

ПРОТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ 3-БЕНЗОТІАЗОЛЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНУ

©Л. М. Мосула

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

Резюме: в статті проаналізовано противірусну активність нових похідних 4-тіазолідинону з бензотіазольним фрагментом у молекулах. Ідентифіковано 2 сполуки, які проявляють виражений ефект проти вірусів грипу Vietnam/1203/2004H (Flu A, H5N1) та Malaysia/2506/2004 (Flu B), що можна розглядати як нові напрямки дослідження фармакологічного потенціалу зазначених гетероциклічних систем.

Ключові слова: противірусна активність, 3-бензтіазолзаміщені 2-тіоксо-4-тіазолідинони.

Вступ. Як показують наші попередні дослідження, поєднання 4-тіазолідинонового каркасу з бензотіазольним фрагментом у 3 положенні базового гетероциклу є виправданим підходом до створення "лікоподібних" молекул, що дозволяє досягати нового фармакологічного профілю, потенціювання дії чи зниження токсичності. [1–3]. Серед синтезованих нами сполук ідентифіковано ряд низькотоксичних похідних тіазолідинону з бензотіазольним фрагментом в 3 положенні, які мають протипухлинну, противірусну та протитуберкульозну активності [4–7]. Як окремий випадок наведеної проблеми можна розглядати дослідження нових 3-бензотіазолзаміщених 2-тіоксо-4-тіазолідинонів, яке дозволило окреслити ряд гетероциклічних похідних як перспек-

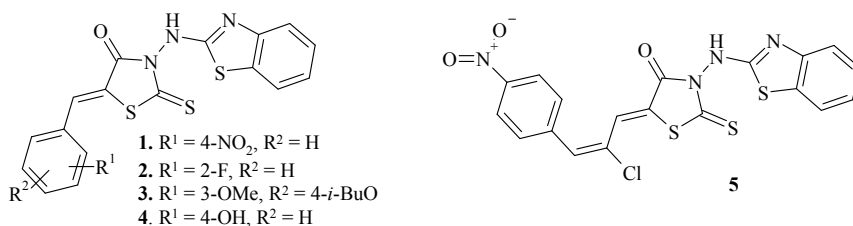
тивну для пошуку сполук з противірусною активністю.

Методи дослідження. Для вивчення противірусної активності відібрано 3-бензотіазолзаміщені 2-тіоксо-4-тіазолідинони, синтезовані за відомими методиками [1, 3, 8]. Противірусну активність вивчали методом високоефективного біологічного скринінгу згідно з міжнародною науковою програмою AACF (Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility) [9] Національного інституту алергічних та інфекційних хвороб (Бетезда, Меріленд, США).

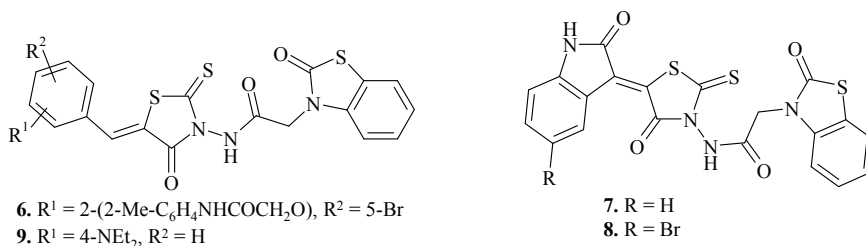
Результати й обговорення. Для скринінгу на противірусну активність відібрано 11 похідних 4-тіазолідинону з бензотіазольним фрагментом в 3 положенні, структури яких наведено в схемі 1.

Схема 1

5-Ариліденпохідні 3-(бензтіазол-2-іламіно)-2-тіоксо-4-тіазолідинону

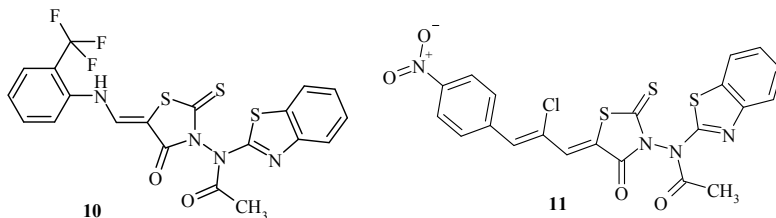


5-Іліденпохідні 2-(2-оксобензтіазол-3-іл)-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин)-ацетаміду



Продовження схема 1.

5-Іліденохідні N-бензотіазол-2-іл-N-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-
ацетаміду



Дослідження протівірусної активності проводили з використанням стандартних методик [9] на коронавірус атипової пневмонії (коронавірус SARS) [10], віруси грипу (FluA та FluB), вірус парагрипу (Parainfluenza Virus (PIV)), аденовірус (Adeno Virus), риновірус 2 типу (Rhinovirus Type 2), респіраторно-синцитіальний вірус (Respiratory Syncytial Virus (RSV)), вірус кору (Measles Virus), вірус простого герпесу 1 типу (Herpes simplex virus 1 (HSV-1)), цитомегаловірус людини (Human cytomegalovirus (HCMV)), віруси групи біологічної зброї [11, 12] – вірус денге (Dengue

Virus, тропічної лихоманки), вірус жовтої лихоманки (Yellow Fever Virus), вірус Такарібе (Tacaribe Virus), вірус Західного Нілу (West Nile virus (WNV)), а також вірус Венесуельського кінського енцефаліту (Venezuelan Equine Encephalitic Virus (VEE)), вірус коров'ячої віспи (Cowpox, Vaccinia),

Досліджувані речовини (табл. 1) не проявили суттєвої активності проти вірусу SARS, вірусу парагрипу (Parainfluenza Virus (PIV)), аденовірусу (Adeno Virus), риновірусу 2 типу (Rhinovirus Type 2), респіраторно-синцитіального вірусу

Таблиця 1. Протівірусна активність синтезованих сполук за програмою AACF

Сполука	Метод	Тип вірусу	Штам	EC ₅₀ , МКГ/МЛ	CC ₅₀ , МКГ/МЛ	SI
1	NR ¹	Flu A (H1N1)	Solomon Islands/03/2006	32	35	1,1
	NR	Flu B	Malaysia/2506/2004	7,5	13	1,7
	NR	SARS	Urbani	27	31	1,1
2	NR	Adeno	65089/Chicago	32	32	1
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	5,4	8,8	1,6
	NR	Flu B	Malaysia/2506/2004	3,2	5,1	1,6
	NR	Rhinovirus Type 2	HGP	32	32	1
3	NR	Flu A (H1N1)	Solomon Islands/03/2006	65	>100	>1.5
	NR	Flu A (H3N2)	Wisconsin/67/2005	41	48	1,2
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	12	26	2,2
4	NR	Flu A (H1N1)	Solomon Islands/03/2006	34	36	1,1
	NR	Flu A (H3N2)	Wisconsin/67/2005	32	36	1,1
5	NR	SARS Coronavirus	Urbani	0.51	1.3	2.5
	V	SARS	Urbani	0.32	2.8	8.8
	V	SARS	Urbani	1.8	1.8	1*
	CV ⁴	HSV-1	E-377	>2.4	9.1	<3.8
	CV	HCMV	AD169	90.2	>300	>3.3
	CV	Vaccinia	Copenhagen	84.4	>300	>3.6
	V	RSV	A2	3.2	3.2	1
	V	Rift Valley Fever Virus	MP-12	3.2	3.2	1
	NR	Rift Valley Fever Virus	MP-12	2.8	3.6	1.3
	V	VEE Virus	TC-83	3.2	3.2	1
	V	Flu A (H1N1)	California/07/2009	3.2	3.2	1
	V	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	3.2	3.2	1
	V	Flu B	Florida/4/2006	3.2	3.2	1

Сполука	Метод	Тип вірусу	Штам	EC ₅₀ , мкг/мл	CC ₅₀ , мкг/мл	SI
6	CPE ²	Cowpox	-	56,7	>300	>5.3
	CPE	Vaccinia	-	140	>300	>2.1
	NR	Tacaribe	TRVL 11573	24	34	1,4
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	3,1	32	10
	NR	Flu B	Malaysia/2506/2004	3,6	8,2	2,3
	NR	SARS	Urbani	3	4,1	1,4
7	NR	Rift Valley Fever	MP-12	45	>100	>2.2
	V ³	Tacaribe	TRVL 11573	28	52	1,9
	NR	WNV	New York isolate	34	>100	>3
	NR	Flu A (H1N1)	Solomon Islands/03/2006	32	>100	>3.2
	NR	Flu A (H3N2)	Wisconsin/67/2005	32	>100	>3.2
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	34	>100	>2.9
	NR	Flu B	Malaysia/2506/2004	32	>100	>3.2
	NR	SARS	Urbani	45	>100	>2.2
8	NR	Rift Valley Fever	MP-12	32	32	1
	NR	WNV	New York isolate	74	>100	>1.3
	NR	Flu A (H1N1)	Solomon Islands/03/2006	33	37	1,1
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	3,2	9	2,8
	NR	Flu B	Malaysia/2506/2004	2,4	9,5	4
	NR	Measles	Chicago	20	21	1
	NR	PIV	14702	31	32	1
	NR	RSV A	A2	32	32	1
9	NR	Flu A (H1N1)	Solomon Islands/03/2006	31	38	1,2
	NR	Flu A (H3N2)	Wisconsin/67/2005	31	32	1
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	30	90	3
	NR	Flu B	Malaysia/2506/2004	60	>100	>1.7
	NR	SARS	Urbani	55	>100	>1.8
10	NR	Flu A (H3N2)	Wisconsin/67/2005	3,2	3,3	1,1
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	3,9	4,6	1,2
	NR	Flu B	Malaysia/2506/2004	3,2	4,2	1,3
	NR	SARS	Urbani	28	28	1
11	V	Dengue Virus Type 2	New Guinea C	3.2	3.2	1
	NR	Dengue Virus Type 2	New Guinea C	3.2	4.1	1.3
	V	RSV	A2	32	32	1
	V	Rift Valley Fever Virus	MP-12	3.2	3.2	1
	NR	Rift Valley Fever Virus	MP-12	3.1	3.9	1.3
	NR	SARS	Urbani	2.5	3.7	1.5
	V	Tacaribe Virus	TRVL 11573	3.2	3.2	1
	NR	Tacaribe Virus	TRVL 11573	3	3.5	1.2
	NR	Flu A (H5N1)	Vietnam/1203/2004H	28	39	1.4
	V	Flu B	Florida/4/2006	3.2	3.2	1

Примітка. * – значення SI за результатами повторного тестування NR¹ – Neutral Red, CPE² – Cytopathic effect, V³ – Visual, CV⁴ – Crystal Violet.

(Respiratory Syncytial Virus (RSV)), вірусу кору (Measles Virus), вірусу простого герпесу 1 типу (Herpes simplex virus 1 (HSV-1)), цитомегаловірусу людини (Human cytomegalovirus (HCMV)) та вірусів групи біологічної зброї (SI=1÷>5,3), за винятком сполуки **5**, яка проявила активність (SI = 8,8) до штаму Urbani коронавірусу атипової

пневмонії (SARS Coronavirus) при мінімальній ефективній концентрації (EC₅₀ = 0,32 мкг/мл). Проте необхідно відзначити групову ефективність сполук стосовно вірусів грипу. Серед 11 тестованих сполук 7 проявили ефект щодо вірусу грипу А (H1N1), 5 – до вірусу грипу А (H3N2), адже індекс селективності (SI) їх знаходився в

діапазоні $1 \div >3,2$. Дещо вищу активність проявили дані сполуки до вірусу грипу В та вірусу грипу А (H5N1) (для 9 сполук індекс селективності (SI) знаходився в діапазонах $1 \div >4$ і $1 \div 10$ відповідно). Так, похідне **8** характеризується виразним ефектом щодо штаму Malaysia/2506/2004 (Flu B) при показниках $EC_{50} = 2,4$ мкг/мл та $CC_{50} = 9,5$ мкг/мл, значення SI складає 4, що є підставою для оптимізації структури «сполуки-хіта». Сполука **6** проявила високу активність відносно штаму Vietnam/1203/2004H (Flu A, H5N1), при значеннях $EC_{50} = 3,1$ мкг/мл та $CC_{50} = 32$ мкг/мл SI становить 10, що важливо для подальшого розвитку противірусної тематики бензотіазолзаміщених 4-тіазолідонів.

Попередні дослідження противірусної активності 3-(бензтіазол-2-іламіно)-2-тіоксо-4-тіазолідонів показали, що зазначені сполуки проявляють, в основному, помірну чи не суттєву противірусну дію, причому величина ефекту залежить від характеру 5-ариліденового фрагмента.

Аналіз взаємозв'язку «структура-активність» дозволяє констатувати, що синтезовані N-(5-іліден-2-тіоксо-4-тіазолідон-3-іл)-2-(2-оксобензтіазол-3-іл)ацетаміди проявляють групу активності (помірну чи суттєву) проти вірусів грипу (Flu A і Flu B), причому величина ефекту залежить від характеру 5-ариліденового фрагмента. Найвищими показниками активності характерні 5-бромо-2-(о-толількарбамоїл-метокси)-бензиліденовий (сполука **6**) та 5-бромо-2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліденовий (сполука **8**) замісники, введення яких дозволило досягнути показників SI на рівні 10 та 4 при низьких значеннях їх ефективних концентрацій ($EC_{50} = 3,1$ мкг/мл та $EC_{50} = 2,4$ мкг/мл) відповідно. На нашу думку, такий рівень активності дозволяє розглядати дані похідні як «сполуки-хіти» (з англ. «hit-compounds») для спрямованого пошуку потенційних противірусних агентів. Про вирішальний вплив радикала в положенні 5 тіазолідонного циклу на прояв противірусної активності до штаму Vietnam/1203/2004H (Flu A, H5N1) свідчить і те, що при заміні 5-бромо-2-(о-толількарбамоїл-

метокси)-бензиліденового замісника (сполука **6**) на 4-діетиламіно-бензиліденовий (сполука **9**) призводить до значного зниження активності до даного вірусу. Порівнюючи структури споріднених гетероциклів **7** і **8** можна зробити висновок про те, що введення бром у 2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліденовий фрагмент, що знаходиться в 5 положенні тіазолідонного циклу, приводить до підвищення активності щодо штаму Malaysia/2506/2004 (Flu B). А введення ацетатного залишку в молекулу 3-(бензотіазол-2-іламіно)-5-[2-хлоро-3-(4-нітро-феніл)-аліден]-2-тіоксо-тіазолідин-4-ону (сполука **5**), яка має виразну противірусну активність до штаму Urbani коронавірусу SARS (SI = 8,8), призводить до різкого зниження або цілковитої втрати цієї активності. Можливо, на прояв противірусної активності щодо коронавірусу SARS сполук **1** (SI = 1,1) і **5** (SI = 8,8) має значення наявність нітрогрупи в ариліденовому фрагменті, оскільки відсутність даної групи в структурно близьких сполук **2**, **3** та **4** призводить до втрати противірусної активності.

Висновки. 1. За результатами прескрінінгу противірусної активності досліджувані речовини на тлі несуттєвої активності щодо вірусу SARS та вірусів групи біологічної зброї проявили групу ефективності стосовно вірусів грипу. Високе значення індексу селективності (SI = 10) щодо штаму Vietnam/1203/2004H (Flu A) N-{5-[5-бромо-2-(о-толількарбамоїл-метокси)-бензиліден]-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл}-2-(2-оксо-тіазол-3-іл)-ацетаміду (**6**) дозволяє розглядати похідне як «сполуку-хіт», що важливо для подальшого розвитку противірусної тематики похідних 4-тіазолідонів з бензтіазольними фрагментами у молекулах.

2. Суттєве значення ефективного інгібування (SI = 4) до штаму Malaysia/2506/2004 (Flu B) при низькій ефективній концентрації ($EC_{50} = 2,4$ мкг/мл) N-[5-(5-бромо-2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл]-2-(2-оксо-бензотіазол-3-іл)-ацетаміду (**8**) спонукає до подальшої роботи над оптимізацією її структури з метою одержання кращих показників активності.

Література

1. Зіменковський Б. С. 4-Тіазолідони. Хімія, фізіологічна дія, перспективи: монографія / Б. С. Зіменковський, Р. Б. Лесик. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 106 с.
2. Lesyk R. B. 4-Thiazolidones: Centenarian History, Current Status and Perspectives for modern Organic and Medicinal Chemistry / R. B. Lesyk, B. S. Zimenkovsky // Current Organic Chemistry. – 2004. – Vol. 8, № 16. – P. 1547–1579.
3. Chemistry and pharmacology of 4-thiazolidone derivatives / R. Lesyk, B. Zimenkovsky, V. Lukyanchuk [et

al.] // Annals of Polish Chemical Society. – 2003. – Vol. 2, part 1. – P. 293–298.

4. Синтез і попередня оцінка фармакологічного потенціалу похідних роданіну з бензтіазольним фрагментом в молекулах / Л. М. Мосула, Д. Я. Гаврилук, Г. В. Казьмірчук, Р. Б. Лесик // Фармацевтичний журнал. – 2009. – № 1. – С. 54–60.

5. Синтез 5-ариліден-3-(бензтіазол-2-іламіно)-2-тіоксо-4-тіазолідонів як потенційних протиракових та про-

титуберкульозних агентів / Л. М. Мосула, В. С. Волошин, Д. Я. Гаврилюк, Р. Б. Лесик // *Лекарства – человеку: Современные проблемы создания, исследования и апробации лекарственных средств: науч.-практ. конф. с междунар. участием, (Харьков, 22 марта 2007 г.) / МОЗ Украины, Национ. фарм. ун-т. – Х.: Изд-во НФаУ, 2007. – С. 81–82.*

6 Synthesis of 3-substituted 5-arylidene-2-thioxo-4-thiazolidinones as potential anticancer and antituberculosis agents / L. Mosula, O. Roman, G. Kazmirchuk [et al.] // *Farmacja XXI wieku – wyzwania i nadzieje: XX Naukowy zjazd polskiego towarzystwa farmaceutycznego, (Katowice-Spodek, 25–28 wresnia 2007 r.). – Katowice-Spodek, 2007. – Т. II. – С. 472–473.*

7. Synthesis and anticancer activity of novel non-condensed 4-thiazolidinones with benzothiazole and benzothiazol-2-one moieties / L. Mosula, G. Kazmirchuk, B. Zimenkovsky, R. Lesyk // *Bridges in Life Sciences Annual Scientific Review, (Zagreb, 4 October 2008) / Regional Cooperation for Health, Science and Technology. – Zagreb, 2008. – Vol. 2, № 1. – P. 100.*

8. Synthesis and anticancer activity evaluation of 4-thiazolidinones containing benzothiazole moiety / D. Havrylyuk, L. Mosula, B. Zimenkovsky [et. al] // *European Journal of Medicinal Chemistry. – 2010. – Vol. 45, № 11. – P. 5012–5021.*

9. <http://www.niaid.nih.gov>.

10. Development and validation of a high-throughput screen for inhibitors of SARS CoV and its application in screening of a 100,000-compound library / W. E. Severson, N. Shindo, M. Sosa [et al.] // *Journal of Biomolecular Screening. – 2007. – Vol. 12, № 1. – P. 33–40.*

11. Sidwell R. W. Use of disposable micro tissue culture plates for antiviral and interferon induction studies / Robert Sidwell, John Huffman // *Applied Microbiology. – 1971. – Vol. 22, № 5. – P. 797–801.*

12. Identification of active antiviral compounds against a New York isolate of West Nile virus / J. D. Morrey, D. F. Smee, R. W. Sidwell [et. al] // *Antiviral Research. – 2002. – Vol. 55, № 1. – P. 107–116.*

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ 3-БЕНЗОТИАЗОЛЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ТИАЗОЛИДИНОНА

Л. М. Мосула

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

Резюме: в статье проведен анализ противовирусной активности новых производных 4-тиазолидинона с бензотиазольным фрагментом в молекулах. Идентифицированы 2 соединения, обладающие выраженным эффектом против вирусов гриппа Vietnam/1203/2004H (Flu A, H5N1) и Malaysia/2506/2004 (Flu B), что можно рассматривать как новые направления исследования фармакологического потенциала указанных гетероциклических систем.

Ключевые слова: противовирусная активность, 3-бензотиазолзамещенные 2-тиоксо-4-тиазолидоны.

ANTIVIRAL ACTIVITY OF 3-BENZOTHIAZOLE SUBSTITUTED 4-THIAZOLIDINONE DERIVATIVES

L. M. Mosula

Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

Summary: in this article the antiviral activity of new derivatives of 4-thiazolidinone with benzothiazole fragment in the molecule was analyzed. Two compounds with a pronounced effect against influenza viruses Vietnam/1203/2004H (Flu A, H5N1) and Malaysia/2506/2004 (Flu B) were identified. These data can be regarded as new research areas of the pharmacological potential of mentioned heterocyclic systems.

Key words: antiviral activity, 3-benzothiazole substituted 2-thioxo-4-thiazolidinones.