с. В.В.Казмірчука. Загалом було протестовано 46 сполук. Дослідження проводили у два етапи.

На першому з них проводили мікробіологічний скринінг за стандартним набором тест-культур референтних штамів грампозитивних, грамнегативних бактерій та грибів роду *Candida*. На другому етапі вивчали протимікробну активність декількох найбільш активних речовин по відношенню до розширеного спектру музейних та клінічних референтних тест-штамів (39 штамів).

Для поглибленого дослідження відібрано 7 речовин, з яких 5 сполук протестовано на активність по відношенню до 14 музейних та клінічних штамів стафілококу та до 16 штамів інших грампозитивних і грамнегативних бактерій. Для 4 речовин проведено вивчення протигрибкової активності по відношенню до 9 клінічних штамів грибів роду *Candida*. Результати тестування найбільш активних речовин надано в таблиці.

Таблиця

Протимікробна та протигрибкова дія модифікованих похідних 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразолів

Код	Протимікробна активність, *МБстК 12.5 - 25.0 мкг/мл*	Протигрибкова активність, *МФстК 12.5 - 25.0 мкг/мл*
3e	*Escherichia coli ATCC 25922* *Staphylococcus aureus ATCC 25923* *Proteus vulgaris ATCC 4636* *Bacillus anthracoides ATCC 1312*	*Candida albicans ATCC 885-653*
6l	*Staphylococcus aureus ATCC 25923* *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* *Bacillus cereus ATCC 10702* *R. Aquantilis ATCC 33989*	-
7b	*Staphylococcus aureus ATCC 25923* *Escherichia coli ATCC 25922* *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*	*Candida albicans ATCC 885-653*
7j	*Escherichia coli ATCC 25922* *Staphylococcus aureus ATCC 25923* *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*	*Candida albicans ATCC 885-653*
13c	*Staphylococcus aureus ATCC 25923* *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* *Candida albicans* ATCC 885-653	

Розділ 6. Експериментальна частини. Розділ містить опис методик синтезу речовин, описаних в дисертаційній роботі, їх фізико-хімічні та спектральні характеристики. Розроблено методи ідентифікації субстанції 4-(4’-хлорофеніл)-сульфо-3-етилтіо-5-амінопіразолу (хімічні реакції, температура плавлення, ІЧ-, УФ-спектроскопії, спектроскопії ^{1}Н-ЯМР, ТШХ). Для визначення залишкових кількостей органічних розчинників використано метод ВЕРХ. Кількісне визначення субстанції проведено методом потенціометричного титрування у неводному середовищі; валідаційні параметри методики відповідають критеріям прийнятності.

ВИСНОВКИ

У роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі щодо синтезу нових біологічно активних речовин на основі модифікованих похідних 3(5)-амінопіразолу, а саме досліджено способи синтезу заміщених 5-аміно-4-арилсульфонілпіразолів та проаналізовано шляхи їх хімічної модифікації. Методами комп’ютерного прогнозування та біологічного скринінгу підтверджено перспективність пошуку протимікробних та протигрибкових субстанцій в досліджуваному ряду сполук.

1. За реакцією гетероциклізації арилсульфонілацетонітрилів з гідразингідратом синтезовано 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразоли. Методами ЯМР-спектроскопії доведено утворення продуктів *N1*-заміщення в ході їх алкілування бензилхлоридами і *N*-ариламідами хлороцтової кислоти, та утворення моно- та діациламінопохідних – в реакціях з хлорангідридами та ангідридами кислот відповідно.

2. Розроблено стратегію введення амінної фукції в положення 3 піразолу – взаємодією арилсульфонілацетонітрилів з арилізотіоціанатами з подальшою гетероциклізацією з гідразин-гідратом. Як результат алкілування 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-ариламінопіразолів виділено виключно продукти *N1*-заміщення.

3. Розроблено методики гетероциклізації 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-метилтіопіразолів та 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-ариламіно)піразолів з α-галогенокетонами та α ,β-дикарбонільними реагентами. В реакції з хлорацетоном, фенацилбромідами та 2-хлороциклогексаноном в ізопропанолі виділено 2,6,7-тризаміщені 1*H*-імідазо[1,2-*b*]піразоли. В реакції з ацетилацетоном, заміщеними ацетооцтовими естерами, 3-ацетилтетрагідрофуран-2-оном доведено утворення похідних піразоло[1,5-*a*]піримідину та піразоло[1,5-*a*]піримідин-4-ону.

4. Здійснено дизайн комбінаторної бібліотеки похідних 5-аміно-4-алкіл/-арилсульфоніл-3-алкілтіо/3-алкіламіно/3-ариламінопіразолів та за результатами віртуального скринінгу визначено основні напрямки біологічних випробувань. Здійснено синтез фокусованої вибірки речовин для тестування на протимікробну та протигрибкову активність.

5. Базуючись на сучасних методах *in silico* досліджень сплановано та проведено мікробіологічний скринінг 46 вперше синтезованих похідних 5-аміно-4-арилсульфонілпіразолів на 37 штамах мікроорганізмів. Встановлено, що значна більшість протестованих речовин проявляють високу протимікробну та протигрибкову активність. Встановлено повільне формування стійкості музейних штамів *S. aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 і *C.albicans* ATCC 885-653 до цих речовин. Встановлені елементи залежності «структура–активність» дозволили визначити оптимальні шляхи модифікації структури та запропонувати раціональний дизайн біологічно активних молекул на основі базової структури 5-аміно-4-арилсульфонілпіразолу для подальшої розробки протимікробних та протигрибкових агентів.

6. Для проведення поглиблених фармакологічних досліджень в якості протигрибкового агента рекомендовано 4-(4-хлорофеніл)сульфоніл-5-аміно-3-етилтіо-піразол; та *N*-(2’-флюоро-4’-бромофеніл)-(5-аміно-4-фенілсульфоніл-3-метилтіопіразол-1-іл)ацетамід, який показав високу активність по відношенню до грампозитивної мікрофлори. Розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення субстанції 4-(4-хлорофеніл)сульфоніл-5-аміно-3-етилтіопіразолу, методику визначення супровідних домішок. Валідаційні параметри методик відповідають необхідним критеріям прийнятності.

7. Встановлені елементи залежності «структура–активність» дозволили визначити оптимальні шляхи модифікації структури та запропонувати раціональний дизайн біологічно активних молекул на основі базової структури 5-аміно-4-арилсульфонілпіразолу для подальшої розробки протимікробних та протигрибкових агентів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Синтез и противомикробная активность 4-арилсульфонилпроизводных 5-аминопиразолов / П. В. Ткаченко, Е. В. Ткаченко, И. А. Журавель, В. В. Казмирчук, У. Б. Дербисбекова // Вестник КазНМУ. – 2017. – № 2. – С. 317–321. *Здобувачем здійснено синтез цільових сполук, узагальнено результати мікробіологічних досліджень, підготовлено статтю до друку.*
2. The synthesis of the substituted 4-alkyl/arylsulfonyl-5-amino-3-alkylthiopyrazoles as promising pharmaceutical agents with the antifungal action / P. V. Tkachenko, O. V. Tkachenko, K. Yu. Netosova, O. V. Borisov, I. O. Zhuravel // Вісник фармації. – 2017. – № 2. – С. 25–30. (*Здобувачем самостійно проведено аналіз літературних джерел, виконано експериментальну частину дослідження, проведено систематизацію результатів*).
3. The synthesis and the antimicrobial activity of N^1-substituted 5-amino-4-arylsulfonyl-3-*N*-phenylamanopyrazoles / P. V. Tkachenko, O. V. Tkachenko, K. Yu. Netosova, O. V. Borisov, I. O. Zhuravel, V. V. Kazmirchuk // Вісник фармації. – 2017. – № 3. – С. 3–9. (*Здобувачем здійснено синтез цільових сполук, опрацьовано дані результатів мікробіологічного скринінгу, підготовлено статтю до друку*).
4. Разработка и валидация методики количественного определения субстанции 4-(4-хлорфенил)сульфо-3-этилтио-5-аминопиразола / П. В. Ткаченко, С. В. Колесник, И. А. Журавель, О. А. Завада, У. Б. Дербисбекова // Фармация Казахстана. – 2017. – № 8. – С. 13–16. (*Здобувачем самостійно проведено розробку методики, проведено валідаційні процедури*).
5. Products of interaction of substituted 5-aminopyrazoles with α-haloketones as potential pharmaceutical agents / P. Tkachenko, O. Tkachenko, K. Netosova, O. Borisov, I. Zhuravel // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2017. – № 5 (9). – P. 25–28. (*Здобувач здійснив синтез сполук, взяв участь в інтерпретації спектральних даних, підготував статті до друку*).
6. 4-(4’-Хлорфеніл)сульфо-3-етилтіо-5-амінопіразол, який проявляє протигрибкову активність / П.В.Ткаченко, О.В.Ткаченко, І.О.Журавель, В.В.Казмірчук // Патент на корисну модель UA 124716, МПК A61K 31/505, C07D 239/69; Заявл. *и* 2017 09272 від 21.09.2017; Опубл. 25.04.2018, Бюл. № 8.– 4 с. (*Здобувач здійснив патентний пошук за напрямом, виконав синтетичну частину роботи та підготував матеріал для подачі в Укрпатент*).
7. One-pot synthesis of 3-alkylthio- and 3-aminosubstituted 5-amino-4-*R*-sulfonyl-*1H*-pyrazoles / P. V. Tkachenko, I. O. Zhuravel, O. V. Borisov, O. V. Tkachenko // Topical issues of new drugs development: International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student: Book of Abstracts, April 23 2015. Kharkiv, 2015. P. 49.
8. Синтез и биологическая активность 1-*R*-бензил-3-фенилтиено[3,2-*d*]пиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дионов / П. В. Ткаченко, Е. В. Ткаченко, И. А. Журавель // Наука и медицина: Современный взгляд молодежи: III Междунар. науч.-практич. конф. студентов и молодых ученых, посв. 25-летию независимости Республики Казахстан: мат-лы конф., 21–22 апреля 2016 г. Алматы, 2016. С.

207–208.
9. Розробка специфікації на субстанцію 4-(4-хлорфеніл)сульфо-3-етилтіо-5-амінопіразолу / П.В.Ткаченко, О.О.Завада, І.О.Журавель // Сучасні досягнення фармацевтичної технології: VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю: зб. наук. праць, випуск 3, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 295–298.
10. Interaction of substituted 5-aminopyrazoles with β-dicarbonil compounds / P.V. Tkachenko, K.Yu. Netosova, I.O Zhuravel // Topical issues of new drugs development: XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student: Book of Abstracts, April 18-20, 2018.– Kharkiv, 2018. – Kharkiv: NUPh.– P. 27.

АНОТАЦІЯ

Ткаченко П. В. Пошук біологічно активних речовин в ряду модифікованих похідних 3(5)-амінопіразолу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена розробці напрямків хімічної модифікації базової структури 4-арилсульфоніл-3(5)-амінопіразолу з метою пошуку біологічно активних сполук з протимікробною та протигрибковою дією.

Здійснено синтез серії 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразолів та досліджено реакції їх селективного алкілування з утворенням N^1-заміщених 5-амінопіразолів. В реакції останніх з хлорангідридами кислот виділено продукти моноацилування за аміногрупою 5-амінопіразолу, заміна ацилуючого агента на ангідриди кислот приводить виключно до продуктів діацилування.

В реакції арилсульфонілацетонітрилів з арилізотіоціанатами в присутності метилйодиду виділено 3-ариламінопохідні 4-арилсульфоніл-5-амінопіразолів, здійснено їх алкілування.

Досліджено взаємодію 4-арилсульфоніл-3-заміщених 5-амінопіразолів з α-галогенокетонами і одержано ряд 2,6,7-тризаміщених 1*H*-імідазо[1,2-*b*]піразолів. Запропоновано схеми синтезу низки піразоло[1,5-*a*]піримідин-7-онів за реакцією 4-арилсульфоніл-3-заміщених 5-амінопіразолів з α,β-дикарбонільними реагентами.

Проведено мікробіологічний скринінг 46 синтезованих сполук за стандартним набором тест-культур референтних штамів грампозитивних, грамнегативних бактерій та грибів роду *Candida* (6 штамів), 9 найбільш активних речовин протестовано за розширеним спектром музейних та клінічних референтних тест-штамів (37 штамів). Окремо досліджено можливість формування *in vitro* стійкості штамів мікроорганізмів і грибів роду *Candida* до синтезованих сполук.

В якості найбільш перспективного для подальшого доклінічного вивчення запропоновано 5-аміно-4-(4’-хлорофеніл)сульфоніл-3-етилтіопіразол, для якого розроблено методики контролю якості.

Ключові слова: 5-амінопіразол, синтез, 1*H*-імідазо[1,2-*b*]піразол, піразоло[1,5-*a*]піримідин, протимікробна активність, протигрибкова активність, молекулярний докінг, фармакологічний скринінг.

АННОТАЦИЯ

Ткаченко П. В. Поиск биологически активных веществ в ряду модифицированных производных 3(5)-аминопиразола. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой ступени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия». – Национальный фармацевтический университет, МЗ Украини, Харьков, 2021.

Диссертационная работа посвящена разработке направлений химической модификации базовой структуры 4-арилсульфонил-3(5)-аминопиразола с целью поиска биологически активных веществ с противомикробным и противогрибковым действием.

Проведен системный анализ известных фармацевтических агентов с остовом аминопиразола, выявлены структурные фармакофорные фрагменты, выбрана базовая структура и осуществлен дизайн ее химической модификации целью поиска биологически активных веществ с противомикробной и противогрибковой активностью.

Реакцией арилсульфонилацетонитрилов с сероуглеродом и алкилгалогенидами получены соответствующие *S,S*-ацетали, которые далее с гидразингидратом циклизуются в 4-арилсульфонил-5-амино-3-алкилтиопиразолы.

Дальнейшую модификацию структуры осуществляли путем алкилирования и ацилирования полученных веществ. При этом взаимодействие с алкилгалогенидами, бензилхлоридами и *N*-арилхлорацетамидами приводит исключительно к N^1-замещенным 5-аминопиразолам. Методом двумерной ЯМР-спектрометрии (NOESY) подтверждено направление протекания реакции алкилирования.

С целью дальнейшей рандомизации базовой структуры осуществлена реакция ацилирования N^1-замещенных 4-арилсульфонил-5-амино-3-метилтиопиразолов. В результате взаимодействия с хлорангидридами кислот выделены продукты моноацилирования по аминогруппе 5-аминопиразола с выходами 44-79%. Замена ацилирующего агента на ангидриды кислот приводит исключючительно к продуктам диацилирования.

Использование в реакции с арилсульфонилацетонитрилами арилизотиоцианатов в присутствии метилиодида позволило перейти к 3-ариламинопроизводным 4-арилсульфонил-5-аминопиразолов, алкилирование которых *N*-арилхлорацетамидами также протекает селективно в положение N^1 аминопиразола.

Учитывая способность аминопиразолов вступать в реакции гетероциклизации нами изучено взаимодействие 4-арилсульфонил-3-замещенных 5-аминопиразолов с α-галогенокетонами (хлорацетоном, фенацилбромидами, α-хлорциклогексаноном), и получен ряд 2,6,7-тризамещенных 1*H*-имидазо[1,2-*b*]пиразолов, строение которых доказано данными ^{1}H ЯМР-спектроскопии.

Предложены схемы синтеза полизамещенных пиразоло[1,5-*a*]пиримидин-7-онов в реакции 4-арилсульфонил-3-замещенных 5-аминопиразолов с α,β-дикарбонильными реагентами (ацетилацетоном, эфирами ацетоуксусной кислоты, 3-ацетилтетрагидрофуран-2-оном).

Разработанный пакет препаративних методик позволил осуществить дизайн фокусированной библиотеки производных 5-амино-4-алкил/арилсульфонил-3-алкилтио/ариламинопиразолов целью поиска биологически активных веществ с противомикробным и противогрибковым действием. Ключевая идея проекта – соединение в одной структуре ряда фармакофорных фрагментов с прогнозированной активностью: 5-аминопиразола, ацетамидной группы, сульфо- , тио- и аминозамещенных радикалов. Предложенная схема химических превращений является эффективной, удобной, многовекторной и позволяет получать целевые продукты с высокими выходами и довольно широким набором заместителей.

С использованием методов виртуального скрининга определен фармакологический профиль синтезованных веществ и предложен дизайн биологических исследований на противомикробную и противогрибковую активность.

На базе лаборатории противомикробных средств ГУ «ИМИ им. И.И.Мечникова НАМН Украины» проведено изучение противомикробного и фунгицидного действия синтезированных веществ. Были протестированы 46 веществ в два этапа. На первом осуществлен микробиологический скрининг с использованием стандартного набора тест-культур референтных штаммов грамположительных, грамотрицательных бактерий и грибов рода *Candida* (6 штаммов). На втором этапе изучена противомикробная активность 9 наиболее активных веществ относительно расширенного спектра музейных и клинических референтных тест-штаммов (37 штаммов). Изучена возможность формирования *in vitro* стойкости штаммов микроорганизмов и грибов рода *Candida* к синтезированным веществам.

Изучение зависимости «структура – активность» позволило определить фрагменты, влиявщие на проявление противомикробного действия, и предложить оптимальные пути целенаправленной модификации базовой структуры.

Представленые результаты в дальнейшем могут быть использованы в лабораториях, занимающихся активным поиском биологически активных молекул, как для расширения химического пространства модифицированных производных 3(5)-аминопиразола, так и для целевого синтеза веществ данного класса с целью разработки новых противомикробных и противогрибковых агентов.

Результаты молекулярного докинга показали высокий афинитет синтезованных веществ к активному сайту дигидроптероатсинтазы, их способность конкурентно ингибировать его и оказывать противомикробное действие.

В качестве наиболее перспективного для дальнейших доклинических исследований предложен 5-амино-4-(4’-хлорфенил)сульфонил-3-этилтиопиразол, для которого разработаны методики контроля качества.

Ключевые слова: 5-аминопиразол, синтез, 1*H*-имидазо[1,2-*b*]пиразол, пиразоло[1,5-*a*]пиримидин, противомикробная активность, противогрибковая активность, молекулярный докинг, фармакологический скрининг.

ANNOTATION

Tkachenko P. V. Search of biologically active substances among modified derivatives of 3(5)-aminopyrazoles. – A manuscript.

The thesis for the Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Ministry of Public Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to the development of directions of chemical modification of the basic structure of 4-arylsulfonyl-3(5)-aminopyrazole in order to search for biologically active compounds with antimicrobial and antifungal action.

A series of 4-arylsulfonyl-5-amino-3-alkylthiopyrazoles was carried out and the reactions of their selective alkylation with the formation of N^1-substituted 5-aminopyrazoles were studied. In the reaction with acid chlorides, monoacylation products are isolated by the amino group of 5-aminopyrazole, the replacement of the acylating agent with acid anhydrides leads exclusively to diacylation products.

In the reaction of arylsulfonylacetonitriles with arylisothiocyanates in the presence of methyl iodide, 3-arylamino derivatives of 4-arylsulfonyl-5-aminopyrazoles were isolated, and their alkylation was performed.

The interaction of 4-arylsulfonyl-3-substituted 5-aminopyrazoles with α-haloketones was studied, and a number of 2,6,7-trisubstituted 1*H*-imidazo[1,2-*b*]pyrazoles were obtained. Schemes for the synthesis some of polysubstituted pyrazolo-[1,5-*a*]pyrimidin-7-ones by the reaction of 4-arylsulfonyl-3-substituted 5-aminopyrazoles with α,β-dicaronyl reagents have been proposed.

Microbiological screening of 46 synthesized compounds was performed according to the standard set of test cultures of reference strains of gram-positive, gram-negative bacteria and fungi *Candida* (6 strains), 9 most active substances were tested for an expanded range of museum and clinical reference test strains (37). The possibility of forming in vitro resistance of strains of microorganisms and fungi *Candida* to the synthesized compounds was studied.

5-Amino-4-(4'-chlorophenyl)sulfonyl-3-ethylthiopyrazole has been proposed as the most promising for further preclinical studies, for which quality control methods have been developed.

Key words: 5-aminopyrazole, synthesis, 1*H*-imidazo[1,2-*b*]pyrazole, pyrazolo-[1,5-*a*]pyrimidine, antimicrobial activity, antifungal activity, molecular docking, pharmacological screening.