

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Ректор Львівського національного  
університету імені Івана Франка

Володимир МЕЛЬНИК

М.П.



**АНОТОВАНИЙ ЗВІТ**  
**про виконану роботу у 2020-2021 роках в рамках реалізації проєкту**  
**із виконання наукових досліджень і розробок**  
**«Нові азолові та каркасні агенти проти раку та патогенних мікроорганізмів»**  
(назва Проєкту)

**Назва конкурсу:** «Наука для безпеки людини та суспільства»

**Рєєстраційний номер Проєкту:** 2020.01/0166

**Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок** (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.01/0166 «Нові азолові та каркасні агенти проти раку та патогенних мікроорганізмів»

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Наука для безпеки людини та суспільства» (назва конкурсу) протокол від «16-17» вересня 2020 року № 21

## **1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ**

Загальна тривалість виконання проєкту 2020 рік – 2021 рік  
Тривалість виконання Проєкту у 2021 році

Початок – 05.05.2021

Закінчення – 15.12.2021 рік

Загальна вартість Проєкту, грн. 7 921 239,00

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 2 800 000,00

2-й рік 5 121 239,00

## **2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ**

до виконання Проєкту залучено 11 виконавців, з них:

доктори наук 5;

кандидати наук 5;

інші працівники 1.

## **3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ**

**Грантоотримувач:** Львівський національний університет імені Івана Франка

## 4. ОПИС ПРОЄКТУ

### 4.1. Мета Проєкту

Пошук нових високоактивних антимікробних та протиракових агентів, дослідження методології їхнього дизайну і розробка зручних методів їх ефективного синтезу.

### 4.2. Основні завдання Проєкту

Основними завданням, на вирішення яких спрямовано проєкт, є: дизайн та відбір скефолдів, перспективних для дослідження цитотоксичної і цитостатичної дії; опрацювання зручних методів синтезу складних гетероциклічних та каркасних сполук; синтез полізаміщених азолів та споріднених гетероароматичних структур; скринінг синтезованих сполук на антимікробну та протиракову активність.

### 4.3. Детальний зміст Проєкту:

- *Сучасний стан проблеми* (до 400 знаків)

До скефолдів, що є перспективними у боротьбі з патогенними мікроорганізмами, як нещодавно з'ясовано, належать похідні 1,2,3-триазол-4-карбоксамідів. Попередні дослідження виконавців проєкту виявили значну антипроліферативну дію сполук цього класу. Доцільною є подальша оптимізація структури з метою покращення їх фармакологічної дії.

- *Новизна Проєкту* (до 400 знаків)

Розробка нових варіантів перичиклічних (циклоприєднання Хьюсгена та Дільса-Альдера) та мультикомпонентних реакцій. Бібліотеки нових високозаміщених азолів, споріднених гетероароматичних та каркасних сполук, зокрема похідних піразолу, ізомерних триазолів та оксадіазолів, тієнопіримідину та імідазопіридину. Виявлення нових сполук з цитотоксичною та цитостатичною дією та потенціалом для застосування у терапії раку.

- *Методологія дослідження* (до 400 знаків)

Методологія дослідження поєднує методики відбору та дизайну об'єктів дослідження на основі концепції біологічно орієнтованого синтезу (BIOS) та лід-орієнтованого синтезу (LOS), уявлення про ієрархії скефолдів і біоізомеризм, аналіз світових тенденцій у медичній хімії та відкритті ліків, та враховує результати попередніх робіт авторів, у яких виявлено низку високоактивних сполук.

## 5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

### 5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

Здійснено комплексний аналіз, дизайн та відбір скефолдів, перспективних для дослідження антипроліферативної, цитотоксичної і цитостатичної дії на ракових клітинах та патогенних мікроорганізмах. Сформовано віртуальні бібліотеки сполук та для відібраних структур проаналізовано спорідненість (афінитет) до важливих терапевтичних мішеней. Проведено докінгові дослідження нових похідних тієнопіримідинону та 2,4-диметил-N-(2-арил)-3-фурамідів. Синтезовано вихідні 1,3-диполярні реагенти та дієнофіли для конструювання цільових сполук. Одержано дієнові системи, алкіни, активовані кетометиленові та ацетонітрильні похідні. Розроблено методологію синтезу кон'югатів цитизин-тієнопіримідинону з високим виходом на основі термоактивованого трансанелювання 1H-тетразолів. Вивчено їхню протиракову активність. Знайдено нові похідні (5-аміно-1H-1,2,3-триазол-4-іл)хіназолін-4(3H)-ону з селективною антипроліферативною дією по відношенню до клітинної лінії раку яєчників OVCAR-4. Серед нових синтезованих сполук відібрано сполуку-лідера з [1,2,3]триазоло[4,5-b]піридиновим скелетом, яка виявила значну цитотоксичну активність щодо раку легень (EKVX). Синтезовано три серії нових 1H-1,2,3-триазол-4-карбоксамідів: 1-арил-5-заміщений-1H-1,2,3-триазол-4-карбоксамід, 1-арил-5-аміно-1H-1,2,3-триазол-4-карбоксамід та [1,2,3]триазоло[1,5-a]хіназолін-3-карбоксамід за допомогою клік-реакцій азидів та оцінена

антимікробна активність цих сполук щодо первинних збудників: грампозитивних та грамнегативних бактеріальних штамів *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, а також штамів грибів *Cryptococcus neoformans var. grubii* та *Candida albicans*. Знайдено сполуки, що виявляли помірну та високу активність. Вивчено цитотоксичність сполук на клітинах людини. В CuAAC-реакції органічних азидів з 3-(метилсульфоніл)проп-1-ином синтезовано низку нових 4-(метилсульфонілметил)-1H-1,2,3-триазолів для біологічних досліджень. Розроблено схему синтезу нових спіропохідних 1,10b-дигідро-5H-бензо[е]піразоло[1,5c][1,3]бензоксазину та виявлені речовини з антимікробною, протизапальною та антиоксидантною активністю. Запропоновано зручний спосіб отримання похідних оксазину, тіазину і хіноксаліну з арилметильним фрагментом з доступних реагентів-3-арил-2-бромпропанових кислот і їх естерів. Розроблено ефективні підходи до синтезу 2,4-диметил-N-(2-арил)-3-фурамідів та здійснено тестування їхньої протизапальної активності. Оцінено антиоксидантну активність серії тіазоло[4,5-b]піридин-2-онів.

Розроблено новий варіант циклоприєднання Х'юсгена, що дало змогу одержати серію нових 1,2,3-триазолів, зв'язаних з бензо[с]хромен-6-оновим фрагментом. Більшість сполук виявили токсичний ефект щодо трьох перевірених ракових клітинних ліній (HL-60, НСТ116, НСТ116 р53-/-). Встановлено, що естери 4,6-диметил-3-арил-2-оксо-2H-5-піранкарбонових кислот реагують з ацетатом амонію з утворенням естерів 2,4-диметил-6-оксо-5-арил-1,6-дигідропіридин-3-карбонових кислот, які виявляють антимікробну та антимікотичну активність. Одержано 2-[(5-арил-2-ілметил)-гідразоно]-тіазолідин-4-они, що володіють суттєвою протипухлинною активністю щодо лінії клітин НОР-92 недрібноклітинного раку легень. Крім того, зафіксовано виразний цитотоксичний вплив сполуки-хіта на клітинну лінію ССRF-СЕМ лейкої з показником GP= 25.58%. Синтезовано 5-R-бензил-2-(ариліденгідразоно)тіазолідин-4-онів, які виявляють помірну антимікробну активність щодо грам-позитивного бактеріального штаму *Staphylococcus aureus*, грамнегативного бактеріального штаму *Acinetobacter baumannii* та щодо грибкового штаму *Cryptococcus neoformans*. Використовуючи 2-ціано-N-(фуран-2-ілметил)-3-меркапто-3-(феніл-аміно)акриламід у реакціях [3+2]-циклоконденсацій, одержали комбінаторну бібліотеку 2-ціано-N-(фуран-2-ілметил)-2-(4-оксо-3-фенілтіазолідин-2-ілден)ацетамідів, які мають антибактеріальну та протигрибкову дію. Три із цих сполук демонструють високу активність проти *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* та *A. baumannii*, а дві – високу протигрибкову дію. Дослідження антибактеріальної активності та токсичності 4-нітро-бензенсульфонамідів з каркасними замісниками ((аза)норборненові, октагідро-3,5-метаноциклопента[б]пірольні), а також біоізостерними піперидиновими фрагментами проявляють високу антимікробну активність щодо стійкого до метициліну *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300). Ці сполуки добре засвоюються і не є токсичними для клітин людини (НЕК-293, HaCaT, Balb/c 3T3, еритроцити та лімфоцити, активовані мітогенами) у терапевтичній дозі. Розроблено ефективний метод синтезу 2-(1H-тетразол-5-іл)-5-арил-3-амінотіофенів з високими виходами і з широким спектром доступних арильних замісників у положенні 5 тіофенового циклу. Розроблено синтетичний підхід до конструювання похідних піролідоніптицену, використовуючи тандем реакцій N-ацилювання–Дільса-Альдера в ряду похідних антрацену. Синтезовано аліцитизин ( $L_{\text{cyt}}$ ) та розроблено спосіб одержання мідьвмісного комплексу  $\{L_{\text{cyt}}(\text{H}^+)\}[\text{Cu}_8\{L_{\text{cyt}}(\text{H}^+)\}\text{Cl}_{10}]$  і встановлено його кристалічну структуру. Зважаючи на спосіб координації іонів Cu(I) через  $\pi$ -зв'язування метал-олефін, одержаний комплекс перспективний для відкриття протипухлинних засобів.

Виявлено взаємозв'язки структура–дія, проведено оптимізацію та синтезовано близькі за структурою похідні для апробації результатів SAR. Оцінено можливі механізми антипроліферативної і цитостатичної дії та знайдено потенційні молекулярні мішені. Здійснено дослідження цитотоксичної дії найактивніших сполук. Знайдено, що сполука VP-4539 з біцикло[2.2.2]октеновим мотивом демонструвала високу активність щодо *Cryptococcus neoformans* та була толерантною до кератиноцитів лінії HaCaT людини, мишачих фібробластів лінії Balb/c 3T3 та мітоген-активованих лімфоцитів. Більше того, наявність відмінностей у протигрибковій активності цієї сполуки щодо лабораторних та резистентних штамів свідчить про потенціал цієї речовини, як елемента у розвитку як методики синтезу, так і перспективних хімічних конструкцій для подолання грибкових мультирезистентних інфекцій. Досліджено

цитотоксичність синтезованих 5,5'-ди(R-бензил)-4,4'-R'<sub>2</sub>-2,2'-бістіазолів. Розроблено новий варіант інтрамолекулярної реакції Дільса-Альдера для синтезу нових перспективних каркасних скафолдів. Досліджено нові реакції 1,3-диполярного циклоприєднання та синтезовано низку нових функціоналізованих 1,2,3-триазольних та [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразинових похідних. Оцінено антипроліферативну дію вибраних 1,2,3-триазол-4-карбонових кислот, що є ключовими фрагментами та попередниками протипухлинних 1,2,3-триазол-4-карбоксамідів. Проведено *in silico* дослідження та протипухлинний скринінг нових 1H-1,2,3-триазол-4-карбоксамідів. Знайдено чотири N-(4-тіоціанатофеніл)-1H-1,2,3-триазол-4-карбоксаміди, що порівняно з доксорубіцином (IC<sub>50</sub> = 0,65 мкМ) на наномолярному рівні прогнічували ріст клітин лейкемії Jurkat в діапазоні IC<sub>50</sub> 0,63-0,69 мкМ. За результатами досліджень токсичності сполук до HEK-293, HaCaT, Balb/c 3T3 було відібрано сполуку для подальших досліджень як біосумісний агент з перспективною протипухлинною активністю. Сполука проявила високу антипроліферативну активність щодо клітинних ліній лейкемії SR, MOLT-4; CCRF-CEM; HL-60(TB); K-562; RPMI-8226, раку нирок SAKI-1 і UO-31, та клітин меланоми LOX IMVI. Встановлено, що сполука інгібує ріст клітин LOX IMVI зі значенням GI<sub>50</sub> 0,15 мкМ. Оцінено потенційні механізми дії нової сполуки. Вона індукувала морфологічні зміни (апоптотичні тільця, мембранний блебінг, конденсацію хроматину та фрагментацію ДНК) у T-клітинах Jurkat та індукувала пошкодження ДНК у клітинах Jurkat без зв'язування та/або інтеркаляції з молекулою ДНК. Проведено її *in vivo* дослідження на мишах. В результаті досліджень ця сполука розглядається, як вдала структура з вираженою протипухлинною активністю яка зберігається *in vivo*, але є потреба у покращенні клітинної доступності даної сполуки для представлення її як повноцінного кандидата у лікарські засоби і проведення наступних етапів доклінічних досліджень.

## **5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами**

Науково-технічною продукцією є нові органічні сполуки з високою антимікробною та протипухлинною дією. Низка з них, відзначається терапевтичною селективністю, є толерантними до здорових клітин людини, та мають покращену біодоступність. Синтетичні підходи їх отримання є ресурсоощадними та більш екологічно дружніми порівняно з існуючими аналогами.

## **5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)**

Одержані результати розширили спектр досі невідомих ефективних біологічно активних сполук проти раку та патогенних мікроорганізмів, що сприяє зміцненню біобезпеки країни.

## **5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.**

Реалізація наступних етапів у розробці та відкритті ліків. Одержані результати можуть бути комерціалізовані компаніями в галузі тонкого органічного синтезу для розробки методик синтезу нових органічних сполук з потрібними властивостями. Результати виконання проєкту є також основою для розвитку досліджень у цьому напрямі в організаціях, де працюють виконавці.

**Науковий керівник Проєкту**  
Завідувач кафедри органічної хімії  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка



Микола ОБУШАК