© Перепелиця О. О.¹, Яремій І. М.¹, Купчанко К. П.¹, Панасенко Н. В.¹,
Братенко М. К.¹, Вовк М. В.², 2019

¹ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці

²Інститут органічної хімії НАН України, Київ

СИНТЕЗ І ГІПОГЛІКЕМІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ 4-[(1,3-ТІАЗОЛІДИН-5-ІЛІДЕН)МЕТИЛ]ПІРАЗОЛ-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЇЇ ЕСТЕРІВ

Розроблено препаративно зручний метод синтезу серії нових (піразол-4-іл)метилентіазолідинових структур, функціоналізованих в положенні 3 піразольного циклу карбоксилатною або карбоксильною групами, а в положеннях 3 і 5 тіазолідинового ядра – оксо-, тіо- або іміногрупами, який базується на конденсації 4-формілпіразол-3-карбонових кислот та їх етилових естерів із низкою заміщених тіазолідинів: 1,3-тіазолідин-2,4-діоном, 4-тіоксо-1,3-тіазолідин-2-оном, 2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-оном та 2-іміно-1,3-тіазолідин-4-оном. Результати біологічних досліджень показали, що отримані сполуки проявляють виражену дію до зниження рівня цукру у крові піддослідних тварин. Виявлена залежність «структура-фармакоефект» і встановлено, що (піразол-4-іл)метилентіазолідини, які містять положенні 1 піразольного циклу метильну, а в положенні 3 – карбоксильну групи, відзначаються стійким та тривалим ефектом на рівні, який перевищує референтний препарат піоглітазон.

Ключові слова: 4-формілпіразол-3-карбонові кислоти та їх естери, похідні 1,3-тіазолідину, конденсація, (піразол-4-іл)метилентіазолідини, гіпоглікемічна активність, залежність «структура-фармакоефект».

Значна поширеність та висока інвалідизація населення із захворюванням на цукровий діабет 2-го типу потребує постійного контролю щодо профілактики важких ускладнень на державному рівні. Згідно даних ВООЗ в 2014 р. в усьому світі зареєстровано 422 млн. осіб, що страждають на цукровий діабет, а в наступному десятилітті експерти прогнозують зростання кількості хворих до 600 млн. осіб [1]. Зважаючи на це, останніми роками активну глюкозознижувальну терапію рекомендується розпочинати на ранніх стадіях захворювання, що підвищує якість життя хворих [2,3]. Тому до безпеки антидіабетичних препаратів, у зв'язку з необхідністю їх довічного застосування, висуваються високі вимоги. Окрім того, більшість широкоживаних на сьогодні препаратів, за винятком інсуліну, знижують рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA1C) всього на 1%, що для пацієнтів, які впродовж тривалого часу хворіють на діабет, явно недостатньо [4-12]. Саме тому проблема пошуку ефективних і безпечних гіпоглікемічних засобів, зокрема серед різноманітних типів гетероциклічних сполук, є вкрай актуальною.

На сьогоднішній день серед вживаних пероральних цукрознижувачих препаратів потужною дією відзначаються сполуки ряду тіазолідиндіону, відомі під узагальнюючою назвою «глітазони». Суть їх терапевтичного

ефекту полягає у збільшенні чутливості периферійних тканин до інсуліну і покращенні утилізації глюкози. Разом з тим, під впливом глітазонів у пацієнтів можливе виникнення низки патологій: підвищення чутливості до інсуліну гепатоцитів та периферійних тканин; зростання інсулінозалежних витрат глюкози; зменшення виведення глюкози з печінки; зниження рівня глюкози, інсуліну і глюкозильованого гемоглобіну у крові. Окрім цього терапія глітазонами знижує рівень HbA1C всього на 0,5-1,4% [13].

Одним із варіантів вирішення цієї проблеми видається створення комбінованих препаратів із довготривалим антигіперглікемічним ефектом та здатністю впливати не тільки на симптоми захворювання, а й на причини їх виникнення. Саме тому метою нашого дослідження став синтез потенційних гіпоглікемічних агентів на базі раціонального дизайну систем із оксо(тіо, іміно) тіазолідиновим та функціональним піразольним ядрами.

Аналіз літературних джерел переконливо засвідчив наявність потужного фармакологічного потенціалу в серії гібридних сполук, в яких (1,3-тіазолідин)-5-іліденовий фрагмент з'єднаний по положенню 4 із 3-арилзаміщеним піразольним циклом. Серед них виявлені речовини із вираженою антимікробною [14-17], протизапальною [18,19] та анти-діабетич-

ною [20,21] дією, а також інгібітори панкреатинліпази [22].

Нами синтезована серія нових (піразол-4-іл)метилентіазолідинових структур, функціоналізованих в положенні 3 піразольного циклу карбоксилатною або карбоксильною групами, а в положеннях 3 і 5 тіазолідинового ядра – оксо-, тіо- або іміногрупами та досліджена їх гіпоглікемічна активність. Ключовими субстратами для синтезу цільових сполук були обрані раніше отримані авторами [23] етилові естери 4-формілпіразол-3-карбонових кислот **1 а,б** та нами [24] – самі кислоти **1 в,г**. Встановлено, що альдегідоестери **1 а,б** реагують із 1,3-тіазолідин-2,4-діоном, або 4-тіоксо-1,3-тіа-

золідин-2-оном при 3 год кип'ятінні в бензолі в присутності каталітичних добавок оцтової кислоти та піперидину із утворенням із виходами 78-92% 4-(тіазолідин-5-ілден)піразолів **2 а,б, 3 а,б**. В свою чергу, конденсація альдегідокислот **1 в,г** із 4-тіоксо-1,3-тіазолідин-2-оном або 2-тіоксо-1,3-тіазолідин-4-оном або 2-іміно-1,3-тіазолідин-4-оном реалізується при 1 год кип'ятінні в оцтовій кислоті в присутності каталітичної кількості безводного натрію ацетату і приводить до відповідних іліденопохідних **3 в,г, 4 а,б, 5** із виходами 76-96%.

Будова синтезованих сполук надійно доведена ІЧ-, ЯМР ^1H , хромато-мас-спектрами та елементним аналізом (табл. 1,2). Серед них

1, 3 а $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{Et}$; **б** $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{Et}$; **в** $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{H}$; **г** $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{H}$

2 а $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{Et}$; **б** $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{Et}$

4 а $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{H}$; **б** $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{H}$

5 $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{H}$

Таблиця 1

Виходи, температури плавлення, мас-спектри та результати елементного аналізу сполук **2 а,б, 3 а-г, 4 а,б, 5**

Сполука	Формула	$[\text{M}+1]^+$	Знайдено, % Вирахувано, %			$T_{\text{топл.}}$, °C	Вихід, %
			C	H	N		
2а	$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$	282	$\frac{46.68}{46.97}$	$\frac{3.86}{3.94}$	$\frac{15.16}{14.94}$	168-170	92
2б	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$	344	$\frac{55.71}{55.97}$	$\frac{3.90}{3.82}$	$\frac{12.41}{12.24}$	144-146	89
3а	$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$	298	$\frac{44.71}{44.43}$	$\frac{3.67}{3.73}$	$\frac{14.31}{14.13}$	231-233	83
3б	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$	360	$\frac{53.27}{53.47}$	$\frac{3.74}{3.65}$	$\frac{11.47}{11.69}$	147-149	78
3в	$\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$	270	$\frac{40.39}{40.14}$	$\frac{2.71}{2.62}$	$\frac{15.77}{15.60}$	172-174	92
3г	$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$	332	$\frac{50.48}{50.75}$	$\frac{2.82}{2.74}$	$\frac{12.47}{12.68}$	263-265	79
4а	$\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$	270	$\frac{39.88}{40.14}$	$\frac{2.71}{2.62}$	$\frac{15.81}{15.60}$	172-174	96
4б	$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$	332	$\frac{51.02}{50.75}$	$\frac{2.83}{2.74}$	$\frac{12.47}{12.68}$	276-278	87
5	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$	315	$\frac{53.79}{53.50}$	$\frac{3.14}{3.21}$	$\frac{18.01}{17.82}$	181-183	76

Таблиця 2

ГЧ- та ЯМР ^1H спектри сполук **2а,б, 3а-г, 4а,б, 5**.

Сполука	ГЧ-спектр, KBr, ν , cm^{-1}			Спектри ЯМР ^1H , δ , м.ч.
	C=O	N-H	COOH	
2а	1741 1732	3339	-	1.32 т (3H, CH ₃ , J 7.2 Гц), 3.99 с (3H, CH ₃), 4.31 к (2H, CH ₂ O, J 7.2 Гц), 8.17 с (1H, HC=), 8.18 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 12.38 ш.с (1H, NH).
2б	1739 1733	3344	-	1.35 т (3H, CH ₃ , J 7.2 Гц), 4.33 к (2H, CH ₂ O, J 7.2 Гц), 7.38 т (1H _{аром} , J 7.4 Гц), 7.53 т (2H _{аром} , J 7.4 Гц), 7.84 д (2H _{аром} , J 7.4 Гц), 8.12 с (1H, HC=), 8.23 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 12.43 ш.с (1H, NH).
3а	1742 1733	3311	-	1.34 т (3H, CH ₃ , J 7.2 Гц), 3.87 с (3H, CH ₃), 4.35 к (2H, CH ₂ O, J 7.2 Гц), 8.58 (1H, HC=), 8.65 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 13.77 ш.с (1H, NH).
3б	1738 1730	3305	-	1.37 т (3H, CH ₃ , J 7.2 Гц), 4.38 к (2H, CH ₂ O, J 7.2 Гц), 7.46 т (1H _{аром} , J 7.4 Гц), 7.56 т (2H _{аром} , J 7.4 Гц), 7.97 д (2H _{аром} , J 7.4 Гц), 8.56 (1H, HC=), 8.65 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 13.64 ш.с (1H, NH).
3в	1736	3321	2550-2751	3.99 с (3H, CH ₃), 8.27 с (1H, HC=), 8.63 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 13.73 ш.с (1H, NH). Протони групи COOH знаходяться в обміні з молекулами води дейтеророзчинника.
3г	1740	3317	2546-2745	7.46 т (1H _{аром} , J 7.2 Гц), 7.57 т (2H _{аром} , J 7.2 Гц), 7.97 д (2H _{аром} , J 7.2 Гц), 8.65 (1H, HC=), 8.70 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 13.73 ш.с (1H, NH). Протони групи COOH знаходяться в обміні з молекулами води дейтеророзчинника.
4а	1737 1725	3301	2569-2744	3.98 с (3H, CH ₃), 8.03 с (1H, HC=), 8.21 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 13.28 ш.с (1H, NH). Протони групи COOH знаходяться в обміні з молекулами води дейтеророзчинника.
4б	1735 1726	3295	2574-2760	7.45 т (1H _{аром} , J 7.2 Гц), 7.55 т (2H _{аром} , J 7.2 Гц), 7.99 д (2H _{аром} , J 7.2 Гц), 8.06 (1H, HC=), 8.61 с (1H, H ⁵ _{піразол}). Протони груп NH та COOH знаходяться в обміні з молекулами води дейтеророзчинника.
5	1730 1722	3358 3286	2485-2698	7.45 т (1H _{аром} , J 7.4 Гц), 7.58 т (2H _{аром} , J 7.4 Гц), 7.94 д (2H _{аром} , J 7.4 Гц), 8.05 (1H, HC=), 8.56 с (1H, H ⁵ _{піразол}), 8.74.с (1H, NH), 8.97 ш.с (1H, COOH), 9.15 с. (1H, NH).

найпоказовішими є спектри ЯМР ^1H із характерним синглетом утвореного в процесі конденсації іліденового фрагмента в діапазонах: 8.12-8.17 м.ч. (сполуки **2 а,б**), 8.27-8.65 м.ч. (сполуки **3 а-г**) та 8.03-8.05 м.ч.(сполуки **4 а, б, 5**).

Результати досліджень впливу сполук **2а,б, 3а-г, 4 а,б, 5** та згенерованої в умовах експерименту із кислоти **3в** натрієвої солі **3в'** на зміну рівня глюкози в крові лабораторних тварин наведені у табл. 3. Статистично вірогідне зниження рівня глюкози встановлено для речовин **3а-г, 3 в'** та **4а,в**. Тривалий антигіперглікемічний ефект упродовж усього періоду дослідження демонстрували речовини **3а,в,в',г, 4б**. Під впливом однократного введення референтного препарату піоглітазону в дозі 0,0214 ммоль/кг спостерігалася тенденція до зниження рівня глюкози через 4, 6, 8 та 10 год. від початку введення на рівні 9,2 %; 20,7 %, 23,0 % та 23,9 %, відповідно. Найбільше відносне зниження рівня глюкози, що становить 2,0 од. (30,4 %), зафіксовано для

сполуки **3в**, в той час як референтний препарат демонстрував зниження на 1,35 од. (23,9 %). На відміну від решти синтезованих похідних тiazолідинпіразолів сполука **5** виявила тривалий гіперглікемічний ефект упродовж всього періоду дослідження з максимумом вже на другу годину від початку введення. При цьому, відносне зростання рівня глюкози становило 1,3 рази ($P < 0,05$). Отже, синтезовані (піразол-4-іл)метилентiazолідини впливають на рівень глюкози в крові, переважно проявляючи гіпоглікемічний ефект, що дає підстави вважати їх потенційними об'єктами для подальших досліджень.

Після виокремлення речовин, для яких встановлені вірогідні зміни рівня глюкози впродовж періоду дослідження, доцільним видавалось проаналізувати залежність «структура-фармакоєфект» похідних. Виявлено, що варіювання замісників у положеннях 1 та 2 піразольного циклу, а також 3 та 5 тiazолідинового приводить до зміни концентрації глюкози в крові щурів.

Таблиця 3.

Динаміка змін рівня глюкози в крові щурів на тлі перорального введення речовин **2а,б, 3а-г, 4а,б, 5** у дозі 0,0214 ммоль/кг

№ з/п	0 год	2 год	4 год	6 год	8 год	10 год
Конт-роль	5,86±0,175	5,55±0,195	5,23±0,117	5,2±0,095	5,4±0,385	5,3±0,24
Піоглітазон	5,65±0,118	5,4±0,85	5,13±0,151 P<0,05	4,48±0,113 P<0,001	4,35±0,359 P<0,01	4,3±0,46 P<0,05
2а	5,85±0,919	5,65±0,819	4,8±0,424	5,15±0,213	5,3±0,141	5,31±0,441
2б	5,78±0,828	6,43±0,891	5,72±0,728	5,8±0,681	5,5±2,84	5,54±1,181
3а	6,3±0,571	6,34±0,128	5,61±0,699	4,35±0,099 P<0,05	4,51±0,1085 P<0,05	4,91±0,103 P ₁ <0,05
3б	6,97±0,569 P ₁ <0,05	5,91±0,869	5,1±0,608 P<0,05	6,1±0,705 P ₁ <0,05	6,17±0,611	6,47±0,811
3в	6,65±0,112 P ₁ <0,001 P ₂ <0,05	6,31±0,103	5,58±0,144 P ₁ <0,05	5,43±0,134 P ₁ <0,001	5,45±0,124	4,63±0,225 P
3в'	5,43±0,68	4,73±0,818	4,3±0,86	3,83±0,106 P<0,05 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001	4,08±0,655	4,3±0,105 P P ₂ <0,05
3г	6,17±0,115 P ₁ <0,01	6,1±0,315	5,97±0,924	4,4±0,1 P<0,001 P ₂ <0,001	4,23±0,109 P<0,001 P ₂ <0,05	4,73±0,664 P=0,05
4а	5,47±0,321	5±0,625	4,7±0,436	5,0±0,104 P ₁ <0,01	4,73±0,651	4,9±0,954
4б	5,83±0,252	5,53±0,153	5,0±0,557	4,9±0,556	4,47±0,109 P<0,001	4,87±0,108 P<0,01
5	5,67±0,058	7,5±0,844 P<0,05 P ₂ <0,05	6,83±0,673 P ₁ <0,05 P ₂ <0,05	6,57±0,896 P ₁ <0,05	6,61±0,661 P ₁ <0,05	6,60±0,56 P ₁ <0,05 P ₂ =0,05

Примітка: P – відносно вихідного рівня; P₁ – відносно референтного препарату; P₂ – відносно контролю

Встановлено, що сполука **3а** виявляла тривалий гіпоглікемічний ефект впродовж всього періоду дослідження з мінімумом на 6 год. від початку введення, вірогідно знижуючи рівень глюкози в 1,45 рази (P<0,05). Динаміка змін не була різкою. Заміна метильної групи на фенільну в 1-му положенні піразольного циклу (сполука **3б**) приводить до зсуву мінімуму з 6 год. на 4-ту год., при цьому, відносне зниження становило 1,4 рази (P<0,05) від моменту введення. Натомість, при заміні естерної групи в сполуці **3а** на карбоксильну в положенні 3 піразольного циклу (сполука **3в**) спостерігається пролонгування дії із 6 год до 10 год від початку введення. Відносне зниження рівня глюкози для останньої сполуки на 10 год від моменту введення становить 1,4 рази (P<0,001). При цьому, зниження рівня глюкози в 1,2 рази (P<0,05) утримується вже з 4-ої до 8-ої год. від початку введення, що відповідає дії референтного препарату (1,1-1,3 рази). Варто зазначити, що

при цьому динаміка змін не різка – стрибок рівня глюкози становить 2,02 од. Таким чином, введення в піразольний скафолд метильної та карбоксильної груп сприяє подовженню гіпоглікемічного ефекту і в обох випадках рівень глюкози знижується в 1,4 рази, що відповідає дії референтного препарату.

Модифікація карбоксильної групи в сполуці **3в** на натрій-карбоксилатну (*in situ* генерована речовина **3в'**) приводить до зміщення мінімуму з 10 год до 6 год від початку введення, не поглибивши його. Заміна метильної групи в сполуці **3в** на фенільну (сполука **3г**) зміщує мінімум з 10 год до 8 год, причому цей ефект мав місце впродовж усього періоду дослідження. Зниження рівня глюкози відносно вихідного становило 1,46 рази (P<0,001) на 8-му год від початку введення. Динаміка змін не різка, стрибок рівня глюкози становив 1,94. Зміна місцеположення замісників в тазолідиновому циклі (сполука **4в**) не приводила до вірогід-

ного зниження рівня глюкози. Отже, заміна карбоксильної групи в 3-му положенні піразольного циклу на карбоксилатну та метильної групи на фенільну групу знижує тривалість дії досліджуваних речовин.

Заміщення карбоксильної групи в сполучі **3г** на естерну (сполука **3б**) приводило до зміщення мінімуму із 8 год до 4 год від початку введення, не поглиблюючи його, що свідчить про її здатність подовжувати гіпоглікемічний ефект.

Сполука **4б** спричиняла гіпоглікемічну дію упродовж всього 10 год дослідження з відносним зниженням в 1,3 рази ($P < 0,001$) на 8 год від моменту введення, а заміна в ній фенільної групи на метильну (сполука **4а**) не приводила до очікуваного ефекту, хоча введення в положення 5 тіазолідинового циклу замість тіогрупи її іміноаналога (сполука **5**), навпаки, сприяло зростанню в 1,3 рази ($P < 0,05$) рівня глюкози з максимумом на 2 год від початку введення при тривалості дії впродовж усього періоду дослідження. Отже, наявність іміногрупи в 5-му положенні тіазолідинового ядра посилює гіперглікемічну активність досліджуваних речовин.

Таким чином, за даними первинного скринінгу, найвиразнішу пролонговану гіпоглікемічну дію виявили сполуки, які містять положенні 1 піразольного циклу метильну, а в положенні 3 – карбоксильну групи, що загалом підкреслює домінуючий вплив його структурної модифікації на вияв фармакологічних властивостей гібридних піразол-тіазолідинових структур.

Експериментальна частина

ІЧ спектри сполук в таблетках КВг записані на приладі Bruker Vertes 70. Спектри ЯМР ^1H отримані на спектрометрі Varian VXR-400 (399.97 МГц) у розчинах $\text{DMSO}-d_6$, внутрішній стандарт ТМС. Хроматомас-спектри одержані на приладі Agilent LC\MSD SL; колонка Zorbax SB-C18, 4.6x15 мм, 1.8мкм (PN 82(c)75-932); розчинник DMSO, іонізація електророзпиленням при атмосферному тиску. Елементний аналіз виконаний на приладі Perkin Elmer CHN Analyzer серії 2400 в аналітичній лабораторії Інституту органічної хімії НАН України. Температури плавлення визначені на столику Кофлера і невідкоректовані.

Етил 4-[(2,4-діоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил]-1H-піразол-3-карбоксилати (**2а,б**) та етил 4-[(2-оксо-4-тіоксо-1,3-тіазо-

лідин-5-іліден)метил]-1H-піразол-3-карбоксилати (**3а,б**).

До розчину 0.01 моль альдегідоестеру **1а,б** та 0.01 моль 1,3-тіазолідин-2,4-діону або 4-тіоксо-1,3-тіазолідин-2-ону в 15 мл сухого бензолу додавали 3 краплі оцтової кислоти, 1 краплю піперидину і кип'ятили 2 год. Реакційну суміш охолоджували, розчинник відганяли, залишок обробляли 10 мл етанолу. Утворений осад відфільтровували, промивали водою і кристалізували із оцтової кислоти.

4-[(2-Оксо-4-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил]-1H-піразол-3-карбонові кислоти (**3в-г**), 4-[(4-оксо-2-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил]-1H-піразол-3-карбонові кислоти (**4а,б**) та 4-[(2-іміно-4-тіоксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил]-1H-піразол-3-карбонова кислота (**5**).

До розчину 0.002 моль альдегідокислоти **1в,г** та 0.002 моль або 4-тіоксо-1,3-тіазолідин-2-ону або 4-тіоксо-1,3-тіазолідин-2-ону або 2-іміно-1,3-тіазолідин-4-ону в 10 мл оцтової кислоти додавали 0.01 г безводного ацетату натрію і кип'ятили 1 год. Реакційну суміш охолоджували, осад відфільтровували, промивали водою і кристалізували із оцтової кислоти.

Гіпоглікемічну активність отриманих сполук досліджували на 112 білих статевозрілих нелінійних щурах обох статей масою 200-250 г, отриманих з розплідника БДМУ. До експерименту щурів утримували в стандартних умовах віварію. Усі маніпуляції з щурами виконували з дотриманням принципів гуманного відношення до тварин у відповідності до етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним Конгресом з біоетики (Київ, 2000) та правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин (м. Страсбург, 1986). Відібрані після карантину тварини за методом випадкового вибору розподіляли на групи по 8 щурів обох статей з розмахом маси тіла до 15%. Як препарат порівняння використовували піоглітазон (5-{4-[2-(5-етилпіридин-2-іл)етокси]бензил} тіазолідин-2,4-діон, $M = 356$), який вводили в рекомендованій інструкцією до препарату дозі 0,0214 ммоль/кг ваги піддослідної тварини. Внутрішньошлункове введення синтезованих речовин здійснювали натще за допомогою атравматичного зонду у вигляді 3 %-ої крохмальної суспензії в аналогічній дозі. Контрольній групі тварин аналогічним способом вводили еквівалентні об'єми крохмального розчину. Можливу гіпоглікемічну

активність синтезованих речовин оцінювали за зміною концентрації глюкози у крові тварин до та після її однократного введення через 2, 4, 6, 8 та 10 год. Визначення глюкози в крові проводили експрес-аналізатором «One Touch Select Simple». Отримані результати обробляли з використанням програмних пакетів Microsoft Excel. Для валідності висновків використовували непараметричний критерій порівняння Mann-Whitney, який засвідчив подібні результати щодо обрахунків величини Р за допомогою критерію Стюдента. Рівень Р < 0,05 вважали вірогідним.

Висновки

1. Конденсацією 4-форміліпіразол-3-карбонових кислот та їх етилових естерів із 3,5-(оксо-, тіо-, іміно)заміщеними тiazолідинами синтезовані нові похідні 4-[1,3-тіазолідин-5-іліден]метилпіразол-3-карбонової кислоти та її етилових естерів.
2. Первинний фармакологічний скринінг синтезованих сполук виявив наявність серед них вираженого гіпоглікемічного ефекту та показав перспективність їх подальшого поглибленого дослідження.
3. Встановлено, що 1-метил-4[(4-оксо-2-тіо-оксо-1,3-тіазолідин-5-іліден)метил]-1H-піразол-3-карбонова кислота виявляє вищу гіпоглікемічну активність ніж референтний препарат піоглітазон в однакових умовах застосування і може претендувати на роль сполуки-хіта.

Список літератури

1. Панків В.І. Цукровий діабет: визначення, класифікація, епідеміологія, факти ризику // Міжнародний ендокринологічний журнал - 2013.- Т. 55.- С. 95-104.
(Pankiv V.I. Cukrovij diabet: vyznachennja, klasyfikacija, epidemiologhija, fakty ryzyku // Mizhnarodnyj endokrynologhichnyj zhurnal - 2013.- T. 55.- S. 95-104.)
2. Буров Ю. В. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP): РД 64-126-91 / Ю. В. Буров, И. В. Березовская, Г. Н. Золотарева; 2-е изд. – М.: Центр по биотехнологии, медицине и фармации, 2000. – 78 с.
(Burov Ju. V. Pravila doklinicheskoy ocenki bezopasnosti farmakologicheskikh sredstv (GLP): RD 64-126-91 / Ju. V. Burov, I. V. Berezovskaja, G. N. Zolotareva; 2-e izd. – M.: Centr po biotehnologii, medicine i farmacii, 2000. – 78 s.)
3. Barman J. A. Rosiglitazone / J. A. Barman, G. L. Plosker // Drugs. – 1999. – Vol. 57, № 6. – P. 921-930.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / за ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2002. – 527 с.
(Doklinichni doslidzhennja likarsjkykh zasobiv (metodychni rekomendaciji) / za red. O. V. Stefanova. – K.: Avicena, 2002. – 527 s.)
5. Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований / В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2003. – 775 с.
(Kamyshnikov V. S. Metody klinicheskikh laboratornyh issledovanij / V. S. Kamyshnikov. – Minsk: Belarus', 2003. – 775 s.)
6. Братенко М.К. Синтез та гіпоглікемічна активність похідних 4-піразоліден-3-карбонових кислот, екзофункціоналізованих гідразиніліден-1,3-тіазолідиновим фрагментом / М. К. Братенко, М. М. Барус, О. М. Денисенко [та ін.]. // Журн. орган. фарм. хімії. – 2015. – Т. 13, вип. 1. – С. 37-43.
(Bratenko M.K. Syntez ta ghipoghlikemichna aktyvnistj pokhidnykh 4-pirazoliden-3-karbonovykh kyslot, ekzofunkcionalizovanykh ghidrazyniliden-1,3-tiazolidynovym fragmentom / M. K. Bratenko, M. M. Barus, O. M. Denysenko [ta in]. // Zhurn. orghan. farm. khimiji. – 2015. – T. 13, vyp. 1. – S. 37-43.)
7. Тиазолидиндионы: «герои нашего времени» / А. А. Александров, С. С. Кухаренко, М. Н. Ядрихинская и др. // Лечащий врач. – 2012. – № 11. – С. 23-27.
(Tiazolidindiony: «geroi nashego vremeni» / A. A. Aleksandrov, S. S. Kuharenko, M. N. Jadrihinskaja i dr. // Lechashhij vrach. – 2012. – № 11. – S. 23-27.)
8. Bhosle M.R. Synthesis and antihyperglycemic evaluation of new 2-hydrazolyl-4-thiazolidinone-5-carboxylic acids having pyrazolyl pharmacophores/ M. R. Bhosle., J. R. Mali, S. Pal [et al] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2014. – Vol. 24, №12. – P. 2651-2654.
9. Hernandez-Varguez E. Synthesis, hypoglycemic activity and molecular modeling studies of pyrazole-3-carbohydrazides designed by a CoMFA model / E. Hernandez-Varguez, E. R. Aguayo-Ortis, J. J. Ramirez-Espinoza [et al] // Eur. Journ. Med. Chem. – 2013. – Vol. 69. P. 10-21.

10. Lincoff A. M. Pioglitazone and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. A Meta-analysis of Randomized Trials / A. M. Lincoff, K. Wolski, S. J. Nicholls, S. E. Nissen // *Journ. Amer. Med.* – 2007.- Vol. 298.- P. 1180-1188.
11. Raza S. Thiazolidin-4-one and thiazinan-4-one derivatives analogous to rosiglitazone as potential antihyperglycemic and antidiabetic agents / S. Raza, P. Swayam, S. Daya [et al] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 63. – P. 611-620.
12. Murugan R. Synthesis and *in vivo* antidiabetic activity of novel dispiropyrrolidines through [3+2] cycloaddition reactions with thiazolidinedione and rhodanine derivatives / R. Murugan, S. Anbazhagan, S. Narayanan // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44, Is. 8. – P. 3272-3279
13. Ярош О.К. Гіпоглікемічна активність нових галогеновмісних імідазоліметиле-2-тіо-1,3-тіазолідин-4-онів (глітазонів) / О.К.Ярош, М.В.Вовк, Р.В.Родік [та ін.] // *Журнал НАМН України* - 2015.- Т. 21.- С. 12-20.
(Jarosh O.K. Ghipoghlikemichna aktyvnistj novykh ghaloghenovmisnykh imidazolil-metylen-2-tio-1,3-tiazolidyn-4-oniv (ghlitzoniv) / O.K.Jarosh, M.V.Vovk, R.V.Rodik [ta in.] // *Zhurnal NAMN Ukrajinjy* - 2015.- T. 21.- S. 12-20.)
14. Wei Z.-Y. Synthesis and antimicrobial evaluation of (Z)-5-((3-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)methylene)-2-thioxothiazolidin-4-one derivatives / Z.-Y. Wei, J.-C.Liu, W. Zhang [et al] // *Med. Chem.*- 2016.- Vol.12.- P. 751-759.
15. Metwally N.H. Synthesis and antimicrobial activity of some new N-glucosides of 2-thio-4-thiazolidinone derivatives / N.H. Metwally, M.A. Abdalla, M.A.N. Mosselhi [et al] // *Carbohydrate Res.* – 2010.- Vol. 345.- P. 1135-1141.
16. Brahmbhatt H. 2-(3,4-Dichlorophenylimino)-5-((3-p-substitutedphenyl)-1-phenyl-1H-pyrazolo-4-yl)methylene)thiazolidin-4-one as an antibacterial, antifungal and antimycobacterial agents / H. Brahmbhatt, A.K. Bhatt, A.K. Das [et al] // *J. Heterocyclic Chem.*- 2017.- Vol.54.- P.2838-2843.
17. Prakash O. Synthesis and antimicrobial activity of 5-((3-aryl-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)methylene)thiazolidine-2,4-diones / O.Pra-kash, D.K. Aneja, P. Lohan [et al] // *Med. Chem. Res.*- 2012.- Vol.21.- P.2961-2968.
18. Youssef A.M. Synthesis and biological evaluation of novel pyrazolyl-2,4-thiazolidinediones as anti-inflammatiry and neuroprotective agents / A. M. Youssef, M.S. White, E.B. Villanueva [et al] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*- 2010.- Vol. 18.- P. 2019-2028.
19. Kai D. Design, synthesis, and discovery of 5((1,3-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6-(1H,3H,5H)-triones and related derivatives as novel inhibitors of mPGES-1 / D. Kai, Z. Ziyuan, Z. Shuo [et al] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*- 2018.- Vol. 27.- P. 858-862.
20. Naim M.J. Synthesis, docking, *in vitro* and *in vivo* antidaabetic activity of pyrazole-based 2,4-thiazolidineon derivatives as PPAR-γ modulators / M.I. Naim, O. Alam, J. Alam [et al] // *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*- 2018.- Vol. 351.- P. e1700223.
21. Kumar P. Synthesis of novel inhibitirs of α-amylase based on the thiazolidine-4-one skeleton containing a pyrazole moeity and their configurational studies / P.Kumar, M. Duhan, K. Kadyan [et al] // *Med Chem Commun.* – 2017.- Vol. 8.- P. 1468-1476.
22. Sridhar S.N.C. Design, synthesis, biological evaluation and molecular modelling studies of novel diaryl substituted pyrazolyl thiazolidinediones as potent pancreatic lipase inhibitors / S.N.C. Sridhar, D. Bhurta, D. Kantwal [et al] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*- 2017.- Vol. 27.- P. 3749-3754.
23. Matiichuk V.S. Molecular design of pyrazolo[3,4-d]pyridazines / V.S. Matiichuk, M.A. Potopnyk, N.D. Obushak // *Russ. J. Org. Chem.*- 2008.- Vol.44.- P. 1352-1361.
24. Bratenko M.K. Pokyfunkcional pyrazoles. 5. Preparative synthesis of 1-aryl-4-formylpyrazole-3-carboxylic acids / M.K. Bratenko, M.M. Barus, M.V. Vovk // *Chem. Heterocyclic Compd.*- 2009.- Vol. 45.- P. 1464-1468.

Summary

Perepelytsya O. O., Yaremiy I. M., Kupchanko K. P., Panasenko N. V.,
Bratenko M. K., Vovk M. V.

SYNTHESIS AND HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF DERIVATIVES OF 4-((1,3-THIAZOLYDINE-5-YLIDEN)METHY)PYRAZOLE-3-CARBONIC ACID AND ITS ESTERS.

An effective preparative method of synthesis of a series of new (pyrazole-4-il)methylenethiazolidine structures has been elaborated. The structures are functionalized in the 3rd position by the carboxylate or carboxyle group and in the 3rd and 5th positions of the thiazolidine cycle – by the oxo-, thio- or iminogroups. The method involves condensation of 4-formylpyrazole-3-carbonic acids and their ethyl esters with a series of the substituted thiazolidines: 1,3-thiazolidine-2,4-dione, 4-thioxo-1,3-thiazolidine-2-one, 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one and 2-imino-1,3-thiazolidine-4-one.

A group of 112 white adult nonlinear rats of both genders was used to investigate the hypoglycemic activity of the synthesized compounds. Pioglitazonum (5-{4-[2-(5-ethylpyridine-2-il)etoxy]benzyl}thiazolidine-2,4-dione, M=246) was used as a reference medicine in the standard dosage of 0.0214 mmole/kg. All compounds were administered intragastrically on an empty stomach using a non-traumatic catheter as a 3 % starch suspension while same dosage of the neutral suspension (without any acting medicine) was administered to the animals of the control group. Possible hypoglycemic activity of the compounds was evaluated by the changes in glucose concentration in blood measured before and 2, 4, 6, 8 and 10 hours after the single administration of a compound. An express glucometer “One Touch Select Simple” was employed for the above tests. Then all the data were processed by MS Excel.

As seen from the results of the biochemical investigations, a clear hypoglycemic activity has been registered for the compounds mentioned in this work. Five of ten products have ensured a prolonged effect embracing the entire duration of the experiment. 1-methyl-4[(4-oxo-2-thioxo-1,3-thiazolidine-5-iliden)methyl]-1*H*-pyrazole-3-carbonic acid caused the deepest decrease in the glucose content (2.0 units or 30.4 %) while in case of the reference medicine it was only 1.35 units (23.9 %).

Some dependence between the compound structure and its pharmaceutical activity was also found. The most prolonged and steady hypoglycemic activity was registered for (pyrazole-4-il)methylethiazolidines with methyl group as a substitute in the 1st position and carboxylic group – in the 3rd position. Additional introduction of the methyl and carboxylate groups into pyrazolic scaffold results in a prolonged and deeper hypoglycemic effect leading to the 1.4 times lesser drop in glucose concentration as compared to that after administration of the reference medicine.

Keywords: 4-formilpyrazole-3-carbonic acids and their esters, substituted 1,3-thiazolidines, (pyrazole-4-il)methylenethiazolidine, condensation, hypoglycemic activity, dependence structure – pharmaceutical efficiency.