

DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2024.3.14866>

УДК 547.789.1:615.012.1]073/.076

СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ТІОПІРАНО[2,3-*d*]ТІАЗОЛУ З ІНДОЛЬНИМ ФРАГМЕНТОМ У МОЛЕКУЛАХ**О.-М. В. Федусевич, А. В. Лозинський***Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького**olgafedysevuch1998@gmail.com*

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
25.06.2024Після доопрацювання / Revised:
26.07.2024Прийнято до друку / Accepted:
29.07.2024**Ключові слова:**тіопірано[2,3-*d*]тіазоли;
протирадикальна активність;
SwissADME.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Здійснити синтез тіопірано[2,3-*d*]тіазолів з індольним фрагментом та дослідити їх протирадикальну активність у межах програми DTP NCI Національного інституту раку в США.**Матеріали і методи.** Протягом дослідження використано методи органічного синтезу, виконано фізико-хімічний аналіз синтезованих сполук. Протирадикальну активність проведено згідно з методологією програми DTP NCI Національного інституту раку в США. Для сполуки-хіта 3.7 проведено *in silico* скринінг лікоподібності з використанням онлайн-сервісу SwissADME.
Результати й обговорення. В результаті скринінгу протирадикальної активності було ідентифіковано сполуку-хіт 3.7, яка проявила найвищий рівень активності на мікромолярному рівні відносно ліній лейкемії K-562, SR, епітеліального раку лінії HCT-116, раку ЦНС U251, яєчників OVCAR-8 та раку молочної залози лінії HS 578T.**Висновки.** Результати свідчать про наявність вираженої протирадикальної активності тіопірано[2,3-*d*]тіазолів з індольним фрагментом, що актуалізує поглиблене вивчення цього класу гетероциклічних сполук.

Вступ. Конденсовані похідні на основі тіазолу/тіазолідиноу є предметом зацікавлення багатьох наукових груп, які працюють у галузі органічної та медичної хімії [1]. Особливу увагу серед даного класу сполук відіграють похідні на основі тіопірано[2,3-*d*]тіазолу, які володіють широким спектром біологічної активності [2]. Серед похідних тіопіранотіазолу було ідентифіковано високоактивні протимікробні, противірусні, протизапальні, антитрипаносомні та протипаразитарні агенти [2]. Окрім того, дані похідні володіють також широким спектром протирадикальної активності щодо різних типів раку [3]. Варто відзначити, серед похідних тіопірано[2,3-*d*]тіазолу було ідентифіковано ряд механізмів, які забезпечують реалізацію протирадикальної активності, зокрема, інгібування трансформуючого фактора росту-бета (TGF- β) [4], полімеризації тубуліну [5], людської карбоангідрازی IX і XII [6] та активація PPAR- γ рецепторів [7].

Варто відзначити, що актуальним завданням у контексті пошуку потенційних біологічної активних сполук на основі похідних тіопіранотіазолу є одержання гібридних молекул із наявними додатковими фармакофорними фрагментами у структурі. До таких фармакофорних фрагментів належить індольне ядро, яке лежить в основі численних лікарських засобів, біологічно активних сполук природнього та синтетичного походжень [8]. Відповідно, зазначена робота є продовженням циклу досліджень похідних тіопірано[2,3-*d*]тіазолу як потенційних протирадикальних агентів, в якій на рівні із синтетичними дослідженнями буде проведено вивчення протирадикальної активності в рамках програми DTP NCI Національного інституту раку в США.

Матеріали і методи. Протягом дослідження використали методи органічного синтезу, здійснили фізи-

ко-хімічний аналіз синтезованих сполук (^1H ЯМР спектроскопія, мас-спектрометрія).

Вивчення протиракової активності сполук проводили в кілька етапів у Національному Інституті Раку в США (NCI, Bethesda, Maryland, USA) [9,10]. На I етапі вивчали вплив сполук у концентрації 10^{-4} М на мітотичну активність ліній MCF7 (рак молочної залози), NCI-H460 (рак легень), SF-268 (рак ЦНС) за стандартною процедурою NCI методом флуоресцентного зафарбовування (барвник – сульфородамін Б, еталони – 5-фторурацил та адріаміцин). Первинний *in vitro* скринінг протипухлинної активності проводили також в одній концентрації (10^{-5} М) на панелі близько 60 ліній пухлинних клітин, що представлені дев'ятьма типами раку. Відсоток росту ракових клітин до росту контрольних ракових клітин, на які не діяли ніякими агентами, розраховують за відношенням флуоресценції тестових лунок з досліджуваною речовиною та флуоресценції контрольних луночок, вираженим у відсотках.

Дослідження протипухлинної активності у градієнті концентрацій виконували для оцінки цитотоксичності та/або інгібувального ефекту найбільш активних сполук, які були відібрані після проведення первинного скринінгу та в подальшому дослідженні на повній панелі ліній пухлинних клітин у діапазоні концентрацій від 10^{-4} до 10^{-8} М. Протокол включає 48-годинне інкубування клітин із досліджуваними сполуками та подальшу оцінку життєздатності або росту клітин, використовуючи SRB-тест.

Результати й обговорення. Враховуючи перспективність пошуку нових біологічно активних сполук серед тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, ми опрацювали синте-

тичні підходи до похідних тіопіранотіазолу з індольним фрагментом у структурі. Вихідні 5-індоліден-4-тіоксо-2-тіазолідини 2 одержані за реакцією Кнью-венегеля ізороданіну, його N-заміщених похідних 1 та індол-3-карбальдегідів (середовище – етанол, каталізатор – етилендіамін діацетат) [11] (рис.).

Відомо, що реакція гетеро-Дільса-Альдера 5-іліден-4-тіазолідинтіонів в основному супроводжується утворенням продуктів із визначеною стерео- і регіоконфігурацією, що залежить як від природи дієнофілу, так і від умов проходження реакції. Зазначену особливість ми спостерігали при використанні акролеїну, норборнену, малеїміду та їх похідних як дієнофілів [12]. Так, [4+2]-циклоприєднання 5-індоліден-4-тіоксо-2-тіазолідинів, як гетеродієнів із зазначеними дієнофілами, проходить стереоселективно з утворенням функціональнозаміщених похідних тіопірано[2,3-*d*]тіазолу 3.1–3.14 (рис.).

Структура синтезованих сполук підтверджена методами ^1H ЯМР та хромато-мас-спектроскопії. У спектрах ^1H ЯМР сигнал амідних протонів тіазольного, індольного та тетрагідропірольного фрагментів проявляється у вигляді синглету в ділянці слабого магнітного поля при 10.81–11.72 м. ч. Ароматичні протони утворюють типовий субспектр з відповідною мультиплетністю сигналів у ділянці 6.81–8.46 м. ч. Спектри ^1H ЯМР показали типовий субспектр сигналів фрагмента норборнену в сполуках 3.2–3.4 у діапазоні сильного магнітного поля при 1.14–3.42 м. ч., сигнал СН протона, пов'язаного з індоліденовим фрагментом, проявляється у вигляді дублету в ділянці 3.39–4.00 м. ч., яка часто перекривається

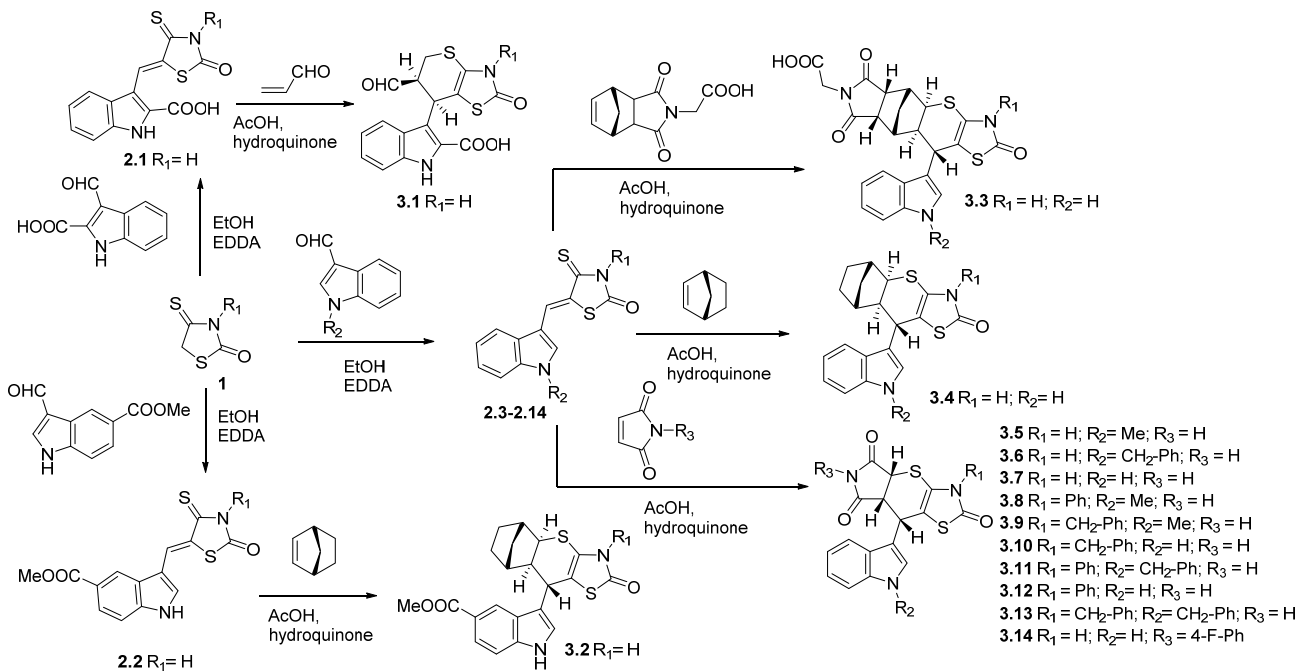


Рис. Схема синтезу функціональнозаміщених похідних тіопірано[2,3-*d*]тіазолу.

Синтез біологічно активних сполук
Synthesis of biologically active compounds

сигналами фрагмента норборнену. Спектри ¹H ЯМР сполук на основі малеїніміду та N-фенілмалеїніміду як дієнофілів (сполуки 3.5–3.14) показали сигнали протона C-7a у вигляді дублетів при 3.97–4.18 м. ч, дублетом або мультиплетом при 4.13–4.82 м. ч. для протона C-4a та сигнали при 4.46–5.00 м. ч. для протона C-8. Відсутність подвоєння сигналів у спектрах ¹H ЯМР для синтезованих сполук підтверджує наявність одного стереоізомеру.

Синтезовані похідні тіопірано[2,3-d]тіазолу з індолиним фрагментом у молекулах (3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.12) були первинно оцінені на протипухлинну активність в рамках програми DTP NCI на панелі трьох клітинних ліній: NCI-H460 (недрібноклітинний рак легень), MCF7 (рак молочної залози) та SF-268 (рак ЦНС). Найвищий рівень активності на первинній стадії проявила сполука 3.7, яка знижувала ріст клітинних ліній менше 32 % та в подальшому була оцінена на панелі близько 60 ліній клітин раку. Результати кожної сполуки представлені як відсоток росту оброблених клітин порівняно з

необробленими контрольними клітинами відповідно для таких клітинних ліній пухлини людини: (A) NCI-H460 (рак легень), (B) SF-268 (рак ЦНС) і (C) MCF7 (рак молочної залози) (табл. 1).

Варто відзначити, що сполука 3.3 була досліджена на протипухлинну активність на панелі 60 ліній клітин раку в концентрації 10⁻⁵ М без попереднього скринінгу на панелі трьох ліній ракових клітин (табл. 2). Так, сполука 3.3 продемонструвала незначну цитотоксичну дію до клітинних ліній із середнім значенням мітотичної активності (GP_{mean}) у межах 102,02 % з діапазоном мітотичної активності в межах -23,51÷139,43. З іншого боку, сполука 3.3 продемонструвала помітний цитотоксичний ефект відносно ліній недрібноклітинного раку легень NCI-H522 (GP=-23,51 %) та раку нирок лінії UO-31 (GP=19,75 %) (табл. 2).

На основі результатів прескринінгу сполуку-хіт 3.7 було відібрано для поглибленого вивчення в градієнті п'яти концентрацій згідно зі стандартною процедурою DTP NCI (табл. 3). Сполука 3.7 продемонструвала

Таблиця 1. Результати протипухлинної активності на аналізі трьох клітинних ліній раку

Сполука	Панель трьох клітинних ліній			Подальше дослідження на 60 клітинних лініях
	A	B	C	
3.5	108	117	109	–
3.6	52	83	112	–
3.7	2	17	25	+
3.8	95	99	104	–
3.12	91	98	103	–

Примітка. * – лінії ракових клітин: A-NCI-H460 (рак легень); B-SF-268 (рак ЦНС); C-MCF7 (рак молочної залози).

Таблиця 2. Сумарні результати прескринінгу протипухлинної активності сполуки 3.3 на 60 лініях клітин (концентрація 10⁻⁵М)

Сполука	Середня мітотична активність, %	Діапазон мітотичної активності, %	Найчутливіші лінії ракових клітин / % росту*
3.3	102,02	-23,51÷139,43	NCI-H522, недрібноклітинний рак легень / -23,51 UO-31, рак нирок / 19,75

Примітка. * – для окремих ліній наведені дані з GP %≤50 %.

Таблиця 3. Протипухлинна активність сполуки 3.7 у п'яти концентраціях при 10-кратному розведенні

Лінія клітин раку		GI ₅₀ , мкМ	SI (GI ₅₀)	TGI, мкМ	SI (TGI)	LC ₅₀ , мкМ	SI (LC ₅₀)
1	2	3	4	5	6	7	8
Лейкемія	HL-60(TB)	>100,04,4	–	>100,0	–	>100,0	–
	K-562	>100,070,9	13,36	>100,0	–	>100,0	–
	MOLT-4	4,79	–	>100,0	–	>100,0	–
	RPMI-8226		0,82	>100,0	–	>100,0	–
	SR		12,27	>100,0	–	>100,0	–
	MG_MID		56,01	1,04	>100	–	>100

Продовження табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8
Недрібноклітинний рак легень	A549/ATCC	17,2	3,41	61,3	1,26	>100,0	–
	EKVX	21,4	2,74	57,9	1,33	>100,0	–
	HOP-62	46,3	1,26	>100,0	–	>100,0	–
	HOP-92	>100,023,6	–	>100,0	–	>100,0	–
	NCI-H266	13,7	2,49	58,5	1,32	>100,0	–
	NCI-H460	>100,0	4,29	>100,0	–	>100,0	–
	NCI-H522	–	–	>100,0	–	>100,0	–
	MG_MID	42,02	1,39	82,52	0,93	>100	–
Епітеліальний рак	COLO 205	>100,01,45	–	>100,0	–	>100,0	–
	HCT-116	49,1	40,54	27,5	2,81	>100,0	–
	HCT-15	31,6	1,19	>100,0	–	>100,0	–
	KM12	53,6	1,86	>100,0	–	>100,0	–
	SW-620	–	1,09	47,1	1,64	>100,0	–
	MG_MID	47,15	1,24	74,92	1,03	>100	–
Рак ЦНС	SF-268	13,6	4,32	45,8	1,69	>100,0	–
	SF-295	18,8	3,12	>100,0	–	>100,0	–
	SF-539	15,1	3,89	30,5	2,54	61,5	1,56
	SNB-19	47,1	1,24	>100,0	–	>100,0	–
	U251	9,23	6,36	26,3	2,94	70,8	1,35
	MG_MID	20,76	2,83	60,52	1,28	86,46	1,11
Меланома	LOX IMVI	15,0	3,91	72,7	1,06	>100,0	–
	M14	42,6	1,38	>100,0	–	>100,0	–
	SK-MEL-2	24,3	2,41	>100,0	–	>100,0	–
	SK-MEL-5	34,0	1,72	>100,0	–	>100,0	–
	UACC-257	77,7	0,75	>100,0	–	>100,0	–
	UACC-62	29,6	1,98	>100,0	–	>100,0	–
	MG_MID	37,2	1,58	95,45	0,81	>100	–
Рак яєчників	IGROV1	65,6	0,89	>100,0	–	>100,0	–
	OVCAR-3	9,03	6,51	41,9	1,85	>100,0	–
	OVCAR-5	44,5	1,32	>100,0	–	>100,0	–
	OVCAR-8	6,97	8,43	25,4	3,05	72,4	1,32
	SK-OV-3	30,5	1,92	>100,0	–	>100,0	–
	MG_MID	31,32	1,87	73,46	1,05	94,48	1,01
Рак нирок	786-0	16,1	3,65	52,4	1,47	>100,0	–
	ACHN	26,4	2,22	80,6	0,96	>100,0	–
	CAKI-1	23,1	2,54	77,7	0,99	>100,0	–
	RXF 393	31,8	1,84	>100,0	–	>100,0	–
	SN12C	40,0	1,46	>100,0	–	>100,0	–
	TC-10	19,5	3,01	49,2	1,57	>100,0	–
	UO-31	48,1	1,22	>100,0	–	>100,0	–
	MG_MID	29,28	2,00	79,98	0,96	>100	–
Рак простати	PC-3	38,7	1,51	>100,0	–	>100,0	–
	DU-145	13,0	4,52	57,7	1,34	>100,0	–
	MG_MID	25,85	2,27	78,85	0,98	>100	–
Рак молочної залози	NCI/ADR-RES	12,6	4,66	29,0	2,67	67,1	1,43
	MDA-MB-231/	18,1	3,24	48,0	1,61	>100,0	–
	ATCC	1,33	44,2	4,95	15,66	59,0	1,63
	HS 578T	29,6	1,98	>100,0	–	>100,0	–
	MDA-MB-435	14,4	4,08	35,9	2,15	89,8	1,07
	BT-549	32,6	1,80	91,7	0,84	>100,0	–
	T-47D	–	–	–	–	–	–
	MG_MID	18,10	3,24	51,59	1,50	85,98	1,11
MG_MID	58,79		77,54		96,26		

Синтез біологічно активних сполук

Synthesis of biologically active compounds

незначний рівень показників пригнічення росту практично усіх тестованих клітинних ліній із значеннями GI_{50}/TGI на рівні 58,79 і 77,54 мкМ відповідно. Варто відзначити, що досліджувана молекула показала найвищий рівень цитотоксичності на мікромолярному рівні відносно деяких ліній клітин раку, зокрема, ліній лейкемії K-562 ($GI_{50}=4,4$ мкМ), SR ($GI_{50}=4,0$ мкМ), епітеліального раку лінії HCT-116 ($GI_{50}=1,45$ мкМ), раку ЦНС U251 ($GI_{50}=9,23$ мкМ), яєчників OVCAR-8 ($GI_{50}=6,97$ мкМ) та раку молочної залози лінії HS 578T ($GI_{50}=1,33$ мкМ). При розрахунку індексу селективності (SI), сполука 3.7 проявила певний рівень селективності на рівні GI_{50} відносно епітеліального раку лінії HCT-116 (SI=40,54) та раку молочної залози HS 578T (SI=44,2).

На основі результатів оцінки активності сполуки-хіта 3.7 база даних SwissAdme встановила, що досліджувана сполука у всіх випадках має задовільні фізико-хімічні параметри (молекулярна маса, ліпофільність, розчинність, полярність), а SwissADME-радар біодоступності підтвердив їх лікоподібність з оцінкою їх показника 0,55 одиниць (табл. 4) [13, 14].

Температуру плавлення вимірювали у відкритих капілярних трубках на приладі для визначення точки плавлення Electrothermal IA 9200 (Bibby Scientific Limited, Великобританія). Елементний аналіз (C, H, N) проводили на аналізаторі Perkin-Elmer 2400 CHN (PerkinElmer, Waltham, MA, США) і відповідав теоретичним значенням з точністю $\pm 0,4$ %. Хімічні зсуви (δ) наведені в м. ч., а константи спин-спінової взаємодії (J) вказані в Гц. Спектри LC-MS отримували на при-

ладі Finnigan MAT INCOS-50 (Thermo Finnigan LLC, Сан-Хосе, CA, США). За реакційною сумішшю стежили методом тонкошарової хроматографії (TLC) з використанням комерційних скляних пластин TLC (Merck Kieselgel 60 F254). Розчинники та реактиви, що є комерційно доступними, використовували без додаткового очищення.

Загальна методика синтезу 5-індоліден-4-тіоксо-2-тіазолідинонів. У круглодонну колбу із зворотним холодильником поміщують 0,005 моль ізороданіну та його 3-заміщених похідних, 0,006 моль відповідного індол-3-карбальдегіду, невелику кількість етилендіамін діацетату і 20 мл етанолу. Реакційну суміш кип'ятять протягом 10 хв і охолоджують. Продукт реакції відфільтровують і перекристалізують із льодяної оцтової кислоти.

Загальна методика синтезу похідних тіопірано[2,3-d]тіазолу з індольним фрагментом у молекулах. Суміш 0,005 моль 5-індоліден-4-тіоксо-2-тіазолідинонів, 0,0055 моль відповідного дієнофілу (акролеїну, норнборнену, малеїніміду та їх похідних), декілька кристалів гідрохінону та 10 мл оцтової кислоти нагрівають протягом 1 год у колбі зі зворотним холодильником. Утворений осад відфільтровують, промивають оцтовою кислотою, водою, етанолом та діетиловим етером і перекристалізують з відповідного розчинника.

3-(6-Форміл-2-оксо-3,5,6,7-тетрагідро-2H-тіопірано[2,3-d]тіазол-7-іл)-1H-індол-2-карбонова кислота (3.1). Вихід 77 %. Т. пл. >280 °C. Спектр 1H ЯМР: δ , м. ч.: 2.95 (м, 1H, CH_2), 3.01 (м, 1H, CH_2), 3.40

Таблиця 4. Фізико-хімічні показники, параметри ADME, фармакокінетичні властивості, параметри лікоподібності сполуки 3.7

Фізико-хімічні властивості	3.7
Молекулярна маса	357,41
Число важких атомів	24
Число ароматичних важких атомів	14
Число зв'язків, що обертаються	1
Число донорів протона	3
Число акцепторів протона	3
Молярна рефрактерність	95,28
TPSA Å ²	148,36
Узгоджена log Po/w	1,72
Правило Ліпінського	Так
Фармакокінетичні параметри	
Гастроінтестинальна абсорбція	Низька
Проникність через ГЕБ	Ні
P-гр субстрат	Ні
Log Kp (SP) (cm/s) (шкірна проникність)	-7,41
Параметр біодоступності	0,55

(м, 1H, CH), 4.71 (д, $J = 4.5$ Гц, 1H, CH). 6.81 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H, аром.), 7.12-7.14 (м, 3H, аром.), 9.74 (с, 1H, CHO), 10.81 (с, 1H, NH), 11.05 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 361 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 53.56, Н 3.50, N 7.70. C₁₆H₁₂N₂O₄S₂. Обчислено, %: С 53.32, Н 3.36, N 7.77.

Метил 3-(2-оксо-3,4а,5,6,7,8,8а,9-октагідро-2H-5,8-метанотіохромено[2,3-d]міазол-9-іл)-індол-5-карбоксилат (3.2). Вихід 68 %. Т.пл. 262-264 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 1.14 м, 1.23 м, 1.35 м, 1.45 м, 1.62 м, 1.95 м, 2.10 м, 2.24 м (норнборн.), 2.53 (с, 3H, CH₃), 3.39 (м, 1H, CH), 3.41 (м, 1H, CH), 4.00 (д, 1H, $J = 10.5$ Гц, CH), 7.01 (с, 1H, аром.), 7.16 (м, 2H, аром.), 8.06 (с, 1H, аром.), 10.92 (с, 1H, NH), 11.11 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 412 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 61.36, Н 4.50, N 6.70. C₂₁H₁₉N₂O₃S₂. Обчислено, %: С 61.29, Н 4.65, N 6.81.

2-(10-(1H-індол-3-іл)-2,6,8-тріоксо-3,4а,5,5а,6,8,8а,9,9а,10-декагідро-5,9-метанотіазоло[5',4':5,6]тіопірано[2,3-*f*]ізоіндол-7(2H)-іл)оцтова кислота (3.3). Вихід 79 %. Т.пл. >280 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 1.67 (д, $J = 10.4$ Гц), 2.34 м, 2.47 м, 2.61 м, 2.70 м, 3.23 м, 3.42 м, 3.48 (д, $J = 9.3$ Гц), 3.66 (д, $J = 7.2$ Гц) (норнборн., CH), 4.03 (д, 2H, $J_{AB} = 16.0$ Гц, CH₂), 6.81 (т, 1H, $J = 7.2$ Гц, аром.), 7.11 (м, 2H, аром.), 7.15 (д, 1H, $J = 6.8$ Гц, аром.), 7.18 (д, 1H, $J = 6.8$ Гц, аром.), 7.81 (с, 1H, аром.), 10.90 (с, 1H, NH), 11.12 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 482 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 57.31, Н 3.90, N 8.70. C₂₃H₁₉N₃O₅S₂. Обчислено, %: С 57.37, Н 3.98, N 8.73.

9-(1H-індол-3-іл)-3,4а,5,6,7,8,8а,9-октагідро-2H-5,8-метанотіохромено[2,3-d]міазол-2-он (3.4). Вихід 65 %. Т.пл. 220-222 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 1.37 м, 1.44 м, 1.67 м, 1.76 м, 1.84 м, 2.23 м, 2.33 м, 3.44 (д, $J = 9.3$ Гц), 3.62 (д, $J = 7.2$ Гц) (норнборн., CH), 6.85 (т, 1H, $J = 6.8$ Гц, аром.), 6.95 (т, 1H, $J = 6.8$ Гц, аром.), 7.08 (т, 1H, $J = 6.8$ Гц, аром.), 7.28 (д, 1H, $J = 7.2$ Гц, аром.), 7.48 (д, 1H, $J = 7.2$ Гц, аром.), 8.01 (с, 1H, аром.), 10.91 (с, 1H, NH), 11.10 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 355 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 64.36, Н 5.20, N 7.70. C₁₉H₁₈N₂O₅S₂. Обчислено, %: С 64.38, Н 5.12, N 7.90.

8-(1-Метил-1H-індол-3-іл)-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-d]міазол-2,5,7(6H)-тріон (3.5). Вихід 79 %. Т.пл. 222-224 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 3.78 (с, 3H, CH₃), 3.98 (дд, $J = 8.7, 4.2$ Гц, 1H, CH), 4.45 (м, 1H, CH), 4.71 (дд, $J = 8.6, 2.5$ Гц, 1H, CH), 7.03 (т, 1H, $J = 7.5$ Гц, аром.), 7.16 (т, 1H, $J = 7.5$ Гц, аром.), 7.41 (д, 1H, $J = 8.1$ Гц, аром.), 7.53 (м, 2H, аром.), 11.36 (с, 1H, NH), 11.70 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 372 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 54.86, Н 3.50, N 11.40. C₁₇H₁₃N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 54.97, Н 3.53, N 11.31.

8-(1-Бензил-1H-індол-3-іл)-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-d]міазол-2,5,7(6H)-тріон (3.6). Вихід 72 %. Т.пл. 248-250 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 4.08 (дд, $J = 8.7, 4.2$ Гц, 1H, CH), 4.13 (д, 2H, $J_{AB} = 16.0$ Гц, CH₂), 4.46 (м, 1H, CH), 4.71 (м, 1H, CH), 7.13-7.16 (м, 2H, аром.), 7.44 (д, 2H, $J = 7.6$ Гц,

аром), 7.53-7.55 (м, 2H, аром.), 7.63-7.67 (м, 3H, аром.), 8.03 (с, 1H, аром.), 11.37 (с, 1H, NH), 11.72 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 448 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 61.65, Н 3.70, N 9.40. C₂₃H₁₇N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 61.73, Н 3.83, N 9.39.

8-(Індол-3-іл)-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-d]міазол-2,5,7(6H)-тріон (3.7). Вихід 73 %. Т.пл. 223-225 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 4.01 (дд, $J = 7.6, 4.6$ Гц, 1H, CH), 4.51 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, CH), 4.82 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, CH), 6.88 (т, $J = 7.0$ Гц, 1H, аром.), 6.99 (т, $J = 7.0$ Гц, 1H, аром.), 7.08 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H, аром.), 7.28 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H, аром.), 8.46 (с, 1H, аром.), 11.07 (с, 1H, NH), 11.32 (с, 1H, NH), 11.66 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 357 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 53.96, Н 2.70, N 11.70. C₁₆H₁₀N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 53.92, Н 2.83, N 11.79.

8-(1-Метил-1H-індол-3-іл)-3-феніл-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-d]міазол-2,5,7(6H)-тріон (3.8). Вихід 72 %. Т.пл. >280 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 3.76 (с, 3H, CH₃), 3.97 (дд, $J = 8.7, 4.2$ Гц, 1H, CH), 4.44 (м, 1H, CH), 4.70 (м, 1H, CH), 7.03 (т, 1H, $J = 7.5$ Гц, аром.), 7.13 (т, 2H, $J = 7.5$ Гц, аром.), 7.16-7.20 (м, 3H, аром.), 7.41 (д, 1H, $J = 8.1$ Гц, аром.), 7.53 (м, 2H, аром.), 8.03 (с, 1H, аром.), 11.30 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 448 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 61.86, Н 3.80, N 9.90. C₂₃H₁₇N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 61.73, Н 3.83, N 9.39.

3-Бензил-8-(1-метил-1H-індол-3-іл)-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-d]міазол-2,5,7(6H)-тріон (3.9). Вихід 81 %. Т.пл. 288-290 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 3.73 (с, 3H, CH₃), 4.08 (дд, $J = 7.6, 4.6$ Гц, 1H, CH), 4.45 (д, 2H, CH₂, $J_{AB} = 16.0$ Гц), 4.82 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, CH), 5.00 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, CH), 7.04-7.08 (м, 3H, аром.), 7.19-7.21 (м, 3H, аром.), 7.33 (м, 3H, аром.), 7.55 (с, 1H, аром.), 11.40 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 462 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 62.40, Н 4.20, N 9.12. C₂₄H₁₉N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 62.46, Н 4.15, N 9.10.

3-Бензил-8-(1H-індол-3-іл)-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-d]міазол-2,5,7(6H)-тріон (3.10). Вихід 76 %. Т.пл. 246-248 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 4.18 (дд, $J = 8.5, 3.8$ Гц, 1H, CH), 4.45 (м, 1H, CH), 4.68 (м, 1H, CH), 4.88 (д, 2H, CH₂, $J_{AB} = 16.0$ Гц), 7.00 (м, 2H, аром.), 7.19 (м, 3H, аром.), 7.33 (м, 4H, аром.), 7.48 (д, 1H, $J = 7.9$ Гц, аром.), 11.40 (с, 1H, NH). ESI-MS m/z 448 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 61.86, Н 3.80, N 9.90. C₂₃H₁₇N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 61.73, Н 3.83, N 9.39.

8-(1-Бензил-1H-індол-3-іл)-3-феніл-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-d]міазол-2,5,7(6H)-тріон (3.11). Вихід 81 %. Т.пл. 244-246 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ , м.ч.: 4.07 (дд, $J = 7.6, 4.6$ Гц, 1H, CH), 4.46 (д, 2H, CH₂, $J_{AB} = 16.0$ Гц), 4.81 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, CH), 4.99 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H, CH), 7.04-7.09 (м, 3H, аром.), 7.14-7.19 (м, 2H, аром.), 7.19-7.21 (м, 3H, аром.), 7.34 (м, 3H, аром.), 7.44 (д, 2H, $J = 7.6$ Гц, аром.), 7.57 (д, 1H, $J = 7.8$ Гц, аром.), 7.55 (с, 1H,

аром.), 11.41(с, 1H, NH). ESI-MS *m/z* 524 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 66.50, Н 4.09, N 8.09. C₂₉H₂₁N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 66.52, Н 4.04, N 8.03.

8-(Індол-3-іл)-3-феніл-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-2,5,7(6H)-тріон (3.12). Вихід 74 %. Т. пл. 267–269 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ, м. ч.: 4.05 (дд, J=7.6, 4.6 Гц, 1H, CH), 4.81 (д, J=7.6 Гц, 1H, CH), 4.99 (д, J=7.6 Гц, 1H, CH), 7.09–7.11 (м, 2H, аром.), 7.19 (м, 3H, аром.), 7.34 (д, 2H, J=7.6 Гц, аром.), 7.44 (д, 2H, J=7.6 Гц, аром.), 8.05 (с, 1H, аром.), 11.41(с, 1H, NH), 11.63 (с, 1H, NH), 11.72 (с, 1H, NH). ESI-MS *m/z* 434 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 61.16, Н 3.30, N 9.70. C₂₂H₁₅N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 61.10, Н 3.26, N 9.72.

3-Бензил-8-(1-бензил-1H-індол-3-іл)-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-2,5,7(6H)-тріон (3.13). Вихід 71 %. Т. пл. 229–231 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ, м. ч.: 4.01 (дд, J=7.6, 4.6 Гц, 1H, CH), 4.33 (д, J=7.6 Гц, 1H, CH), 4.46 (д, J=7.6 Гц, 1H, CH), 5.03 (д, 2H, CH₂, J_{AB}=16.0 Гц), 5.55 (д, 2H, CH₂, J_{AB}=16.0 Гц), 7.14–7.18 (м, 5H, аром.), 7.21–7.24 (м, 5H, аром.), 7.43 (м, 3H, аром.), 7.55 (д, 1H, J=7.4 Гц, аром.), 11.49 (с, 1H, NH). ESI-MS *m/z* 538 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 67.06, Н 4.50, N 7.70. C₃₀H₂₃N₃O₃S₂. Обчислено, %: С 67.02, Н 4.31, N 7.82.

6-(4-Флуорофеніл)-8-(1H-індол-3-іл)-3,4а,7а,8-тетрагідропіроло[3',4':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-

2,5,7(6H)-тріон (3.14). Вихід 70 %. Т. пл. 243–245 °С. Спектр ¹H ЯМР: δ, м. ч.: 4.05 (дд, J=8.0, 4.6 Гц, 1H, CH), 4.81 (д, J=8.0 Гц, 1H, CH), 4.97 (м, 1H, CH), 7.09–7.11 (м, 2H, аром.), 7.19 (м, 2H, аром.), 7.33 (д, 2H, J=8.4 Гц, аром.), 7.44 (д, 2H, J=8.4 Гц, аром.), 8.05 (с, 1H, аром.), 11.60 (с, 1H, NH), 11.72 (с, 1H, NH). ESI-MS *m/z* 452 (M+H)⁺. Знайдено, %: С 58.36, Н 3.20, N 9.40. C₂₂H₁₄FN₃O₃S₂. Обчислено, %: С 58.53, Н 3.13, N 9.31.

Висновки. Показано, що похідні тіопірано[2,3-*d*]тіазолу з індольним фрагментом у молекулах в рамках скринінгу програмою DTP NCI Національного інституту раку в США проявили достатній рівень протипухлинної активності з задовільними параметрами ADME, фармакокінетичних властивостей та параметрів лікоподібності, що свідчить про їх перспективність для подальших поглиблених досліджень як потенційних лікоподібних молекул.

Дані про фінансову підтримку. Це дослідження було профінансоване Національним фондом досліджень України, за номером проекту: 2023.05/0021.

Funding. This research was financed by the National Research Fund of Ukraine, under the project number: 2023.05/0021

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

SYNTHESIS AND ANTICANCER ACTIVITY EVALUATION OF THIOPYRANO[2,3-*d*]THIAZOLE DERIVATIVES WITH THE INDOLE FRAGMENT IN THE MOLECULES

O.-M. V. Fedusevych, A.V. Lozynskyi

Danylo Halytsky Lviv National Medical University
olgafedysevuch1998@gmail.com

The aim of the work. To carry out the synthesis of thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles with an indole fragment and evaluate their anticancer activity within the framework of the DTP NCI program of the US National Cancer Institute.

Materials and Methods. During the research, organic synthesis methods were used, and physicochemical analysis of the synthesized compounds was performed. Anticancer activity determination was performed according to the methodology of the DTP NCI program of the US National Cancer Institute. For the hit compound 3.7, an *in silico* drug similarity screening was performed using the SwissADME online service.

Results and Discussion. As a result of antitumor activity screening, hit compound 3.7 was identified, which showed the highest level of activity at the micromolar level against leukemia lines K-562, SR, epithelial cancer line HCT-116, CNS cancer U251, ovary OVCAR-8 and breast cancer line HS 578T.

Conclusions. The results indicate the presence of pronounced anticancer activity of thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles with an indole fragment, which actualizes the in-depth study of this class of heterocyclic compounds.

Key words: thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles; antitumor activity; SwissADME.

Перелік бібліографічних посилань

1. Thiazole: A review on chemistry, synthesis and therapeutic importance of its derivatives / M. T. Chhabria, S. Patel, P. Modi, P. S. Brahmshatriya. *Current topics in medicinal chemistry*. 2016. Vol. 16. No. 26. P. 2841–2862.
2. Thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles as new efficient scaffolds in medicinal chemistry. *Scientia Pharmaceutica*. 2018. Vol. 86. No 2. P. 26.
3. Metwally N. H., Badawy M. A., Okpy D. S. Synthesis and anticancer activity of some new thiopyrano[2,3-*d*]

- thiazoles incorporating pyrazole moiety / A. Kryshchyn, O. Roman, A. Lozynskyi, R. Lesyk. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2015. Vol. 63. No. 7. P. 495–503.
- Molecular design, synthesis and anticancer activity of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles based on 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone (juglone) / I. Ivasechko, A. Lozynskyi, J. Senkiv et al. *European journal of medicinal chemistry*. 2023. Vol. 252. P. 115304.
 - Metwally N. H., Badawy M. A., Okpy D. S. Synthesis, biological evaluation of novel thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles incorporating arylsulfonate moiety as potential inhibitors of tubulin polymerization, and molecular modeling studies. *Journal of Molecular Structure*. 2022. Vol. 1258. P. 132648.
 - Metwally N. H., El-Desoky E. A. Novel thiopyrano[2,3-*d*]thiazole-pyrazole hybrids as potential nonsulfonamide human carbonic anhydrase IX and XII inhibitors: design, synthesis, and biochemical studies. *ACS Omega*. 2023. Vol. 8. No. 6. P. 5571–5592.
 - 4-Thiazolidinone-based derivatives do not affect differentiation of mouse embryo fibroblasts (3T3-L1 cell line) into adipocytes. *Chemico-Biological Interactions / K. A. Szychowski, B. Skóra, A. Kryshchyn-Dylevych et al.* 2021. Vol. 345. P. 109538.
 - Chhabria MT, Patel S, Modi P, Brahmshatriya PS. Thiazole: A review on chemistry, synthesis and therapeutic importance of its derivatives. *Current topics in medicinal chemistry*. 2016;16(26):2841-62.
 - Kryshchyn A, Roman O, Lozynskyi A, Lesyk R. Thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles as new efficient scaffolds in medicinal chemistry. *Scientia Pharmaceutica*. 2018;86(2):26.
 - Metwally NH, Badawy MA, Okpy DS. Synthesis and anticancer activity of some new thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles incorporating pyrazole moiety. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2015;63(7):495-503.
 - Ivasechko I, Lozynskyi A, Senkiv J, Roszczenko P, Kozak Y, Finiuk N, Klyuchivska O, Kashchak N, Manko N, Maslyak Z, Lesyk D, Karkhut A, Polovkovych S, Czarnomysy R, Szewczyk O, Kozytyskiy A, Karpenko O, Khyluk D, Gzella A, Bielawski K, Bielawska A, Dzubak P, Gurska S, Hajdych M, Stoika R, Lesyk R. Molecular design, synthesis and anticancer activity of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles based on 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone (juglone). *European journal of medicinal chemistry*. 2023;252: 115304.
 - Metwally NH, Badawy MA, Okpy DS. Synthesis, biological evaluation of novel thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles incorporating arylsulfonate moiety as potential inhibitors of tubulin polymerization, and molecular modeling studies. *Journal of Molecular Structure*. 2022;1258:132648.
 - Metwally NH, El-Desoky EA. Novel thiopyrano[2,3-*d*]thiazole-pyrazole hybrids as potential nonsulfonamide human carbonic anhydrase IX and XII inhibitors: design, synthesis, and biochemical studies. *ACS omega*. 2023;8(6):5571-92.
 - Kumari A., Singh R. K. Medicinal chemistry of indole derivatives: Current to future therapeutic perspectives. *Bioorganic Chemistry*. 2019. Vol. 89. P. 103021.
 - Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of the National Cancer Institute / A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan et al.* 1991. Vol. 83. P. 757–766.
 - Boyd M. R., Paull K. D. Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug development research*. 1995. Vol. 34. No. 2. P. 91–109.
 - Arylidene pyruvic acids motif in the synthesis of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles as potential biologically active compounds. *Heterocyclic communications / A. Lozynskyi, B. Zimenkovsky, I. Nektegayev, R. Lesyk.* 2015. Vol. 21. No. 1. P. 55–59.
 - Lesyk R. B., Zimenkovsky B. S. 4-Thiazolidones: centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry. *Current Organic Chemistry*. 2004. Vol. 8. No. 16. P. 1547–1577.
 - SwissADME. Available from: <http://www.swissadme.ch>.
 - Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. No. 1. P. 42717.
 - Szychowski KA, Skóra B, Kryshchyn-Dylevych A, Kaminsky D, Tobiasz J, Lesyk RB, Gmiński J. 4-Thiazolidinone-based derivatives do not affect differentiation of mouse embryo fibroblasts (3T3-L1 cell line) into adipocytes. *Chemico-Biological Interactions*. 2021;345:109538.
 - Kumari A, Singh RK. Medicinal chemistry of indole derivatives: Current to future therapeutic perspectives. *Bioorganic chemistry*. 2019;89:103021.
 - Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemaker R, Paull K, Vistica D, hose C, langley J, Cronise P, Vaigro-Wolff A, Gray-Goodrich M, Campbell H, Mayo J, Boyd M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 1991;83:757-66.
 - Boyd MR, Paull KD. Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug development research*. 1995;34(2):91-109.
 - Lozynskyi A, Zimenkovsky B, Nektegayev I, Lesyk R. Arylidene pyruvic acids motif in the synthesis of new thiopyrano[2,3-*d*]thiazoles as potential biologically active compounds. *Heterocyclic communications*. 2015;21(1):55-9.
 - Lesyk RB, Zimenkovsky BS. 4-Thiazolidones: centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry. *Current Organic Chemistry*. 2004;8(16):1547-77.
 - SwissADME. Available from: <http://www.swissadme.ch>
 - Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*. 2017;7(1):42717.

Відомості про авторів

Федусевич О.-М. В. – аспірант кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна. E-mail: olgafedysevuch1998@gmail.com.

Лозинський А. В. – доктор фармацевтичних наук, доцент кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна. E-mail: lozynskyiandrii@gmail.com, ORCID: 0000-0001-7151-2159.

Information about the authors

Fedusevych O.-M. V. – PhD student of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. E-mail: olgafedysevuch1998@gmail.com.

Lozynskyi A. V. – DSc (Pharmacy), Associate Professor of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, IDanylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. E-mail: lozynskyiandrii@gmail.com, ORCID: 0000-0001-7151-2159.