МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ
ВОЛИНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЛЕСІ УКРАЇНКИ

Кафедра органічної та фармацевтичної хімії

На правах рукопису

ЩУК ЛІЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 5-ЕНТІАЗОЛО[3,2-*b*][1,2,4]ТРІАЗОЛ-6(*5H*)-ОНУ

Спеціальність: 226 «Фармація, промислова фармація»

Освітньо-професійна програма «Фармація»

Робота на здобуття освітнього ступеня «Магістер»

Науковий керівник:

ГОЛОТА СЕРГІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

Доцент, кандидат фармацевтичних наук

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ЗАХИСТУ

Протокол №_____

Засідання кафедри органічної

та фармацевтичної хімії

від _____2024 р.

Завідувач кафедри

доц. Сливка Н.Ю.

Луцьк – 2024

АНОТАЦІЯ

Іщук Л.О. дослідження антиоксидантної активності похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону. Спеціальність 226 «Фармація, промислова фармація». – Волинський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк, 2024 р.

Похідні 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону є об'єктами інтенсивних досліджень у сачусній органічній та медичній хімії. Дані гетероциклічні молекули використовуються як зручні "структурні блоки" у синтетичних перетвореннях, а також володіють значним фармакологічним потенціалом широкого профілю.

Дана робота присвячена дослідженню антиоксидантної активності в умовах DPPHмоделі двох структурних серій (ариліден та амінометиліден) похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону.

В роботі проведено скринінг антиоксидантних/антирадикальних властивостей 23 похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-тесту в одній концентрації (5 ммоль). В результаті проведеного скринінгу ідентифіковано дві сполуки – хіти: (E/Z)-5-(4-(діетиламіно)бензиліден)тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-он та(E/Z)5-((циклопропіламіно)метилен)тіазоло[3,2-b][1,2,4]тріазол-6(5H)-он, які характеризувались значеннями відсотку пригнічення вільних DPPH - радикалів 37,2% та 75,8% відповідно. Решта сполук характеризувалисьзначеннями відсотку пригнічення вільних DPPH - радикалівв межах від 2,2 до 5,2%, що можна трактувати як відсутність активності за даних експериментальних умов(стандарт - аскорбінова кислота (5 мМ)). За результатами визначення IC_{50} встановлено, що (E/Z)-5-(4-(діетиламіно)бензиліден)тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-он та(E/Z)5-((циклопропіламіно)метилен)тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онхарактеризуються значеннями показників IC_{50} 5,624 мМ та 1,409 мМ відповідно. Тоді як, встановлений в експериментальних умовах показник IC_{50}для аскорбінової кислоти становив 0,045 мМ.

Ключові слова: аналіз DPPH, показник IC50, метилен

ANNOTATION.

Ishchuk L.O. Study of antioxidant activity of 5-ethiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6(5H)-one derivatives. Specialty 226 "Pharmacy, Industrial Pharmacy." - Lesya Ukrainka Volyn National University, Lutsk, 2024.

Derivatives of 5-ethiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6(5H)-one are the objects of intensive research in organic and medicinal chemistry. These heterocyclic molecules are used as convenient "building blocks" in synthetic transformations and also have significant pharmacological potential of a wide profile.

The present work is devoted to the study of antioxidant activity in the DPPH model of two structural series (arylidene and aminomethylidene) of 5-ethiazolo[3,2-b] [1,2,4]triazole-6(5H)-one derivatives.

The antioxidant/antiradical properties of 23 5-ethiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6(5H)-one derivatives were screened in the DPPH test at a single concentration (5 mmol). As a result of the screening, two compounds were identified as hits: (E/Z)-5-(4-(diethylamino)benzylidene)thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6(5H)-one and (E/Z)5-((cyclopropylamino)methylene)thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6(5H)-one, which were characterized by the percentage of free DPPH radical inhibition of 37.2% and 75.8%, respectively.

The remaining compounds were characterized by the percentage of free DPPH radical scavenging in the range from 2.2 to 5.2%, which can be interpreted as the absence of activity under these experimental conditions (standard - ascorbic acid (5 mM)). According to the results of the IC50 determination, it was found that (E/Z)-5-(4-(diethylamino)benzylidene)thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6(5H)-one and (E/Z)5-((cyclopropylamino)methylene)thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6(5H)-one are characterized by IC50 values of 5.624 mM and 1.409 mM, respectively. Whereas, the IC50 value for ascorbic acid established in experimental conditions was 0.045 mM.

Keywords: DPPH analysis, IC50, methylene

ЗМІСТ

ВСТУП……..……...5

РОЗДІЛ 1. СИНТЕТИЧНІ ПІДХОДИ ДО ТІАЗОЛО[3,2-*B*]-1,2,4-ТРІАЗОЛ-5(*6H*)-ОНІВ, ЇХ ВИКОРИСТАННЯ В ХІМІЧНИХ ПЕРЕТВОРЕННЯХ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) ……..…….....…...8

Розділ 1.1.Синтетичні підходи до утворення тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-онової системи……..……....……..8

Розділ 1.2. Фармакологічні властивості похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону…….……....……14

РОЗДІЛ 2. ОЦІНКА АНТИОКСИДАНТНИХ/АНТИРАДИКАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СЕРІЇ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛО[3,2-*b*][1,2,4]ТРІАЗОЛ-6(*5H*)-ОНУ НА МОДЕЛІ ДИФЕНІЛПІКРИНГІДРАЗИНОВИХ (DPPH) РАДИКАЛІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА)……....18

Розділ 2.1. Загальна характеристика об’єктів дослідження - похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону відібраних для скринінгу антиоксидантних властивостей на моделі дифенілпікрингідразинових (DPPH) радикалів……..…….……...18

Розділ 2.2. Характеристика бібліотеки похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*] [1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону……..19

Розділ 2.3. Дослідження антиоксидантних/антирадикальних властивостей похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-тесту в одній концентрації (5 ммоль)……..23

Розділ 2.4. Визначення IC_{50} для ряду похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*] [1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-тесту……..28

Розділ 2.5. Встановлення взаємозв'язків "молекулярна структурна – антирадикальна активність" та можливі механізми реалізації антирадикальної активності……30

Розділ 2.6. Опис експериментів……..…34

Розділ 2.6.1. Синтез та характеристика похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*] [1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону 1-23…….....34

Розділ 2.6.2. Досліження антиоксидантної/антирадикальної активності сполук 1-23 в умовах DPPH – методу…….....34

Розділ 2.6.3 Статистичний аналіз……..……35

ВИСНОВКИ……36

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ……37

ВСТУП

Актуальність теми. Тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-они належать до біциклічних гетероароматичних систем з анельованими 1,2,4-тріазольним і тіазольним циклами, які викликають інтерес уорганічних та медичних хіміків завдяки своїй різноманітній біологічній активності. Деякі 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-они були успішно вивчені як потенційні протизапальні, знеболювальні, антимікробні, протигрибкові, антиоксидантні, протисудомні, антигіпертензивні та антиагрегаційні агенти. Молекули з зазначеної групи в більшості випадків характеризуються задовільними лікоподібними характеристиками, а також високою синтетичною доступністю. Перераховані фактори є аргументами для синтезу нових похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онів та їх поглиблених фармакологічних досліджень.Слід відмітити, що в останні десятиріччя спостерігається інтерес науковців до поліфармакологічних властивостей органічних молекул. І в цьому контексті викликає інтерес та є актуальним дослідження антиоксидантних властивостей сполук, які володіють іншими видами активності, зокрема протипухлинною, протизапальною чи протимікробною тощо.

Мета і задачі дослідження. Метою даної роботи була систематизація даних щодо методів синтезу та вивчення фармакологічних властивостей структурно-модифікованих похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону; дослідження антиоксидантних/антирадикальних властивостей бібліотеки 5-ариліден- та 5-амінометиліденпохідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону, для яких раніше описані протипухлинні властивості, в умовах DPPH-тесту.

Для досягнення вказаної мети необхідно було виконати наступні задачі:

- на основі літературних джерел провести системний аналіз методів синтезу та фармакологічних властивостей структурно-модифікованих похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону;
- дослідження антиоксидантних/антирадикальних властивостей бібліотеки з 23 сполук - 5-ариліден- та 5-амінометиліденпохідних похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-тесту.

Об'єктами дослідження були раціональні підходи та методології, які використовуються органічній та медичній хімії природних та синтетичних гетероциклічних сполук, методи дослідження біологічної активності.

Предметом дослідження стали фізико-хімічні властивості природних органічних молекул особливості їх біологічної активності та фармакологічне застосування.

Методи дослідження: бібліографічний аналіз, системний підхід, фармакологічний скринінг.

- ***Наукова новизна та практичне значення одержаних результатів.*** Проведено літературний аналіз загальної ключових проблем методів синтезу структурно-модифікованих похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону. Визначено перспективність і практичну цінність фармакологічного потенціалу зазначених гетероциклічних молекул.Здійснено дослідження антиоксидантних/антирадикальних властивостей бібліотеки з 23 сполук - 5-ариліден- та 5-амінометиліденпохідних похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-тесту. За результатами скринінгу ідентифіковано 2 активні молекули, які можуть бути використані як структурні елементи для наступних досліджень потенційних антиоксидантних агентів з цього класу гетероциклічних сполук.

Апробація результатів досліджень. Основні положення роботи доповідались на семінарах наукового гуртка, а також засіданні кафедри органічної та фармацевтичної хімії (травень 2024 р.).

Структура роботи. Дипломна робота викладена на 41 сторінці машинописного тексту і складається зі вступу, 2 розділів, висновків, списку використаних джерел.

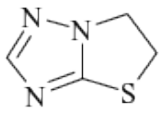
Робота ілюстрована 13 схемами і 7 рисунками. Перелік використаної літератури включає 34 джерела.

РОЗДІЛ 1. СИНТЕТИЧНІ ПІДХОДИ ДО ТІАЗОЛО[3,2-*B*]-1,2,4-ТРІАЗОЛ-5(*6H*)-ОНІВ, ЇХ ВИКОРИСТАННЯ В ХІМІЧНИХ ПЕРЕТВОРЕННЯХ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

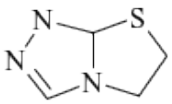
Розділ 1.1.Синтетичні підходи до утворення тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-онової системи

Тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-они належать до біциклічних гетероароматичних систем з анельованими 1,2,4-тріазольним і тіазольним циклами, які можуть бути з'єднані у два способи, як представлено на схемі 1 утворюючи таким чином тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол та тіазоло[3,2-*c*]-1,2,4-тріазол відповідно[1,2].

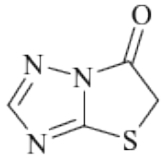
Схема 1



thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole



thiazolo[3,2-c]-1,2,4-triazole



thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-6(5H)-one

Завдяки наявності в системі двох різних гетероциклів існує два потенційно можливих синтетичних підходи для синтезу основних молекул, з використанням у якості стартових реагентів як 1,2,4-тріазолвмісних, так і з тіазоловмісних каркасів. Застосуваня тіазоловмісних каркасів використовується рідше і майже не зустрічається в синтетичних схемах [1,2]. Водночас більшою популярністю користуються схеми з використанням 1,2,4-тріазолвмісних скаффолдів і ці синтетичні підходи до синтезу похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону можна класифікувати та віднести до наступних двох основних груп [1,2]:

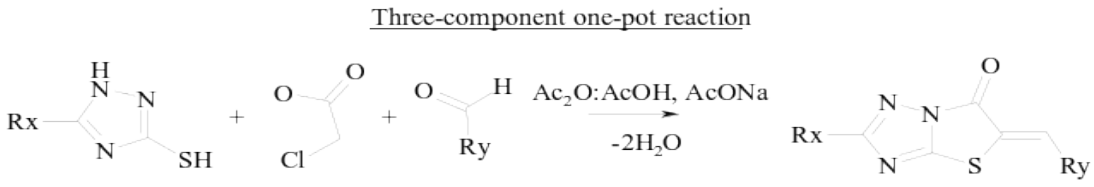
а) синтетичні підходи, які базуються на циклізації до цільової біциклічної тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-онової системи з

використанням S-(3-R-1,2,4-тріазол-5-іл)тіогліколевих кислот як вихідних реагентів;

б) синтетичні підходи, які базуються на реакціях [2+3]-циклоконденсації різних 3(5)-меркапто-1,2,4-тріазолів з еквівалентами діелектрофільного синтону $[C_2]^{2}+$;

в) окремо можна виділити ефективні однореакторні трикомпонентні методи синтезу, які є за своєю методологією є реакціями [2+3]-циклоконденсації.Типовий приклад даного типу багатокомпонентних реакцій у синтезі похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону наведено на схемі 2

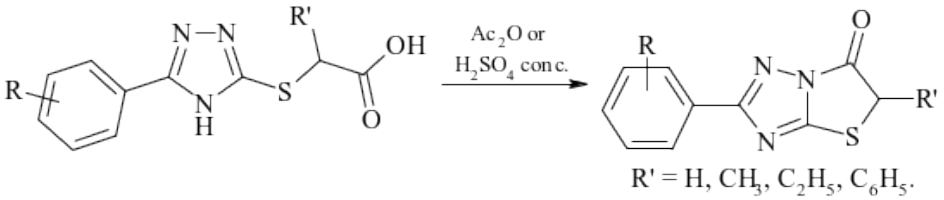
Схема 2



Використання зазначеного мультикомпонентного процесу є зручним інструментом в медичній хімії похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону та дозволяє отримувати бібліотеки сполук даного класу з різними замісниками в тріазольному ядрі та в іліденовій компоненті.

Циклізація різних S-(3-R-1,2,4-тріазол-5-іл)тіогліколевих кислот є зручним методом для синтезу 6-незаміщених та 6-алкіл(арил)-похідних (схема 3) [4,5]. Метод забезпечує хороші результати за наявності в 1,2,4-тріазольному циклі електроноакцепторних замісників у положенні 3 гетероциклічної системи. Повідомлень про синтез 2,6-незаміщених або 2-алкіл-6-незаміщених тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-триазол-5(*6H*)-онів немає:

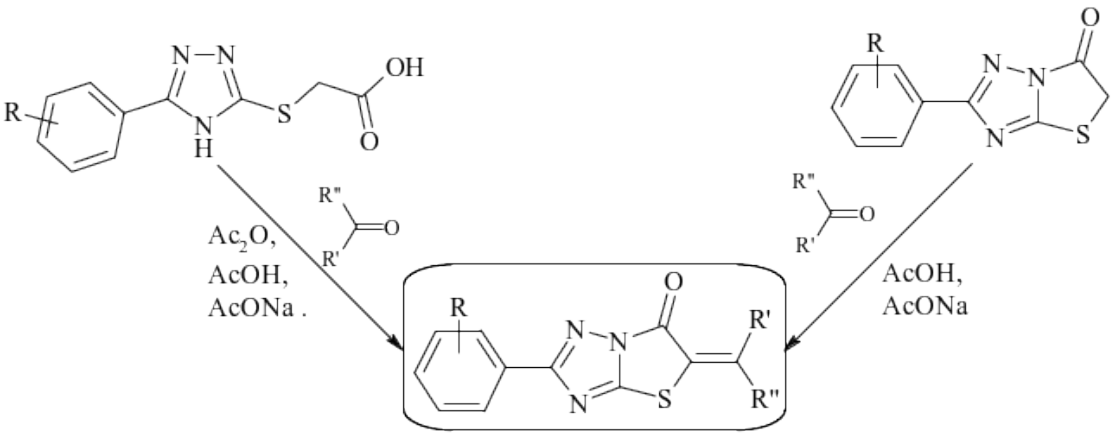
Схема 3



Оцтовий ангідрид, суміш оцтовий ангідрид – оцтова кислота і концентрована сірчана кислота запропоновані для використання в якості циклізуючих рагентів відповідних S-(3-R-1,2,4-тріазол-5-іл)тіогліколевих кислот. Слід відмітити, що використання суміші оцтовий ангідрид – оцтова кислота є найбільш популярним та оптимальним для отримання відповідних похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону за виходом і часом реакції.

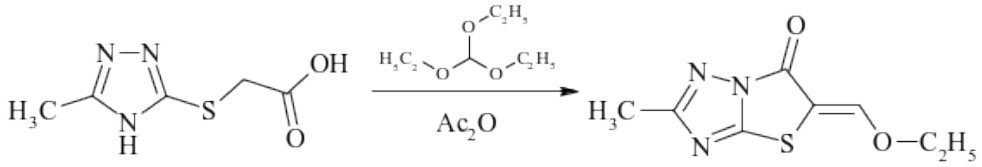
Однореакторна циклізація S-(3-R-1,2,4-тріазол-5-іл)тіогліколевих кислот оксосполуками є зручним методом синтезу для отримання 6-ілідентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-онів [5-9], які можна в свою чергу також можна отримати з використанням 6-незаміщених тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-онів, як наведено на схемі4:

Схема4



ВзаємодіяS-(3-метил-1,2,4-тріазол-5-іл)тіогліколевої кислоти з триетилортоформіатом [6] в присутності оцтового ангідриду призводить до утворення 2-метил-6-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5-он як це представлено на схемі 5:

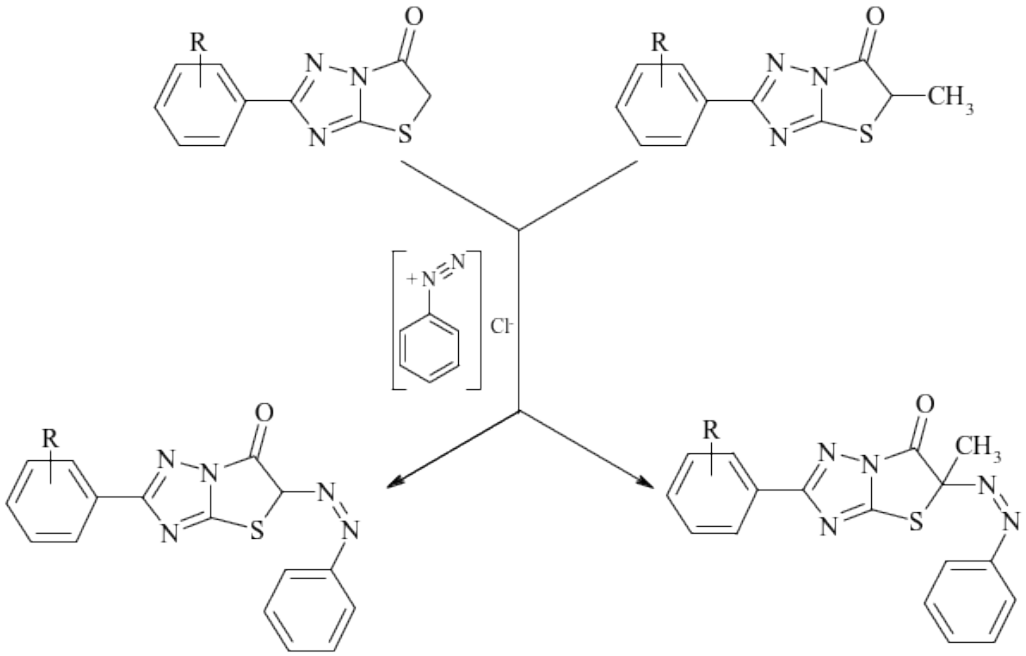
Схема5



Зазначений підхід є ефективним методом до синтезу відповідних 6-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5-онів, які є ефективними реагентами в реакціях з нуклеофільними реагентами різного типу та мають значні перспективи застосування в синтезі бібліотек біологічно активних похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5-онів.

Одним із можливих варіантів модифікації 6-го положення гетероциклічної системи можуть бути використані реакції з деякими слабкими електрофільними реагентами як наприклад діазосполуками. Так, в літературі описані реакції діазотування 6-незаміщених та 6-метилтіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5-онівз солями діафонію з утворенням відповідних 6-фенілазопохідних [4] як представлено на схемі 6.

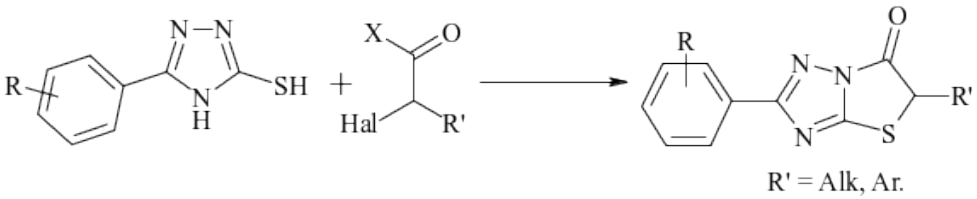
Схема 6



Синтетичні підходи, які базуються на реакціях [2+3]-циклоконденсації різних 3(5)-меркапто-1,2,4-тріазолів з еквівалентами діелектрофільного синтону $[C_2]^{2+}$ширше використовуються для синтезу різноманітних похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону в наукових дослідженнях.

В якості з еквівалентів діелектрофільного синтону $[C_2]^{2+}$ досить часто застосовуються різноматні альфа-галогеналкіл(арил/гетарил)карбонові кислоти та їх хлорангідриди, що призводить до утворення відповідних 6-заміщених похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону, як представлено на схемі 7:

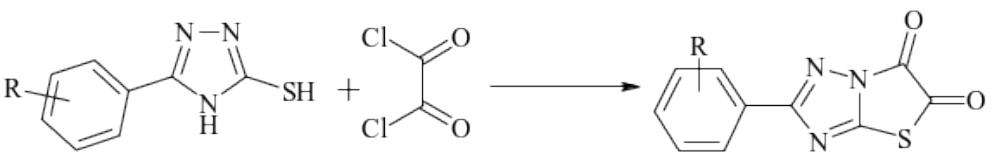
Схема 7



Зазначену реакцію циклізаціїз використанням альфа-галогеналкіл(арил)карбонових кислот найчастіше виконують у середовищі оцтового ангідриду за присутності безводного ацетату натрію, в той час як реакцію циклізації з використанням відповідних хлорангідридів можна виконувати в середовищі безводного бензолу за присутності акцептора галогеноводню – піридину.

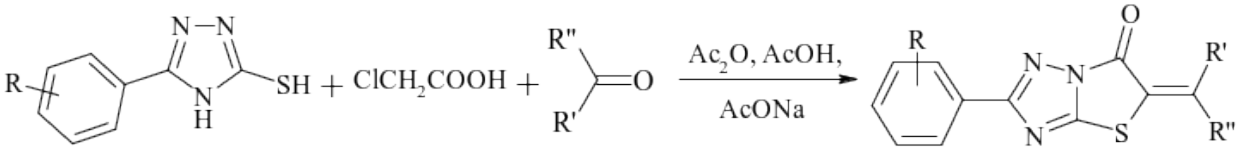
Також в якості еквіваленту діелектрофільного синтону $[C_2]^{2+}$ запропоновано використання як циклізуючого агенту – дихлорангідриду щавлевої кислоти. В результаті такої взаємодії синтезовано та описано рід оригінальних похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5,6-діонів як це зображено на схемі 8:

Схема 8



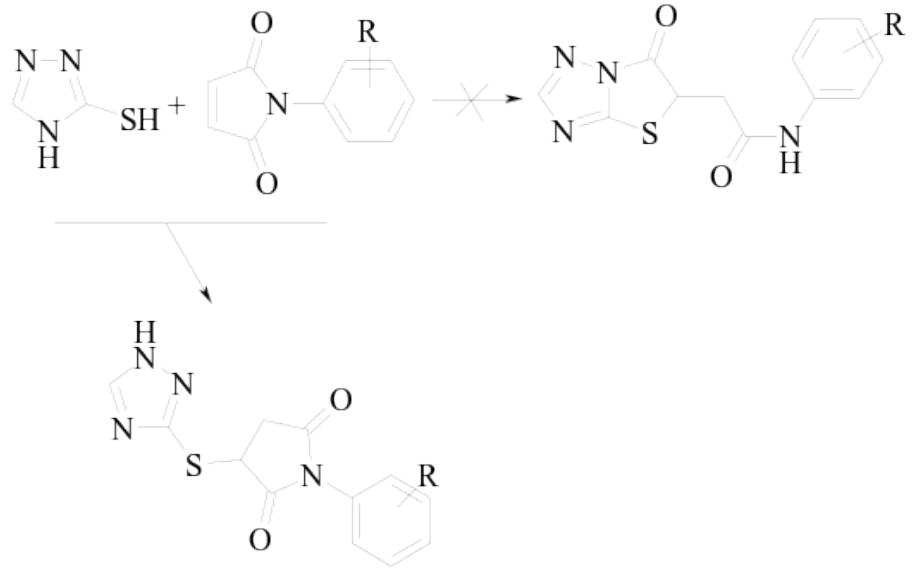
В реакційних умовах, аналогічних до раніше згаданих у випадку з використанням тіогліколевих кислот,відповідні 3(5)меркапто-1,2,4-тріазоли утворюють 6-ілідентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-они в одностадійній реакції, заснованій на взаємодії з монохлороцтовою кислотоюта карбонільними сполуками [8-14], з застосуванням сильного основного каталізу з використанням суміші оцтовий ангідрид – оцтова кислота та в присутності безводного ацетату натрію як представлено на схемі 9:

Схема 9



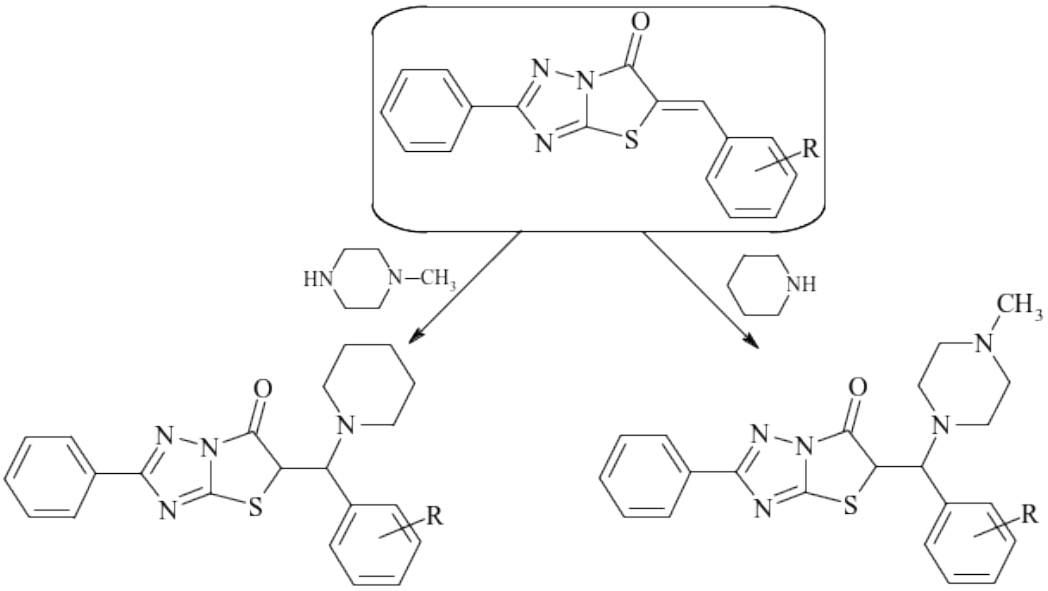
Цікаво, що використання в якості еквіваленту діелектрофільного синтону $[C_2]^2$+N-арилмалеімідів у реакції з 3(5)-меркапто-1,2,4-тріазолом [4] не спостерігаєтьсяутворення відповідних похідних 6-[N-(R-феніл)]ацетамідів тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-5(6)-онів (схема10). В той час як в суміші були ідентифіковані лише продукти приєднання по Міхаелю, як зображено на схемі 10 і це є ще одним прикладом тіол-ен “клік-реакцій”

Схема10



Tozkoparan B. та ін. [10] використали реакційну здатність подвійного зв'язку у молекулах ряду 6-ілідентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-онів для структурної оптимізації зазначених молекул. Автори запропонували реакцію приєднання по типу Міхаеля з циклічними вторинними амінами (N-метилпіперазин, піперидин) внаслідок чого отримано відповідні 2-феніл-6-(альфа-аміноарилметил)тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5-они як це зображенона схемі 11:

Схема 11.



Розділ 1.2. Фармакологічні властивості похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону

Похідні 5-ен-тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онів як біциклічних гетероатомних сполук [1,2], що містять 1,2,4-тріазольне кільце та енон/халконову систему, викликають інтерес умедичних хіміків завдяки своїй різноманітній біологічній активності. Деякі 5-ентіазоло[3,2-*b*] [1,2,4]тріазол-6(*5H*)-они були успішно вивчені як потенційні протизапальні [5,7,8,9,10,11], знеболювальні [8,10], антимікробні [12], протигрибкові [12], антиоксидантні [13], протисудомні [14,15], антигіпертензивні [16] та антиагрегаційні засоби [17] (Рисунок 1). Варто зазначити, що структурна

трансформація карбоксильної групи в фрагмент 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону була запропонована як біоізостерична заміна або шлях оптимізації структури для синтезу нових похідних для збереження основного фармакологічного профілю та зменшення/покращення параметрів токсичності та профілів активності [10,13,15,17].

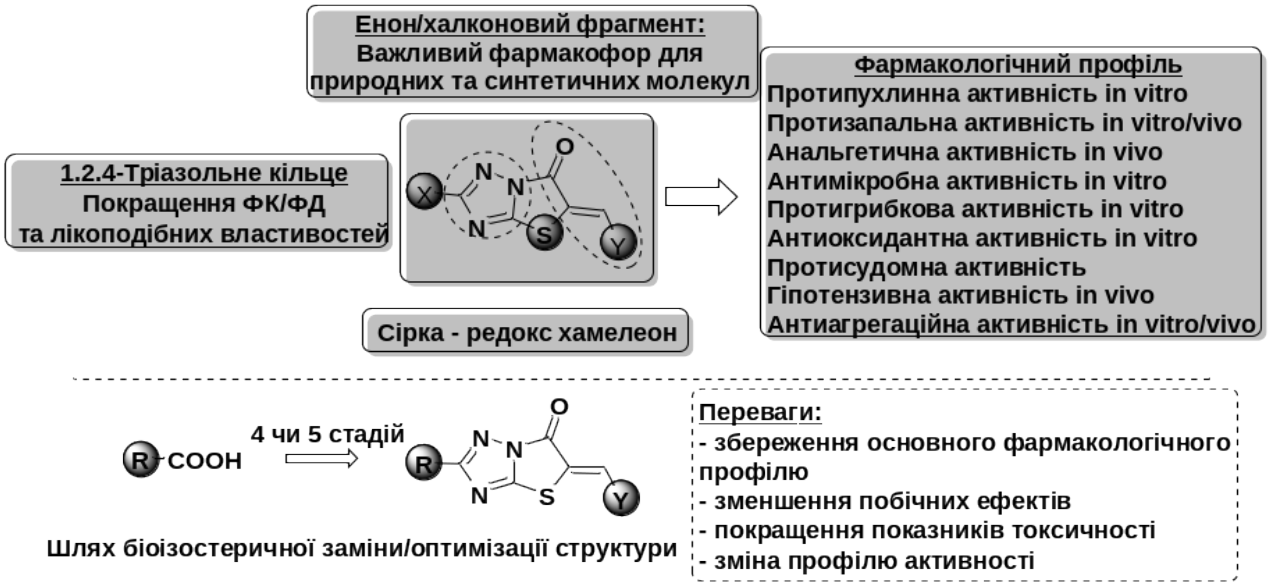


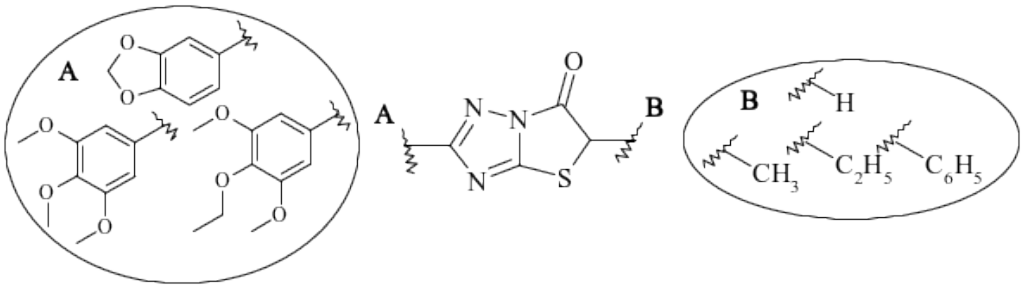
Рисунок 1. Фармакологічний потенціал похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону та їх роль у сучасній медичній хімії

Для тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-5(6)-онів найбільш описаною є протизапальна активність [5,7,8,9,10,11,17]. Так, у роботі. [8], автори синтезували наступні 6-ілідентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-они (Схема 12), які виявили високий рівень протизапальної активності «invivo».

Тозкопаран та ін. [17], повідомили пропохідні 2-метил-6-бензилідентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону та 2-метил-6-(α-амінобензил)тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-ону, які володіють виразною

протизапальною активністю на моделі набряку задньої лапи, спричиненого карагенаном, у мишей у дозі 10- рівні 40 мг/кг.

Схема 12



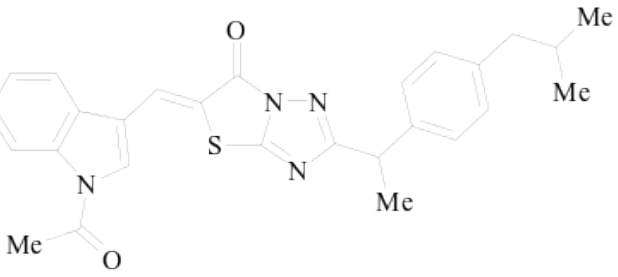
Загалом, сполуки виявилися більш потужними агентами в порівнянні з індометацином. Крім того, всі сполуки були протестовані на їх ульцерогенний потенціал на мишах, і вони не викликали жодної запальної реакції в шлунку експериментальних тварин.

Ці ж автори також показали, що введення до тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-5(*6H*)-онового кільцяфрагментів нестероїдних протизапальних засобів не дає посилення протизапальної дії [7,10]. Так, синтезовані 6-бензилідентіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазол-5(*6H*)-они із фрагментом ібупрофену мають низький рівень протизапальної активності. Лише 2 з 14 синтезованих сполук були активними в дозі 200 мг/кг.

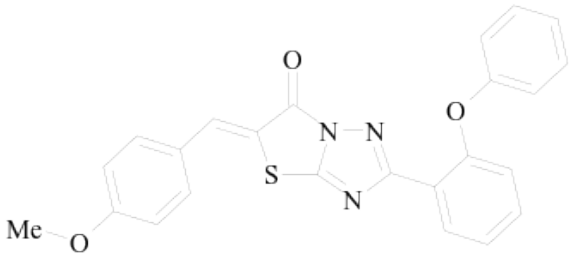
Для деяких похідних тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазолу була досліджена антигіпертензивна дія на на моделях ізольованої хвостової артерії щура та застосування 6-(2,6-дихлорбензиліден)-2-піразин-2-ілу. В результаті було ідентифіковано похідне тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-5-ону, яке при концентрації 10^{-5} моль/дм3 незначно посилює констрикторний ефект норадреналіну [18]. Також було встановлено, що яеякі похідні тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-триазолу показали значну вазодилятаторну активність.

Ряд молекул з тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазольним фрагментом і полігалогенфеніл- або дифенілсульфоновими фрагментами демонструють багатообіцяючу антимікробну активність (рис. 2) [1,2,19]. Також деякі похідні тіазоло[3,2-*b*]-1,2,4-тріазолу мають цікаві антиоксидантні властивості (Схема 13) [1,2].

Схема 13

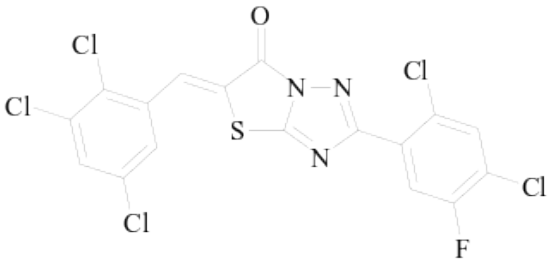


Uzgoren-Baran A. et al., Eur.J.Med.Chem., 2012



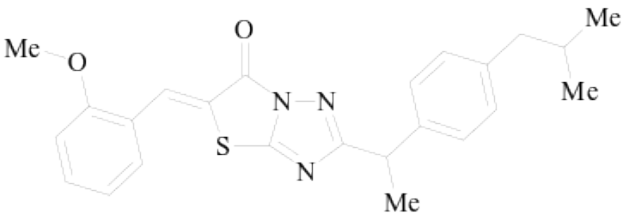
Assarzadeh M. et al., Med.Chem.Res., 2014

Analgetic/antiinflammatory actitvity



Karthikeyan M. et al., Monatsh.Chem., 2008

Antifugal/antibacterial activity



Actay G. et al., Arch.Pharm.Res., 2005

Antioxidative activity

Таким чином, похідні тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онів володіють широким спектром фармакологічних ефектів. Молекули з зазначеної групи в більшості випадків характеризуються задовільними лікоподібними характеристиками, а також високою синтетичною доступністю. Перераховані фактори є аргументами для синтезу нових похідних тіазоло[3,2-*b*] [1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онів та їх поглиблених фармакологічних досліджень.

РОЗДІЛ 2. ОЦІНКА АНТИОКСИДАНТНИХ/АНТИРАДИКАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СЕРІЇ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛО[3,2-*b*][1,2,4]ТРІАЗОЛ-6(*5H*)-ОНУ НА МОДЕЛІ ДИФЕНІЛПІКРИНГІДРАЗИНОВИХ (DPPH) РАДИКАЛІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА)

Розділ 2.1. Загальна характеристика об'єктів дослідження - похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону відібраних для скринінгу антиоксидантних властивостей на моделі дифенілпікрингідразинових (DPPH) радикалів

У роботах [3,20], авторами описано синтез оригінальних сірковмісних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онів, які володіють сильною протипухлинною дією при тестуванні в умовах "60 linesscreening" Національного інституту Раку (NCIDTP) США, що дозволяє оцінити вплив сполук на близько 60 ліній пухлинних клітин, які представляють 9 типів ракових захворювань людини, включаючи лейкемію, меланому, легені, товсту кишку, ЦНС, яєчників, нирок, простати, і раку молочної залози. Потенційні протипухлиннівластивості згаданих 5-ентіазоло[3,2-*b*] [1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онів, є вагомим аргументом та представляють надзвичайний інтерес для дослідженняантиоксидантних властивостей цих сполук. Гіпотетично ці молекули можуть впливати на прямі окислювально-відновні взаємодії або модулювати окислювально-відновні ферменти і, таким чином, бути опосередкованими чинниками реалізації протипухлинного ефекту. Крім того, окислювально-відновна модуляція також може служити бажаним побічним ефектом, забезпечуючи додаткові терапевтичні властивості. Також, окислювально-відновна модуляція може сприяти цитотоксичності цих сполук. Тому все вищезгадане потребує поглибленихдосліджень, щоб з'ясувати потенційні переваги або ризики. Крім того, важливим аргументом, для вищеперерахованих досліджень, є то, що

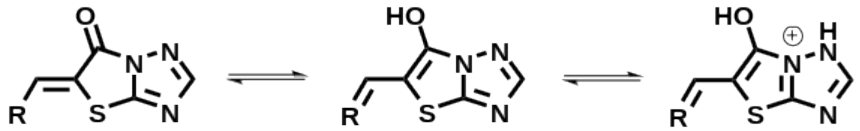
обрані об’єкти досліджень володіютьнеобхідними структурними особливостями для реалізації антиоксидантного ефекту, серед яких:

- системи кон’югованих подвійних зв’язків;

- третинний містковий атом азоту, здатний до кватернізації;

- можливість для існуваннякето-енольної таутомеріїяк у ендоциклічній(в середині анельованого 4-тіазолідонового циклу) частині так і в зовнішньому бічному ланцюгу (Схема 2.1).

Схема 2.1

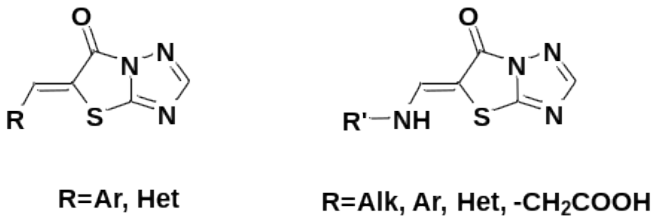


У спеціалізовані науковій літературі не виявлено попередніх даних щодо антиоксидантних властивостей для згаданих біциклічних гетероциклів. Станом на сьогодні є опублікована одна робота [13], де в вибірку для досліджень антиоксидантних властивостей включені ряд похідних з тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-оновим каркасом, проте зазначені сполуки містять в бічному ланцюгу молекули значні структурні молекулярні елементи такі як адмантан, що може суттєво впливати на розподіл електронної густини всередині тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онової системи і таким чином впливати на антирадикальний/антиоксидантний ефект. Тому вивченняантиоксидантних властивостей 5-незаміщених похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону є цілком обгрунтованим та актуальним дослідженням.

Розділ 2.2.Характеристика бібліотеки похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*] [1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону

До вибірки сполук, які досліджувались на предмет антиоксидантних/антирадикальних властивостей було включено 23 похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону двох основних хемотипів. Перша група сполук (**1-23**) належить до арил/гетариліденових (так званих “енових”) похідних, та ще одна група представлена похідними, що вміщують енаміновий лінкер між біциклічною гетероциклічною системою та алкільним/арильним/гетарильним чи іншими фрагментами.Загальна структура досліджуваних сполук представлена на схемі 2.2.

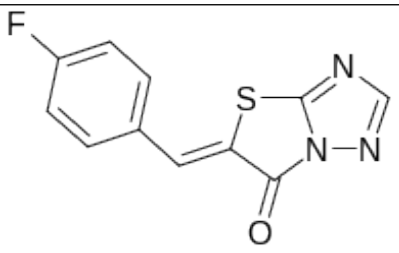
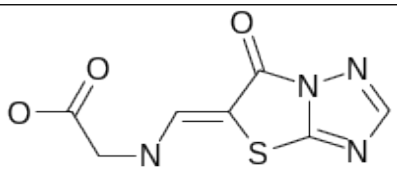
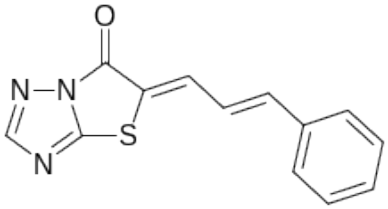
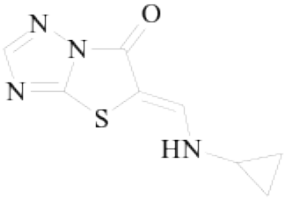
Схема 2.2

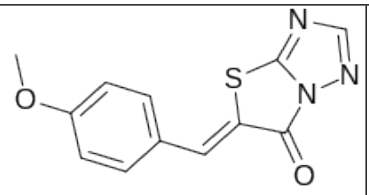
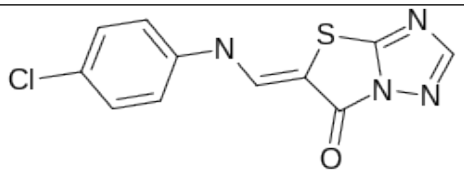
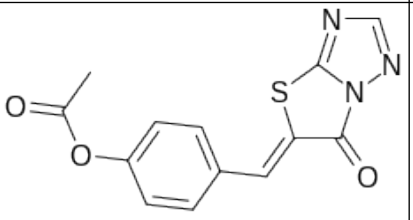
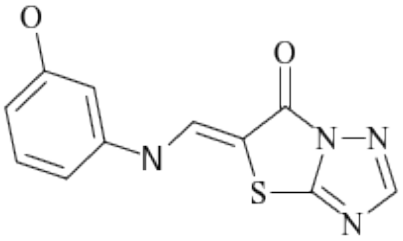
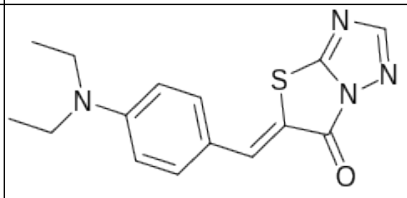
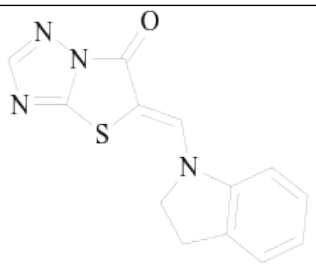
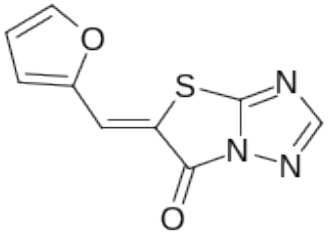
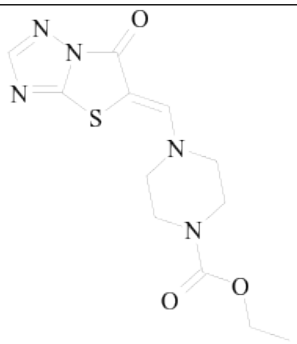
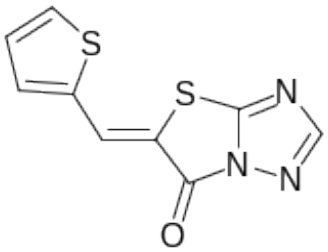
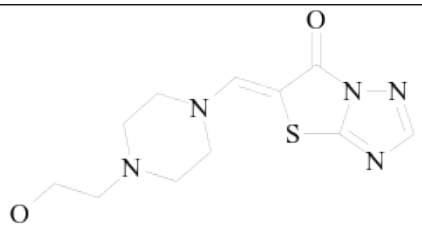
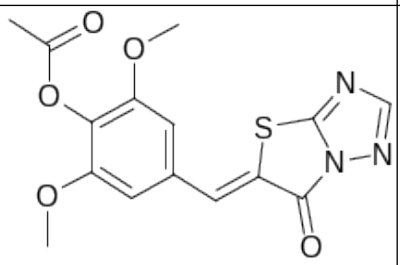
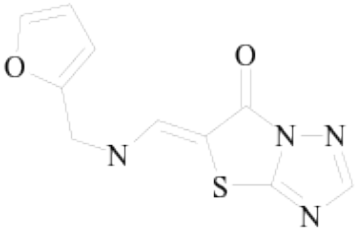


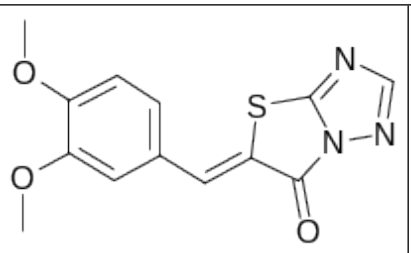
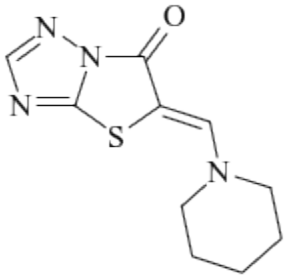
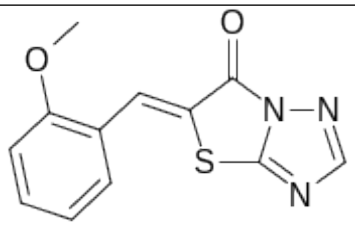
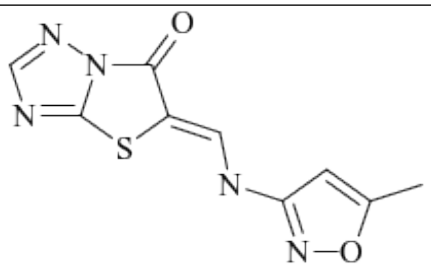
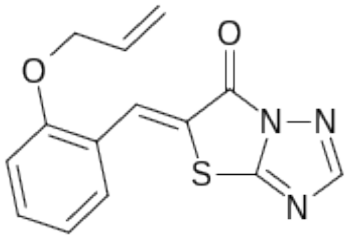
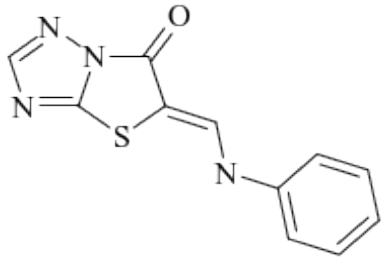
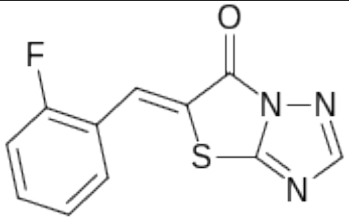
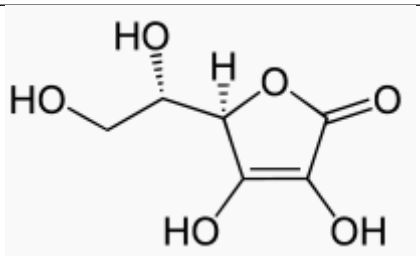
Ключові фізико-хімічні параметри, а також дослідження особливостей молекулярної будови тестованих похідних **1-23** детально описані в роботах [3,20].

Структурні формули досліджуваних похідних **1-23** наведені в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

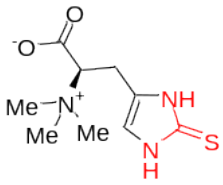
№	Формула	№	Формула
1		13	
2		14	

3		15	
4		16	
5		17	
6		18	
7		19	
8		20	

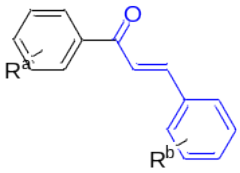
9		21	
10		22	
11		23	
12		AA	

Структурні елементиприродних речовинєунікальним джерелом фізіологічно активних сполук з позиції дизайну антиоксидантних і окислювально-відновних молекул. Азольний фрагмент є частиною кількох важливих та високоактивних природних сполук, таких як ерготіонеїн [25] та селенонеїн, які належать до амінокислот (схема 2.3). Оскільки ерготіонеїн і селенонеїн відомі тим, що зменшують прояви ОС і надлишкове виробництво АФК, їх структурна модифікація відкриває шлях для розробки молекул, які мають потенціал модулювати окислювально-відновні реакції та зменшувати пошкодження від ОС.

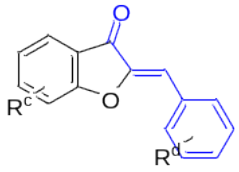
Схема 2.3.



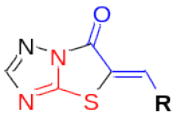
Ерготіонеїн



Халкони



Аурони



R= Ar, Het, -NH-Alk/Ar/Het

5-ен-тіазоло[3,2-b][1,2,4]тріазол-6(5H)-они

Наприклад, флавоноїдні сполуки, такі як халкони [26] та аурони [27], є привабливими для медичних хіміків і володіють потужним терапевтичним потенціалом завдяки своїм протираковим/хіміопрофілактичним, антиоксидантним, протимікробним та протипаразитарним [28-33] властивостям.

Враховуючи перспективи пошуку нових малих молекул з антиоксидантними та окислювально-відновними властивостями серед похідних конденсованих гетероциклічних систем та з урахуванням переваг та результатів, отриманих із застосуванням синтетичного гібридного фармакофорного підходу, наявності елементів природних сполук (вітаміноподібних, флавоноїдоподібних тощо), оцінка їх антирадикальних/антиоксидантних властивостей *in vitro* 5-ен-похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]триазол-6-онів виглядає логічним, перспективним та привабливим напрямком для досліджень.

Розділ 2.3. Дослідження антиоксидантних/антирадикальних властивостей похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-тесту в одній концентрації (5 ммоль)

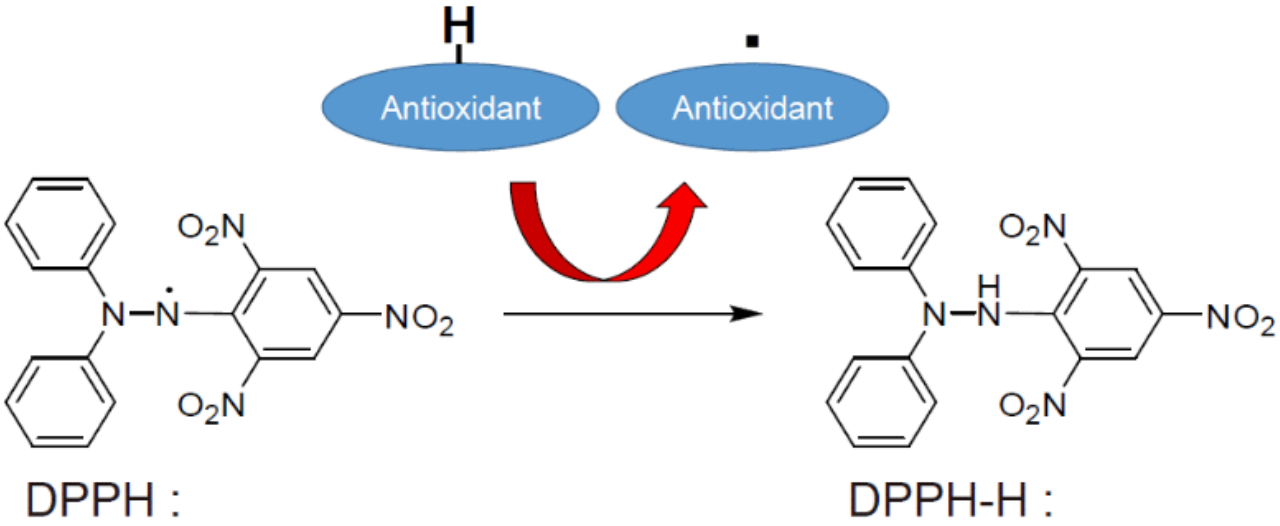
В класичній інтерпретації антиоксидантна активність визначається як здатність усувати або гальмувати вільнорадикальне окиснення (ВРО) органічних молекулмономолекулярним киснемабо так званими активними формами кисню (АФК) і таким чином осередковано або прямо впливати на процес оксидативного (окисного) стресу в клітинних формаціях.Проте на сучасному етапі розвитку встановлено значну роль в розвитку та механізмах

оксидативного стресу активних форм інших біогенних елементів, таких Нітроген, Сульфур, Карбон, Селен тощо.

Для оцінки андиоксидатної активності при первинному скринінгу найчастіше проводиться вивчення здатності речовин або їх сумішідо поглинання(або бути скевенджером від англ. “scavenger” - поглинач) вільних радикалів. Для дослідження антирадикальної діїв умовах *invitro*розроблено та запропоновано ряд зручних методів препаративних методів різної складності виконання та,відповідно, різного рівня отриманих даних та результатів щодо активності. До найбільш популярних методик, що застосовуються в наукових лабораторіях належатьDPPH (радикали згенеровані з 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразину), ABTS(радикали згенеровані з 2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфонової кислоти), FRAP(аналіз здатності плазми відновлювати залізо заснований на принципі відновлення комплексу заліза (III) - трипіридилтриазину (Fe^{3+}-TPTZ) до заліза (II) трипіридилтриазину (Fe^{2+}-TPTZ) антиоксидантами зразка при низькому pH), ORAC (здатність до поглинання кисневих радикалів)тощо. Зазначені моделі дозволяють різносторонньо оцінити рівень антиоксидантних властивостей органічних молекул та встановити можливі механізми реалізації ефекту.

Серед вищеперерахованих моделей для скринінгових досліджень великої кількості сполук,зручно застосовувати DPPH–метод[34]. При застосуванні даної методи ключову рольроль відіграє утворення стабільних вільні радикалів - 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу, що представлено у схематичному зображенні в форматі взаємодії молекули DPPH з потенційним антиоксидантом на рисунку 2.1.

Рисунок 2.1.



У фізико-хімічному відношенні DPPH це кристалічна речовина, що має інтенсивне фіолетово-чорне забарвлення, розчиняється лише у органічних розчинниках. В кристалічному вигляді стійкий, в розчинах чутливий до дії світла. Використовується, зокрема,при вивченні електронного спінового резонансу, оскільки додатковий електрон надає даній речовині парамагнітних властивостей.Метод DPPH демонструє загальну антирадикальну активність досліджуваної речовини. Принцип методу полягає у вимірюванні інтенсивності забарвлення спиртового розчину даного стабільного радикалу до і після додавання досліджуваної речовини або суміші речовин. Спиртовий розчин DPPH має пурпурно - синє забарвлення, при додаванні до нього розчину речовини з радикал - поглинаючою активністю радикал відновлюється. Відновлена форма має світло - жовте забарвлення, відповідно інтенсивність забарвлення розчину зменшується пропорційно до зменшення концентрації вільного радикалу. Що дозволяє проводити навіть візуальну оцінку наявності антирадикального ефекту, і в свою чергу дозволяє застосовувати метод для експрес - методик, що базуються на використанні методу тонковерствової хроматографії і є незамінними та вкрай ефективними інструментами для швидкої якісної оцінки наявності/відсутності антирадикальних властивостей у тестованих сполук. Для кількісної оцінки рівня антиоксидантного ефекту проводиться

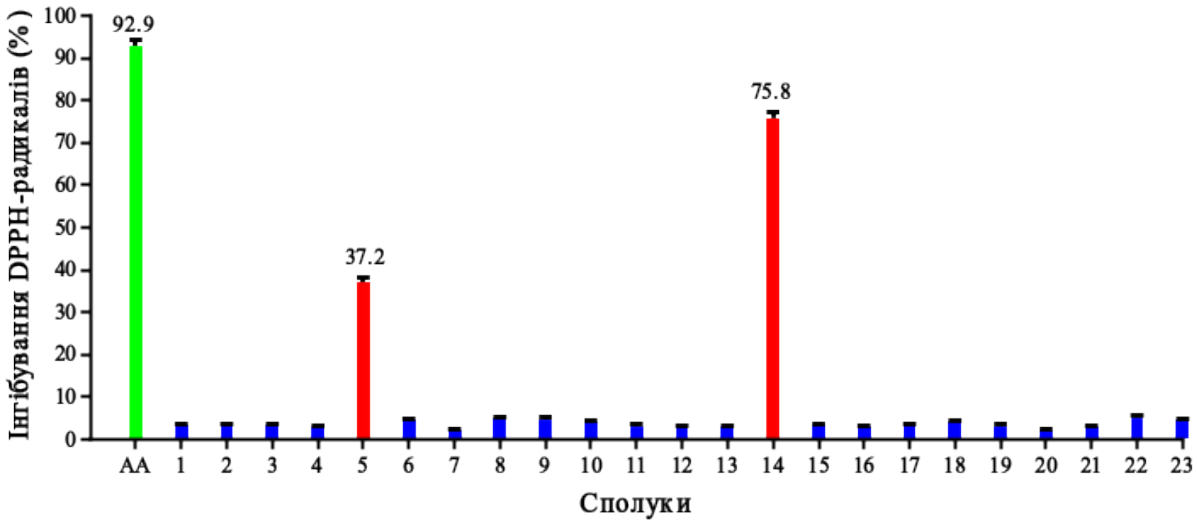
визначення оптичної густини (абсобрції) досліджуваного розчину – суміші тестованих сполук та DPPH в певній концентрації, адаптованій до умов та потреб конкретного експерименту. Оптична густина розчину вимірюється спектрофотометрично, при довжинах хвиль від 500 до 550 нм, оскільки саме при таких довжинах хвиль різниця в поглинанні світла між початковою і відновленою формами DPPH є найбільшою. Порівняння величин оптичної густини контрольного розчину, що містить лише невідновлений радикал, і досліджуваних розчинів дозволяє обчислити відсоток інгібування забарвлення DPPH, на його основі - побудувати графік залежності величин інгібування забарвлення від концентрації досліджуваної речовини. За графіком встановлюється така концентрація речовини, котра викликає 50% інгібування забарвлення вільного радикалу - IC_{50}. Дана величина є кількісним виразом антиоксидантної активності речовини або суміші речовин (екстракту) і дозволяє порівнювати між собою здатність різних речовин до вловлювання вільних радикалів.

Метод є універсальним і підходить для визначення здатності до поглинання вільних радикалів як чистих речовин, так і екстрактів різного походження.

Дизайн запланованих та реалізованих нами експериментальних досліджень включав оцінку активності поглинання радикалів DPPH всіх похідних **1-23**в два етапи/стадії. На першій стадії (початковий етап) було провденнея сполук **1-23** в умовах, близьких до фізіологічних, згідно вимог та канонів Drugdesign і стокові розчинитестованих сполук готували в метаноліта додавали трис-HCl буфер зі значенням pH = 7.40. Стокові розчини готували лише в одній концентрації 5,0 мМ. Такий підхід дозволяє швидко визначити потенційно активні сполуки, а також зекономити час і масу сполук, які застосовуються для тестування. Як еталонну сполуку (стандарт) використовували потенційний антиоксидантний агетн аскорбінову кислоту, у формі метанольного розчину у концетрації 9мг/мл. Вимірювання значень

оптичної густини проводили через 60 хв, після моменту внесення робочого розчину DPPH. Результати скринінгу радикал-поглигнаючої активності на даному етапі виражали через відсоток пригнічення вільних радикалів (%). Результати скринігу та значення відсотку пригнічення вільних радикалів (%) при концентрації 5,0 мМдля тестованих сполук **1-23**та аскорбінової кислоти представлені на рисунку2.2.

Рисунок 2.2



За результатами першого етапу скринінгу встановлено, що серед усіх тестованих похідних, дві сполуки**5** і **14** виявляли найвищу здатність/активність до поглинання радикалів і характеризувалисьзначеннями відсотку пригнічення вільних DPPH - радикалів 37,2% та 75,8% відповідно. Решта сполук характеризувалисьзначеннями відсотку пригнічення вільних DPPH - радикалівв межах від 2,2 до 5,2%, що можна трактувати як відсутність активності за даних експериментальних умов. Стандарт - аскорбінова кислота (5 мМ) характеризуваласьзначенням відсотку пригнічення вільних DPPH - радикалів 92,9%, що є задовільно для умов досліду і є характеристикою правильного вибору експериментальних умов у відношенні підбору концентрації тестованих сполук та референс препарату.

Згідно до отриманих результатів скринінгу на першому етапі сполуки з найвищою здатністю/активністюдо поглинання DPPH - радикалів були відібрані для наступного етапу тестування, який полягав у кількісному визначенні значень IC_{50}.

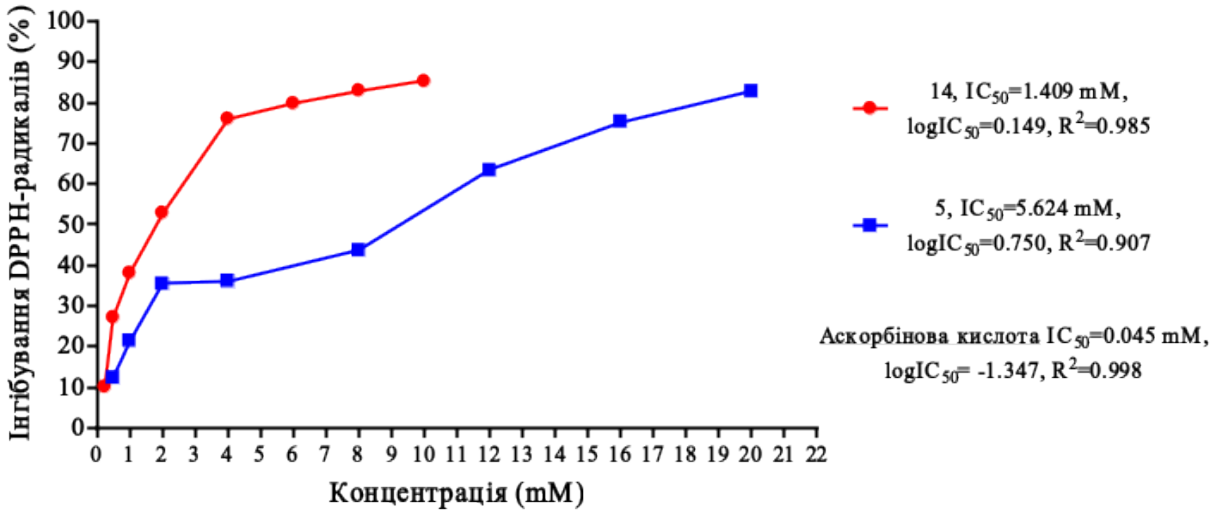
Розділ 2.4 Визначення IC_{50} для ряду похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-тесту

Визначення значень IC_{50} були проведені на наступному етапі експерименту для найбільш активних похідних **5** і **14**, які демонстрували найбільш перспективну здатність/активність до поглинання радикалів на попередньому етапі дослідження при концентрації 5 мМ.

Значення IC_{50} відповідає концентрації зразка, який має здатність поглинати 50% вільних радикалів, присутніх в реакційній суміші. Низькі значення IC_{50} вказують на високу антиоксидантну активність зразка сполуки.

Для визначення значень IC_{50}тестованих сполук використовували дослідження з застосуванням методу серійних розведень. Для цього попереднього готували стокові розчинів тестованих сполук у метанолі шести наступних концентраціях: 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0 мМ. До отриманих стокових розчинів додавали буфер трис-HCl з значенням pH = 7,40. Вимірювання значень оптичної густини проводили через 60 хв, після моменту внесення робочого розчину DPPH.Аналогічний експеримент було проведено для визначення значення IC_{50}стандарту - аскорбінової кислоти. Для розрахунку значень IC_{50}на основі отриманих результатів показників пригнічення вільних DPPH - радикаліввикористовували можливості програмного пакету Excell. Результати залежності показників пригнічення вільних DPPH - радикалів при різних концентраціях для тестованих сполук та аскорбінової кислоти, а також значення IC_{50} представлені на малюнку 2.3.

Рисунок 2.3



За результатами дослідження встановлено, що сполуки **5** і **14**характеризуються значеннями показників IC_{50} 5,624 мМ та 1,409 мМ відповідно. Тоді як, встановлений в експериментальних умовах показник IC_{50}для аскорбінової кислот становив 0,045 мМ.

Таким чином, можна констатувати, що обидві тестовані сполуки **5** і **14**характеризуються помірним рівнем активностідо поглинання радикалівDPPH – радикалів та представляють інтерес для поглиблених досліджень з використанням альтернативих методів оцінки антиоксидантної активності, а також як потенційні “матриці-каркаси” для хіміко - синтетичної оптимізації молекулярної структури з метою пошуку нових антиоксидантних агентів.

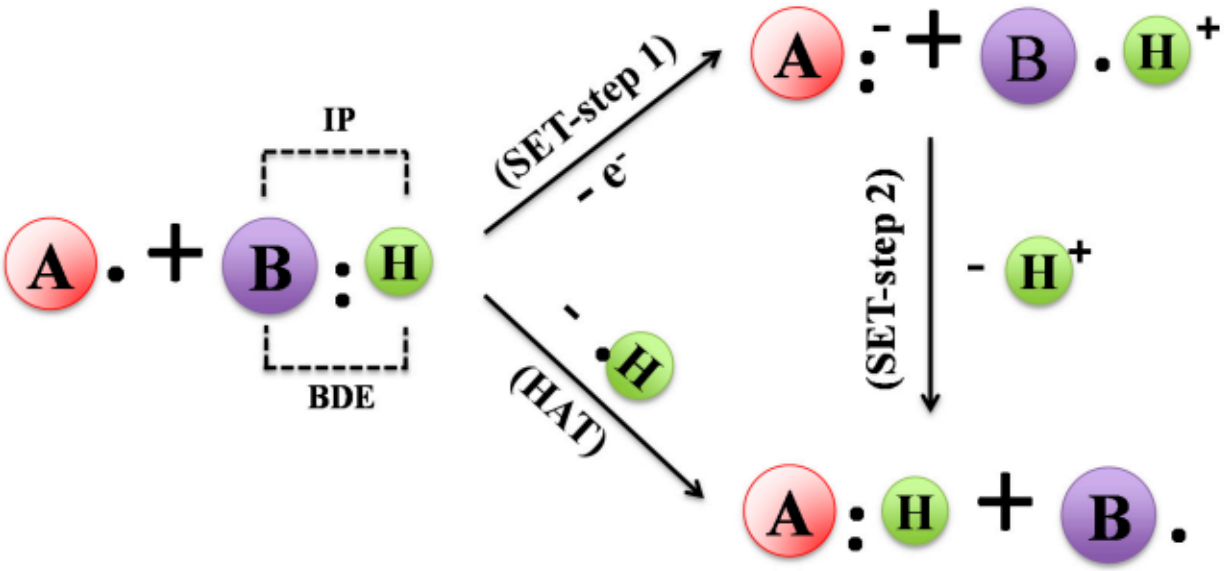
Розділ 2.5. Встановлення взаємозв’язків “молекулярна структурна – антирадикальна активність” та можливі механізми реалізації антирадикальної активності

З метою поглибленого аналізу результатів отриманих на попередніх етапах дослідження, нами була проведена спроба емпіричної оцінки впливу на активність з точки зору взаємозв'язку структурних елементів молекул сполук **1-23** та їх активності. Слід зазначити, що взаємозв'язки "молекулярна структурна – біологічна активність" є важливим та невід'ємним елементом раціонального конструювання ліків і представляють значний інтерес для дослідників, які працюють в галузі медичної хімії.

Для групи тестованих наявність у С-5 положенні замісників 4-(Et)2N-бензиліден-(**5**) і циклопропіламінометиліден-(**14**) була оптимальною і забезпечувала здатність поглинати вільні DPPH - радикали. Такі властивості можна пояснити синергічним впливом неподіленої електронної пари на атомах азоту у $(C_2H_5)_2N$- та -NH-групах відповідно. Також значний вплив на згаданий ефект забезпечується сильними електронодонорними властивостями циклопропіламіногрупи для сполуки (**14**). Важливим фактором також є делокалізація електронів/електронної густинив напрямку енонової частини в молекулах обох сполук **5** і **14**. Усі ці властивості у сукупності дозволяють цим сполукам проявляти антиоксидантну дію, яка, вочевидь, реалізується за допомогою механізму розриву ланцюга та/або запобігання утворення вільних радикалів.

Важливо відзначити з точки зору взаємозв'язку "молекулярна структурна – антиоксидантна активність" що тестовані похідні, які вміщують в молекулібензиліденові фрагменти з групами МеО-(**3, 8-10**) і НО-(**13,16**), які класичномурозглядаються як потенційні перспективні фармакофори для посиленняантирадикального ефекту, були неактивнимив даному експерименті.Так само не виявили бажаної антирадикальної активності сполуки, що вміщують у своїх молекулах спряжені системи ненасичених (подвійних) зв'язків (**2, 11**), які також є одним з прикладів антиридакальних фармакофорів для природних сполук, таких як каротиноїди та токофероли.

Рисунок 2.4



A· : free radical; B:H : antioxidant;

"IP" represents "ionization potential"; "BDE" represents "bond dissociation enthalpy"

В сучасному уявленні, в основі механізму антирадикальної активності в умовах з застосуванням DPPH - моделі лежать два механізми:

- хімічна реакція з переносом протону, для якої досить часто у науковій літературі застосовують англомовну версію Hydrogen Atom Transfer (HAT);

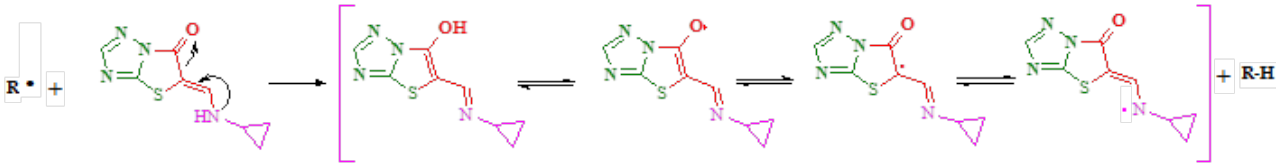
- хімічна реакція з переносом електрону або в англомовній версії SingleElectronTransfer (SET).

Схематичне зображення реалізації вищезгадних механізмів в умовах DPPH – тесту наведено на рисунку 2.4.

Слід, зазначити, що часто в експериментальних умовах має місце реалізація антиоксидантної/антирадикальної за обома (HATта SET) механізмами одночасно. Проте, на нашу думку, конкретно до досліджуваної молекули сполуки 14 можна прогнозувати реалізацію антиоксидантної/антирадикальної за механізмом хімічної реакції з переносом протону (HAT)і можна запропонувати гіпотетичнусхему механізму реакції, яка характеризуться утворенням ряду резонансних структур, які є цілком

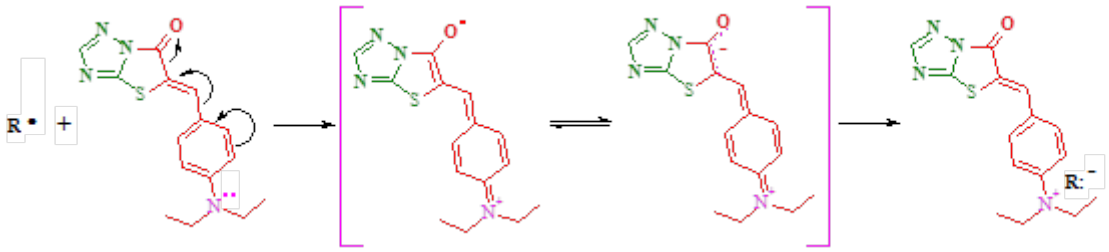
стабільними на проміжних стадіях. Пропонований механізм представлений нарисунку 2.5.

Рисунок 2.5



В той же час, для активної молекули 5, на нашу думку, більш ймовірним виглядає механізм реалізації антиоксидантної/антирадикальної за типом хімічної реакції з переносом електрону (SET), чому в значній мірі, сприяє наявність в структурі молекулі третинного атому азоту з вільною неподіленою парою електронів. Пропонований механізм реалізації антиоксидантної/антирадикальної для сполуки **5** представлений на рисунку 2.6.

Рисунок 2.6



Проте наведені можливі механізми реалізації антирадикальних властивостей для сполук **5** та **14**, носять суто теоретичний характер та однозначно вимагають додаткових досліджень з використанням динамічних методик/моделей з використанням DPPH– методу, а також з застосуванням альтернативних методів визначення антиоксидантної/антирадикальної активності, таких ABTS, FRAPтощо.

Розділ 2.6.Опис експериментів

Розділ 2.6.1 Синтез та характеристика похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону 1-23

Синтез, фізико-хімічні властивості та підтвердження будови досліджуваних похідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону**1-23** попередньо описані в роботах [3,20].

Розділ 2.6.2. Досліження антиоксидантної/антирадикальної активності сполук 1-23в умовах DPPH - методу

Для оцінки антиоксидантних властивостей сполук **1-23**був використаний метод інгібування DPPH -радикалів відповідно до протоколу, описаного в [53] з деякими змінами. Стокові розчини досліджуваних сполук **1-23**готували в суміші метанол + буфер трис-HCl pH = 7,40. Потім 1 мл розчину DPPH (8 мг/100 мл метанолу) додавали до зразка та холостої проби. Отриману суміш залишали при кімнатній температурі на 60 хв. Абсобрцію (оптичну густину) вимірювали при довжині хвилі 517 нм, в порівння щодо етанолу за допомогою спектрофотометра UV-1800 (Shimadzu, Японія). Кожен зразок аналізували в тричі. Відсоток інгібування розраховували на рівнянням:

$$I\% = (A_{бланк} - (A_{сполука + DPPH} - A_{сполука}))/A_{бланк} \times 100\%$$

де $A_{бланк}$ - абсорбція контрольної реакції (містить усі реагенти, крім досліджуваних сполук);

$A_{сполука + DPPH}$ – абсорбція досліджуваних сполук після 60 хв інкубації з розчином DPPH;

$A_{сполука}$ - це поглинання досліджуваних сполук без розчину DPPH.

Розділ 2.6.3. Статистичний аналіз

Усі значення були виражені у вигляді середніх значень ± SEM (стандартна похибка середнього значення), а дані були проаналізовані шляхом застосування дисперсійного аналізу (ANOVA) з подальшим t-критерієм Стьюдента. Результати вважалися статистично значущими, якщо $P < 0,05$.

ВИСНОВКИ:

1. На основі проведеного літературного аналізу джерел у науково-інформаційних базах Elsevier, PubMedсистематизовано синтетичні підходи, використання для хімічних трансформацій гетероциклічних молекул, похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону.
2. Визначено та охарактеризовано основні профілі біологічних властивостей похідних тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону та окреслено напрямки для розвитку фармакологічного потенціалу.
3. Проведено дослідження антиоксидантних/антирадикальних властивостей малої бібліотекипохідних 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону в умовах DPPH-моделі.
4. Встановлено, що досліджувані похідні 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-ону володіють помірною антиоксидантною активністю в умовах DPPH-моделі.
5. Ідентифіковано дві сполуки – хіти, які антиоксидантною активністю в умовах DPPH-моделі, проаналізовано залежності “структура - антиоксидантна активність” в ряді 5-ентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6(*5H*)-онів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Korol, N. I., Slivka, M. V. Recent progress in the synthesis of thiazolo [3,2-b] [1,2,4] triazoles (microreview).Chem. Heterocyc. Comp. 2017,53(8), 852-854.
2. Gogoi P.C. Bridgehead nitrogen heterocycles. Part III. Synthesis of fused heterocycles from 3-(2,4dichlorophenyl)-5-mercapto-1,2,4-s-triazoles.Heterocycles,1991, 32,2, 231-235.
3. Lesyk R, Vladzimirska O, Holota S, Zaprutko L, Gzella A. New 5-substituted thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6-ones: synthesis and anticancer evaluation. Eur J Med Chem. 2007;42(5):641-648.
4. Barbuceanu, S.F.; Draghici, C.; Barbuceanu, F.; Bancescu, G.; Saramet, G. Design, Synthesis, Characterization and Antimicrobial Evaluation of Some Heterocyclic Condensed Systems with Bridgehead Nitrogen from Thiazolotriazole Class. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 2015, 63(9), 694–700.
5. Uzgören-Baran, A.; Tel, B.C.; Sarıgöl, D.; Oztürk, E.İ.; Kazkayası, I.; Okay, G.; Ertan, M.; Tozkoparan, B. Thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-one substituted with ibuprofen: Novel non-steroidal anti-inflammatory agents with favorable gastrointestinal tolerance. Eur. J. Med. Chem. 2012, 57, 398–406.
6. Babichev F.S.Salts of 1H-thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazolium / F.S. Babichev, V.A. Kovtunenko, A.K. Tyklin, I.H. Lelyukh. // Chemistry of Heterocyclic Compounds -1977. -№8. P.1132-1134.
7. Tozkoparan, B.; Gökhan, N.; Aktay, G.; Yeşilada, E.; Ertan, M. 6-Benzylidenethiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-ones substituted with ibuprofen: Synthesis, characterization and evaluation of anti-inflammatory activity. Eur J. Med. Chem 2000, 35(7–8), 743–750.
8. Assarzadeh, M.J.; Almasirad, A.; Shafiee, A.; Koopaei, M.N.; Abdollahi, M. Synthesis of new thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6(5H)-one derivatives as potent analgesic and anti-inflammatory agents. Med. Chem. Res. 2014, 23(2), 948–957.

9. Toma, A.; Mogoşan, C.; Vlase, L.; Leonte, D.; Zaharia, V.. Heterocycles 39. Synthesis, characterization and evaluation of the anti-inflammatory activity of thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole derivatives bearing pyridin-3/4-yl moiety. Med. Chem. Res. 2017, 26(10), 2602–2613.
10. Tozkoparan, B.; Gökhan, N.; Küpeli, E.; Yeşilada, E.; Ertan, M. Synthesis, characterization and antiinflammatory-analgesic properties of 6-(alpha-amino-4-chlorobenzyl)thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-5-ols. Arzneimittelforschung 2004, 54(1), 35–41.
11. Tratrat, C.; Haroun, M.; Paparisva, A.; Kamoutsis, C.; Petrou, A.; Gavalas, A.; Eleftheriou, P.; Geronikaki, A.; Venugopala, K.N.; Kochkar, H.; Nair, A.B. New Substituted 5-Benzylideno-2-Adamantylthiazol[3,2-b][1,2,4]Triazol-6(5H)ones as Possible Anti-Inflammatory Agents. Molecules 2021, 26(3), 659.
12. Tratrat, C.; Haroun, M.; Paparisva, A.; Geronikaki, A.; Kamoutsis, Ch.; Ćirić, A.; Glamočlija, J.; Soković, M.; Fotakis, Ch.; Zoumpoulakis, P.; Bhunia, S.S.; Saxena, A.K. Design, synthesis and biological evaluation of new substituted 5-benzylideno-2-adamantylthiazol[3,2-b][1,2,4]triazol-6(5H)ones.
Pharmacophore models for antifungal activity. Arab. J. Chem. 2018, 11(4), 573–590.
13. Djukic, M.; Fesatidou, M.; Xenikakis, I.; Geronikaki, A.; Angelova, V.T.; Savic, V.; Pasic, M.; Krilovic, B.; Djukic, D.; Gobeljic, B.; Pavlica, M.; Djuric, A.; Stanojevic, I.; Vojvodic, D.; Saso, L. In vitro antioxidant activity of thiazolidinone derivatives of 1,3-thiazole and 1,3,4-thiadiazole. Chem. Biol. Interact. 2018, 286, 119–131.
14. Vijaya Raj, K.K.; Narayana, B. The One Step Synthesis of 2-(2-Bromo-5-methoxyphenyl)-5-(3-arylidene)-1,3-thiazolo[3,2-b]- 1,2,4-triazol-6-(5H)-ones and the Evaluation of the Anticonvulsant Activity. Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem. 2006, 181(9), 1971–1981.
15. Deng, X.Q.; Song, M.X.; Gong, G.H.; Wang, S.B.; Quan, Z.S. Synthesis and Anticonvulsant Evaluation of some New 6-(Substituted-phenyl)thiazolo[3,2-b] [1,2,4]triazole Derivatives in Mice. Iran. J. Pharm. Res. 2014, 13(2), 459–469.

16. Foks, H.; Czarnocka-Janowicz, A.; Rudnicka, W.; Damasiewicz, B.; Nasal, A. Synthesis and biological activity of thiazolo-1,2,4-triazoles. Acta. Pol. Pharm. 1995, 52(5), 415–420.
17. Tozkoparan, B.; Akgün, H.; Ertan, M.; Rübsemann, K. Synthesis of some thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-ones as potential platelet aggregation inhibitors. Arch. Pharm. (Weinheim) 1995, 328(2), 169–173.
18. Berk, B.; Aktay, G.; Yesilada, E.; Ertan, M. Synthesis and pharmacological activities of some new 2-[1-(6-methoxy-2-naphthyl)ethyl]-6-(substituted)benzylidene thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-one derivatives. Pharmazie 2001, 56(8), 613–616.
19. Doğdaş, E.; Tozkoparan, B.; Kaynak, F.B.; Eriksson, L.; Küpeli, E.; Yeşilada, E.; Ertan, M. Design and synthesis of some new thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-ones substituted with flurbiprofen as anti-inflammatory and analgesic agents. Arzneimittelforschung 2007, 57(4), 196–202.
20. Holota S, Komykhov S, Sysak S, Gzella A, Cherkas A, Lesyk R. Synthesis, Characterization and In Vitro Evaluation of Novel 5-Ene-thiazolo[3,2-b] [1,2,4]triazole-6(5H)-ones as Possible Anticancer Agents. Molecules. 2021;26(4):1162.
21. Dong, G.; Sheng, C.; Wang, S.; Miao, Z.; Yao, J.; Zhang, W. Selection of evodiamine as a novel topoisomerase I inhibitor by structure-based virtual screening and hit optimization of evodiamine derivatives as antitumor agents. J. Med. Chem. 2010, 53(21), 7521–7531.
22. Sheng, C.; Miao, Z.; Zhang, W. New strategies in the discovery of novel non-camptothecin topoisomerase I inhibitors. Curr. Med. Chem. 2011, 18(28), 4389–4409,.
23. Reynisson, J.; Court, W.; O'Neill, C.; Day, J.; Patterson, L.; McDonald, E.; Workman, P.; Katan, M.; Eccles, S.A. The identification of novel PLC-gamma inhibitors using virtual high throughput screening. Bioorg. Med. Chem. 2009, 17(8), 3169–3176.

24. Eurtivong, C.; Pilkington, L.I.; van Rensburg, M.; White, R.M.; Brar, H.K.; Rees, S.; Paulin, E.K.; Xu, C.S.; Sharma, N.; Leung, I.K.H.; Leung, E.; Barker, D.; Reynisson, J. Discovery of novel phosphatidylcholine-specific phospholipase C drug-like inhibitors as potential anticancer agents. Eur. J. Med. Chem. 2020, 187, 111919.
25. Borodina I, Kenny LC, McCarthy CM, et al. The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical. Nutr Res Rev. 2020;33(2):190-217.
26. Zhuang, C.; Zhang, W.; Sheng, C.; Zhang, W.; Xing, C.; Miao, Z. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. Chem. Rev. 2017, 117, 7762–7810.
27. Haudecoeur, R.; Boumendjel, A. Recent advances in the medicinal chemistry of aurones. Curr Med. Chem 2012, 19, 2861–2875.
28. León-González, A.J.; Acero, N.; Muñoz-Mingarro, D.; Navarro, I.; Martín-Cordero, C. Chalcones as Promising Lead Compounds on Cancer Therapy. Curr. Med. Chem. 2015, 22, 3407–3025.
29. Orlikova, B.; Tasdemir, D.; Golais, F.; Dicato, M.; Diederich, M. Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. Genes Nutr. 2011, 6, 125–147.
30. Uesawa, Y.; Sakagami, H.; Ikezoe, N.; Takao, K.; Kagaya, H.; Sugita, Y. Quantitative Structure-Cytotoxicity Relationship of Aurones. Anticancer Res. 2017, 37, 6169–6176.
31. de Freitas Silva, M.; Pruccoli, L.; Morroni, F.; Sita, G.; Seghetti, F.; Viegas, C.; Tarozzi, A. The Keap1/Nrf2-ARE Pathway as a Pharmacological Target for Chalcones. Molecules 2018, 23, 1803.
32. Jardosh, H.H.; Patel, M.P. Antimicrobial and antioxidant evaluation of new quinolone based aurone analogs. Arab. J. Chem. 2017, 10, S3781–S3791.
33. Dan, W.; Dai, J. Recent developments of chalcones as potential antibacterial agents in medicinal chemistry. Eur. J. Med. Chem. 2020, 187, 111980.
34. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT 1995, 28, 25–30