

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

СИЧ ІГОР ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 547.789:54.057:615.011

**СИНТЕЗ, ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
5-ЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ 2-ТІО(АМІНО)-1,3,4-ТІАДІАЗОЛУ**

15.00.02- фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
ПЕРЕХОДА ЛІНА ОЛЕКСІЇВНА
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри медичної хімії

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

доктор фармацевтичних наук, професор
ДЕМЧЕНКО АНАТОЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ
Інститут фармакології та токсикології НАМН України,
завідувач відділу медичної хімії

Захист відбудеться «07» червня 2019 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

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

Автореферат розісланий «___» травня 2019 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д. фарм. н., професор

В. А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Пошук нових БАР для створення на їх основі високоефективних і малотоксичних лікарських засобів залишається актуальним завданням фармацевтичної та медичної хімії. За даними світової наукової літератури серед похідних 1,3,4-тіадіазолу, що містять різноманітні замісники аліфатичного, ароматичного та гетероциклічного ряду при C_2 та C_5 -атомах 1,3,4-тіадіазольного циклу, виявлено багато перспективних в фармакологічному плані сполук. Вони широко використовуються як активні фармацевтичні інгредієнти лікарських засобів різного призначення. Хімічні властивості 1,3,4-тіадіазолу відкривають широкі можливості для подальших досліджень в цьому напрямку і вітчизняними вченими вже одержані потенційні активні фармацевтичні інгредієнти протипухлинної (Лесик Р. Б., Гаврилюк Д. Я., Лелюх М. І., Коваленко С. М., Ситник К. М., Білов І. Е) та протисудомної дії (Георгіянц В. А., Перехода Л. О.). Високий потенціал модифікації і функціоналізації реакційно здатними фрагментами похідних 1,3,4-тіадіазолу, різноманітність як умов проведення подібних реакцій, так і реагентів, які в них використовуються, дають підстави проводити подальші дослідження та збільшувати кількість напрямків синтетичних та біологічних досліджень на їх основі. На даному етапі накопичений достатній матеріал для розуміння основних напрямків фармакологічної дії похідних 1,3,4-тіадіазолу, що робить актуальним цілеспрямоване конструювання та перевірку закладених ідей зв'язку між будовою та фармакологічною дією на прикладі синтезу нових субстанцій з потенційною протимікробною, протигрибковою, діуретичною та протисудомною активністю.

Упродовж останнього десятиріччя польськими та російськими вченими доведено, що перспективним є пошук нових БАР шляхом побудови складних органічних молекул, що містять декілька гетероциклів з відомими властивостями, тому поєднання в одній молекулі двох циклів 1,3,4-тіадіазолу дозволяє очікувати істотного поліпшення вже наявних антимікробних, діуретичних та протисудомних властивостей. Разом з тим, важливими в прикладному плані аспектами фармацевтичної хімії є також синтез і дослідження властивостей поліядерних (гібридних) гетероциклічних сполук, що містять у своїй структурі поряд з 1,3,4-тіадіазольним інші п'ятичленні гетероцикли, такі як 1,2,3-тріазол, фуран, тіофен, 1,2-оксазол. Розробка ефективних і малостадійних синтетичних стратегій побудови таких сполук з подальшим вивченням їх властивостей, а також визначенням найбільш перспективних з них для подальшого впровадження в медичну практику як потенційних лікарських засобів, є досить актуальною. Тому ми вважали перспективним напрямком продовження пошуку нових біологічно активних сполук серед 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу, розробку методик їх синтезу, дослідження реакційної здатності, вивчення фізико-хімічних та фармакологічних властивостей сполук цього ряду.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Молекулярний

дизайн і цілеспрямований синтез нових біологічно активних органічних речовин і їх фокусованих комбінаторних бібліотек» (№ державної реєстрації НДР: 0114U000944).

Мета і завдання дослідження. Метою даної роботи є синтез нових речовин в ряду 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу та пошук серед них сполук з протисудомною, діуретичною, антимікробною та протигрибковою активністю як потенційних лікарських засобів.

Для досягнення зазначеної мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати наукові першоджерела стосовно методів синтезу, фізико-хімічних та біологічних властивостей похідних 1,3,4-тіадіазолу та запланувати структури для цілеспрямованого синтезу;

- синтезувати вихідні речовини: 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазоли, 2-тіо-5-(R)-1,3,4-тіадіазоли та 2-(R)аміно-5-(R¹)тіо-1,3,4-тіадіазоли, дослідити їх фізико-хімічні властивості, підтвердити їх будову та індивідуальність;

- розробити препаративні методики та синтезувати 5-заміщені похідні 2-аміно-1,3,4-тіадіазолу, а саме: 2-(R-аміно)-5R¹-1,3,4-тіадіазоли; 2-N-феніламіно-5-(R)-1,3,4-тіадіазоли; 2-N(R)-5R¹-1,3,4-тіадіазол-2-іл-арилсульфонаміди; аміди 5-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; 5-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіо-1-фенон з метою пошуку потенційних субстанцій протисудомної, антимікробної та діуретичної дії;

- розробити препаративні методики та з метою пошуку потенційних субстанцій антимікробної та протигрибкової дії синтезувати 5-заміщені похідні 2-тіо-1,3,4-тіадіазолу, а саме: 5-R-(арил)ациламіно-1,3,4-тіадіазол(3H)-2-тіоли; аніліди 5-R-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; аніліди 5-(R)-ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти; етиловий естер 5-(R)-ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти;

- шляхом ацилювання 2-аміно-5-R-1,3,4-тіадіазолів хлорангідрідами арил(алкіл, гетерил)заміщених кислот синтезувати 4-R-N-(5-((2-((5-R)-1,3,4-тіадіазол-2-іл) аміно)-2-оксоетил)тіо)1,3,4-тіадіазол-2-іл)бензаміди та поліядерні гетероциклічні сполуки, що містять поряд з 1,3,4-тіадіазольним 1,2,3-тріазольний цикл з метою пошуку потенційних антиконвульсантів;

- розробити синтетичну стратегію та шляхом взаємодії N-арил-заміщених ацильованих тіосемікарбазидів з дисульфідом карбону та подальшого алкілювання одержаних 5-R-ариламіно-1,3,4-тіадіазол(3H)-2-тіонів, синтезувати 5-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіо-1-фенон, аміди 5-R-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти та поліядерні гетероциклічні похідні 1,3,4-тіадіазольного ряду, що містять у своїй структурі 1-фуран, 1-тіофен, 2-оксазол з метою пошуку потенційних субстанцій антиконвульсивної та діуретичної дії;

- спрямувати синтезовані речовини на проведення фармакологічного скринінгу на предмет виявлення протисудомної, діуретичної, антимікробної та протигрибкової активності, за результатами виявити можливі залежності біологічної дії синтезованих сполук від хімічної будови (SAR і QSAR-аналіз) та виділити перспективні біологічно активні сполуки для поглиблених експериментальних досліджень;

▪ провести докінгові дослідження з метою прогнозування механізму дії, *in silico* прогнозування токсичності та розробити проект МКЯ на «сполуку-лідер».

Об'єкт дослідження – синтез та властивості 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу.

Предмет дослідження – методи синтезу, спектральні характеристики, фізико-хімічні, біологічні властивості синтезованих 2,5-дизаміщених похідних 1,3,4-тіадіазолу; якісні і кількісні закономірності зв'язку «структура-активність» (SAR і QSAR-аналіз), докінгові дослідження, методи аналізу.

Методи дослідження. Органічний синтез; структуру синтезованих речовин доводили фізико-хімічними методами аналізу: спектроскопія ^1H ЯМР, мас-спектрометрія, елементний аналіз, чистоту - хроматографією в тонкому шарі сорбенту; SAR і QSAR-аналіз, фармакологічний скринінг; докінгові дослідження, статистичні методи обробки даних. Методики контролю якості виконано з залученням УФ- та ІЧ-спектроскопії, тонкошарової хроматографії.

Наукова новизна одержаних результатів. Запропоновано перспективний науковий напрямок в синтезі біологічно активних структур 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу. В процесі виконання роботи за допомогою класичних та удосконалених методів синтезу одержано 81 нову сполуку, будову та індивідуальність яких встановлено сучасними фізико-хімічними методами. Уперше досліджено протисудомні, діуретичні, антимікробні та протигрибкові властивості синтезованих сполук. Запропоновано нову речовину з протисудомною активністю – N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід (патент України на винахід №UA117931C2 від 25/10/2018, Бюл. №20 «N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід, що проявляє протисудомну активність»). Встановлено якісні і кількісні закономірності зв'язку «структура-активність» в ряду синтезованих 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу як потенційних протисудомних засобів. Розроблено оригінальні методики якісного та кількісного аналізу перспективної сполуки, які можуть бути використані в подальшому при підготовці аналітичної нормативної документації. У результаті фармакологічного скринінгу ідентифіковано 5 «сполук-хітів» з протисудомною, антимікробною, протигрибковою та діуретичною активністю. На основі QSAR-аналізу запропоновано рекомендації щодо раціонального дизайну антиконвульсантів з групи 2,5-дизаміщених похідних 1,3,4-тіадіазолу.

Практичне значення одержаних результатів. Проведені синтетичні дослідження та вивчення фізико-хімічних властивостей синтезованих 2,5-дизаміщених похідних 1,3,4-тіадіазолу важливі для теорії і практики органічного синтезу. Запропоновано ефективний спосіб одержання 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів, 2-тіо-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів та 2-(R)аміно-5-(R¹)тіо-1,3,4-тіадіазолів, на основі яких за розробленими препаративними методиками здійснено синтез нових груп біологічно активних речовин – 2-(R-аміно)-5-R-1,3,4-тіадіазолів; 2-N-феніламіно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів; 2-N(R)-5R¹-1,3,4-тіадіазол-2-іл-арилсульфонамідів; амідів 5-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; 5-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіо-1-фенону; 5-R-(арил)ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-тіолів; анілідів 5-R-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; анілідів 5-(R)-ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти; етилового естеру 5-(R)-ациламіно-1,3,4-

тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти. Запропоновані методи контролю якості можуть бути використані для подальшої фармацевтичної розробки.

На основі SAR та QSAR аналізу скринінгових результатів сформульовано ряд положень для раціонального дизайну нових БАР протисудомної дії. Результати, отримані при виконанні дисертаційної роботи, впроваджено в навчальну діяльність ВНЗ України: кафедра фармакології та фармацевтичного менеджменту Державного університету м. Варна, Болгарія (акт впровадження від 02.03.2017), кафедри фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від 01.11.2016), кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від 01.11.2016).

Особистий внесок здобувача. У ході виконання дисертаційної роботи автором реалізовано проведення експериментальної синтетичної частини, узагальнення результатів та формулювання положень і висновків, які виносяться на захист. Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Переходою Л. О., Єрмоїною З. Г., Цапко Т.О., Гріневич Л. О., Драпак І.В., Березняковим А. В., Таран С. Г., Яременко В. Д., Бевз Н. Ю., Сич І. А. Кізь О. В. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, з якими проводились спільні фізико-хімічні та біологічні дослідження. Особисто автором виконані:

- пошук та аналіз літературних джерел з методів синтезу та біологічної дії похідних 1,3,4-тіадіазолу;
- планування синтетичної частини роботи;
- синтез вихідних речовин 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів, 2-тіо-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів та 2-N-заміщених-5-(R-тіо)-1,3,4-тіадіазолів;
- розробка методик синтезу та одержання 2-(R-аміно)-5R-1,3,4-тіадіазолів; 2-N-феніламіно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів; 2-N(R)-5R¹-1,3,4-тіадіазол-2-іл-арилсульфонамідів; амідів 5-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; 5-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіо-1-фенону; та 5-R-ацил(арил)аміно-1,3,4-тіадіазол-2-тіолів; анілідів 5-R-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; анілідів 5-(R)-ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти; етилового естеру 5-(R)-ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти;
- розробка методик синтезу та одержання гетероциклічних сполук, що містять у своїй будові два 1,3,4-тіадіазольних цикли та поліядерних гетероциклічних сполук, що містять поряд з 1,3,4-тіадіазольним 1,2,3-тріазольний цикл, та дослідження їх властивостей;
- розробка синтетичної стратегії побудови поліядерних гетероциклічних похідних 1,3,4-тіадіазольного ряду, що містять у своїй структурі 1-фуран, 1-тіофен, 2-оксазол шляхом алкілування 5-R-1,3,4-тіадіазол-2-тіолів, одержаних взаємодією N-алкіл(арил)заміщених тіосемікарбазидів з дисульфідом карбону;
- обробка результатів синтетичних, фізико-хімічних, біологічних, докінгових досліджень та комп'ютерних розрахунків; систематизація, аналіз даних і оформлення результатів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на міжнародних науково-практичних конференціях студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових

лікарських засобів» (Харків, 23 квітня 2015 р., 21 квітня 2016 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Мінськ, 15-17 квітня 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальные вопросы образования, науки и производства фармации» (Ташкент, 19-20 листопада 2015); науково-практичній конференції молодих вчених і студентів ТДМУ ім. Абуалі ібн Сіно з міжнародною участю, присвяченій 25-річчю державної незалежності Республіки Таджикистан (Душанбе, 29 квітня 2016 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р.), дистанційній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Інновації в медицині і фармації – 2016» (Мінськ, жовтень-листопад 2016); міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Наука та медицина: сучасний погляд молоді» (Алмати, 20-21 квітня 2017 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О.М. Гайдукевича (Харків, 2018); XIII Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії (Харків, 2-4 травня 2018 р.); VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Advances of science» (Czech Republic, Karlovy Vary - Ukraine, Kyiv, 28 September).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових робіт, у тому числі 6 статей у наукових фахових виданнях, з них 2 – в іноземних виданнях, 1 патент на винахід, 12 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 204 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 160 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 39 таблицями, 23 рисунками та 50 схемами. Список використаних джерел містить 185 найменування, з них 32 кирилицею та 153 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

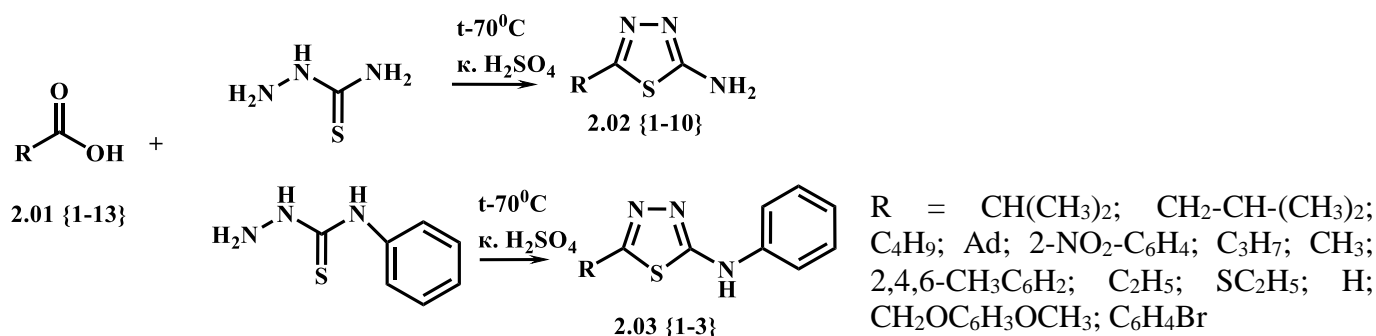
Розділ 1. Методи синтезу, біологічна активність та реакційна здатність похідних 1,3,4-тіадіазолу (огляд літератури)

В розділі представлено дані огляду наявної у літературно-патентних джерелах інформації стосовно біологічної активності, методів синтезу та фізико-хімічних властивостей похідних 1,3,4-тіадіазолу. Проаналізовані та систематизовані синтетичні підходи до одержання та хімічної модифікації заміщених 1,3,4-тіадіазолів з метою вибору раціональних методик для одержання цільових 2,5-дизаміщених похідних 1,3,4-тіадіазолу. Широкий спектр фармакологічної активності та перспектива практичного застосування в медицині та фармації стала безперечним обґрунтуванням для подальших досліджень сполук зазначеного класу.

Розділ 2. Синтез та фізико-хімічні властивості 2-N-заміщених -5-(R)-1,3,4-тіадіазолів

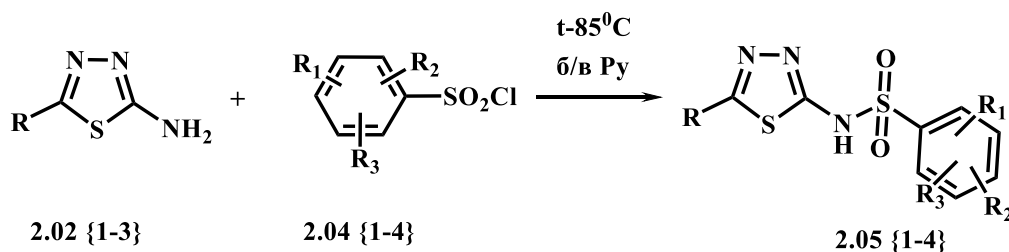
Заплановано розширення кола похідних 1,3,4-тіадіазолу на основі «базових скафолдів» 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів, 2-тіо-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів, а також поєднання їх з іншими гетероциклами та одержання 2-(R)аміно-5-(R¹)тіо-1,3,4-тіадіазолів. На основі аналізу даних літератури та логіко-структурного підходу обрано фармакофори для введення в структуру запланованих похідних. Шляхом циклізації тіо(фенілтіо)семікарбазиду та аліфатичних карбонових кислот **2.01 {1-13}** в присутності концентрованої сульфатної кислоти одержано ряд 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів **2.02 {1-10}** та 2-N-феніламіно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів **2.03 {1-3}** (схема 1).

Схема 1



Будову сполук **2.02 {1-5}** та **2.03 {1}** підтверджено комплексним використанням елементного аналізу, ІЧ- та ¹H ЯМР-спектроскопії, а їх індивідуальність – методом тонкошарової хроматографії в різних системах розчинників. Фізико-хімічні властивості ресинтезованих сполук **2.02 {6-10}** та **2.03 {2-3}** порівнювали з літературними даними. З метою одержання перспективних сполук антимікробної та діуретичної дії взаємодією 2-аміно-5-R-1,3,4-тіадіазолів **2.02 {1-3}** з ди- та три-заміщеними арилсульфохлоридами **2.04 {1-4}** в середовищі б/в піридину синтезовані 2-R¹-N(5-R)-1,3,4-тіадіазол-2-іларилсульфонаміди (схема 2).

Схема 2



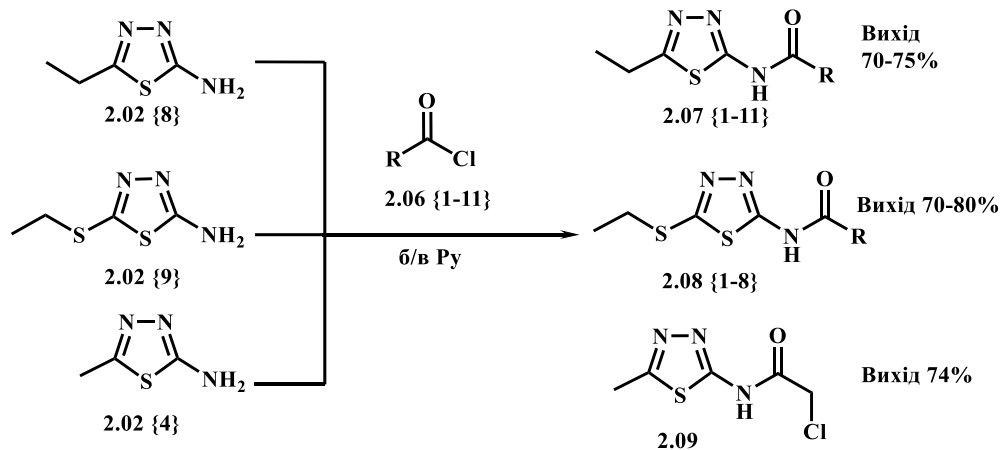
- 2.05 {1} R = C_3H_7 ; R₁ = 2-OCH₃; R₂ = 5-CH₃; R₃ = H
 2.05 {2} R = C_3H_7 ; R₁ = 2-CH₃; R₂ = 5-CH₃; R₃ = 4-CH₃
 2.05 {3} R = *sec*-C₄H₉; R₁ = 2-CH₃; R₂ = 5-CH₃; R₃ = 4-CH₃
 2.05 {4} R = *i*-C₃H₇; R₁ = Cy; R₂ = H; R₃ = H

Хімічна модифікація модельної сполуки 2-аміно-5-етил-1,3,4-тіадіазолу **2.02 {8}** проведена шляхом ацилювання хлорангідридами арил(алкіл) заміщених кислот

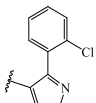
при температурі 85 °С впродовж 30 хвилин. З метою підвищення виходів цільових продуктів проведено синтез ще одним способом - безпосереднім ацилюванням 2-аміно-5-етил-1,3,4-тіадіазолу хлорангідридами без його попереднього виділення та додаткового очищення. Сполуки, одержані двома різними методами, мають однакові фізико-хімічні константи, дані ¹H ЯМР спектроскопії та не дають депресії температури плавлення. Додатково чистоту та структуру сполуки **2.07 {1}** підтверджено даними мас-спектрометричного аналізу, згідно з результатами якого, протонований молекулярний іон сполуки **2.07 {1}** має масу m/z 278.

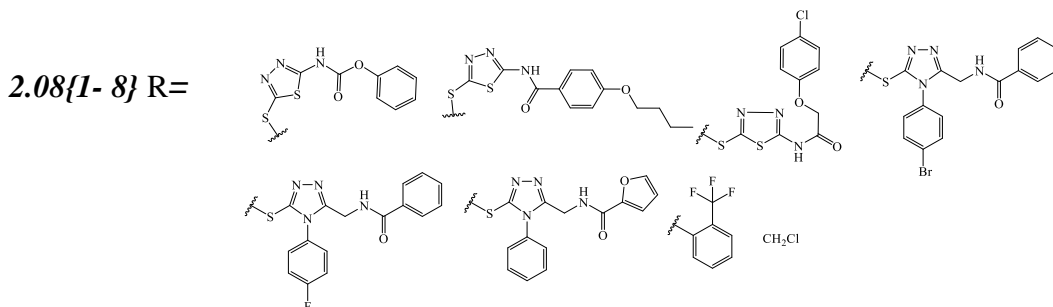
З метою одержання сполук, що містять у своїй будові два 1,3,4-тіадіазольних цикли та поліядерних гетероциклічних структур 1,3,4-тіадіазольного ряду, що містять цикл 1,2,3-тріазолу як потенційних антимікробних та протигрибкових лікарських засобів, проведено ацилювання базових структур 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів хлорангідридами гетерилзаміщених кислот. Реакцію проводили у відповідності зі схемою 3.

Схема 3



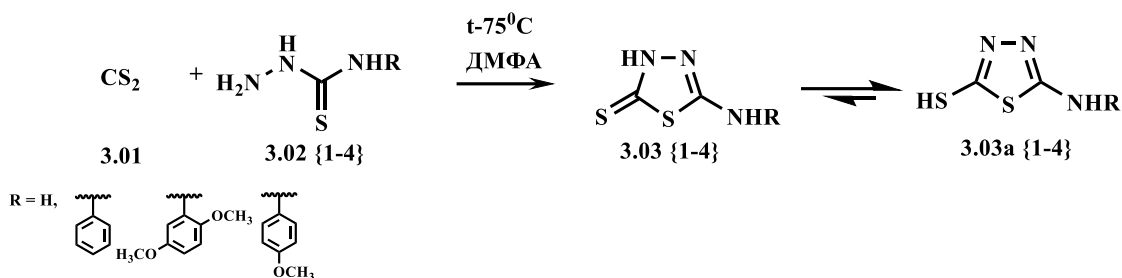
2.07 {1-11} R = CH₃; CH₂Cl; 2-NO₂-C₆H₄; CHBrCH₂CH₃; 4-Br-C₆H₄; 3-NO₂-C₆H₄; 3-Cl-C₆H₄;

2-CH₃-C₆H₄;  ; C₆H₄-4-SO₂-N-((CH₂)₂-CH₃)₂; C₆H₄-4-SO₂-N-(C₂H₅)₂



Розділ 3. Синтез та фізико-хімічні властивості 5-R-ацил(арил)аміно-1,3,4-тіадіазол (3H)-2-тіонів та дослідження реакцій їх алкілювання

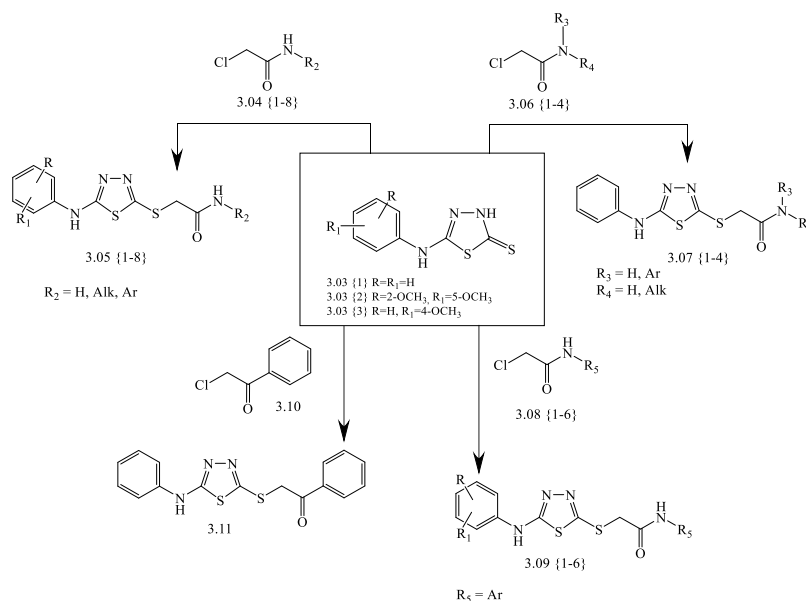
Синтез нових сполук заміщених в 5 положенні 1,3,4-тіадіазол-(3H)-2-тіонів **3.03 {1-4}** здійснено взаємодією дисульфіду карбону з N-арилзаміщеними тіосемікарбазидами **3.02 {1-3}** та незаміщеним тіосемікарбазидом **3.02 {4}** в ДМФА відповідно до схеми 4:



З метою прискорення перебігу циклізації реакційне середовище при перемішуванні нагрівали до температури 75°C . Цільові сполуки тіони **3.03 {1-4}** теоретично можуть існувати в тійних таутомерних формах **3.03a {1-4}**. В ^1H ЯМР спектрах усіх одержаних сполук наявний синглет протонів NH-групи у другому положенні 1,3,4-тіадіазольного циклу на ділянці 13,28 м.ч., що свідчить про утворення в результаті реакції тіонної таутомерної форми сполук **3.03 {1-4}**. З метою розширення арсеналу потенційних біологічно активних сполук протисудомної дії на основі 5-R-ариламіно-1,3,4-тіадіазол(3H)-2-тіонів нами вивчено реакції їх алкілування, досліджено вплив замісників у положенні 5 на проходження реакцій та синтезовано ряд сполук певної спільної структури анілідів 5-R-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти.

Алкілування трьох модельних сполук 5-R-ариламіно-1,3,4-тіадіазол-2-тіонів **3.03 {1-3}** проводили анілідами **3.04 {1-8}**, **3.08 {1-6}**, амідами **3.06 {1-4}** хлорацетатної кислоти та α -хлорацетофеноном **3.10** в умовах лужного каталізу в еквімолярних співвідношеннях. Взаємодія 5-R-ариламіно-1,3,4-тіадіазол (3H)-2-тіонів, що в умовах лужного каталізу існують в тійних таутомерних формах, з біелектрофільними реагентами відбувається за атомом Сульфуру, як найбільш нуклеофільному та стерично доступному реакційному центру. Реакцію проводили відповідно до схеми 5:

Схема 5



Взаємодією N-арилзаміщених ацильованих тіосемікарбазидів з дисульфідом карбону у ДМФА при температурі 40°C впродовж 4 годин синтезовано 5-R-ариламіно-1,3,4-тіадіазол(3H)-2-тіони **3.13 {1-16}** (Схема 6).

Розділ 4 Обговорення результатів біологічної активності синтезованих сполук

Дослідження діуретичної активності проводились в центральній науково-дослідній лабораторії (ЦНДЛ) Харківської медичної академії післядипломної освіти під керівництвом д. біол. н., ст. н. співр. Павлова С.Б.

Для дослідження були вибрані N- і S-заміщені похідні 1,3,4-тіадіазолу. З метою виявлення необхідності для прояву діуретичної активності присутності тійонної або аміногрупи, нами відібрані сполуки з вільною та заміщеною аміногрупою, з алкільним замісником або заміщеною арильними замісниками тійонною групою. Діуретичну дію досліджуваних речовин оцінювали у дозі 5 мг/кг за їх здатністю змінювати сечовиділення у дослідних групах тварин у порівнянні з групою інтактного контролю і розраховували у перерахунку на 100 г маси тіла тварин. Дослідження та аналіз отриманих експериментальних даних проводили в порівнянні з референс-препаратом Гіпотіазидом, що має виражену салуретичну дію (Рис. 1). Діуретичну дію встановлено у сполуки **3.05 {7}** впродовж першої та другої години експерименту. При оцінці загального об'єму за дві години збільшення діурезу було у 1,8 рази. Речовина **2.03 {4}** виявила практично таку ж активність, але внаслідок більшої розбіжності між результатами у тварин цієї групи та більшої похибки у групі, статистично значущі відмінності встановлені лише при аналізі загальної кількості за дві години.

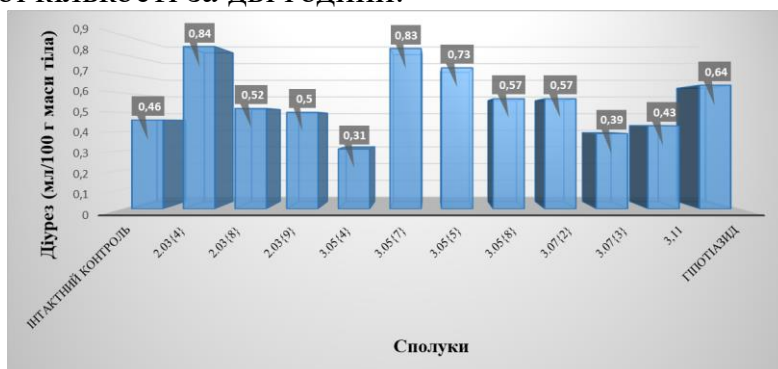


Рис. 1. Діуретична активність синтезованих речовин за показником кількості сечі на 100 г ваги тварин, мл

Аналізуючи отримані експериментальні дані ми дійшли висновку, що для подальших досліджень є перспективною речовина **2-((5-((2,5-диметокси-феніл)аміно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)тіо)-N-(нафтилен-1-іл)ацетамід 3.05 {7}**.

Дослідження протимікробної і протигрибкової активності проводили в ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова НАМНУ» під керівництвом с. н. с. Осолодченко Т. П. Дослідження бактеріо- та фунгістатичної дії проводилось для синтезованих сполук групи 2-R₁-N-(5-R-1,3,4-тіадіазол-2-іл)арилсульфонамідів та сполук, що містять у своєму складі два 1,3,4-тіадіазольних цикли та 1,3,4-тіадіазольний та 1,2,3-тріазольний цикли. Вивчення протимікробної і протигрибкової активності проводили на окремих тест-культурах мікроорганізмів, представниках як Грампозитивної, так і Грамнегативної мікрофлори. Враховуючи фізичні властивості речовин, а саме нерозчинність у воді, тестування проводили методом

дифузії в агар (методом дисків). Аналіз одержаних результатів показав, що висока активність характерна і для групи 2-R₁-N-(5-R-1,3,4-тіадіазол-2-іл)арилсульфонамідів, і для 4-R-N-(5-((2-((5-етилтіо)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно)-2-оксоетил)тіо)1,3,4-тіадіазол-2-іл)бензамідів по відношенню як до грампозитивних, так і до грамнегативних бактерій; тобто введення другого 1,3,4-тіадіазольного циклу та сульфамідної групи позитивно впливають на активність. Також всі сполуки проявили помірну протигрибкову активність по відношенню до *Candida albicans* ATCC 885/653. Дослідження дозволили виявити сполуку **2.08 {2}** (4-бутоксі-N-(5-((2-((5-етилтіо)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно)-2-оксоетил)тіо)1,3,4-тіадіазол-2-іл)бензамід) з високою антимікробною активністю для подальших досліджень.

Сплановано та здійснено фармакологічний скринінг 23 синтезованих речовин на предмет виявлення протисудомної активності. Вивчення протисудомної активності проводилось на кафедрі фармакології та лікарської токсикології НФаУ під керівництвом проф. Штриголя С.Ю. Критеріями оцінки протисудомного ефекту на моделі коразолових судом у мишей були: середня важкість судомної реакції, тривалість латентного періоду та % летальності. Як показали результати експериментального фармакологічного дослідження усі речовини, що вивчались, здатні тією чи іншою мірою знижувати судомну готовність тварин. Перспективними виявились 14 сполук 5-заміщених похідних 2-(R-феніламіно)-1,3,4-тіадіазолу, серед яких виявлено «сполуки-хіти» **3.09 {3}**, **2.07 {1}**, **2.08 {7}**, які подовжують тривалість латентного періоду та знижують важкість судом в порівнянні з контролем та здатні захищати тварин від загибелі у нижчій дозі ніж референс препарат Депакін (рис. 2).

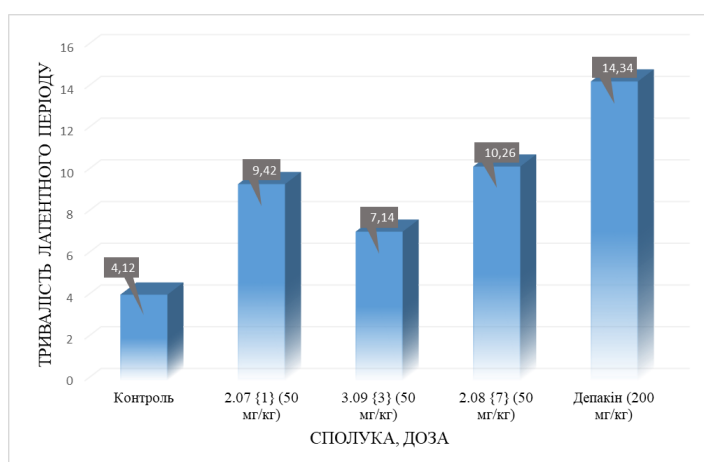


Рис. 2. Порівняльний вплив «сполук-хітів» **2.07 {1}**, **3.09 {3}**, **2.08 {7}** у дозі 50 мг/кг, та депакіну у дозі 200 мг/кг на тривалість латентного періоду судом

Слід відзначити, що субстанція **3.09 {3}** за рівнем зниження судомної готовності перевищує референс-препарат – Депакін (рис 3). Сполуки **2.07 {1}** та **2.08 {7}** також помітно знижують важкість судом в порівнянні з контролем.

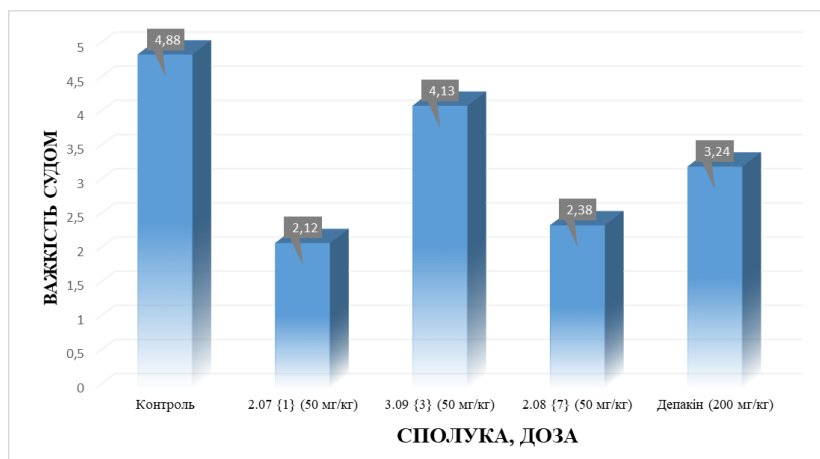
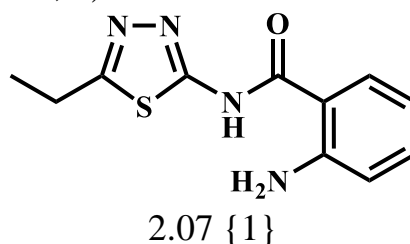


Рис. 3. Порівняльний вплив «сполук-хітів» **3.09 {3}**, **2.07 {1}**, **2.08 {7}** та Депакіну на важкість судомної реакції

Аналізуючи всі одержані результати, для подальших досліджень відібрана та запатентована «сполука-лідер» N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід **2.07 {1}**, яка за результатами фармакологічного дослідження перевищує активність референс препарату, оскільки на відміну від Депакіну, забезпечує 100% захисний ефект у значно меншій дозі (рис. 2, 3).



Сполука **2.07 {1}** здатна захищати тварин від коразолових судом у нижчій дозі 50 мг/кг, що проявлялося в подовженні латентного періоду судом (в 2,3 рази, $p < 0,05$) і зменшенні їх важкості в порівнянні з контролем в середньому в 2,3 рази, а також у зменшенні летальності (зі 100% у контролі до 20%, $p < 0,05$). Крім того, «сполука-лідер» зменшувала тривалість судомного нападу в 2 рази в порівнянні з контролем і подовжувала час виживання тварин в 1,5 рази. Запатентована субстанція N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід за результатами комп'ютерного тестування відноситься до 4 класу токсичності.

З метою виявлення інформативних молекулярних дескрипторів, що відповідають за прояв сполукою антиконвульсивної активності, був проведений регресійний аналіз. Для розрахунку 3D дескрипторів геометрію молекул було оптимізовано з побудовою молекул найбільш стабільної конформації з використанням програмного пакету Hyper-Chem 7.5. На основі QSAR-аналізу отримано ряд статистично вірогідних QSAR-моделей, що призначені для доекспериментального прогнозування ефективних антиконвульсантів в ряду 5-заміщених похідних 2-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазолу. У результаті проведених досліджень одержано двох-, трьох-, чотирьох-параметричні QSAR-моделі, точність, надійність та прогностична здатність яких підтверджені статистичними критеріями. Встановлено, що вагомий вклад у прояв речовиною протисудомної

активності мають дескриптори: енергія нижчої вакантної молекулярної орбіталі, електронна енергія, об'єм молекули та ліпофільність. Залежність експериментальної і прогнозованої протисудомної активності для двопараметричних QSAR-моделей з найвищою прогностичною здатністю (з найбільшим коефіцієнтом кореляції та найкращими статистичними показниками) описується рівняннями:

QSAR-модель 1 Латентний період= $1,77 + 0,02 EE + 1,57 P + 0,05 V$

($n=014$; $r=0,877$; $s=0,98$; $F=11,13$; $Q^2=0,386$; $SPRESS=1,59$)

QSAR-модель 2 Важкість судом= $7,30 + 0,01 EE + 0,16R - 0,018 V$

($n=014$; $r=0,868$; $s=0,37$; $F=10,23$; $Q^2=0,4$; $SPRESS=0,58$)

На рис. 4 (А, В) наведено графічне порівняння величин прогнозованої та експериментальної активності для найбільш перспективних двопараметричних QSAR-моделей 1 та 2.

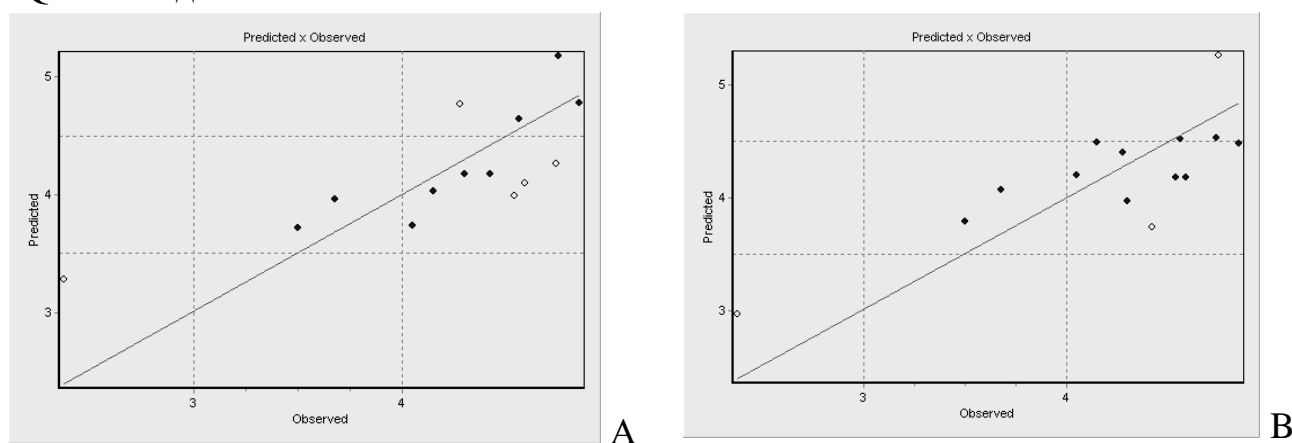


Рис. 4 Графічне порівняння величин прогнозованої та експериментальної активності для (А) QSAR-моделі 1 та (В) QSAR-моделі 2

Протисудомна активність досліджуваних сполук залежить від значень електронної енергії, рефрактивності, поляризуємості молекули, енергій граничних молекулярних орбіталей та коефіцієнту розподілу вода-октанол ($\log P$), причому важкість судом зменшується та латентний період подовжується при збільшенні величин ліпофільності, електронної енергії та об'єму молекули. І навпаки, збільшення поляризуємості негативно впливає на протисудомну активність синтезованих сполук. Тривалість судомного нападу та час виживання тварин скорочуються при зменшенні величини E_{HOMO} , тобто при збільшенні величин від'ємних значень енергії нижчої вакантної молекулярної орбіталі, що відповідає посиленню електроноакцепторних властивостей сполук.

Проведені докінгові дослідження «сполуки-лідера» до судомних біомішеней (рецептора GAMK_A і ферменту GAMK -амінотрансферази). У результаті докінгових досліджень в кристал протеїну 1GNU одержані значення оцінювальних скорингових функцій (ΔG) для комплексів, які утворюються між рецептором GAMK_A та досліджуваною сполукою N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітро-

бензамідом ($\Delta G = -5.72$ ккал/моль), фенобарбіталом та рецептором ГАМК_A ($\Delta G = -4.75$ ккал/моль), і карбамазепіном та рецептором ГАМК_A ($\Delta G = -5.37$ ккал/моль).

Величина скорингової функції досліджуваної сполуки є співмірною та навіть перевищує значення відповідних функцій препаратів порівняння (карбамазепіну та фенобарбіталу), що свідчить про термодинамічну ймовірність та енергетичну сприятливість утворення комплексів між молекулою досліджуваної речовини та зазначеним рецептором, тобто потенційно сполука має афінитет до ГАМК_A рецептора, що може бути аргументом на користь ГАМК ергічного механізму її дії.

Аналіз комплексу перспективної сполуки N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду та протеїну 1GNU показав, що взаємодія ліганду з рецептором відбувається здебільшого в середині активного сайту за рахунок гідروفобних контактів з етильним радикалом та ароматичними фрагментами ліганду: 1,3,4-тіадіазольним циклом та фенілом, замісником у 5-му положенні гетероциклу, які обидва глибоко занурені у гідروفобну кишеню, утворену амінокислотними залишками лізину Lys 46, Lys 47, Lys 48 (рис. 5). Крім гідروفобної взаємодії, важливим для стабілізації комплексу є утворення водневих зв'язків між NH групою ліганду та карбонільною групою амінокислоти активного сайту рецептора. В той же час карбонільна група ліганду знаходиться у глибині акцепторного сайту 1GNU і не бере участі в утворенні водневих зв'язків.

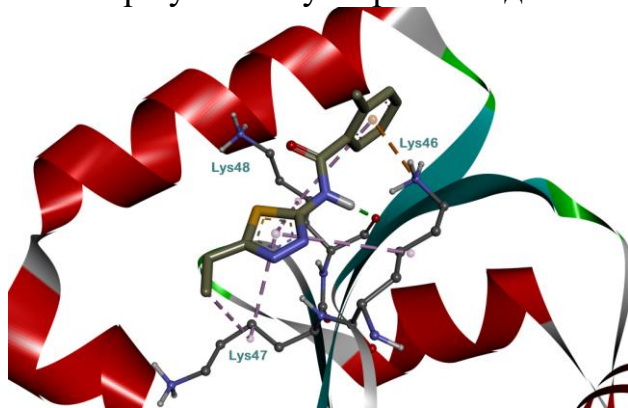


Рис. 5 N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід в активному сайті протеїну ГАМК_A рецептора (PDB ID: 1GNU).

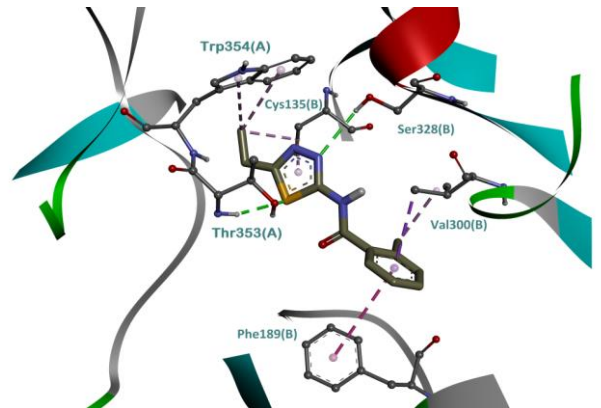


Рис. 6 N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід в активному сайті ферменту ГАМК-амінотрансферази (PDB ID: 1OHW).

Досліджувана «сполука-лідер» також має афінитет до ферменту ГАМК-амінотрансферази. Про це свідчить значення скорингової функції утворення комплексу досліджуваної молекули ($\Delta G = -8.29$ ккал/моль) з протеїном 1OHW фермента ГАМК-АТ, що значно перевищує значення енергії утворення аналогічного комплексу з препаратом порівняння вальпроєвою кислотою ($\Delta G = -5.29$ ккал/моль).

У разі зв'язування з ферментом ГАМК-амінотрансферазою, нековалентні зв'язки утворюються між лігандом і амінокислотними залишками цистеїну Cys135, валіну Val 300(B), серину Ser328 і фенілаланіну Phe189 (рис. 6). Додатковій стабілізації комплексу сприяє утворення гідروفобних контактів етильного радикалу з триптофаном Trp354. Заміна протону в фенільному радикалі на нітрогрупу збільшила ефективність ліганду для сайту гідروفобного зв'язування з валіном Val300. Комплекс, що утворюється, стабілізується також за рахунок π -H,

π -катіонної або π - π взаємодії фенільного кільця досліджуваної молекули з амінокислотами Trp354 і Phe189. Водневі зв'язки утворюють атоми Нітрогену та Сульфуру 1,3,4-тіадіазольного циклу та Trp353(A) та Ser328(B). Одержані результати молекулярного докінгу свідчать про можливість утворення стійких комплексів N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду з судорожними мішенями (рецептором ГАМК_A і ферментом ГАМК-амінотрансферазою).

РОЗДІЛ 5 Розробка методик контролю якості N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)- 2-нітробензаміду як перспективної субстанції протисудомної дії

При вивченні фізичних властивостей N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду встановлено, що досліджувана сполука розчинна в 96% етанолі Р, нерозчинна у воді і хлороформі. Температура плавлення становить 260-262 °С.

Для доведення будови і ідентифікації синтезованої сполуки запропоновані методи ІЧ-, УФ- та ¹Н ЯМР спектроскопії. Характеристичні смуги ІЧ-спектру сполуки **2.07 {1}** спостерігаються при 685-687 см⁻¹, 1425-1487 см⁻¹, 1523-1548 см⁻¹, 1682 см⁻¹, 3151 см⁻¹. УФ-спектр поглинання 0,002% розчину субстанції в 0,1М розчині натрію гідроксиду на ділянці від 220 нм до 350 нм характеризується наявністю двох максимумів поглинання при довжинах хвиль 222 нм і 282 нм. Для збільшення специфічності УФ-спектра і методики знайдено питомий показник поглинання в максимумі за довжини хвилі 282 нм, який становить від 617 до 641. ¹Н ЯМР спектр субстанції N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду характеризується наявністю великих сигналів при 1,34 м.ч. (триплет), 3,05 м.ч. (квадруплет), 7,87-8,22 м.ч. (мультиплет), 13,25 м.ч. (синглет). Виявлення супровідних домішок у субстанції запропоновано проводити методом тонкошарової хроматографії, використовуючи метод внутрішньої нормалізації: нерухома фаза – пластинки на алюмінієвій основі із шаром силікагелю GF254, рухома фаза – суміш розчинників толуол-ацетон-етанол-25% розчин аміаку у співвідношенні 45:45:7:3, детектування – в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм або виявленням розчином калію йодовісмутату.

Розроблено методику кількісного визначення субстанції N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду об'ємним методом - кислотно-основного титрування в неводному середовищі з потенціометричним визначенням кінцевої точки титрування. Для запропонованої методики визначена повна невизначеність пробопідготовки, яка не перевищує повної невизначеності результатів аналізу значення (1.00%): $0,29\% \leq \Delta \max AS\% = 1.00\%$ та метрологічна обробка результатів. Доведено, що умови пробопідготовки не впливають на достовірність результатів, отриманих за методикою і прецизійність складає менше 1/3 від $\Delta AS \max$.

Розроблено методику кількісного визначення перспективної субстанції методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці методом питомого показника поглинання. Випробовування рекомендовано проводити у 0,1 М розчині натрію гідроксиду за довжини хвилі 282 нм. Вивчені валідаційні характеристики свідчать про коректність методики, повна невизначеність пробопідготовки не перевищує критичне значення $\Delta SP = 0,79\% \leq 0,32\%$. Параметри лінійності відповідають вимогам ДФУ в діапазоні концентрацій від

80% до 120% ($a = 0,3103 \leq 1,35$, $r = 0,9998 \geq 0,9993$), отримані результати правильності та збіжності методики кількісного визначення не перевищують критеріїв прийнятності методики.

ВИСНОВКИ

В роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі синтезу нових біологічно активних сполук серед 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу. Вперше розроблено препаративні методики та здійснено синтез 81 не описаної у літературі сполуки, доведена їх структура, вивчені фізико-хімічні властивості, спланований фармакологічний скринінг, за результатами якого відібрані речовини з високою протисудомною, діуретичною, протимікробною та протигрибковою дією.

1. Розроблено препаративні методики циклізації N-алкіл(арил)заміщених тіосемікарбазидів з карбоновими кислотами та дисульфідом карбону для синтезу вихідних 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів, 2-N-феніламіно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів та 5-R-1,3,4-тіадіазол(3H)-2-тіонів як напівпродуктів подальшого синтезу.

2. Вперше шляхом хімічної модифікації аміногрупи в 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолах синтезовані неописані у літературі 2-N(R)-5R1-1,3,4-тіадіазол-2-іл-арилсульфонаміди та 2-N(R)-5-етил-1,3,4-тіадіазоли.

3. Розроблено препаративні методики ацилювання 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолу хлорангідрідами арил(алкіл, гетерил)заміщених кислот, в результаті чого одержано 4-R-N-(5-((2-((5-етилтіо)-1,3,4-тіадіазол-2-іл)аміно)-2-оксоетил)тіо)1,3,4-тіадіазол-2-іл) бензаміди, що містять у своїй будові два цикли 1,3,4-тіадіазолу та поліядерні гетероциклічні структури, що містять у своїй структурі поряд з тіадіазольним 1,2,3-тріазольний цикл.

4. Досліджено реакційну здатність 5-R-(арил)ациламіно-1,3,4-тіадіазол(3H)-2-тіонів та шляхом їх алкілювання отримані S-алкіловані продукти: 5-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіо-1-фенон, аміди 5-R-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіо-ацетатної кислоти, та поліядерні гетероциклічні сполуки, що містять у своїй структурі поряд з 1,3,4-тіадіазольним циклом 2-фурильний, 2-тієнільний, 4-1,2-оксазольний радикали.

5. Структуру синтезованих речовин підтверджено інструментальними методами (ІЧ-, УФ/Вид-, ¹H ЯМР-спектроскопії, мас-спектрометрії), чистоту – методом ТШХ.

6. За результатами фармакологічного скринінгу синтезованих 2,5-дизаміщених похідних 1,3,4-тіадіазолу виявлена 1 сполука з високою антимікробною активністю та 9 сполук, що мають чутливість по відношенню як до грампозитивних, так і до грамнегативних бактерій, 10 сполук з помірною протигрибковою активністю, сполука з вираженою діуретичною та 14 сполук з високою протисудомною дією, серед яких виявлено 3 «сполуки-хіти».

7. На основі QSAR-аналізу виявлено дескриптори, що проявили найбільш вагомий вклад у прояв речовиною антиконвульсивної дії та отримано ряд статистично вірогідних QSAR-моделей, що призначені для доекспериментального

прогнозування ефективних антиконвульсантів в ряду 5-заміщених похідних 2-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазолу.

8. Розроблено проект МКЯ на N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід як перспективну сполуку антиконвульсивної дії, яка відноситься до 4 класу токсичності згідно результатів комп'ютерного прогнозу, за результатами молекулярного докінгу має ГАМК-ергічний механізм дії та рекомендована для поглибленого вивчення.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові статті

1. Синтез, фізико-хімічні властивості та прогноз біологічної активності нових похідних 2-R1-N-(5-R-1,3,4-тіадіазол-2-іл)бензолсульфонамідів / Сич І. В., Перехода Л. О., Єр'оміна З. Г. *Annals of Mechnikov Institute*, 2015. №4. С. 75-81 (Особисто аспірантом зроблено: синтез досліджуваних речовин, доведення їх будови, обговорення експериментальних даних).

2. Synthesis of 5-substituted 1,3,4-thiadiazol-2-yl-sulfanylacetic acid derivatives / Sych I. V., Perekhoda L. A., Tsapko T. O. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*. 2015. vol. 2. №2. P.53-59 (Особисто аспірантом зроблено: синтез досліджуваних речовин, доведення їх будови, обговорення експериментальних даних).

3. The synthesis and physicochemical properties of new derivatives of 5-R-phenylamino-2-mercapto-1,3,4-thiadiazole / I. V. Sych, L. O. Perekhoda, Z. G. Ieromina, L. O. Grinevich, N. P. Kobzar, I. V. Drapak. *Вісник фармації*. 2016. №1(85). С. 24–28 (Особисто аспірантом зроблено: синтез досліджуваних речовин, доведення їх будови, обговорення експериментальних даних).

4. Використання підходів *in silico* для раціонального дизайну потенційних антиконвульсантів з групи 5 заміщених 2-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазолів / Л. О. Перехода, І. В. Драпак, І. В. Сич, І. В. Цапко. *ScienceRise Pharmaceutical Science*. 2016. №4(19). С. 44–50 (Особисто аспірантом зроблено: проведено SAR та QSAR аналіз).

5. Research of Diuretic Action of 5-Substituted Derivatives of 1,3,4,-Thiadiazole / I. V. Sych, A. V. Berezniakov, L. O. Perekhoda, S. G. Taran, V. D. Yaremenko. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*. 2017. №3(2). С. 112–115 (Особисто аспірантом зроблено: синтез досліджуваних речовин, доведення їх будови, обговорення експериментальних даних вивчення діуретичної активності, встановлення зв'язку «структура-дія»).

6. Development of quality control methods of promising anticonvulsant / I. Sych, N. Bevez, I. Sych, M. Rahimova, V. Yaremenko, L. Perekhoda. *ScienceRise Pharmaceutical Science*. 2018. №6(16). – С. 13-21 (Особисто аспірантом зроблено: проведено кількісне визначення та проведено статистичний аналіз).

Патент

1. Перехода Л. О., Сич І. В., Штриголь С. Ю., Таран А. В., Драпак І. В. N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід, що проявляє протисудомну активність: пат. 117931 Україна. № а 2016 02439; заявл. 25.09.2017; опубл. 25.10.2018, бюл. № 20 (Особистий внесок – брав участь в патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту).

Тези доповідей

1. Search for potential anticonvulsants among the derivatives of 1,3,4-thiadiazole / I. V. Sych, L. O. Perekhoda, Z. G. Yeromina, L. O. Grinevich, O. G. Kyslytsia. *Topical issues of new drugs development: abstracts of International scientific and practical conference of young scientists and student, Kharkiv, April 23, 2015. Kharkiv, «NUPh», 2015. P. 48.*

2. Получение 5-замещенных производных 2-амино-1,3,4-тиадиазола как полупродуктов в синтезе новых БАВ / И. В. Сыч, Л. А. Перехода, З. Г. Еремина, Л. А. Гриневич. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации: мат. Республиканской науч.-практ. конф. с межд. участием, Ташкент, 2015. С. 80-81.*

3. Современные подходы к целенаправленному синтезу биологически активных веществ гетероциклической природы / Л. А. Перехода, И. В. Сыч, И. М. Кадамов, А. И. Северина, А. И. абу Шарк, С. Хайдар, Н. Б. Саидов. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации-2015: сб. тезисов докладов 69-й науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с международным участием. Минск, 2015. С. 1693.*

4. Синтез и физико-химические свойства новых 5 замещенных производных 2-тиоэтил- 1,3,4-тиадиазола / Л. А. Перехода, И. В. Сыч, Л. А. Гриневич, З. Г. Еремина, И. В. Драпак. *Инновации в медицине и фармации-2016: мат. дист. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. Минск, 2016 – С. 819*

5. Синтез и противосудорожная активность замещенных производных 5-этил-1,3,4-тиадиазола / Сыч И. В., Сыч И. А., Гриневич Л. А. *Медицинская наука: достижения и перспективы: мат. научн.-практ. конф. молодых ученых и студ. ТГМУ им. Абуали ибн Сино с междунар. участием, посвящ. 25-летию гос. независимости Республики Таджикистан, Душанбе, 29 апреля 2016. Душанбе, 2016. С. 367-368.*

6. *In silico* studies in directed synthesis of perspective anticonvulsants / R. Gotmy, I. V. Drapak, I. V. Sych, T. O. Tsapko, L. O. Perekhoda. *Topical issues of new drugs development, Kharkiv, April 21, 2016. Vol. 1. Kharkiv, «NUPh», 2016. P. 42-43.*

7. Синтез та протисудомна активність заміщених похідних 2-аміно-5-етилтіо-1,3,4-тіадіазолу / І. В. Сич, І. В. Драпак, З. Г. Єрьоміна, Л. О. Гриневіч, Л. О. Перехода. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи: матер. VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 13-16 вересня 2016 р. У 2 т. Харків, «НФаУ», 2016. Т.1. С. 50.*

8. Синтез 2-меркапто-5-(R)-1,3,4-тиадиазолов как базовых блоков для получения новых БАВ / И. В. Сыч, И. А. Сыч, З. Г. Еремина, Н. П. Кобзарь. *International Student's Journal of Medicine. Almaty, April 20-21, 2017. Spec. Iss. Almaty, 2017. С. 288–289.*

9. Розробка методів контролю якості потенційної протисудомної субстанції N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду / І. В. Сич, Л. О. Перехода, І. А. Сич, Л. О. Гриневіч, З. Г. Єрьоміна. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: тези доповідей Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фарм. наук, проф. О. М. Гайдукевича (12-13 квітня 2018 р.). – Х. : НФаУ, 2018. С. 349.*

10. Докінгові дослідження механізму дії потенційного антиконвульсанту N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду / Л. О. Перехода, І. В. Сич, І. А. Сич, Л. О. Гриневиц, З. Г. Єрьоміна, М. В. Рахімова. *XIII Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії*. Збірка праць. – м. Харків: Ексклюзив, 2018. С. 9,35.

11. Прогнозування вірогідного механізму антиконвульсивної дії N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-нітробензаміду з використанням докінгових досліджень / І. В. Сич, М. В. Рахімова, І. А. Сич, Л. О. Гриневиц, З. Г. Єрьоміна, Л. О. Перехода. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: мат. VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р. Тернопіль, «ТДМУ», 2018. С. 11-12.

12. Study of antimicrobial and antifungal activity in the series of derivatives of 1,3,4-thiadiazole / I. V. Sych, M. M. Suleiman, V. D. Yaremenko, O. V. Kiz, N. P. Kobzar, L. O. Perekhoda. *ADVANCES OF SCIENCE: Proceeding of articles the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary - Ukraine, Kyiv, 28 September, 2018. Czech Republic, Karlovy Vary – Ukraine, Kyiv, 2018. P. 815-817.*

АНОТАЦІЯ

Сич І. В. Синтез, хімічні та біологічні властивості 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу. – 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, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена синтезу, дослідженню фізико-хімічних та біологічних властивостей 81 нової сполуки 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу. Запропоновані препаративні способи одержання і здійснено синтез означених сполук. Для підтвердження їх будови використані елементний аналіз, спектроскопія ¹H ЯМР, мас-спектрометрія, УФ- та ІЧ-спектроскопія. За результатами фармакологічного скринінгу виявлені сполуки з високою антимікробною, помірною протигрибковою активністю, вираженою діуретичною та високою протисудомною дією. На основі проведеного QSAR-аналізу виявлені важливі закономірності взаємозв'язку “структура – протисудомна дія” та рекомендована для подальшого дослідження «сполука-лідер» N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід, протисудомна активність якої статистично достовірно перевищує активність референс препарату Депакіну. Сполука відноситься до 4 класу токсичності згідно результатів комп'ютерного прогнозу. Отримані результати молекулярного докінгу «сполуки-лідера» до судомних біомішеней свідчать на користь ГАМК-ергічного механізму її дії. Розроблено проект МКЯ на N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід як перспективну сполуку антиконвульсивної дії.

Ключові слова: 2,5-дизаміщені похідні 1,3,4-тіадіазолу, ЯМР спектроскопія, синтез, молекулярний докінг, QSAR-аналіз, діуретична активність, протисудомна активність, протигрибкова активність, антимікробна активність, біологічно активні речовини.

АННОТАЦИЯ

Сыч И. В. Синтез, химические и биологические свойства 5-замещенных производных 2-тио(амино)-1,3,4-тиадиазола. – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия, Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2019.

Диссертационная работа посвящена синтезу, исследованию физико-химических и биологических свойств 5-замещенных производных 2-тио(амино)-1,3,4-тиадиазола. Путем циклизации карбоновых кислот и тио(фенилтио)семикарбазида синтезированы полупродукты синтеза: производные 2-амино-1,3,4-тиадиазола с разной длиной алкильной цепи заместителя в 5 положении и 2-N-фениламино-5(R)-1,3,4-тиадиазолы. Проведена химическая модификация аминогруппы в 2-амино-5(R)-1,3,4-тиадиазолах и синтезированы неописанные в литературе 2-N(R)-5R₁-1,3,4-тиадиазол-2-ил-арилсульфонамиды. Предложено два метода ацилирования 2-амино-5(алкил)-1,3,4-тиадиазолов хлорангидридами ароматических карбоновых кислот и получены производные 2-N-(R)-5-этил-1,3,4-тиадиазола (с выделением и без предварительного выделения и дополнительной очистки полупродукта 2-амино-5-этил-1,3,4-тиадиазола). Путем ацилирования 2-амино-5-тиоэтил-1,3,4-тиадиазола хлорангидридами арил(гетерил)замещенных карбоновых кислот получены неописанные в литературе 4-R-N-(5-((2-((5-этилтио)-1,3,4-тиадиазол-2ил)амино)-2-оксо-этил)-тио)1,3,4-тиадиазол-2ил) бензамиды и полиядерные гетероциклические системы на основе 1,3,4-тиадиазольного цикла, содержащие в своей структуре 1,2,3-триазольный цикл. Разработаны препаративные методики и путем взаимодействия N-алкил(арил)замещенных тиосемикарбазидов с дисульфидом карбона впервые получены новые 5-R-1,3,4-тиадиазол(3*H*)-2-тионы. Впервые путем циклизации N-гетерилзамещенных ацилированных тиосемикарбазидов с дисульфидом карбона и дальнейшего алкилирования полученных продуктов разработана эффективная стратегия построения полиядерных систем на базе 1,3,4-тиадиазольного цикла, содержащих в своей структуре другие пятичленные гетероциклы (фуран, тиофен, 1,2-оксазол). Исследована реакционная способность 5-R-1,3,4-тиадиазол(3*H*)-2-тионов в реакциях алкилирования хлорацетофеноном и амидами хлоруксусной кислоты, получен 5-фениламино-1,3,4-тиадиазол-2-илтио-1-фенон и амиды 5-R-фениламино-1,3,4-тиадиазол-2-ил-тиоуксусной кислоты. Определены оптимальные условия проведения реакции алкилирования 5-R-(арил)-ациламино-1,3,4-тиадиазол(3*H*)-2-тионов, которые в этаноле в условиях щелочного катализа могут существовать в форме солей меркаптоизомеров. Впервые предложены препаративные методики синтеза производных 5-R-ациламино-1,3,4-тиадиазол-2-илтиоацетатной кислоты путем алкилирования амидами хлоруксусной кислоты без выделения и дополнительной очистки полупродуктов. Структура всех синтезированных веществ подтверждена инструментальными методами (ИК, УФ, ¹H ЯМР-спектроскопии), чистота - методом ТСХ.

По результатам фармакологического скрининга синтезированных 2,5-дизамещенных производных 1,3,4-тиадиазола обнаружено одно соединение с высокой антимикробной активностью и 9 соединений, имеющих чувствительность по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям, 10 соединений с умеренной противогрибковой активностью, соединение с выраженным диуретическим действием и 14 соединений с высокой противосудорожной активностью, среди которых обнаружено 3 «соединения-хита».

На основе проведенного QSAR-анализа выявлены важные закономерности взаимосвязи "структура - противосудорожное действие" и для дальнейших исследований рекомендовано «соединение-лидер» N-(5-этил [1,3,4] тиadiaзол-2-ил)-2-нитробензамид, противосудорожная активность которого статистически достоверно превышает активность референс препарата Депакина. Соединение имеет благоприятные параметры биодоступности согласно «Правил Липински», относится к 4 классу токсичности по данным результатов компьютерного прогноза по классификации К. К. Сидорова. Полученные результаты молекулярного докинга «соединения-лидера» к судорожным биомишеням (рецептору ГАМК_A и ферменту ГАМК-аминотрансферазе) свидетельствуют о термодинамической вероятности образования комплексов между ними, что может быть аргументом в пользу ГАМК-эргического механизма его действия. Разработан проект МКЯ на N-(5-этил[1,3,4]тиадиазол-2-ил)-2-нитробензамид как перспективное соединение антиконвуль-сивного действия.

Ключевые слова: синтез, 2,5-дизамещенные производные 1,3,4-тиадиазола, ЯМР спектроскопия, молекулярный докинг, QSAR-анализ, диуретическая активность, противосудорожная активность, противогрибковая активность, антимикробная активность, биологически активные вещества.

ANNOTATION

I.V. Sych. Synthesis, chemical and biological properties of 5-substituted derivatives of 2-thio(amino)-1,3,4-thiadiazole. – Qualifying scientific work issued as a manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in Pharmaceutics, specialty 15.00.02 “Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy”. – National Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The thesis is devoted to synthesis, investigation of physicochemical and biological properties of 81 new 5-substituted derivatives of 2-thio(amino)-1,3,4-thiadiazole. We have proposed preparative methods for obtaining and synthesized the indicated compounds. Elemental analysis, ¹H NMR spectroscopy, UV and IR spectroscopy were used to confirm their structure. Pharmacological screening of obtained compounds revealed among them substances with high diuretic, antimicrobial, antifungal and anticonvulsive activity. The studies on the “structure–anticonvulsive activity” relationships were conducted. On the basis of the QSAR analysis, the important patterns of the "structure-anticonvulsant activity" relationship were identified and recommended for further study, the "leader compound" of N-(5-ethyl- [1,3,4] thiadiazol-2-yl)-2-nitrobenzamide. The leading compound with high anticonvulsive activity, which statistically significantly

exceeds the activity of the reference drug Depakine was selected and patented. Development of the methods of quality control has been carried out for the leader compound. Suggested procedures for identification, testing of impurities and active ingredient assay in the substance N-(5-ethyl-[1,3,4]thiadiazol-2-yl)-2-nitrobenzamide can be used in the preparation of analytical normative documentation.

Key words: 2,5-disubstituted derivatives of 1,3,4-thiadiazole, NMR spectroscopy, synthesis, molecular docking, QSAR analysis, diuretic activity, anticonvulsant activity, antifungal activity, antimicrobial activity, bioactive substances.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГАМК	Гамма аміномасляна кислота
м.ч.	Мільйонна частка
ІЧ	Інфрачервона
УФ	Ультрафіолетова
ДМФА	Диметилформамід
ТШХ	Тонкошарова хроматографія
ЯМР	Ядерно-магнітний резонанс
MS	Мас-спектрометрія
ЕЕ	Електронна енергія
Р	Поляризуємість
V	Об'єм молекули
R	Рефрактивність
SAR	Structure – Activity Relationship
QSAR	Quantitative Structure – Activity Relationship