

Рекомендована д. фармац. наук, проф. І. А. Мазуром

УДК 615.012.1 : 547.789] : 615.359

СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ 4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ ІЗ 2-ОКСОІНДОЛІНОВИМ ФРАГМЕНТОМ У МОЛЕКУЛАХ

© С. В. Хирков, Д. Я. Гаврилюк, Х. Б. Гриневич, В. В. Огурцов, Р. Б. Лесик

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Резюме: Здійснено синтез похідних 4-тіазолідинону з 2-оксоіндоліновим фрагментом в 5 положенні для біологічного скринінгу на антиоксидантну активність. На основі реакцій N-алкілювання, конденсації Кньюенагеля та [2+3]-циклоконденсації запропоновано три методи поєднання тіазолідинового та індолінового фрагментів. Скринінг антиоксидантної активності та аналіз кореляції «структура – дія» дозволив ідентифікувати дві високоактивні сполуки, котрі можна трактувати як «структури-хіти» для спрямованого пошуку антиоксидантних агентів.

Ключові слова: синтез, 4-тіазолідини, ізатин, реакція Кньюенагеля, [2+3]-циклоконденсація, антиоксидантна активність.

Вступ. Широкий спектр біологічної активності похідних 4-тіазолідинону [1] та ізатину [2] спонукає до пошуку нових “лікоподібних” молекул серед зазначених гетероциклів. Наші попередні дослідження показали, що поєднання тіазолідинового фрагмента з іншими гетероциклами, зокрема 2-оксоіндоліновим, в одній молекулі дозволяє досягти суттєвого рівня протипухлинної, противірусної та антитрипаносомної активностей [3–7]. Аналіз літературних джерел свідчить про перспективу вивчення антиоксидантної активності нових похідних з тіазолідиноним та індоліновим фрагментами [8–12]. Продовжуючи розвиток тематики неконденсованих ізатинзаміщених тіазолідинонів як біологічно активних сполук, ми одержали ряд нових 4-тіазолідинонів із 2-оксоіндоліновим фрагментом в 5 положенні базового гетероциклу та вивчили їх антиоксидантну активність, результати якої наведено в даній статті.

Методи дослідження. Спектри ПМР вимірювали на приладі “Varian VXR-400”, розчинник DMSO-D₆, стандарт – тетраметилсилан. Дані елементного аналізу на вміст азоту і сірки відповідають вирахованим (±0,3%). 1,3-Дигідроіндол-2-он [14], 4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)-бензальдегіди синтезовані за відомими методиками [13]. Загальний метод синтезу та фізико-хімічні властивості ключових сполук з групи N-заміщених ізатинів **1.1-1.7** та ізатиніліден-4-тіазолідинонів **2.1-2.4** описані нами раніше [3], решта сполук одержано вперше.

Вивчення антиоксидантної активності сполук. Розчини сполук в етанолі (0,3 мл, 20 μмоль/л) додавали до спиртового розчину ДФПГ (2,7 мл, 150 μмоль/л). Суміш інтенсивно перемішували і залишали на 2 год. Після цього

розчин вносили в кювету спектрофотометра “Specord M40” (l=10 мм, λ=517 нм) і визначали його оптичну густину. Радикал-поглинальну активність сполук обчислювали за формулою:

$$РПА = \frac{A_{ДФПГ} - A_s}{A_{ДФПГ}} \cdot 100\%,$$

де $A_{ДФПГ}$ – оптична густина розчину вільного радикала ДФПГ (135 μмоль/л), A_s – оптична густина розчину ДФПГ із тестованою речовиною. Як стандарт використовували аскорбінову кислоту (РПА= 21,5 %). Вимірювання проводили тричі з незалежними аліквотами. Відносна похибка не перевищувала 7 %.

Результати й обговорення. На основі похідних ізатину в реакції N-алкілювання з 2-хлоро-N-арил(гетерил)ацетамідами одержано відповідні 2-(2,3-діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-N-арил(гетерил)ацетаміди **1.1-1.7**. Синтез цільових неконденсованих гетероциклічних систем здійснено шляхом взаємодії 2-(2,3-діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-N-арил(гетерил)ацетамідів **1.1, 1.3, 1.4** та 2,4-тіазолідиндіону, 2-тіоксо-4-тіазолідинону чи псевдотіогідантоїну в умовах реакції Кньюенагеля (середовище – оцтова кислота, каталізатор – безводний ацетат натрію).

Для синтезу 3N-заміщених похідних 4-тіазолідинону з 2,3-дигідроіндоліним фрагментом використано несиметричні дизаміщені тіосечовини в умовах одnoreакторної (“one-pot”) реакції з монохлороцтовою кислотою та похідними ізатину згідно зі схемою 2.

Ми реалізували ще один напрямок одержання нових 5-індолінзаміщених 4-тіазолідинонів, який полягав у взаємодії 2,4-тіазолідиндіонвмісних оксибензальдегідів [13] та 1,3-дигідроіндол-2-

Схема 1.

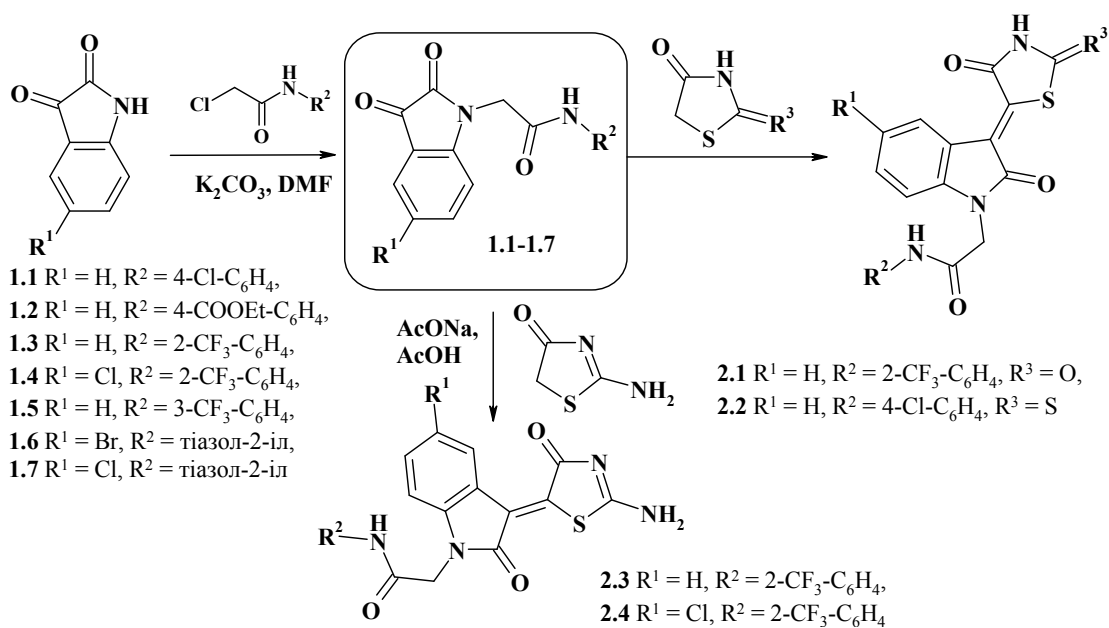


Схема 2.

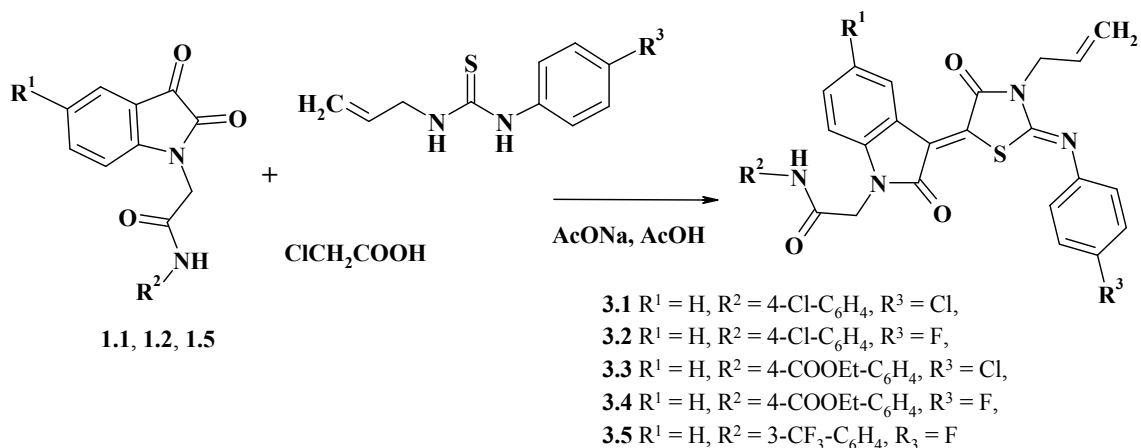
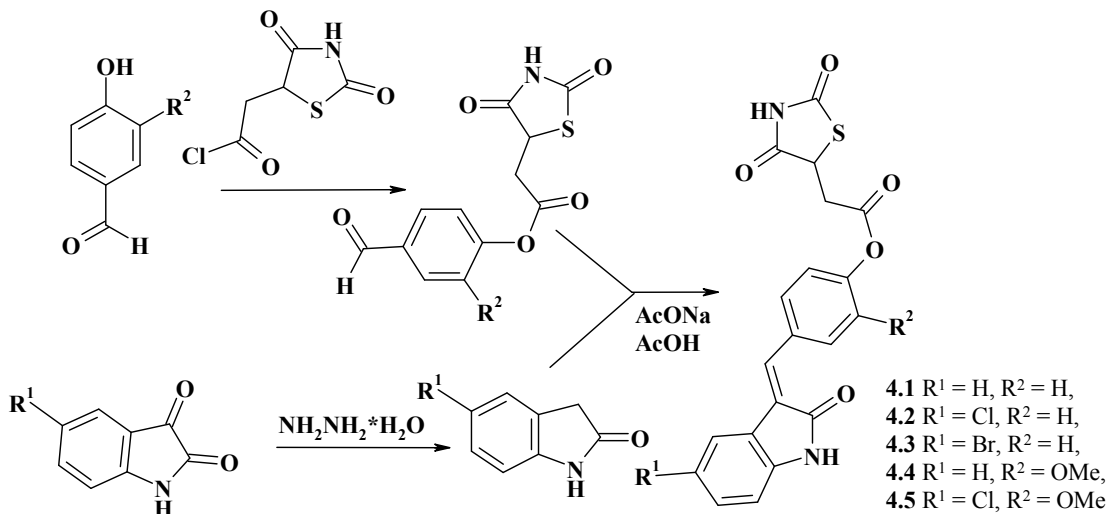


Схема 3.



онів, одержаних за відомими методиками [14]. Синтез цільових сполук здійснено в умовах реакції Кньювенагеля (середовище – оцтова кислота, каталізатор – безводний ацетат натрію).

Структура синтезованих сполук підтверджена спектрами ПМР, характеристики яких наведено в експериментальній частині. У спектрах ПМР синтезованих сполук 4.1-4.5 спостерігаємо суб-спектр фрагмента CH_2CH , протони якого резонують як мультиплет при 3.27-3.47 м.ч. та широкий синглет чи дублет дублетів (4.4) в ділянці 4.87-4.90 м.ч. Протони метиленової групи CH_2CO сполук 3.1-3.5 проявляються у вигляді синглету при 4.55-4.68 м.ч. або накладаються із сигналами алільного залишку. Зазначимо, що сигнал протону в 4-му положенні ізатинового фрагмента сполук 3.1-3.5 суттєво зміщений в ділянку слабого магнітного поля і резонує в ділянці 8.86-8.93 м.ч. Така спектральна картина свідчить про утворення Z-ізомеру (рис. 1) і узгоджується з результатами рентгено-структурного аналізу структурно близьких систем [15].

Антиоксидантну активність синтезованих сполук досліджували *in vitro*, визначаючи зменшення концентрації вільного радикала [16, 17], в

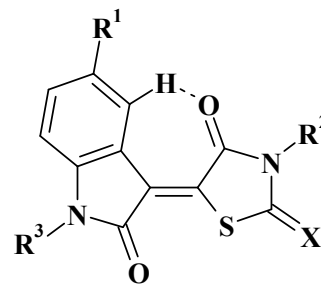


Рис. 1. Обґрунтування регіоселективності процесу конденсації 2-оксоніндолінового та тіазолідинового фрагментів.

якості якого використовували стабільний радикал 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозилу (ДФПГ). Етанольний розчин ДФПГ характеризується максимумом поглинання при 517 нм, а в присутності антиоксидантів гаситься вільнорадикальний центр ДФПГ, внаслідок чого розчин поступово втрачає забарвлення. Порівняння оптичної густини розчину, який містить досліджувану субстанцію та надлишок радикала, з оптичною густиною розчину самого радикала дає можливість визначити радикал-поглинаючу активність (РПА) сполуки (табл. 1).

Таблиця 1. Антиоксидантна активність синтезованих сполук

Сполука	РПА, %	Сполука	РПА, %	Сполука	РПА, %
1.1	5,4	2.2	5,4	3.4	5,4
1.2	15,9	2.3	25,7	3.5	5,4
1.6	6,1	2.4	1,4	4.4	9,5
1.7	5,4	3.1	7,1	4.5	6,0
2.1	4,4	3.3	26,4		

Результати скринінгу антиоксидантної активності показали, що здатність синтезованих сполук до зв'язування вільного радикала ДФПГ суттєво збільшується при наявності первинної аміногрупи, метокси-групи або групи – COOC_2H_5 , а присутність галогену зв'язаного з арильним радикалом призводить до значного зменшення антиоксидантної активності.

Експериментальна хімічна частина

Загальна методика синтезу 2-{3-[3-аліл-2-ариліміно]-4-оксотіазолідин-5-іліден]-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл}-N-арилацетамідів (3.1-3.5). Суміш 0,005 моль 1-аліл-3-арилтіосечовини, 0,005 моль монохлороцтової кислоти, 0,0055 моль відповідного ізатину та 0,01 моль ацетату натрію в 15 мл оцтової кислоти нагрівають протягом 3 год у круглодонній колбі із зворотним холодильником. Осад, який утворився після охолодження, відфільтровують та перекристалізують із суміші ДМФА – етанол (1:1).

Сполука 3.1. Вихід 68 %, Тпл. 284–286 °С. Знайдено, %: S – 5.69, N – 9.94. $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$.

Вирахувано, % S – 5.83, N – 9.78. ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 4.56-4.74м (4H, COCH_2 , NCH_2), 5.25-5.33дд (2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.98-6.05м (1H, CH), 7.07д (1H, ізатин, J = 8.1 Гц), 7.12-7.18м (2H, аром.), 7.35-7.39м (3H, аром.), 7.47д (2H, аром., J = 8.1 Гц), 7.57-7.64м (3H, аром.), 8.93д (1H, ізатин, J = 7.7 Гц), 10.39с (1H, NH).

Сполука 3.2. Вихід 72 %, Тпл. 292–294 °С. Знайдено, %: S – 5.86, N – 10.24. $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{ClF}_4\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$. Вирахувано, % S – 5.93, N – 10.12. ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 4.57-4.59м (2H, NCH_2), 4.68с (2H, COCH_2), 5.23-5.32м (2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.93-6.07м (1H, CH), 7.08-7.09м (1H, ізатин), 7.14-7.16м (2H, аром.), 7.24-7.30м (1H, аром.), 7.36-7.46м (3H, аром.), 7.57-7.63м (3H, аром.), 7.77шс (1H, аром.) 8.93д (1H, ізатин, J = 7.2 Гц), 10.52с (1H, NH).

Сполука 3.3. Вихід 65 %, Тпл. 232–234 °С. Знайдено, %: S – 5.33, N – 9.32. $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}_5\text{S}$. Вирахувано, % S – 5.48, N – 9.22. ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 1.31т (3H, CH_3), 4.28кв (2H, CH_2CH_3), 4.63-4.79м (4H, COCH_2 , NCH_2), 5.01-5.19м (2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.87-5.96м (1H, CH), 7.05-7.18м (3H, аром.), 7.43-7.54м (2H, аром.), 7.62-7.77м (4H, аром.), 7.93д (2H,

аром., J = 8.5 Гц), 8.86д (1H, ізатин, J = 7.8 Гц), 10.79с (1H, NH).

Сполука 3.4. Вихід 60 %, Тпл. 230–232 °С. Знайдено, %: S – 5.48, N – 9.58. C₃₁H₂₅FN₄O₅S. Вираховано, % S – 5.62, N – 9.70.

Сполука 3.5. Вихід 60 %, Тпл. 302–303 °С. Знайдено, %: S – 5.52, N – 9.65. C₂₉H₂₀F₄N₄O₃S. Вираховано, % S – 5.65, N – 9.82. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 4.55шс (2H, COCH₂), 4.67шс (2H, NCH₂), 5.21–5.32м (2H, CH=CH₂), 5.92–5.98м (1H, CH), 7.05–7.18м (3H, аром.), 7.25т (1H, аром.), 7.42–7.49м (5H, аром.), 7.67–7.73м (2H, аром.), 8.91д (1H, ізатин, J = 7.5 Гц), 10.08с (1H, NH).

Загальна методика синтезу 4-(2-оксо-1,2-дигідроіндол-3-іліденметил)-арил-(2,4-діоксотіазолідин-5-іл)-ацетатів (4.1-4.2). Суміш 0,005 моль 1,3-дигідроіндол-2-ону, 0,0055 моль відповідного 4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)-бензальдегіду та 0,005 моль ацетату натрію в 20 мл оцтової кислоти кип'яють протягом 3 год у круглодонній колбі із зворотним холодильником. Осад, який утворився після охолодження, відфільтровують та перекристалізують із суміші ДМФА – етанол (1:1).

Сполука 4.1. Вихід 78 %, Тпл. 230–232 °С. Знайдено, %: S – 8.13, N – 7.10. C₂₀H₁₄N₂O₅S. Вираховано, % S – 8.35, N – 7.28. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3.38–3.47м (2H, CH₂CH), 4.88шс (1H, CH₂CH), 6.89–6.93м (3H, аром.), 7.22–7.32м (2H, індол.), 7.55с (1H, =CH), 7.63–7.81м (3H, аром.), 10.66с (1H, NH, індол.), 12.20с (1H, NH, тіаз.).

Сполука 4.2. Вихід 80 %, Тпл. 256–258 °С. Знайдено, %: S – 7.48, N – 6.53. C₂₀H₁₃ClN₂O₅S. Вираховано, % S – 7.25, N – 6.68. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3.36–3.46м (2H, CH₂CH), 4.86шс (1H, CH₂CH), 6.87–6.93м (3H, аром.), 7.22–7.32м (2H, індол.), 7.55с (1H, =CH), 7.63–7.80м (2H, аром.), 10.55с (1H, NH, індол.), (1H, NH, тіаз. – дейтерообмін з розчинником).

Сполука 4.3. Вихід 65 %, Тпл. 192–194 °С. Знайдено, %: S – 6.77, N – 5.92. C₂₀H₁₄BrN₂O₅S. Вираховано, % S – 6.89, N – 5.68. ЯМР ¹H, δ, м.ч.:

3.36–3.45м (2H, CH₂CH), 4.70шс (1H, CH₂CH), 6.79–6.89м (2H, аром.), 7.25–7.31м (3H, аром.), 7.52–7.81м (3H, аром., =CH), 10.62с (1H, NH, індол.), 12.03с (1H, NH, тіаз.).

Сполука 4.4. Вихід 70 %, Тпл. 206–208 °С. Знайдено, %: S – 7.55, N – 6.60. C₂₁H₁₆N₂O₆S. Вираховано, % S – 7.38, N – 6.42. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3.27–3.45м (2H, CH₂CH), 3.85с (3H, CH₃), 4.70дд (1H, CH₂CH, J = 8.1, 3.8 Гц), 6.79–6.85м (2H, аром.), 7.12–7.17м (2H, аром.), 7.29д (1H, індол., J = 7.8 Гц), 7.37с (1H, =CH), 7.56–7.60м (2H, аром), 10.42с (1H, NH, індол.), 12.01с (1H, NH, тіаз.).

Сполука 4.5. Вихід 70 %, Тпл. 212–214 °С. Знайдено, %: S – 6.99, N – 6.10. C₂₁H₁₅ClN₂O₆S. Вираховано, % S – 7.21, N – 5.95. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3.38–3.45м (2H, CH₂CH), 3.83с (3H, CH₃), 4.87–4.90м (1H, CH₂CH), 6.90д (1H, аром.), 7.24–7.39м (2H, аром.), 7.52–7.62м (2H, аром.), 7.71с (1H, =CH), 7.86с (1H, аром.), 10.80с (1H, NH, індол.), 12.17с (1H, NH, тіаз.).

Висновки. 1. Здійснено синтез 2-(2,3-діксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-N-арил(гетерил)ацетамідів та 2-[2-оксо-3-(4-оксотіазолідин-5-іліден)-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-арил(гетерил)ацетамідів для біологічного скринінгу на антиоксидантну активність.

2. Запропоновано метод синтезу 2-{3-[3-аліл-2-ариліміно)-4-оксотіазолідин-5-іліден]-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл}-N-арилацетамідів, який ґрунтується на [2+3]-циклоконденсації дизаміцених тіосечовин з монохлороцтовою кислотою та N-заміченими ізатинами.

3. Вперше здійснено синтез 4-(2-оксо-1,2-дигідроіндол-3-іліденметил)-арил-(2,4-діоксотіазолідин-5-іл)-ацетатів шляхом взаємодії 1,3-дигідроіндол-2-онів та тіазолідинвісних оксидбензальдегідів в умовах реакції Кньовенагеля.

4. Скринінг антиоксидантної активності та аналіз кореляції “структура – дія” дозволив ідентифікувати **2.2** та **2.3** як “структури-хіт” для спрямованого пошуку потенційних антиоксидантних агентів.

Література

1. Зіменковський Б. С. 4-Тіазолідони. Хімія, фізіологічна дія, перспективи / Б. С. Зіменковський, Р. Б. Лесик. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 106с.
2. Biological activities of isatin and its derivatives / S. N. Pandeya, S. Smitha, M. K. Jyoti [et al.]. // Acta Pharm. – 2005. –Vol. 55. – P. 27–46.
3. Синтез і протипухлинна активність неконденсованих систем з 2-оксоіндолиним та 4-тіазолідиноновим фрагментами в молекулах / С. В. Хирков, Д. Я. Гаврилюк, Б. С. Зіменковський [та ін.] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. –2012. –№ 2(9). –С.74–78.

4. S. V. Harkov, D. Ya. Havrylyuk, N. I. Zelisko// Матеріали 1-ї загальноуніверситетської науково-практичної конференції молодих вчених «Контроверсійні питання сучасної клінічної медицини». Львів, 4-8 квітня 2011 р. –С. 133-134.
5. Synthesis and Anticancer Activity Evaluation of 4-thiazolidinones Containing Benzothiazole Moiety / D. Havrylyuk, L. Mosula, B. Zimenkovsky [et al.] // Eur. J. Med. Chem. –2010. –Vol. 45. – P. 5012-5021.
6. Синтез та вивчення противірусної активності тіазолонів з піразоліновим фрагментом у молекулах / Д. Я. Гаврилюк, Б. С. Зіменковський, О. М. Василенко [та

ін.] // Журнал органічної та фармацевтичної хімії – 2009. – Т. 7, – № 1(25). – С. 57–61.

7. Антипротозойна активність неконденсованих систем з тіазолідиновим та піразоліновим фрагментами у молекулах / Д. Я. Гаврилюк, Б. С. Зіменковський, Н. І. Зеліско [та ін.] // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. – 2010. – № 3–4. – С. 62–67.

8. Trotsko N. Synthesis of amides of 5-arylidene-2,4-dioxothiazolidine-3-acetic acid with 1,2,4-triazole system / N. Trotsko, M. Dobosz, V. Lukianchuk // Acta Poloniae Pharmaceutica. – Drug Research. – 2006. – Vol. 63(1). – P. 47–52.

9. Evaluation of the antioxidant effects of some flavonylthiazolidinediones by determining their effects on lipid peroxidation, superoxide anion formation, and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl stable free radical / M. Tuncbilek, B. K. Eke, G. Ayhan-Kilcigil [et al.] // Biol. Pharm. Bull. – 2004. – Vol. 27(6). – P. 912–915.

10. Design, synthesis and evaluation of carbazole derivatives as PPAR α / γ dual agonists and antioxidants / R. Kumar, U. Ramachandran, K. Srinivasan [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2005. – Vol. 13. – P. 4279–4290.

11. Synthesis of new spiroindolinones incorporating a benzothiazole moiety as antioxidant agents / O. Guzel, N. Karali, N. Ozsoy [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2010.

– Vol. 45. – P. 1068–1077.

12. Biradar J.S. Synthesis, antioxidant and DNA cleavage activities of novel indole derivatives / J. S. Biradar, B. S. Sasidhar, R. Parveen // Eur. J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 45. – P. 4074–4078.

13. Синтез та вивчення протипракової активності 4-(2,4-тіазолідиндіон-5-ацетокси)бензиліденгідразонів бензозол-2-тіоацетатних кислот / Д. Я. Гаврилюк, Р. Б. Лесик, Б. С. Зіменковський [та ін.] // Фармацевтичний журнал. – 2006. – № 2. – С. 53–58.

14. Synthesis, structure – activity relationship and crystallographic studies of 3-substituted indolin-2-one RET inhibitors / L. Mologni, R. Rostagno, S. Brussolo [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2010. – Vol. 18. – P. 1482–1496.

15. Synthesis of new 4-thiazolidinone, pyrazoline, and isatin-based conjugates with promising antitumor activity / D. Havrylyuk, B. Zimenkovsky, O. Vasylenko [et al.] // J. Med. Chem. – 2012. – Vol. 55. – P. 8630–8641.

16. Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical / M. S. Blois // Nature. – 1958. – Vol. 181. – P. 1199–1200.

17. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity / P. Molyneux // J. Sci. Technol. – 2004. – Vol. 26. – P. 211–219.

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ 4-ТИАЗОЛИДИНОНОВ С 2-ОКСИИНДОЛИНОВЫМ ФРАГМЕНТОМ В МОЛЕКУЛАХ

С. В. Хырков, Д. Я. Гаврилюк, Х. Б. Гриневич, В. В. Огурцов, Р. Б. Лесык

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

Резюме: синтезировано производные 4-тиазолидинона с 2-оксииндолиновым фрагментом в 5 положении для биологического скрининга на антиоксидантную активность. На основе реакций N-алкилирования, конденсации Кнёвенагеля и [2+3]-циклоконденсации предложено три метода конъюгации тиазолидинового и индолинового фрагментов. Скрининг антиоксидантной активности и анализ корреляции «структура – действие» позволил идентифицировать два высокоактивных соединения, которые можно трактовать как «структуры-хиты» для направленного поиска антиоксидантных агентов.

Ключевые слова: синтез, 4-тиазолидиноны, изатин, реакция Кнёвенагеля, [2+3]-циклоконденсация, антиоксидантная активность.

SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 4-THIAZOLIDINONES WITH 2-OXOINDOLINE FRAGMENT IN MOLECULES

S. V. Khyrkov, D. Ya. Havrylyuk, H. B. Hrynevych, V. V. Ohurtsov, R. B. Lesyk

Lviv National Medical University by Danylo Halytskyi

Summary: the synthesis of 4-thiazolidinone derivatives with 2-oxoindoline fragment was carried out aiming the biological screening of antioxidant activity. Three methods of thiazolidinone and indoline fragments conjugation were proposed based on N-alkylation reaction, Knoevenagel condensation procedure and [2+3]-cyclocondensation. Screening of antioxidant activity and SAR-analysis allowed us to identify two highly active hybrids as hit-compounds for further investigation of antioxidant agents.

Key words: synthesis, 4-thiazolidinones, isatin, Knoevenagel condensation reaction, [2+3]-cyclocondensation, antioxidant activity.