

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ГАВРИЩУК ЛЮБОМИР МИХАЙЛОВИЧ

УДК 54.057+547.7+547.022+615.277+339.138+616-006

ДИСЕРТАЦІЯ
СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ
НІТРОГЕНВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ З ДИХЛОРОАЦЕТАТНИМ
ФРАГМЕНТОМ У МОЛЕКУЛАХ

22 «Охорона здоров'я»

226 «Фармація, промислова фармація»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Л. М. Гаврищук

Наукові керівники: **Лесик Роман Богданович**, доктор фармацевтичних наук,
професор

Федяк Ірина Орестівна, кандидатка фармацевтичних наук, доцентка

Івано-Франківськ – 2025

АНОТАЦІЯ

Гавришук Л. М. Синтез та біологічна активність деяких нітрогеновмісних гетероциклів з дихлороацетатним фрагментом у молекулах. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація». – Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, 2025.

Дослідження проводили на базі кафедр хімії, фармацевтичного аналізу та післядипломної освіти Івано-Франківського національного медичного університету; фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; Інституту біології клітини НАН України (м. Львів) в період з 2021 року по 2025 рік.

Дисертаційна робота присвячена синтезу нових нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом у молекулах, вивченню їх фізико-хімічних параметрів та біологічних властивостей.

Було проведено маркетингове дослідження протипухлинних лікарських препаратів (ЛП) темозоломід (L01AX03) і дакарбазину (L01AX04) групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» для встановлення їх фізичної та соціально-економічної доступності для хворих на злоякісні новоутворення в Україні. Установлено 100% імпортозалежність групи: зареєстровано 5 торгових найменувань (ТН) темозоломід і 2 – дакарбазину, усього 29 ЛП з врахуванням дозувань. Водночас фармацевтичний ринок представляв усього 2 ТН темозоломід: Темомедак, капс. по 20, 100, 140, 180, 250 мг, Medac, Німеччина та Темодал, капс. по 20, 100 мг, Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія й 1 ТН – Дакарбазин Медак, пор. 200 мг для приг. р-ну для ін./інф., Medac, Німеччина (загалом 27.59% ЛП групи). Імпортні ЛП доступні для хворих за Програмою медичних гарантій та програмами централізованих заходів з охорони здоров'я. Тому була доцільність у синтезі нових сполук з протипухлинною активністю, які можуть стати новими вітчизняними ЛП.

На основі аналізу літературних даних визначено, що експериментально-клінічні дослідження натрію дихлороацетату (НДХА) та інших солей дихлорооцтової кислоти проводяться в медицині упродовж останніх сорока п'яти років. НДХА – один із безлічі органічних галогенідів, із якими людське населення контактує постійно. Він міститься в хлорованій питній воді, де його концентрація може досягати 160 мкг/л, у ґрунтових водах, забруднених при виробництві промислових розчинників та інших хлоровмісних речовин. Окрім того, він виступає в ролі проміжного метаболіту при біотрансформації деяких лікарських препаратів. Біологічна активність НДХА пов'язана з активацією піруватдегідрогеназного комплексу. Одним із найбільш значущих результатів цього є зниження концентрації лактату на локальному рівні і, відповідно, у крові, що дозволяє відносити НДХА до метаболічних цитопротекторів. На даний час активність НДХА вивчається при різних захворюваннях та станах як у вигляді монотерапії, так і в поєднанні з іншими методами для лікування тяжких метаболічних розладів, кардіоваскулярної патології та в онкології.

Високий інтерес до нітрогеновмісних гетероциклів пояснюється їх вираженою здатністю утворювати координаційні з'єднання з металами та їх солями. Вони широко застосовуються в аналітичній, а також супрамолекулярній хімії як реагенти і ліганди, селективні сорбенти і екстрагенти при виділенні благородних, радіоактивних і рідкісноземельних елементів у процесі флотації та переробки відпрацьованого ядерного палива, а також розпізнавачі біологічних молекул у живих організмах. Особливий інтерес представляють нітрогеновмісні гетероцикли в якості потенційних антибактерійних, антивірусних, протиракових лікарських засобів, а також ефективних іонофорів і синтетичних матеріалів для молекулярної електроніки.

Метою дослідження була розробка методів одержання, спрямований синтез та перетворення нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом, їх молекулярне моделювання та віртуальний скринінг, вивчення і порівняння біологічної активності, дослідження особливостей зв'язку між структурою і дією одержаних сполук, відбір

високоактивних сполук для поглибленого вивчення як потенційних активних фармацевтичних інгредієнтів.

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано, методологічно забезпечено та експериментально підтверджено шляхи вирішення наукової проблеми створення нових потенційних протипухлинних агентів на основі нітрогеновмісних гетероциклічних сполук, що містять моно- та дихлороацетатні фрагменти, шляхом поєднання методів фармацевтичного аналізу, органічного синтезу, *in silico* моделювання, та первинного біологічного скринінгу. На основі комплексного міждисциплінарного підходу, який охоплює аналіз соціально-економічної доступності алкілюючих препаратів групи L01AX, раціональний дизайн та спрямований органічний синтез, ретельну структурну ідентифікацію (елементний аналіз, ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія), поглиблений квантово-хімічний аналіз електронної будови (DFT/B3LYP/6-311G++(d,p)), SAR-аналіз, а також *in silico* дослідження (молекулярне моделювання, молекулярний докінг, ADMET-прогнозування) та експериментальну оцінку цитотоксичності *in vitro* (МТТ-тест), теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено взаємозв'язок «структура-активність» та ідентифіковано низку високоефективних протиракових «сполук-хітів» серед синтезованих 34 нових похідних тiazольного та дигідропіразолового рядів.

Установлено 100% імпортозалежність лікарських препаратів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» і дисонанс між їх присутністю у соціально-економічних регулюючих переліках лікарських засобів в Україні та фізичною доступністю на фармацевтичному ринку. Усього 6 (20.69%) лікарських препаратів групи увійшли у Перелік лікарських засобів, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм лікування онкохворих. Виявлено доцільність у синтезі нових вітчизняних активних фармацевтичних інгредієнтів групи L01AX для лікування хворих на онкопатології.

Синтезовано серії 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідів на основі реакцій ацилювання метилдихлороацетатом, хлороацетилхлоридом та

дихлороацетилхлоридом відповідних заміщених етиламінів, амінобензойних кислот, тіазол-вмісних амінів та дигідропіразолів.

Підтверджено будову, склад та чистоту синтезованих сполук за допомогою елементного аналізу, рідинної хромато-мас-спектрометрії, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, що є критично важливим для подальшої фармакологічної оцінки.

Доведено помірну протипухлинну активність дихлороацетамідів на окремі клітинні лінії меланоми, лейкемії та раку нирок. Попередні дані вивчення протипухлинної дії свідчать про певні перспективи пошуку протиракових агентів в групі дихлоарилацетамідів у порівнянні з алкіламидами.

Встановлено кореляцію між електронною будовою та протипухлинною активністю, виявивши 2-хлороацетаміди тіазолу, фенілтіазолу та бензотіазолу як найбільш цитотоксичні та пояснено, що нижча активність дихлороацетамідів порівняно з хлороацетамидами зумовлена не просто взаємним впливом атомів, а значною мірою структурою перехідного стану при утворенні проміжних продуктів та більшою схильністю утворених аддуктів до гідролізу.

Визначено, що хлороацетаміди тіазольного та дигідропіразолового рядів демонструють значно вищу протипухлинну активність порівняно з дихлороацетамидами. Зокрема, 2-хлороацетаміди тіазолу, фенілтіазолу та бензотіазолу показали суттєву цитотоксичність на клітинних лініях (Jurkat, MDA-MB-231, Ba/F3CALRins5, Ba/F3CALRdel152), що підтверджує кореляційний зв'язок між структурними характеристиками та біологічною активністю.

Ідентифіковано потенційні механізми дії синтезованих сполук з використанням *in silico* методів та показано, що більшість кон'югатів «глутатіон-хлороацетамід» демонструють покращену здатність взаємодіяти з глутатіон-S-трансферазою порівняно з нативним кон'югатом «глутатіон-етакринова кислота», що може бути відповідальним за їх підвищену протипухлинну активність.

Визначено кореляцію між даними *in silico* молекулярного докінгу та *in vitro* цитотоксичності, що підтверджує достовірність застосованих моделей та дозволяє обґрунтувати подальшу оптимізацію молекулярної структури для підвищення терапевтичної ефективності.

Визначено, що подальші дослідження мають бути спрямовані на детальне вивчення механізмів взаємодії синтезованих сполук (зокрема 2-хлороацетамідів тіазолу, фенілтіазолу та бензотіазолу) з глутатіоном та інгібування активності глутатіон-S-трансферази, а також на оптимізацію їхньої структури з метою зниження токсичності та підвищення селективності дії, так як вони демонструють значний потенціал для подальшої фармакологічної оцінки та розробки нових протипухлинних агентів з мінімальними токсикометричними ризиками.

Показано, що монохлороацетпохідні виявляють вищу цитотоксичну активність у порівнянні з структурно-спорідненими похідними тіазолу щодо клітинних ліній лейкемії людини (Jurkat, HL-60, K562), моделі мієлопроліферативних новоутворень (Ba/F3), гліобластоми (U-251 MG) та раку легень (A549). Натомість більшість дихлоропохідних аналогів демонструють помірну або мінімальну цитотоксичність.

Ідентифіковано високоефективні протиракові «сполуки-хіти» тіазольного (2-хлороацетаміди тіазолу, фенілтіазолу та бензотіазолу) та дигідропіразолового (хлороацетаміди 3,5-диарилдигідропіразолів) рядів, що відкриває нові можливості для розробки оригінальних протипухлинних агентів.

За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових робіт.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше синтезовано неописані в літературі нітрогеновмісні гетероцикли (похідні тіазолу та 1,2-дигідропіразолу) з моно- та дихлороацетатним фрагментом у молекулах та їх похідні, досліджено їх фізико-хімічні властивості та проведено хімічні перетворення за функціональними групами для подальшої функціоналізації поліциклічних систем із заданим фрагментом. Для реалізації наукової програми

використано доступні інноваційні технології: віртуальний скринінг, SAR-аналіз, молекулярне моделювання.

Практичне значення отриманих результатів.

Установлено дисонанс між присутністю готових ЛЗ групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» у соціально-економічних регулюючих переліках ЛЗ в Україні і їх фізичною доступністю на ФР. Усього 6 (20.69%) ЛП групи увійшли у Перелік ЛЗ, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм лікування онкохворих. Виявлено доцільність у синтезі нових вітчизняних АФІ групи L01AX для лікування хворих на онкопатології.

Розроблено ефективні методи синтезу нових гетероциклічних сполук з моно- та дихлороацетатними фрагментами у молекулах, досліджено їх фізико-хімічні параметри. На основі скринінгу біологічної активності відібрано та охарактеризовано нові високоактивні молекули з протипухлинною дією, які рекомендовані для подальших поглиблених досліджень. Результати дослідження дозволяють визначити основні критерії для спрямованого синтезу біологічно активних сполук на основі нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатними фрагментами у молекулах. Синтезовані сполуки, особливо з групи хлороацетамідів, демонструють значний потенціал для подальшої фармакологічної оцінки та розробки нових протипухлинних агентів з мінімальними токсикометричними ризиками.

Ключові слова: синтез хлороацетамідів та дихлороацетамідів, азоли, протиракова та протипухлинна активність, дизайн та *in silico* прогнозування ADMET властивостей, скринінг цитотоксичної активності, елементний аналіз, SAR-аналіз, хромато-мас-спектрометрія, квантово-хімічні DFT розрахунки, молекулярний докінг, інгібування глутатіон-трансферази, маркетингові дослідження фармацевтичного ринку України, щомісячний моніторинг асортименту і ціни лікарських препаратів, фізична та соціально-економічна доступність темозоломідів та дакарбазину, менеджмент в охороні здоров'я щодо забезпечення доступності темозоломідів та дакарбазину групи L01AX «Інші алкілюючі агенти».

ABSTRACT

Havryshchuk L. M. Synthesis and biological activity of some nitrogen-containing heterocycles with a dichloroacetate fragment in molecules. – Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 «Healthcare» in the specialty 226 «Pharmacy, Industrial Pharmacy». – Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, 2025.

The research was conducted at the Departments of Chemistry, Pharmaceutical Analysis and Postgraduate Education of Ivano-Frankivsk National Medical University; Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry of Danylo Halytsky Lviv National Medical University; Institute of Cell Biology of the NAS of Ukraine (Kyiv) in the period from 2021 to 2025.

The dissertation is devoted to synthesizing new nitrogen-containing heterocycles with mono- and dichloroacetate fragments in the molecules, studying their physicochemical parameters and biological properties.

A marketing study was conducted on anticancer medicinal products temozolomide (L01AX03) and dacarbazine (L01AX04) of the group L01AX «Other alkylating agents» to determine their physical and socio-economic availability for patients with malignant tumors in Ukraine. The group was found to be 100% import-dependent: 5 trade names of temozolomide and 2 of dacarbazine were registered, a total of 29 medicinal products, considering the dosages. At the same time, the pharmaceutical market was represented by only two trade names of temozolomide: Temomedac, 20, 100, 140, 180, 250 mg capsules, Medac, Germany and Temodal, 20, 100 mg capsules, Merck Sharp & Dohme Idea, Switzerland and one trade name – Dacarbazine Medac, 200 mg powder for injection/infusion solution, Medac, Germany (total 27.59% of the group's drugs). Imported drugs are available for patients under the Medical Guarantee Program and programs of centralized health care measures. Therefore, there was a need to synthesize new compounds with antitumor activity that could become new domestic medicines.

Based on the analysis of literature data, it was established that experimental and clinical studies of sodium dichloroacetate (SDCA) and other salts of dichloroacetic acid have been conducted in medicine for the past forty-five years. SDCA is one of the many organic halides the human population constantly interacts with. It is contained in chlorinated drinking water, where its concentration can reach 160 $\mu\text{g/l}$, in groundwater contaminated by the production of industrial solvents and other chlorine-containing substances. Also, it acts as an intermediate metabolite in the biotransformation of some drugs. The SDCA biological activity is associated with the activation of the pyruvate dehydrogenase complex. One of the most meaningful results is a decrease in the lactate concentration at the local level and, accordingly, in the blood, which allows us to attribute SDCA to metabolic cytoprotectors. Currently, the SDCA activity is being studied in various diseases and conditions, both as monotherapy and in combination with other methods for treating severe metabolic disorders, cardiovascular pathology, and oncology.

The high interest in nitrogen-containing heterocycles is explained by their pronounced ability to form coordination compounds with metals and their salts. They are widely used in analytical and supramolecular chemistry as reagents and ligands, selective sorbents, and extractants in the isolation of noble, radioactive, and rare-earth elements in the flotation and processing of spent nuclear fuel, as well as recognizers of biological molecules in living organisms. Nitrogen-containing heterocycles are of particular interest as potential antibacterial, antiviral, and anticancer drugs, as well as effective ionophores and synthetic materials for molecular electronics.

The study aimed to develop methods for obtaining, directed synthesis and transformation of nitrogen-containing heterocycles with mono- and dichloroacetate fragments, their molecular modeling and virtual screening, biological activity study, study of the interconnection features between the structure and action of the obtained compounds, and selection of highly active compounds for in-depth study as potential active pharmaceutical ingredients.

The thesis theoretically substantiates, methodologically provides, and experimentally confirms the ways of solving the scientific problem of creating new

potential anticancer agents based on nitrogen-containing heterocyclic compounds containing mono- and dichloroacetate fragments by combining methods of pharmaceutical analysis, organic synthesis, *in silico* modeling, and primary biological screening. Based on a comprehensive interdisciplinary approach that includes analysis of the socio-economic availability of alkylating drugs of the L01AX group, rational design and directed organic synthesis, thorough structural identification (elemental analysis, NMR spectroscopy, chromatography-mass spectrometry), in-depth quantum chemical analysis of the electronic structure (DFT/B3LYP/6-311G++(d,p)), SAR analysis, as well as *in silico* studies (molecular modeling, molecular docking, ADMET prediction) and experimental evaluation of *in vitro* cytotoxicity (MTT assay), the structure-activity interconnection was theoretically substantiated and experimentally confirmed and several highly effective anticancer «hit compounds» were identified among the synthesized 34 new thiazole and dihydropyrazole derivatives.

It was established that medicinal products of the group L01AX «Other alkylating agents» are 100% imported, and there is a dissonance between their presence in the socio-economic regulatory drug lists in Ukraine and their physical availability on the pharmaceutical market. The group's 6 (20.69%) medicinal products were included in the List of drugs procured at the state budget expense for the implementation of cancer treatment programs. The expediency of synthesizing new domestic active pharmaceutical ingredients of the L01AX group for the treatment of patients with cancer was revealed.

A series of 2-chloro- and 2,2-dichloroacetamides were synthesized based on the acylation reactions of the corresponding substituted ethylamines, aminobenzoic acids, thiazole-containing amines, and dihydropyrazoles with methyl dichloroacetate, chloroacetyl chloride, and dichloroacetyl chloride.

The synthesized compounds' structure, composition, and purity were confirmed by elemental analysis, liquid chromatography-mass spectrometry, and ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, which is critical for further pharmacological evaluation.

The moderate antitumor activity of dichloroacetamides on specific melanoma, leukemia, and kidney cancer cell lines has been proven. Preliminary data on the study of antitumor action indicate particular prospects for the search for anticancer agents in the group of dichloroarylacetamides in comparison with alkylamides.

A correlation between electronic structure and antitumor activity was established, revealing 2-chloroacetamides of thiazole, phenylthiazole, and benzothiazole as the most cytotoxic and explained that the lower dichloroacetamides activity compared to chloroacetamides is due not only to the mutual influence of atoms, but also to the transition state structure during the intermediates formation and the greater tendency of the formed adducts to hydrolyze.

It has been determined that chloroacetamides of the thiazole and dihydropyrazole series show significantly higher antitumor activity than dichloroacetamides. In particular, 2-chloroacetamides of thiazole, phenylthiazole, and benzothiazole showed significant cytotoxicity in cell lines (Jurkat, MDA-MB-231, Ba/F3CALRins5, Ba/F3CALRdel52), which confirms the correlation between structural characteristics and biological activity.

The potential action mechanisms of the synthesized compounds were identified using *in silico* methods, and it was shown that most of the «glutathione-chloroacetamide» conjugates demonstrate an improved ability to interact with glutathione S-transferase compared to the native «glutathione-ethacrynic acid» conjugate, which may be responsible for their enhanced antitumor activity.

The correlation between *in silico* molecular docking and *in vitro* cytotoxicity data was determined, confirming the applied models' reliability and allowing us to justify further molecular structure optimization to improve therapeutic efficacy.

It has been determined that further research should be aimed at a detailed study of the interaction mechanisms of the synthesized compounds (in particular, 2-chloroacetamides of thiazole, phenylthiazole and benzothiazole) with glutathione and inhibition of glutathione S-transferase activity, as well as at optimizing their structure to reduce toxicity and increase action selectivity, since they demonstrate significant

potential for further pharmacological evaluation and development of new anticancer agents with minimal toxicometric risks.

It was shown that monochloroacetate derivatives exhibit higher cytotoxic activity compared to structurally related thiazole derivatives against human leukemia cell lines (Jurkat, HL-60, K562), myeloproliferative neoplasms (Ba/F3), glioblastoma (U-251 MG), and lung cancer (A549). In contrast, most dichloroderivatives show moderate or minimal cytotoxicity.

Highly effective anticancer «hit compounds» of the thiazole (2-chloroacetamides of thiazole, phenylthiazole, and benzothiazole) and dihydropyrazole (chloroacetamides of 3,5-diaryldihydropyrazole) series were identified, which opens up new opportunities for the development of original antitumor agents.

Ten scientific papers have been published based on the dissertation materials.

The scientific novelty of the obtained results.

There was a dissonance between the presence of finished medicinal products of the group L01AX «Other alkylating agents» in the socio-economic regulatory drugs lists in Ukraine and their physical availability on the pharmaceutical market. The group's 6 (20.69%) medicinal products were included in the List of drugs procured at the state budget expense for the implementation of cancer treatment programs. The expediency of synthesizing new domestic active pharmaceutical ingredients of the L01AX group for the treatment of patients with cancer was revealed.

For the first time, undescribed in the literature, nitrogen-containing heterocycles (derivatives of thiazole and 1,2-dihydropyrazole) with a mono- and dichloroacetate fragment in the molecules and their derivatives were synthesized, their physicochemical properties were studied, and chemical transformations were carried out according to functional groups for further functionalization of polycyclic systems with a given fragment. Innovative technologies were used to implement the scientific program: virtual screening, SAR analysis, and molecular modeling.

Practical significance of the results obtained. Effective methods for synthesizing new heterocyclic compounds with mono- and dichloroacetate fragments in molecules have been developed, and their physicochemical parameters have been investigated. Based on the screening of biological activity, new highly active molecules with antitumor action have been selected and characterized, which are recommended for further in-depth studies. The study results allow us to determine the main criteria for the directed synthesis of biologically active compounds based on nitrogen-containing heterocycles with mono- and dichloroacetate fragments in molecules. The synthesized compounds, especially from the group of chloroacetamides, demonstrate significant potential for further pharmacological evaluation and development of new antitumor agents with minimal toxicometric risks.

Keywords: synthesis of chloroacetamides and dichloroacetamides, azoles, anticancer and antitumor activity, design and *in silico* prediction of ADMET properties, cytotoxicity screening, elemental analysis, SAR analysis, chromatography-mass spectrometry, quantum chemical DFT calculations, molecular docking, glutathione transferase inhibition, marketing research of the Ukraine pharmaceutical market, monthly monitoring of the drugs range and prices, temozolomide and dacarbazine physical and socio-economic availability, healthcare management to ensure the availability of temozolomide and dacarbazine of the group L01AX «Other alkylating agents».

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Федяк ІО, Гаврищук ЛМ. Дослідження фізичної та соціально-економічної доступності протипухлинних лікарських засобів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» в Україні. Фармацевтичний часопис. 2025; (1)73:74–86. *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, підготовка статті до друку).*
2. Havryshchuk L, Horishny V, Ivasechko I, Kozak Y, Melnyk D, Khylyuk D, Kusiya M, Serhiyenko V, Finiuk N, Stoika R, Holota S, Lesyk R. Synthesis, anticancer properties evaluation and in silico studies of 2-chloro- and 2,2-dichloroacetamides bearing thiazole scaffolds. Sci Pharm Sci. 2025;(1 (53)):71–82. Available from: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.323594> *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, проведення in silico досліджень, проведення квантово-хімічних розрахунків, узагальнення результатів квантово-хімічних розрахунків та молекулярного докінгу, підготовка статті до друку).*
3. Havryshchuk LM, Melnyk DO, Khylyuk DV, Horishny VY, Lesyk RB. Docking and quantum chemical insights into the anticancer mechanisms of monochloroacetic and dichloroacetic acids derivatives. Pharmaceutical Review. 2024; (4):7–17. Available from: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2024.4.15007> *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, проведення квантово-хімічних розрахунків, узагальнення результатів квантово-хімічних розрахунків та молекулярного докінгу, підготовка статті до друку).*
4. Havryshchuk L, Horishny V, Rushchak N, Lesyk R. Dichloroacetic acid derivatives as potential anti-tumor and anti-inflammatory agents. Sci Pharm Sci. 2024; 1(47):60–78. Available from: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.299229> *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, збір літературних джерел, узагальнення результатів огляду літератури, підготовка статті до друку).*

5. Havryshchuk LM, Horishny VY, Lesyk RB. Synthesis of dichloroacetamides and study of their anti-tumor activity. *Farm Zh.* 2022; 77(4):42–9. Available from: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.22.05> (*Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів фізико-хімічних досліджень, підготовка статті до друку*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Ivasechko I, Finiuk N, Kozak Y, Havryshchuk L, Horishny V, Lesyk R, Stoika R. Identification of thiazole/thiazolidinone derivatives as inhibitors of mutant calreticulin for the treatment of myeloproliferative neoplasms. In: Sibirny AA, Dmytruk KV, Stasyuk NYe, Manko NO, Barska ML, Dzanayeva LS editors. 7th Congress of the All-Ukrainian public organization «Ukrainian Society of Cell Biology» with international representation: program and the book of abstracts. 2024 Sep 11-13; Lviv, Ukraine. Lviv, Ukraine; 2024. P. 26. Available from: <https://doi.org/10.30970/uscb.2024> (*особистий внесок автора: синтетична частина роботи*).

2. Гаврищук Л, Горішній В, Лесик Р. Дослідження хлоропохідних оцтової кислоти як сполук з протипухлинною активністю. XXII Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії. Матеріали конференції. 2024 травень 20-23; Дніпро, Україна. Дніпро, Україна: Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара; 2024. С. 49-51. Доступно на: https://dnu.dp.ua/docs/ndc/2024/materiali_konferenc/16.pdf (*співавтори Горішній В та Лесик Р надавали консультативну допомогу*).

3. Havryshchuk L, Horishny V, Ivasechko I, Kozak Y, Lesyk R. Mono- and dichloroacetic acid derivatives as potential anticancer agents. Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи». Матеріали конференції. 2024 May 01; Zhytomyr, Ukraine. Zhytomyr, Ukraine: Житомирський державний університет імені Івана Франка; 2024. P. 153-5. Available from: <http://eprints.zu.edu.ua/39902/1/AZH2024.pdf> (*співавтори Horishny V, Ivasechko I, Kozak Y та Lesyk R надавали консультативну*

допомогу).

4. Федяк ІО, Гавришук ЛМ. Маркетинговий аналіз лікарських засобів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти». Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023»: матеріали конференції. 2023 листопад 23-24; Запоріжжя, Україна. Запоріжжя, Україна: ЗДМФУ; 2023. С. 137. Доступно на: https://drive.google.com/file/d/191-txg17gW9EQzESai_Kp5TNcHKNBtUs/view *(співавторка Федяк ІО надавала консультативну допомогу).*

5. Navryshchuk LM, Lesyk RB, Fediak IO. The experience of obtaining PhD degree by Ukrainian researchers as a step to harmonization with the education system of the European union. В: Рожко ММ, Ерстенюк ГМ, Вакалюк ІП, Дмитришин Т, Деніна Р, Кондрат Л, ред. «Розвиток кращих практик в підготовці докторів філософії»: матеріали ІІ наукової-практичної конференції з міжнародною участю. 2023 квітень 28; Івано-Франківськ, Україна. Івано-Франківськ, Україна: ІФНМУ; 2023. С. 13-4. Доступно на: <https://surli.cc/ltgxvt> *(співавтори Lesyk RB та Fediak IO надавали консультативну допомогу).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	20
ВСТУП.....	24
РОЗДІЛ 1. ПОХІДНІ ДИХЛОРОАЦЕТАТУ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ ПРОТИПУХЛИННІ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНІ АГЕНТИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) 31	
1.1. Хімічні властивості, синтез та перетворення дихлороацетатів	31
1.2. Біологічна активність похідних дихлороацетату.....	41
1.3. Сучасні тенденції захворюваності на рак та фармакотерапія алкілюючими агентами.....	62
Висновки до розділу 1	65
РОЗДІЛ 2. МАРКЕТИНГОВИЙ АНАЛІЗ ПРОТИПУХЛИННИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ ГРУПИ L01AX «ІНШІ АЛКІЛЮЮЧІ АГЕНТИ» В УКРАЇНІ	67
2.1. Методологія маркетингового аналізу протипухлинних лікарських препаратів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти»	67
2.2. Результати маркетингового аналізу протипухлинних лікарських засобів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» в Україні.....	68
2.3. Окреслення ролі фармацевтів у реалізації Національної стратегії контролю злоякісних новоутворень та дослідження проблем доступності медичної і фармацевтичної допомоги пацієнтам з онкопатологіями в системі громадського здоров'я в Україні.....	89
2.4. Обґрунтування доцільності розробки нових вітчизняних протипухлинних препаратів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти»	96
Висновки до розділу 2	97
РОЗДІЛ 3. СИНТЕЗ ТА ОЦІНКА ПРОТИРАКОВИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДИХЛОРОАЦЕТАТІВ ТА 2-ХЛОРО- і 2,2-ДИХЛОРОАЦЕТАМІДОВМІСНИХ ТІАЗОЛЬНИХ ПОХІДНИХ	100

3.1. Методи синтезу та оцінки фізико-хімічних і протиракових властивостей дихлороацетатів.....	103
3.2. Синтез та результати оцінки фізико-хімічних і протиракових властивостей дихлороацетатів.....	104
3.3. Методи синтезу та оцінки протиракових властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних.....	109
3.3.1. Загальна процедура синтезу 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних	109
3.3.2. Методи оцінки фізико-хімічних властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних.....	109
3.3.3. Методи оцінки протиракових властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних за допомогою МТТ-аналізу	110
3.3.4. Методика квантово-хімічних розрахунків для 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних.....	111
3.3.5. Методика молекулярного докінгу 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних.....	112
3.4. Синтез та оцінка фізико-хімічних властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних.....	113
3.5. Скринінг цитотоксичної активності 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних на ракових та псевдонормальних клітинних лініях	137
3.6. <i>In silico</i> оцінка ADMET властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних за допомогою ADMETLab 3.0147	
3.7. Квантово-хімічні розрахунки для 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних	151
3.8. Молекулярний докінг 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних.....	159

	19
Висновки до розділу 3	162
РОЗДІЛ 4. СИНТЕЗ ТА ОЦІНКА ПРОТИРАКОВИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ 2-ХЛОРО- і 2,2-ДИХЛОРОАЦЕТАТОВМІСНИХ ДИГІДРОПІРАЗОЛІВ	164
4.1. Методи синтезу та оцінки протиракових властивостей 2-хлоро- і 2,2-дихлороацетатовмісних дигідропіразолів.....	164
4.2. Синтез та результати оцінки фізико-хімічних і протиракових властивостей 2-хлоро- і 2,2-дихлороацетатовмісних дигідропіразолів	164
Висновки до розділу 4	182
ВИСНОВКИ	184
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	187
ДОДАТКИ.....	214

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- 4BNPA – *N*-(4-бромофеніл)-2,2-дихлороацетамід
- 5-АЛК – 5-амінолевулінова кислота
- ADH – alcohol dehydrogenase
- AhR – aryl hydrocarbon receptor
- ALDH – aldehyde dehydrogenase
- AMES toxicity – the most widely used assay for testing the compounds mutagenicity
- AR – androgen receptor
- ARE – antioxidant response element signaling pathway
- ATCC – American type culture collection
- BALB-3T3 – pseudo-normal mouse embryo fibroblasts cell line
- BBB – blood-brain barrier
- BDE – bond dissociation energy
- CAA – chloroacetamide
- Caco-2 – human colorectal adenocarcinoma cell line
- CL_{plasma} – compound plasma clearance
- CV% – коефіцієнт варіації
- CY – cytochrome
- D – коефіцієнт доступності
- DCA – dichloroacetate
- DCP – 3,7-біс(дихлороацетил)-1,3,7-тріаза-5-фосфабіцикло[3.3.1]нонан
- DFT – density functional theory
- DMEM – Dulbecco's modified eagle medium
- EA – electron affinity
- EGFR – epidermal growth factor receptor
- ER – estrogen receptor
- FGFR – fibroblast growth factor receptor
- FTIR – Fourier-transform infrared spectroscopy
- FT-Raman – Fourier-transform Raman spectroscopy
- Fu – fraction unbound in plasma

GSH – glutathione
GSK – GlaxoSmithKline
GST – glutathione S-transferase
GSTz1 – ζ -1 glutathione S-transferase
HaCaT – pseudo-normal human epidermal keratinocytes cell line
HAT – histone acetylase
HBA – hydrogen bond acceptor
HBD – hydrogen bond donor
HDAC – histone deacetylase
H-HT – human hepatotoxicity
HIA – human intestinal absorption
HLG – HOMO-LUMO gap
HOMO – highest occupied molecular orbital
HRMS – high-resolution mass spectrometry
HT-29 – human colon cancer cell line
IC₅₀ – концентрація напівмаксимального інгібування
IP – ionization potential
Jurkat – human acute T cell leukemia cell line
K562 – human chronic myelogenous leukemia cell line
LUMO – lowest unoccupied molecular orbital
МАК – максимальна альвеолярна концентрація
MDA-MB-231 – human triple-negative breast cancer cell line
MDCK – Madin-Darby canine kidney
MESP – molecular electrostatic potential
MPV – mean platelet volume
NCCN – National Comprehensive Cancer Network
NOAEL – no observed adverse effect level
NSCLC – non-small cell lung cancer
PARP – poly (ADP-ribose) polymerase
PDB – protein data bank

PDK1 – pyruvate dehydrogenase kinase 1
Pgp – P-glycoprotein
PLT – platelet count
PPAR γ – peroxisome proliferator activated receptor γ
PPB – plasma protein binding
PTA – 1,3,5-тріаза-7-фосфаадамантану
RMSD – root mean square deviation
SAR – structure–activity relationship
SD – стандартне відхилення
SDCA – sodium dichloroacetate
T_{1/2} – період напіввиведення
TPSA – topological polar surface area
АТФ – аденозинтрифосфат
АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт
АФК – активна форма кисню
БОК – трет-бутилоксикарбоніл
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
ГЕБ – гемато-енцефалічний бар'єр
ДМСО – диметилсульфоксид
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ДХА – дихлороацетат
ДХАА – дихлороацетамід
ДХАцАм – дихлороацетамід
ЕК – етакринова кислота
ЗП – заробітна плата
ІЧ – інфрачервоний
ЛЗ – лікарський засіб
ЛП – лікарський препарат
МНН – міжнародне непатентоване найменування
МТТ – мікротитрувальний тест

НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид

НДХА – натрію дихлороацетат

НПД – нормативно-правовий документ

НПЗП – нестероїдний протизапальний препарат

ОВЦ – оптово-відпускна ціна

ПДК – кіназа піруватдегідрогенази

РХ-МС – рідинна хроматографія-мас-спектрометрія

РЦ – роздрібна ціна

C_{as} – коефіцієнт адекватності платоспроможності

C_{liq} – коефіцієнт ліквідності

СЕРП – соціально-економічний регулюючий перелік

ТОВ – товариство з обмеженою відповідальністю

$T_{пл}$ – температура плавлення

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ФДТ – фотодинамічна терапія

ФР – фармацевтичний ринок

ХАА – хлороацетамід

ЦНС – центральна нервова система

ЯМР – ядерно-магнітний резонанс

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Похідні дихлороацетату (ДХА) представляють клас органічних сполук, які привернули значну увагу в галузі медичної та фармацевтичної хімії завдяки своїм різноманітним хімічним властивостям і застосуванню в дизайні та розробці ліків. Ці сполуки служать основними «будівельними блоками» в синтезі різних фармацевтичних агентів і біологічно активних молекул. Синтез і трансформації з похідними ДХА пропонують дослідникам надійний інструментарій для точного налаштування фармакокінетичних і фармакодинамічних властивостей потенційних препаратів-кандидатів.

Похідні ДХА, які характеризуються наявністю дихлороацетильної функціональної групи, представляють цінний клас сполук, які знайшли застосування в багатьох областях досліджень, включаючи відкриття ліків, гербіцидів і спеціальних хімікатів. Дихлороацетильний фрагмент з його унікальними електрофільними властивостями пропонує низку можливостей для хімічних перетворень, уможливаючи введення різноманітних замісників і функціональних груп в органічні молекули. Ці хімічні властивості роблять похідні ДХА ідеальними кандидатами для модифікації та оптимізації при розробці ліків.

Синтез похідних ДХА зазнав значного прогресу упродовж багатьох років, з різними методами та стратегіями, розробленими для ефективного доступу до цих сполук. Традиційні методи, такі як хлорування оцтової кислоти або етерифікація хлороацетилхлориду, були доповнені більш інноваційними та стійкими підходами, включаючи принципи екологічної хімії та використання каталізаторів.

Застосування похідних дихлорооцтової кислоти в медичній і фармацевтичній хімії є широким і охоплює значний спектр терапевтичних областей. Ці сполуки використовувалися як попередники для синтезу нестероїдних протизапальних препаратів, антимікробних агентів і проліків, а також гербіцидів. Окрім того, похідні хлороацетату відіграють ключову роль у

розробці цільових систем доставки ліків, оскільки вони сприяють вивільненню ліків у певному місці та підвищують біодоступність лікарських засобів.

Саме тому було вирішено заглибитися в структурне різноманіття похідних дихлорооцтової кислоти, досліджуючи, як тонкі модифікації їх хімічної структури можуть призвести до глибоких змін у біологічній активності та ефективності ліків та роль похідних дихлорооцтової кислоти в дизайні проліків, що дозволяє контролювати вивільнення активних сполук в організмі.

Зв'язок дослідження з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри хімії, фармацевтичного аналізу та післядипломної освіти Івано-Франківського національного медичного університету: «Синтез, вивчення будови та прогнозування біологічної активності нових органічних та неорганічних сполук», державний реєстраційний номер: 0124U002103.

Мета дослідження: розробка методів одержання, спрямований синтез нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом, їх молекулярне моделювання та віртуальний скринінг, вивчення та порівняння біологічної активності, дослідження особливостей зв'язку між структурою і дією одержаних сполук, відбір високоактивних сполук для поглибленого вивчення як потенційних активних фармацевтичних інгредієнтів.

Завдання дослідження:

1. Провести маркетингові дослідження групи лікарських препаратів L01AX «Інші алкілюючі агенти» та за їх результатами обґрунтувати доцільність створення нових активних фармацевтичних інгредієнтів на основі нітрогеновмісних гетероциклів.
2. Провести аналіз літературних джерел та електронних посилань мережі Internet і узагальнити дані стосовно методів синтезу нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом як потенційних біологічно активних сполук.
3. Опрацювати ефективні підходи до синтезу та перетворень нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом;

4. Вивчити фізико-хімічні властивості та спектральні характеристики синтезованих сполук.
5. Провести молекулярне моделювання та віртуальний скринінг нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом у молекулах.
6. Провести фармакологічний скринінг нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом у молекулах.
7. На основі результатів фармакологічного скринінгу провести кореляційний аналіз «структура-активність», молекулярний докінг та виділити структури-лідери для подальшої їх оптимізації, поглиблених досліджень та спрямованого синтезу молекул.

Об'єкти дослідження:

- дослідження фармацевтичного ринку у частині групи L01AX «Інші алкілюючі агенти»;
- розробка методів синтезу, дослідження біологічної активності та молекулярне моделювання потенційних протиракових речовин.

Предмет дослідження:

- фізична і соціально-економічна доступність лікарських препаратів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти»;
- синтез нових похідних нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом;
- можливі механізми здійснення біологічної активності нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатним фрагментом;
- кореляційні залежності між структурою нітрогеновмісних гетероциклів із моно- та дихлороацетатним фрагментом та їх біологічною активністю;
- раціональний дизайн нових похідних нітрогеновмісних гетероциклів.

Методи дослідження:

- маркетингове дослідження – аналіз вітчизняного фармацевтичного ринку готових лікарських засобів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» з

обґрунтуванням доцільності створення нових активних фармацевтичних інгредієнтів на основі нітрогеновмісних гетероциклів;

- органічний синтез – отримання нових органічних сполук;
- ЯМР-спектроскопія – ідентифікація та вивчення речовин, що базується на ядерному магнітному резонансі (ЯМР);
- хромато-мас-спектрометрія – ідентифікація та аналіз чистоти синтезованих сполук;
- елементний аналіз – кількісне визначення та якісне виявлення елементів, що входять до складу органічних сполук;
- фармакологічний скринінг – експериментальне виявлення та відбір нових речовин, які є перспективними для застосування як активні фармацевтичні інгредієнти, а також виявлення їх фармакологічної активності;
- молекулярний докінг – молекулярне моделювання, яке дозволяє передбачити найбільш вигідну для утворення стійкого комплексу орієнтацію і положення однієї молекули по відношенню до іншої;
- SAR-аналіз – визначення взаємозв'язку між структурою та активністю;
- кластерний аналіз – багатомірне статистичне дослідження, до якого належать збір даних, що містять інформацію про вибіркові об'єкти, та упорядкування їх в порівняно однорідні, схожі між собою групи;
- кореляційний аналіз – аналіз головних компонентів за допомогою математичних методів багатомірного аналізу;
- нейромережеве моделювання – розпізнавання образів та зображень за допомогою різних типів нейронних мереж.

Наукова новизна отриманих результатів.

- Методами маркетингового аналізу визначено доцільність створення нових активних фармацевтичних інгредієнтів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» для лікування хворих на онкопатології.
- Вперше синтезовано неописані в літературі нітрогеновмісні гетероцикли (похідні тiazолу та 1,2-дигідропіразолу) з моно- та дихлороацетатним

фрагментом у молекулах та їх похідні, досліджено їх фізико-хімічні властивості та проведено хімічні перетворення за функціональними групами для подальшої функціоналізації поліциклічних систем із заданим фрагментом. Для реалізації наукової програми використано доступні інноваційні технології: віртуальний скринінг, SAR-аналіз, молекулярне моделювання.

Практичне значення отриманих результатів.

Установлено дисонанс між присутністю готових ЛЗ групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» у соціально-економічних регулюючих переліках ЛЗ в Україні і їх фізичною доступністю на ФР. Усього 6 (20.69%) ЛП групи увійшли у Перелік ЛЗ, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм лікування онкохворих. Виявлено доцільність у синтезі нових вітчизняних АФІ групи L01AX для лікування хворих на онкопатології.

Розроблено ефективні методи синтезу нових гетероциклічних сполук з моно- та дихлороацетатними фрагментами у молекулах, досліджено їх фізико-хімічні параметри. На основі скринінгу біологічної активності відібрано та охарактеризовано нові високоактивні молекули з протипухлинною дією, які рекомендовані для подальших поглиблених досліджень. Результати дослідження дозволяють визначити основні критерії для спрямованого синтезу біологічно активних сполук на основі нітрогеновмісних гетероциклів з моно- та дихлороацетатними фрагментами у молекулах. Синтезовані сполуки, особливо з групи хлороацетамідів, демонструють значний потенціал для подальшої фармакологічної оцінки та розробки нових протипухлинних агентів з мінімальними токсикометричними ризиками.

Особистий внесок здобувача в отриманні результатів наукових досліджень.

Дисертація є особистою науковою працею аспіранта. Автор самостійно визначив напрямок наукового дослідження, провів патентний пошук, проаналізував наукові літературні джерела, сформував тему, обґрунтував ідею та мету дослідження, після чого склав план проведення експериментальної

частини дослідження, узагальнення результатів та формулювання положень і висновків, які виносяться на захист. Автор самостійно здійснив статистичну обробку даних, отриманих під час наукового дослідження, провів їх аналіз і, разом із науковими керівниками, сформулював основні наукові положення та практичні рекомендації. Співавторами наукових праць є наукові керівники, а також науковці, з якими проводились спільні фізико-хімічні та біологічні дослідження. Автором самостійно написано, відредаговано та оформлено всі розділи дисертаційної роботи.

Апробація результатів дослідження.

Наукові положення та практичні рекомендації оприлюднено на:

1. 7th congress of the All-Ukrainian public organization «Ukrainian Society of Cell Biology» with international representation: program and the book of abstracts. 2024 Sep 11-13; Lviv, Ukraine. Lviv, Ukraine; 2024. P. 26.
2. XXII Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії, 20-23 травня 2024 року, м. Дніпро, Україна.
3. Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи», 01 травня, 2024 року, м. Житомир, Україна.
4. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2023», 23-24 листопада 2023 року, м. Запоріжжя, Україна.
5. II науково-практична конференція з міжнародною участю «Розвиток кращих практик в підготовці докторів філософії», 28 квітня 2023 року, м. Івано-Франківськ, Україна.

Публікації.

За результатами виконання дослідження опубліковано 10 робіт, зокрема 5 статей у наукових виданнях, включених до переліку фахових видань України, з них 2 статті – в періодичному виданні, яке входить до наукометричної бази Scopus; 5 тез у матеріалах науково-практичних конференцій.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація побудована українською мовою за традиційною схемою, загальним обсягом 216 сторінок (163 сторінок

основного тексту), і складається з наступних розділів: анотація, зміст, список умовних скорочень, вступ, огляд літератури, три розділи власних досліджень, висновки, список використаних літературних джерел, який включає 211 найменування (із них 38 – кирилицею, 173 – латиницею), додатки. Рукопис дисертації ілюстровано 113 рисунками, 4 схемами та 14 таблицями.

РОЗДІЛ 1

ПОХІДНІ ДИХЛОРОАЦЕТАТУ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ ПРОТИПУХЛИННІ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНІ АГЕНТИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Хімічні властивості, синтез та перетворення дихлороацетатів

Y. P. Singh та R. A. Singh підтвердили наявність двох різних конформерів дихлороацетату (**1.1a**, **1.1b**) (рис. 1.1) [1].

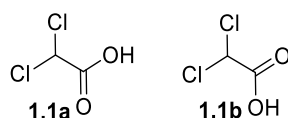


Рис. 1.1. Структура конформерів ДХА **1.1a** та **1.1b**

Структуру та відносну енергію конформерів дихлороацетату передбачали методом Хартрі Фока, інфрачервоні спектри двох домінантних структур розраховувались за теорією функціоналу густини. Відмічається хороша узгодженість між розрахунковими та експериментальними частотами гармонійних коливань. Припускаючи точкову симетрію C_s , були запропоновані вібраційні призначення для спостережуваних частот. Спектри демонструють чіткі особливості, що походять від низькочастотних коливальних мод, спричинених міжмолекулярним рухом. Для конформеру ДХА **1.1b** енергія мінімальна (рис. 1.2). Дипольний момент великий для конформеру ДХА **1.1a**, а площа полярної поверхні дещо більша у випадку ДХА **1.1b** (рис. 1.2). Було складено та проаналізовано карту локального потенціалу іонізації та карту найнижчої незайнятої молекулярної орбіталі. Дані лінійної регресії для обох конформерів також були розраховані, що явно продемонструвало, як ДХА **1.1a** більше корелює з експериментальними хвильовими числами [1].

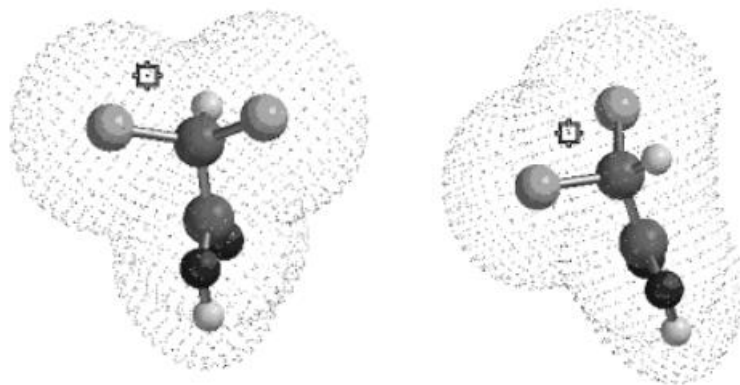


Рис. 1.2. Карти іонізаційних потенціалів конформерів ДХА **1.1a** та **1.1b** [1]

У Toxikologische Bewertungen від Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie (Німеччина) як шлях синтезу дихлороацетату (**1.3**) вказаний гідроліз дихлороацетилхлориду (**1.2**) (рис. 1.2) [2].

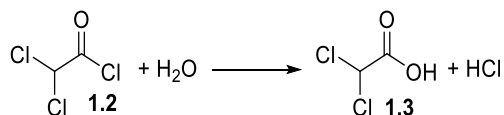


Рис. 1.3. Гідроліз дихлороацетилхлориду (**1.2**)

У роботі [3] описано спосіб одержання дихлорооцтової кислоти (**1.5**) селективним дехлоруванням трихлорооцтової кислоти (**1.4**) (рис. 1.4). Відповідно до методу каталітичний реактор з нерухомим шаром використовується для перетворення трихлорооцтової кислоти (**1.4**) в дихлорооцтову кислоту (**1.5**) зі ступенем перетворення більше 99,5% і селективністю більше 98%, а залишок містить монохлорооцтову кислоту (**1.6**) та оцтову кислоту (**1.7**) (рис. 1.4). Був використаний каталізатор на основі дорогоцінного металу, на якому міститься активоване вугілля; розчин трихлорооцтової кислоти та водень попередньо нагрівають до температури реакції, вони надходять зверху реактора та контактують з каталізатором, і відбувається реакція гідродехлорування; водень постійно поповнюється під час реакції, так що концентрація водню в реакторі підтримується на рівні від 10%

до 40%; утворені продукти рідкої та газової фази виводяться з нижньої частини реактора, а продукти рідкої фази переганяють для отримання продуктів дихлорооцтової кислоти високої чистоти після конденсації та розділення газу та рідини [3].

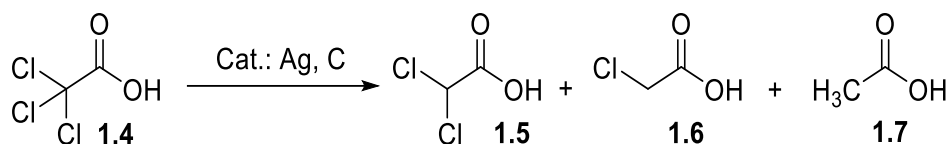


Рис. 1.4. Одержання дихлорооцтової кислоти (1.5) селективним дехлоруванням трихлорооцтової кислоти (1.4)

Alvin S. Wheeler та Samuel C. Smith досліджували пряме перетворення похідних дихлорооцтової кислоти в похідні трихлорооцтової кислоти, в ході якого з дихлорооцтової кислоти було отримано трихлороацетати аніліну, о- і п-толуїдину, α -нафтиламіну і м-нітроаніліну, а у випадку о-толуїдину трихлороацетату – здійснено повний аналіз отриманої сполуки. Сполуками для порівняння служили трихлороацетати, котрі були отримані з трихлорооцтової кислоти (рис. 1.5) [4].

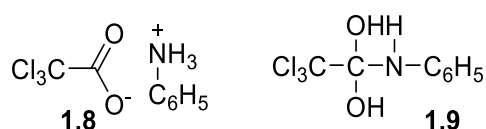


Рис. 1.5. Будова отриманих похідних трихлорооцтової кислоти (1.8, 1.9)

У структурі 1.8 існує атом пентавалентного азоту і, отже, сіль амонію. Структура 1.9 містить тривалентний атом азоту та сполуку типу хлоралгідрату, в якій 2 гідроксильні групи прикріплені до одного атома вуглецю. Стабільність такої сполуки зумовлена сильним негативним оточенням трьох атомів хлору. Продукти розкладу, які були отримані, не дали чіткого розуміння того, чим один є кращим за інший, але дослідники зупинили свою увагу на структурі 1.9 [4].

Для розуміння того, чому було отримано трихлоро-, а не дихлоросполуку, слід візуалізувати перегрупування двох молекул дихлорооцтової кислоти (**1.10**) в одну молекулу трихлорооцтової кислоти (**1.11**) та одну моноклорооцтової кислоти (**1.12**) під впливом аміну, який має основний характер (рис. 1.6) [4].

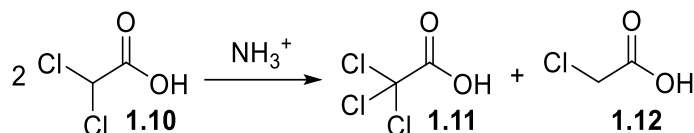


Рис. 1.6. Схема перегрупування дихлорооцтової кислоти (**1.10**) в трихлорооцтову (**1.11**) та моноклорооцтову кислоти (**1.12**)

J. E. Katon, T. H. Stout та G. G. Hess проводили дослідження інфрачервоних спектрів похідних дихлорооцтової кислоти, в ході якого інфрачервоні спектри семи сполук, що містять групу $-\text{CHCl}_2$, приєднану до різних карбонільних функціональних груп, записувались при різних умовах. В результаті було розроблено діапазони групових частот для режимів розтягування CH , CC і CCl (два) і двох режимів вигину CH . За винятком валентної моди CC , ці коливання потрапляють у досить вузькі області спектра. Конформаційні рівноваги, наявні в хлорозаміщених похідних оцтової кислоти, різними способами відображаються в їх інфрачервоних спектрах. Також було розглянуто ситуацію щодо спостережуваних частот розтягування карбонілу, пов'язану з конформаційними рівновагами [5].

У роботі [6] було запатентовано власний спосіб отримання похідних ефірів дихлорооцтової кислоти. Було запропоновано отримувати ефіри дихлорооцтової кислоти шляхом взаємодії ефіру гліоксилової кислоти загальної формули $\text{R}_1\text{-CO-COOR}_2$, де R_1 являє собою необов'язково заміщену арильну або гетероарильну групу, а R_2 – алкіл, циклоалкіл або арильну групу з фосфорпентахлоридом у присутності диспергатора, придатного для розподілу фосфорпентахлориду [6].

Фармацевтичний інтерес становить новий амідосфін дихлорооцтової кислоти, що може виступати в якості активного ліганду для металів. Синтезували 3,7-біс(дихлороацетил)-1,3,7-тріаза-5-фосфабіцикло[3.3.1]нонан (DCP) (1.14) подвійним N-ацилюванням 1,3,5-тріаза-7-фосфаадамантану (РТА) (1.13), що відбувається з втратою CH_2 , у відповідних умовах (рис. 1.7) [7-9].

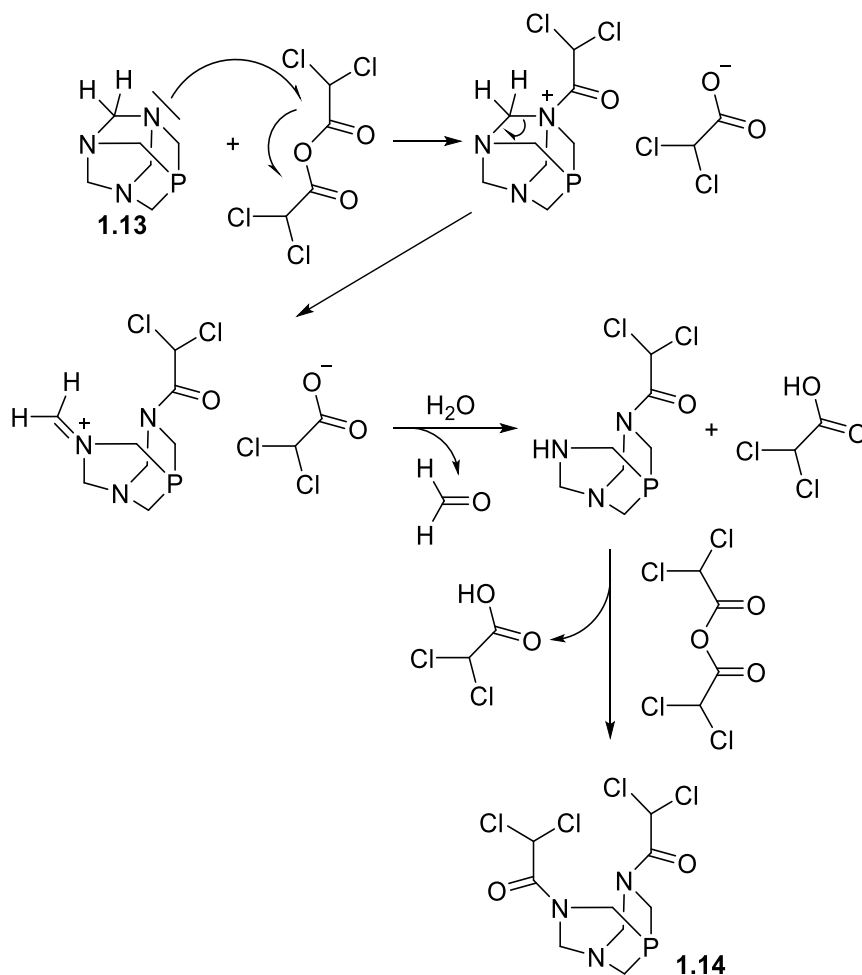


Рис. 1.7. Синтез 3,7-біс(дихлороацетил)-1,3,7-тріаза-5-фосфабіцикло[3.3.1]нонану (DCP) (1.14)

Внаслідок ускладненого обертання навколо амідних зв'язків CN спостерігалися три ротамерні форми DCP, співвідношення яких у розчині залежало від розчинника, тоді як рентгенівська кристалічна структура DCP показала протилежну орієнтацію двох амідних карбонільних груп (анти-ротамер). Було виявлено, що ліпофільний, повітряно-термічно стабільний DCP

здатний діяти регіоспецифічно як Р-донорний ліганд по відношенню до іонів м'яких металів. Шляхом заміщення лігандів на відповідних попередниках отримали комплекси 1-9, де проапоптична дихлорооцтова кислота асоціюється з іонами металів із відомою цитотоксичною активністю на ракові клітини (Pt^{2+} , Pd^{2+} , Ru^{2+} , Re^+ , Au^+). Антипроліферативну активність DCP та його комплексів перевіряли *in vitro* порівняно з цисплатином на трьох лініях клітин пухлини людини: A2780 (чутлива до цисплатину яєчника), A2780cis (резистентна до цисплатину яєчника) та K562 (еритро-лейкемічна) [10, 11]. Результати показали, що одночасна присутність DCP і Pt(II) забезпечує найкращі показники щодо неплатинових комплексів. Експерименти проапоптичної активності показали, що антипроліферативна активність найбільш активних комплексів DCP-Pt(II) пов'язана з індукцією апоптозу [12].

Arjunan, S. Senthilkumari, P. Ravindran та S. Mohan провели дослідження, орієнтоване на синтез, FTIR та FT-Raman спектральний аналіз, а також на встановлення взаємозв'язків «структура-активність» для *N*-(4-бромовеніл)-2,2-дихлороацетаміду. *N*-(4-бромовеніл)-2,2-дихлороацетамід (4BNPA) (**1.17**) готували за допомогою процедури, викладеної у посиланні [13], залучаючи 4-бромованілін (**1.15**), дихлорооцтову кислоту (**1.16**) та оксихлорид фосфору (рис. 1.8). Синтезована необроблена сполука зазнала множинних перекристалізацій з етанолу, що призвело до виходу продукту приблизно 70% [14-16].

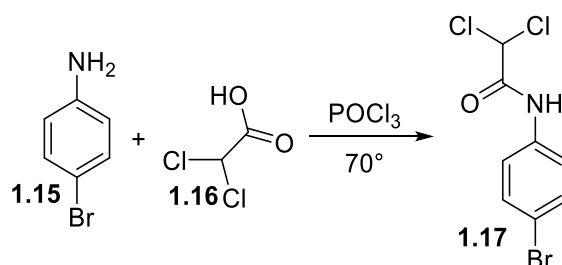


Рис. 1.8. Синтез *N*-(4-бромовеніл)-2,2-дихлороацетаміду (**1.17**)

Tianwen Li та його дослідницька група вивчали синтез та біологічну оцінку аналогів *N*-арилфеніл-2,2-дихлороацетаміду як потенційних протиракових агентів. Синтез передбачав використання реакції Сузукі між

гетероциклічним бромідом (**1.19**) та 3-амінофенілбороною кислотою (**1.18**) для отримання 3-гетероанілінових проміжних продуктів (**1.20**). Згодом ці проміжні продукти пройшли реакцію з 1.3-мольними еквівалентами дихлороацетилхлориду (**1.21**) в толуолі, в результаті чого були отримані цільові сполуки (**1.22**) (рис. 1.9) [17].

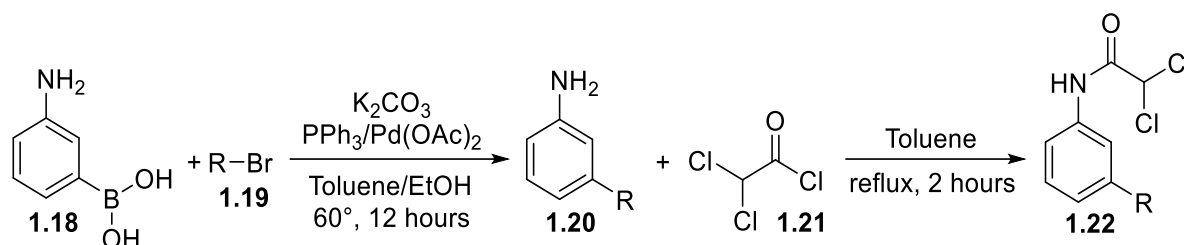


Рис. 1.9. Синтез похідних *N*-арилфеніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.22**)

Синтез похідних *N*-біфеніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.25**) був досягнутий за допомогою реакції Сузукі взаємодією 2,2-дихлоро-*N*-(3-йодофеніл)ацетамід (**1.23**) із заміщеною фенілбороною кислотою (**1.24**) (рис. 1.10) [17].

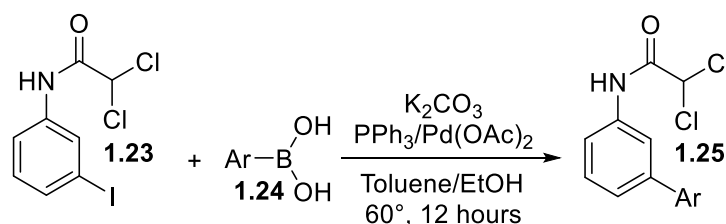


Рис. 1.10. Синтез похідних *N*-біфеніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.25**)

Аналогічна методика була використана для отримання похідних *N*-терфеніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.27**) (рис. 1.11). Зокрема, 2,2-дихлоро-*N*-(3-йодофеніл)ацетамід та 2,2-дихлоро-*N*-(3,5)-дйодофеніл)-ацетамід (**1.26**), невід'ємні для процесу синтезу, були підготовлені за встановленими процедурами (рис. 1.11) [17-19].

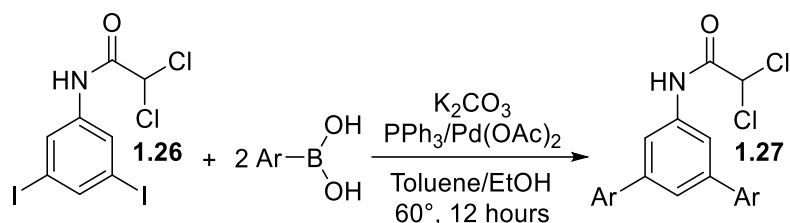


Рис. 1.11. Синтез похідних *N*-терфеніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.27**)

Цитотоксичність всіх синтезованих сполук оцінювали *in vitro* за допомогою МТТ-тесту на клітинній лінії карциноми людини (KB-3-1), недрібноклітинного раку легень (A549) та великої клітинної лінії раку легень NCI-H460 (H460). Враховуючи високу активність похідних *N*-арилфеніл-2,2-дихлороацетаміду щодо клітинної лінії A549, значення IC₅₀, що стосуються клітин A549, було обрано як індекс активності для подальших обговорень кореляційних взаємозв'язків «структура-активність» (SAR). Одержані похідні *N*-([1,1':3',1]-терфеніл)-5'-іл)-2,2-дихлороацетаміду виявляли суттєву цитотоксичність не лише проти клітин A549, але й щодо клітин H460 та KB-3-1. Примітно, що *N*-(3,5-біс(бензо[*d*][1,3]діоксоль-5-іл)феніл)-2,2-дихлороацетамід виявляв значення IC₅₀ 1.04 μM відносно клітин H460, 2.40 μM щодо лінії KB3-1 та 1.73 μM проти клітин A549. Отже, згадані сполуки демонструють значний потенціал у царині розробки лікарських засобів [17].

Yongchong Yang та його колеги провели дослідження синтезу та біоактивності нових похідних *N*-фенілдіхлороацетаміду. Процес синтезу похідних *N*-феніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.30**) передбачав реакцію заміщеного аніліну (**1.28**) з 1.3 еквівалентами дихлороацетилхлориду (**1.29**) в сухому толуолі (рис. 1.12). Ця реакція призвела до утворення похідних *N*-феніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.30**) після кип'ятіння із зворотним холодильником протягом 1-5 годин, даючи вихід у діапазоні 90-99% [19, 20].

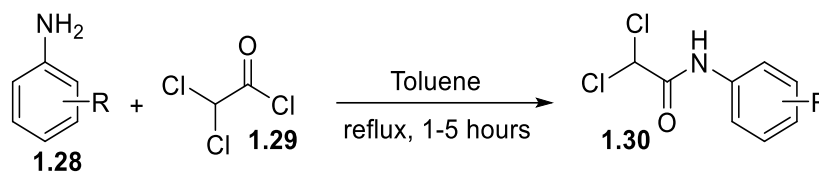


Рис. 1.12. Синтез похідних *N*-феніл-2,2-дихлороацетаміду (**1.30**)

М. Fereidoonzhad, Z. Faghih, A. Mojaddami, S. M. H. Tabaei та Z. Rezaei застосували аналогічний підхід у своєму дослідженні синтезу дихлороацетатів. Вони також детально описали одержання 2,2-дихлор-*N*-(3 або 4-(трифторометил)сульфоніл)феніл)ацетаміду (**1.32**) (рис. 1.13). Для досягнення цього *N*-(3-(трифторометилтіо)-феніл)-2,2-дихлороацетамід (**1.31**) окислювали 30% H₂O₂ в оцтовій кислоті при 35 °С (рис. 1.13). Контроль реакційної суміші методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) (н-гексан/етилацетат 4:1) продемонстрував завершення реакції через 48 годин. Очистку 2,2-дихлор-*N*-(3 або 4-((трифторометил)сульфоніл)феніл)ацетаміду (**1.32**) здійснено з використанням хроматографії на короткій колонці з силікагелем з елююванням сумішшю н-гексану/етилацетату (8:1) [20-21].

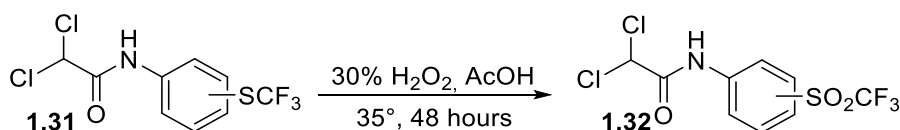


Рис. 1.13. Синтез 2,2-дихлор-*N*-(3 або 4-((трифторометил)сульфоніл)феніл)ацетаміду (**1.32**)

Дослідження [22, 23] зосереджено на структурно-активних зв'язках серії похідних піримідину та споріднених сполук. Автори оцінювали спорідненість цих сполук до людського рецептора Y5 *in vitro*. У рамках дослідження систематично модифікувалися різні замісники на основній структурі з метою визначення впливу на активність піримідинів.

Результати вищенаведених досліджень застосовувалися вченими [24] для подальшого синтезу та біологічної оцінки дихлороацетамідних (ДХАцАм)

піримідинів як інгібіторів кінази піруватдегідрогенази, що приводять до зменшення росту ракових клітин. Цільовий синтез ДХАцАм піримідинів розпочався з умовно доступних вихідних реагентів **1.33** (рис. 1.14). Сполука **1.33** зазнала реакції з азотною кислотою (90% водним розчином), внаслідок чого утворилось похідне **1.34**, яке згодом було піддане хлоруванню оксихлоридом фосфору з утворенням 2,6-дихлоропіримідину (**1.35**) (рис. 1.14). Кількість проміжного продукту додатково зменшилася в присутності заліза та оцтової кислоти, призводячи до утворення 4,6-дихлоро-5-амінопіримідинів (**1.36**) (рис. 1.14). Кінцеві кроки включали в себе амідування сполуки **1.36** в дихлорометані з дихлороацетилхлоридом для отримання дихлороацетамідів **1.37a** та **1.37b** (рис. 1.14). Згодом монозаміщені ДХАцАм піримідини (**1.38-1.52**) синтезувались шляхом алкілування проміжних продуктів **1.37a** та **1.37b** різними аліфатичними амінами при кімнатній температурі (рис. 1.14). Температуру реакції підвищували до 60 °С для успішного синтезу біс-заміщених піримідинів (**1.53-1.66**) (рис. 1.14) [24].

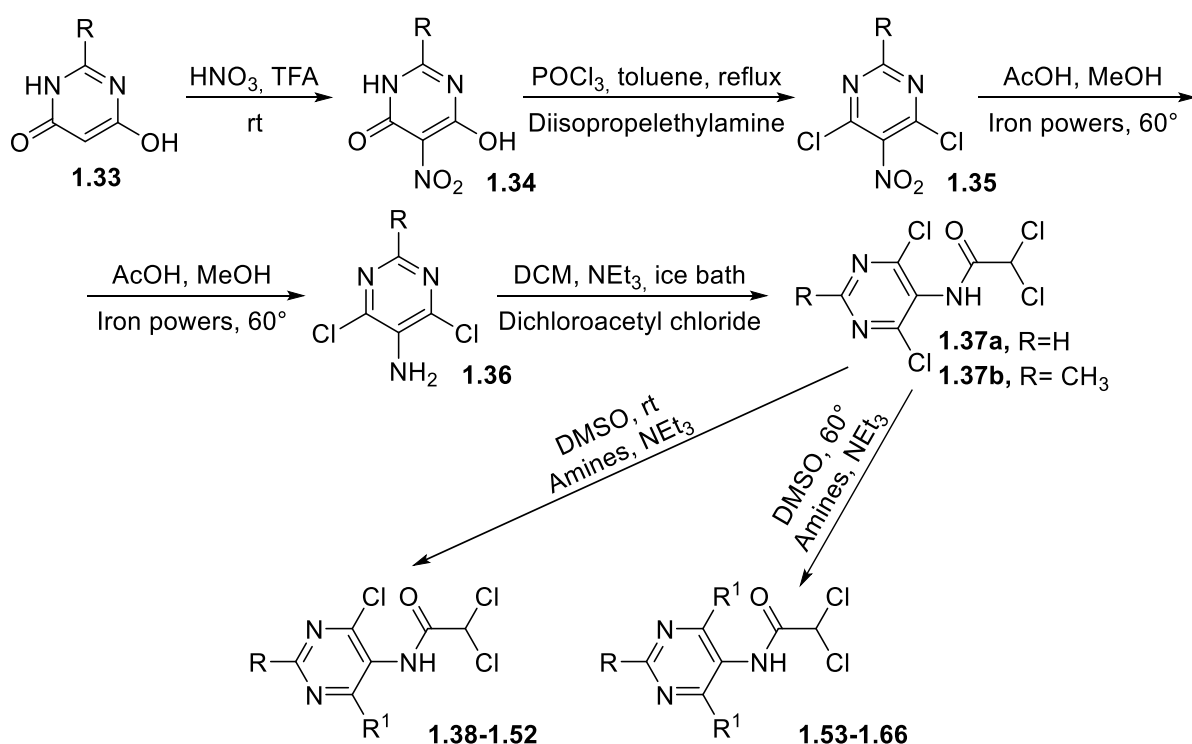


Рис. 1.14. Синтез монозаміщених дихлороацетамідних піримідинів (**1.38-1.52**) та біс-заміщених дихлороацетамідних піримідинів (**1.53-1.66**)

На кінцевих стадіях *N*-БОК захист біс-піперазинового піримідину (**1.67**) був усунутий, в результаті чого утворилася сполука **1.68**, яка додатково піддавалася обробленню або бромоетанолом, або гліколевою кислотою для отримання цільових сполук **1.69** та **1.70**, з виходом 64.7% та 24.7% відповідно (рис. 1.15). Усі отримані сполуки, були охарактеризовані за допомогою ^1H ЯМР, ^{13}C ЯМР та спектрального HRMS аналізів [24].

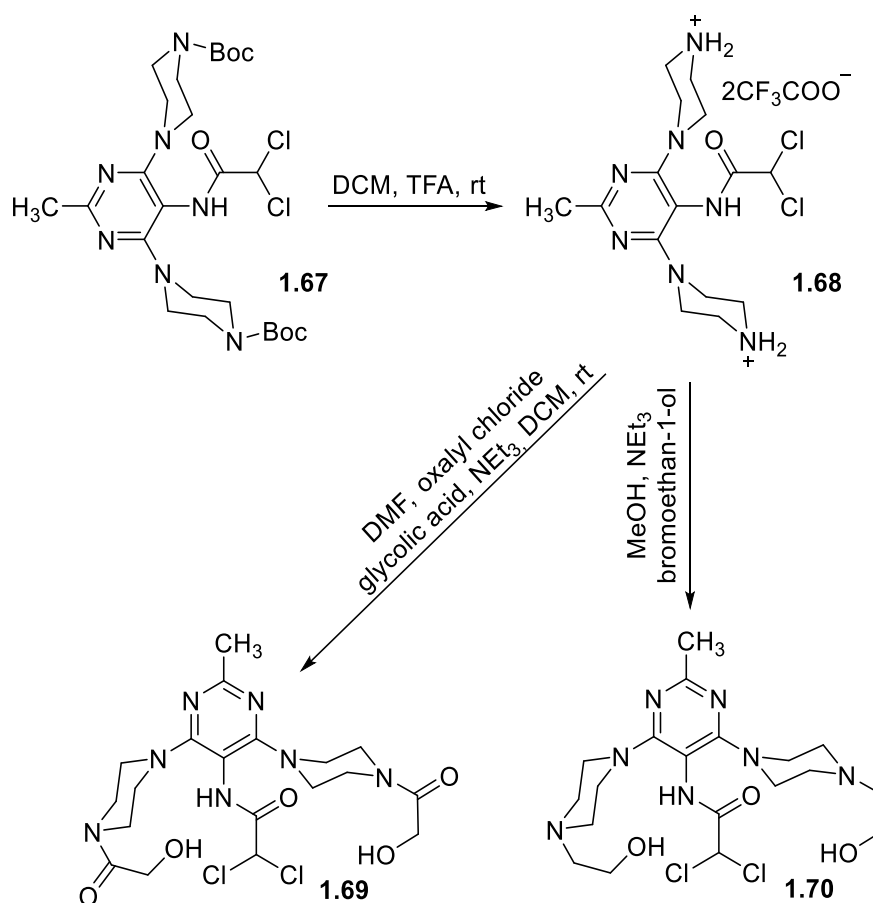


Рис. 1.15. Синтез біс-піперазинових піримідинів (**1.67-1.70**)

1.2. Біологічна активність похідних дихлороацетату

У працях Р. С. Uden, J. W. Miller [25] та F. H. Mughal [26] досліджувалася клінічна фармакологія та токсикологічні ефекти дихлороацетату, який є продуктом хлорування води та метаболізму різних ліків і промислових хімікатів. Його накопичення в ґрунтових водах і на деяких ділянках, що були виділені федеральною програмою відновлення навколишнього середовища

США під назвою Superfund, вважалось потенційною небезпекою для здоров'я. Проте занепокоєння щодо токсичності ДХА в основному ґрунтувалось на даних, отриманих на інбредних лініях гризунів, яким вводили ДХА у дозах, що в тисячі разів вищих за ті, яким зазвичай піддаються люди. У цих тварин хронічне введення ДХА спричинювало гепатотоксичність і неоплазію. Дози ДХА, які використовуються в токсикологічних експериментах на тваринах, співмірні з тими, що використовуються клінічно для хронічного або гострого лікування кількох набутих або спадкових метаболічних або серцево-судинних захворювань. Як лікарський засіб ДХА зазвичай добре переноситься та стимулює активність ферментного комплексу мітохондріальної піруватдегідрогенази, що призводить до посиленого окислення глюкози і лактату та полегшення лактоацидозу. За допомогою цього механізму препарат може також посилювати клітинний енергетичний метаболізм. ДХА дегалогенізується *in vivo* до монохлороацетату та гліюксилату, з яких він може бути далі катаболізований до гліюколяту, гліюцину, оксалату та вуглекислого газу [27]. Відкритим питанням залишились відмінності в його метаболізмі та токсикології у людей між екологічно та клінічно значущими дозами [28].

Німецька комісія з дослідження небезпеки для здоров'я хімічних сполук на робочому місці у 2018 році [29] провела повторну оцінку дихлорооцтової кислоти, щоб отримати інформацію стосовно максимальної концентрації на робочому місці (значення МАК) і переглянути її класифікацію канцерогенності. Критичними ефектами є подразнення, канцерогенність у печінці щурів і мишей, а також нейротоксичність. Після перорального застосування дихлорооцтова кислота або її натрієва сіль має ефект, що сприяє розвитку пухлин, і є канцерогенним у печінці щурів і мишей. NOAEL (доза, яка не надає явно небажаної дії) для канцерогенних ефектів у щурів становить 3,6 мг/кг маси тіла. У мишей не можна отримати NOAEL. У більшості тестів *in vitro* та *in vivo* дихлорооцтова кислота не є мутагенною. Механізми, залучені до розвитку пухлини в печінці, швидше за все, це втручання в енергетичний метаболізм, окислювальний стрес та інгібування апоптозу. Оскільки основний спосіб дії не

є генотоксичним, дихлорооцтова кислота та її солі класифікуються як канцерогенна категорія 4. Дихлорооцтова кислота викликає ушкодження очей і шкіри кроликів. Оскільки немає доступних досліджень вдихання, щоб оцінити можливий подразливий вплив на дихальні шляхи, подібна за структурою трихлорооцтова кислота використовувалась для перехресного зчитування. Таким чином, було отримано значення МАК $0,2 \text{ мл/м}^3$, що відповідає $1,1 \text{ мг/м}^3$ для дихлорооцтової кислоти. Відповідно, для солей встановлено значення МАК $1,1 \text{ мг/м}^3$ для вдихуваної фракції, вимірюваної як кислота. Оскільки місцевий ефект має вирішальне значення, кислота та її солі відносяться до категорії обмеження піку I з коефіцієнтом відхилення 1. Оскільки контакт зі шкірою дихлороацетату може значно сприяти системній токсичності, солі позначаються літерою «Н». Очікується, що контакт зі шкірою не сприятиме системній токсичності дихлорооцтової кислоти. З наявних даних не очікується сенсibilізація [30].

Albert L. Shroads з колегами досліджували залежність кінетики та метаболізм дихлороацетату від віку пацієнта. ДХА біотрансформується головним чином за допомогою ізоформи ζ -1 глутатіон-трансферази (GSTz1), також відомої як малеїлацетоацетат-ізомераза, яка каталізує передостанній етап катаболізму тирозину [31, 32]. ДХА викликає оборотну периферичну нейропатію у кількох видів, включаючи людей. У ході дослідження оцінювалась кінетика, біотрансформація ДХА та його вплив на метаболізм тирозину у дев'яти пацієнтів, які отримували протягом 6 місяців 25 мг/кг/день , і у щурів, які отримували 50 мг/кг/день протягом 5 днів. Також вимірювали активність та експресію печінкової малеїлацетоацетат-ізомерази. Хронічне введення ДХА спричиняє суттєве залежне від віку зниження його плазмового кліренсу та збільшення його періоду напіввиведення з плазми у пацієнтів і щурів. Екскреція з сечею незміненого ДХА у щурів збільшується з віком, тоді як оксалат, кінцевий продукт метаболізму ДХА, демонструє протилежну тенденцію. Низькі концентрації монохлороацетату (МХА), який, як відомо, є нейротоксичним, збільшуються залежно від віку в сечі щурів, які отримували дозу. МХА виявлявся в плазмі лише старих тварин. Печінкова GSTz1-специфічна

активність однаково пригнічувалася лікуванням ДХА серед усіх вікових груп, тоді як рівні малеїлацетону в плазмі та сечі, природного субстрату для цього ферменту, збільшувалися з віком. Отримані далі дозволили зробити висновок, що вік є важливою змінною в метаболізмі *in vivo* та елімінації ДХА і що він може частково пояснити нейротоксичність цієї сполуки у людей та інших видів [32].

Окрім протиракової активності, похідні дихлорооцетатної кислоти мають доведену ефективність при лікуванні захворювань, що спричинені гліколітичним паразитом. Даний винахід був запатентований іспанськими вченими та описує фармацевтично прийнятну сполуку, що була отримана з солі дихлорооцтової кислоти, складного естеру дихлорооцтової кислоти з С1-С6 алканолом, С1-С6 ацилоксиметанолом або С1-С6 алкоксикарбонілоксиметанолом та їх сумішей. Сполука пригнічує ріст паразитів, в той час як ріст клітин-господарів не пригнічується або менш пригнічується [33].

В. М. Madhok та ін. досліджували можливість ДХА індукувати апоптоз та зупинку клітинного циклу у клітинах колоректального раку. Мета дослідження полягала в тому, щоб визначити, чи перемикання метаболізму з гліколізу на мітохондріальне дихання зменшить ріст переважно клітин колоректального раку порівняно з нормальними клітинами. У ході дослідження репрезентативний колоректальний рак і неракові клітинні лінії лікували ДХА. У результаті дослідження було виявлено, що ДХА (20 мМ) не зменшував зростання неракових клітин, але спричиняв значне зниження проліферації ракових клітин ($P=0.009$), що було пов'язано з апоптозом і зупинкою клітинного циклу у фазі G2. Найбільший апоптичний ефект був очевидний у метастатичних клітинах LoVo (метастатичний лівий надключичний лімфатичний вузол від колоректальної аденокарциноми), в яких ДХА індукував до десятикратного збільшення кількості апоптичних клітин через 48 годин. Найяскравіша зупинка G2 була очевидна у добре диференційованих клітинах HT29, в яких ДХА викликав восьмикратне збільшення клітин у фазі G2 через 48 годин.

Дихлороацетат знижував рівень лактату в середовищах росту та індукував дефосфорилування субодиноці E1a піруватдегідрогеназного комплексу в усіх клітинних лініях, але потенціал внутрішньої мітохондріальної мембрани був знижений лише в ракових клітинах ($P=0.04$). В підсумку було зроблено висновок, що інгібування кінази піруватдегідрогенази послаблює гліколіз і полегшує мітохондріальне окисне фосфорилування, що призводить до зниження росту клітин колоректального раку, але не неракових клітин [34].

Дослідження Luke H. Stockwin та ін. (2010) доводять, що дихлороацетат натрію вибірково діє на клітини з дефектами в мітохондріальних електрон-транспортних ланцюгах, в якому механістичну основу протиракової активності ДХА було переоцінено *in vitro* з використанням біохімічного, клітинного та протеомного підходів. Результати досліджень показали, що ДХА є відносно неактивним, індукує апоптоз лише при високих концентраціях (25 мМ, 48 год) і не є селективним щодо ракових клітин. Подальший протеомний аналіз 2DPAGE підтвердив ДХА-індуковане пригнічення росту без індукції апоптозу. Крім того, ДХА деполаризує мітохондрії та сприяє утворенню активних форм кисню (АФК) у всіх типах клітин. Однак було виявлено, що ДХА має селективну активність проти клітин Rho (0) і синергізує з 2-дезоксиглюкозою в клітинах HCT116 p53(2/2) з дефіцитом комплексу IV [35].

Корейські вчені запатентували ерлотинібу дихлороацетат (**1.86**) в якості сполуки з протипухлинною активністю (рис. 1.16) [36].

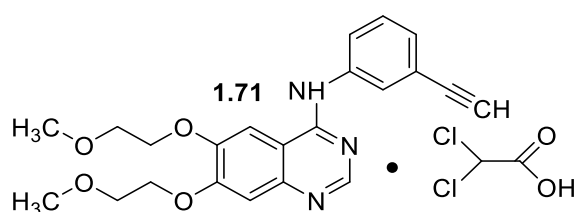


Рис. 1.16. Структура ерлотинібу дихлороацетату (**1.71**)

Згідно з даним винаходом ерлотинібу дихлороацетат може інгібувати рецептор епідермального фактору росту, а також спонукати ракові клітини до

самознищення шляхом апоптозу, тим самим пригнічуючи ріст ракових клітин і призводячи до їх знищення, і демонструє значно посилені протиракові ефекти завдяки синергії між ерлотинібом і дихлорооцтовою кислотою [36].

Monica Abdelmalak з колегами досліджували довгострокову безпеку дихлороацетату при вродженому лактоацидозі, спостерігаючи за 8 пацієнтами (четверо з яких були чоловіками) з біохімічно та/або молекулярно-генетично доведеними дефіцитами субодиниці E1 α піруватдегідрогеназного комплексу (3 пацієнти) або комплексів дихального ланцюга I (1 пацієнт), IV (3 пацієнти) або I+IV (1 пацієнт), які отримували пероральний дихлороацетат (12,5 мг/кг/12 годин) протягом 9,7-16,5 років. Усі суб'єкти спочатку брали участь у рандомізованих контрольованих дослідженнях ДХА та продовжили відкрите дослідження хронічної безпеки. Вік пацієнтів (1 дорослий) коливався від 3,5 до 40,2 років на початку введення ДХА, а на момент підведення підсумків дослідження – від 16,9 до 49,9 років (середнє \pm SD: 23,5 \pm 10,9 років). Суб'єкти мали нормальну або недостатню масу тіла для віку та статі. 3 пацієнти з дефіцитом ПДК не притримувались дієти з високим вмістом жиру (кетогенної). ДХА підтримував нормальну концентрацію лактату в крові навіть у дітей з дефіцитом ПДК, які дотримувалися практично необмежених дієт. Гематологічний, електролітний, нирковий і печінковий статус залишався стабільним. Нервова провідність або не змінилася, або помірно знизилася, що призвело до зменшення або тимчасового припинення ДХА у 3 пацієнтів, хоча симптоматичне погіршення периферичної нейропатії не відбулося. У результаті дослідження дійшли висновку, що хронічне введення ДХА зазвичай добре переноситься пацієнтами з вродженими причинами лактоацидозу та є ефективним у підтримці нормального рівня лактату в крові навіть у дітей з дефіцитом ПДК, які не дотримуються суворої кетогенної дієти [37].

Robert I. Misbin вивчав вплив дихлороацетату на ліпідний метаболізм в ізольованих клітинах печінки щурів. Дослідження показало, що введення ДХА нормальним щурам призводить до зниження рівня глюкози та тригліцеридів у сироватці крові та підвищення кількості кетонових тіл при сталому рівні

інсуліну та холестерину [38]. Вплив ДХА на метаболізм ліпідів досліджували на ізольованих гепатоцитах щурів [39]. При дозі ДХА 10 мМ включення тритієвої води в жирні кислоти було інгібовано на $33\pm 4\%$. Не спостерігалось впливу на включення в холестерин (виміряний як неомілювані ліпіди). ДХА інгібував включення ^{14}C -глюкози в ліпід, але не впливав на окислення глюкози. Окислення жирних кислот було збільшено на $76\pm 7\%$. Однак ДХА не впливав на відновлення новосинтезованого ліпиду. Таким чином, інгібування включення тритієвої води в жирні кислоти означає зниження синтезу, а не підвищення обороту. ДХА не впливав на включення ^{14}C -пальмітату в тригліцериди або фосфоліпіди. На життєздатність клітин, оцінену шляхом включення ^3H -ізолейцину в білок і виключення трипанового синього, ДХА не впливав. Ці результати свідчать про те, що ДХА знижує рівень тригліцеридів у сироватці крові через пригнічення синтезу жирних кислот і стимулювання окислення жирних кислот у печінці [40].

Колективом вчених, очолюваних S. Bonnet, у 2007 році проводились експериментальні дослідження, у яких дихлороацетатом натрію діяли на клітини пухлин людини, що були привиті дослідним щурам. У ході експерименту було доведено зміну метаболізму в пухлинних клітинах при впливі дихлороацетату натрію за рахунок активації вільно-радикальних процесів, інгібування проліферативних та ангіогенних транскрипційних факторів (щери, оброблені дихлороацетатом натрію, мали пухлини менші за розміром зі зменшеною васкуляризацією та пухлинною перфузією у порівнянні з контролем), що є поясненням позитивного ефекту у лікуванні цілого ряду онкопатологій [41-43].

У невеликому неконтрольованому клінічному дослідженні п'яти пацієнтів з гліобластою, результати якого були представлені E. D. Michelakis та співавторами у 2008 році, троє з яких отримували дихлорацетат та паліативне лікування, а двоє – дихлорацетат та стандартну терапію. Через 15 місяців від початку лікування у трьох пацієнтів відзначалася регресія гліобластоми, що підтверджувалось результатами МРТ, а один пацієнт залишався клінічно

стабільним. Через 18 місяців від початку лікування четверо пацієнтів залишилися живими, у них не було жодних ознак гематологічної та гепатorenальної токсичності. Отримані дані дозволяють розглядати дихлороацетат в якості агенту, що діє на метаболізм ракових клітин [44].

В роботі [45] Peter W. Stacpoole та колеги описують результати експериментів на щурах, яким хронічно вводили дихлороацетат (ДХА) для вивчення його токсичності. Дослідження показало, що введення високих доз ДХА призводить до появи клінічних ознак, типових для дефіциту тіаміну, зниження активності транскетолази (маркеру тіамінового статусу) та збільшення екскреції оксалату. Було виявлено, що супутнє введення тіаміну зменшувало токсичні прояви, зокрема неврологічні симптоми та нормалізувало активність транскетолази. Автори висувають гіпотезу, що нейротоксичність ДХА може бути частково зумовлена дефіцитом тіаміну, спричиненим підвищеною потребою в ньому через стимуляцію ДХА тіамін-залежних ферментів.

У 2001 році група дослідників на чолі з Liesbeth Spruijt [46] опублікувала клінічне дослідження, яке описує результати серійних вимірювань нервової провідності у 27 пацієнтів з вродженою лактатацидемією, які отримували дихлороацетат (ДХА) та тіамін протягом року. Дослідження виявило, що у більше ніж 50% пацієнтів, які отримували ДХА, спостерігалось значне погіршення показників нервової провідності, що свідчить про розвиток периферичної нейропатії. Автори роблять висновок, що периферична нейропатія є частим побічним ефектом хронічного лікування ДХА, навіть при супутньому прийомі тіаміну.

У 2010 році Dana F. Flavin опублікувала клінічний випадок лікування неходжкінської лімфоми за допомогою дихлороацетату, який описує історію 48-річного пацієнта з неходжкінською фолікулярною лімфомою 4 стадії. Пацієнт пройшов 3 місяці звичайної хіміотерапії, що привело до повної ремісії, через рік після якої пухлини знову з'явилися в носоглотці та шийних лімфатичних вузлах. Відмовившись від усіх запропонованих хіміопрепаратів, хворий почав

самостійно вводити дихлорацетат в дозі 900 мг на день, що в результаті привело до повної ремісії через чотири місяці. Через рік з моменту останньої проведеної позитронно-емісійної томографії відмічалась відсутність пухлин [47].

Akbar Khan (2013) представив випадок повної тривалої ремісії у 72-річної пацієнтки з метастатичним плоско-клітинним раком нирки. Було проведено нефректомію, в ході якої виявлено інвазію пухлини у ниркову вену та численні метастази в абдомінальних лімфовузлах. Після завершення паліативної променевої терапії пацієнтка приймала перорально дихлорацетат протягом трьох місяців. Протягом наступних п'яти років з моменту початку ремісії у пацієнтки не було виявлено ознак прогресування захворювання [48].

У 2013 році японські вчені Т. Ohashi та співавтори [49] представили публікацію, яка розкривала тематику впливу дихлорацетату на імунну дисфункцію, що викликається надмірним виділенням молочної кислоти пухлиною. В результаті дослідження, яке було проведено, виявили, що лікування дихлорацетатом зменшувало експресію аргінази I в імунних клітинах, що інфільтрують пухлину, і збільшувало кількість Т-клітин CD81, що продукують інтерферон-с, і клітин-кілерів у селезінці миші, яка уражена пухлиною [50]. Хоча лише лікування дихлорацетатом не пригнічувало ріст пухлини, воно підвищувало протипухлинну імунотерапевтичну активність Poly (I:C) як у моделях пухлин, чутливих до CD81 Т-клітин, так і у клітин-кілерів [50, 51]. Таким чином, дихлорацетат діє не тільки на пухлинні клітини, пригнічуючи гліколіз, але також і на імунні клітини, покращуючи імунний статус, модульований молочною кислотою, і підвищуючи ефективність протипухлинної імунотерапії [52, 53].

Yu. Duan з співавторами [54] досліджували протипухлинну активність дихлорацетату на клітини гліоми C6 *in vitro* та *in vivo* в експерименті на лабораторних тваринах. В результаті дослідження було виявлено, що дихлорацетат є невеликою молекулою, котра здатна проникати через гемато-енцефалічний бар'єр, виявляючи потенційний терапевтичний вплив на пухлини мозку [55]. Дихлорацетат пригнічує проліферацію клітин гліоми C6, індукує

апоптоз клітин C6 і зупиняє клітини C6 [12, 56]. Результати протипухлинного ефекту *in vivo* показали, що дихлорацетат помітно пригнічував ріст пухлин гліоми C6 як у щурів із пухлиною головного мозку C6, так і у голих мишей із пухлиною C6. Дихлорацетат істотно індукував продукцію реактивних форм кисню і знижував потенціал мітохондріальної мембрани в пухлинних тканинах. Результати протипухлинної дії *in vivo* також показали, що дихлорацетат має потенційну антиангіогенну дію, що робить його перспективним терапевтичним засобом у лікуванні гліом. Підсумовуючи, можна бути життєздатним терапевтичним засобом у лікуванні гліом [54].

Дана тема також вивчалась вітчизняними вченими, серед яких Колеснік Д. Л., який досліджував можливість посилення дії дихлорацетату у поєднанні з метформіном та в умовах гіпоксії. Проведені дослідження показали, що гіпоксія посилює цитостатичні та цитотоксичні ефекти ДХА у клітинах гліоми C6 через високий рівень некрозу пухлинних клітин та гіперпродукцію реактивних форм кисню. Вивчення антигліомної активності дихлорацетату натрію у поєднанні з метформіном виявилось перспективним, оскільки отримані дані довели синергізм протигліомної дії дихлорацетату та метформіну, що може вважатись відправною точкою для розробки ефективних схем лікування злоякісних пухлин головного мозку на основі комбінованого застосування вищезгаданих засобів [57-59].

Дослідження за даною тематикою продовжила Прохорова І. В., поставивши собі за мету дослідити вплив метформіну, ДХА та їх комбінації на виживання щурів із гліомою C6 та основні гематологічних та біохімічних показники крові. ДХА та метформін вводили інбредним самкам щурів перорально протягом 11 днів, починаючи з другого дня після трансплантації пухлинних клітин, у загальній дозі 1,1 та 2,6 г/кг відповідно. Введені дози всіх фармакологічних агентів, описаних у цьому дослідженні, потрапили в усталений діапазон терапевтичних доз для щурів. Важливо зазначити, що ці дозування свідомо підтримувались нижче максимальної переносимості для підвищення безпеки та відповідності клінічних сценаріїв [60, 61]. При

комбінованому лікуванню метформін вводили через 3 години після введення ДХА. Отримані результати показали, що введення ДХА істотно не вплинуло на тривалість життя щурів з гліомою С6. Тривалість життя щурів, яким вводили лише метформін, була вірогідно вищою (на 19.1%, $p < 0.01$). Комбіноване введення ДХА + метформін подовжувало тривалість життя тварин з гліомою на 50% ($p < 0.001$). Позитивний результат протипухлинної активності метформіну окремо та в комбінації з ДХА корелював зі зниженням співвідношення середнього об'єму тромбоцитів/кількості тромбоцитів (MPV/PLT) на 75.0% ($p < 0.05$) порівняно з контролем пухлини. Крім того, виражений протипухлинний ефект комбінованої терапії ДХА та метформіном асоціювався зі зниженням ($p < 0.05$) рівнів глюкози та лактату в плазмі крові щурів із гліомою С6 на 10% та 41.4% відповідно порівняно з контролем пухлини. Дослідження показників крові показало, що ріст гліоми С6 супроводжується розвитком лейкопенії, анемії та тромбоцитопенії. Введення ДХА спричиняло корекцію проявів анемії та лейкопенії, але не впливало на рівень тромбоцитів у крові тварин з гліомою. Метформін окремо та в поєднанні з ДХА позитивно впливав на кількість лейкоцитів і спричиняв повну корекцію тромбоцитопенії, підвищуючи кількість тромбоцитів більш ніж на 200% ($p < 0.001$). В результаті, було виявлено здатність метформіну, як окремо, так і в комбінації з ДХА, впливати на розвиток гліоми С6, що проявляється у збільшенні тривалості життя щурів. Найбільш виражений протипухлинний ефект зафіксовано на фоні сумісного застосування цих препаратів, що може бути пов'язано з їх здатністю знижувати рівень лактату та глюкози в крові щурів-пухлиноносіїв. Доведено, що метформін як у монотерапії, так і в комбінації з ДХА забезпечує корекцію анемії та тромбоцитопенії, які виникають на тлі росту гліоми С6 [61].

Moises Armides Franco-Molina та співавтори (2020) проводили оцінку *in vivo* протипухлинних та імуногенних властивостей комбінації срібла та дихлороацетату натрію проти меланоми, застосування яких в комплексі спрямоване на досягнення синергізму та підвищення активності обох сполук, механізм дії яких полягає у впливі на цілісність ДНК та мітохондрій на різних

рівнях [62-64]. Під час визначення протипухлинної ефективності оцінювали об'єм пухлини та продукцію фактору некрозу пухлини- α , ядерного фактору кВ (обидва фактори визначались методом імуноферментного аналізу) і рівня оксиду азоту (колориметричним методом аналізу нітратів/нітритів); для імуногенної загибелі клітин оцінювали вивільнення молекулярних структур, що асоційовані з небезпекою, використовуючи імуногістохімію та проточну цитометрію. Отримані результати показали, що комбінація колоїдного срібла та дихлороацетату натрію є більш ефективною, ніж кожного з компонентів окремо і що протипухлинний механізм не пов'язаний з імуногенною загибеллю клітин [64].

Хонокіол біс-дихлороацетат (**1.72**) також демонструє активність по відношенні до резистентної до вемурафенібу меланоми в дослідженнях *in vivo*, який синтезував Michael Y. Vonner з командою з метою підвищення ліпофільності хонокіолу (рис. 1.17) [65].

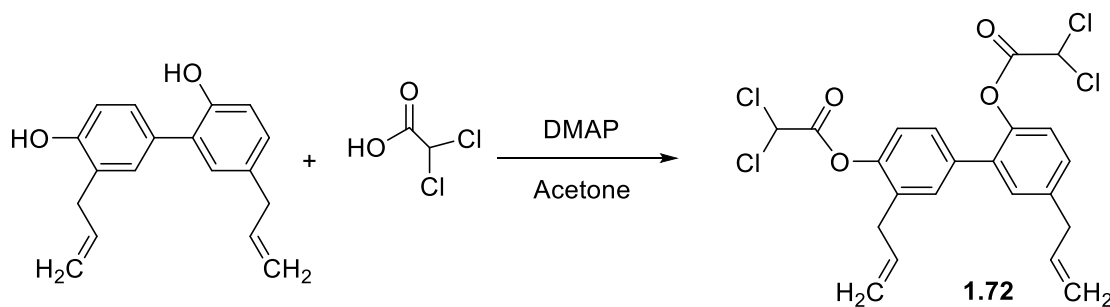


Рис. 1.17. Синтез хонокіолу (**1.72**)

Паралельно було синтезовано новий фторований аналог хонокіолу, біс-трифторометил-біс-(4-гідрокси-3-алілфеніл) метан (гексафтор) (**1.73**) (рис. 1.18) [65].

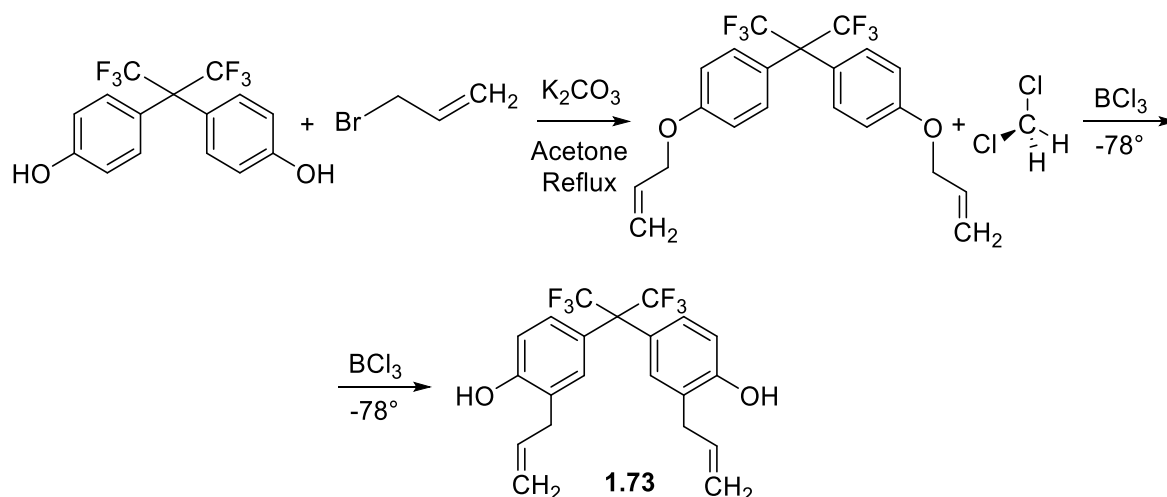


Рис. 1.18. Синтез гексафтору (1.73)

Обидві сполуки проявляли активність проти меланому A375 *in vivo*, але хонокіол ДХА був більш активним [66]. Хонокіол ДХА може діяти на стійкі до вемурафенібу меланому, посилюючи як дихання, так і активне утворення кисню, що призводить до активності проти агресивної меланому *in vivo* [65].

Одночасне лікування дихлороацетатом і омепразолом виявляє синергічний антипроліферативний ефект на злоякісні пухлини, що вивчалось японськими вченими. Дослідження показало, що комбінація ДХА та омепразолу показала більш потужну протипухлинну активність, ніж ДХА окремо, у клітинах фібросаркоми HT1080 та диференційованих клітинах карциноми товстої кишки, тоді як препарати не впливали на проліферацію фібробластів людини WI-38 [67, 68]. Оскільки омепразол та ДХА можна вводити перорально і клінічно використовувати протягом кількох років без серйозних побічних ефектів, то цю комбіновану терапію можна рекомендувати до застосування для лікування злоякісних пухлин [69, 70].

Також наявний синергічний протипухлинний ефект дихлороацетату в комбінації з 5-фторурацилом при колоректальному раку, який досліджували вчені з Китаю. У рамках дослідження було оброблено чотири лінії клітин колоректального раку людини з ДХА або з 5-фторурацилом, або комбінацією ДХА з 5-фторурацилом. Життєздатність клітин визначали за реакцією з 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію бромідом. Результати показали, що

ДХА пригнічує життєздатність клітин колоректального раку і має синергічний антипроліферативний ефект у поєднанні з 5-фторурацилом [71, 72].

Хіао Лу з колегами [73] досліджували можливість посилення дії протипухлинних хімотерапевтичних засобів у поєднанні з дихлороацетатом шляхом пригнічення аутофагії при недрібноклітинному раку легень. Метою цього дослідження було вивчення впливу дихлороацетату на регуляцію аутофагії та хемосенсибілізацію в клітинах недрібноклітинного раку легені (NSCLC) за допомогою лазерної конфокальної мікроскопії та вестерн-блотингу в клітинних лініях A549 і H1975. У результаті виявили, що дихлороацетат, який демонстрував протипухлинні властивості в різних моделях карциноми, індукував апоптоз клітин NSCLC шляхом пригнічення аутофагії ракових клітин [74, 75].

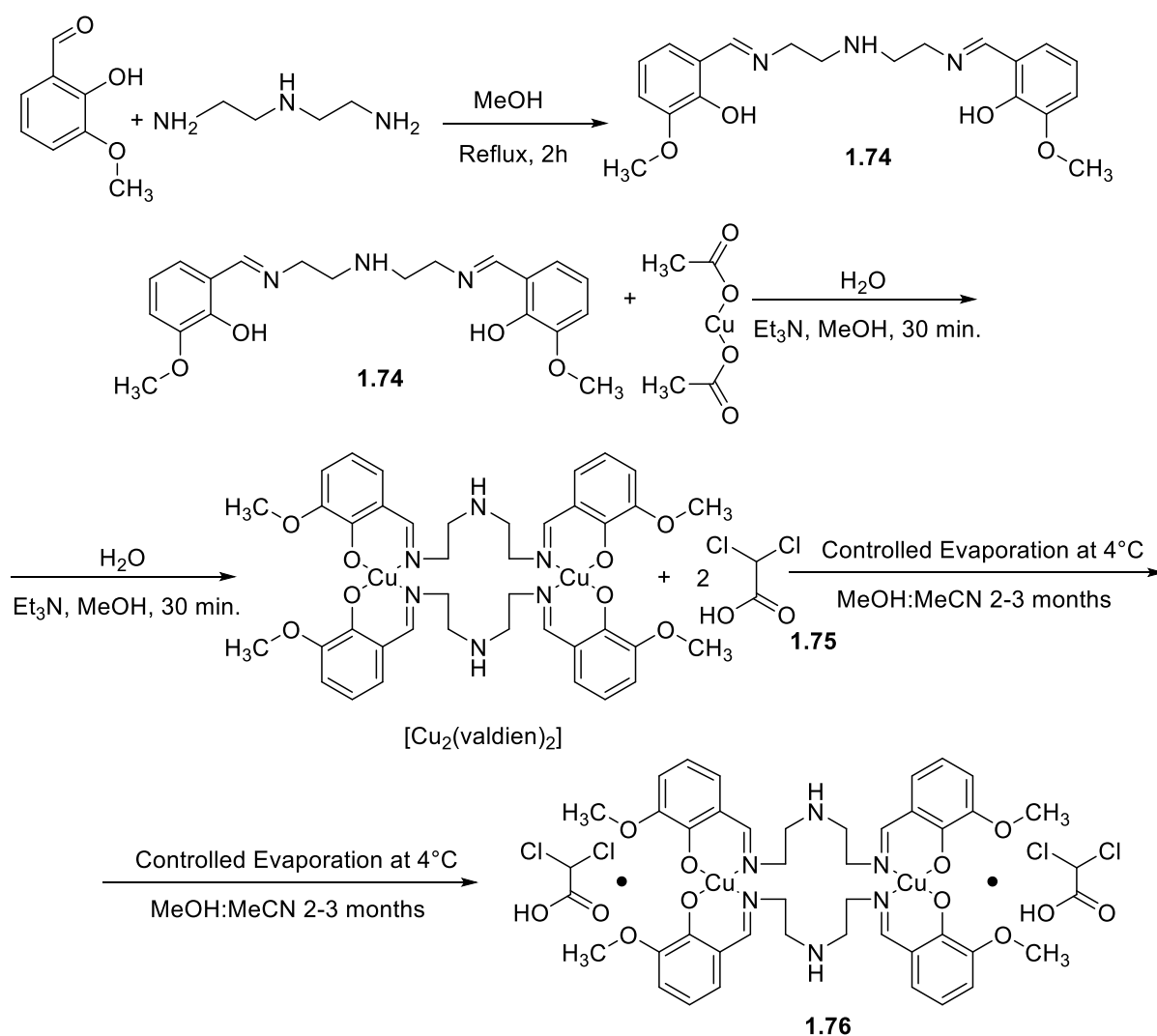


Рис. 1.19. Синтез двоядерного комплексу міді з кокриссталами дихлорооцтової кислоти (**1.76**)

Проводились дослідження (Mohammad Usman та ін., 2017) з метою біологічної оцінки двоядерного комплексу міді/кокрystalів дихлорооцтової кислоти проти раку молочної залози людини [76]. Двоядерний співкристал міді (II) (1.76) був синтезований зі скелета $H_2valdien$ (1.74) і фармакофору протипухлинного препарату «Дихлорооцтова кислота» (1.75) вбудованого в два атоми Cu (II), з'єднаних мережею водневих зв'язків (рис. 1.19) [77, 78].

Одержаний $[Cu_2(valdien)_2 \cdots 2Cl_2CHCOOH]$ (1.76) було підтверджено як потенційний протипухлинний лікарський засіб шляхом вивчення його профілю зв'язування з ДНК, механізму розщеплення з pBR322 за допомогою гелевого електрофоретичного аналізу та цитотоксичності *in vitro* на лініях ракових клітин MCF-7 [76].

Також було доведено, що метаболічне перепрограмування дихлорооцтовою кислотою потенціює фотодинамічну терапію (ФДТ) клітин аденокарциноми молочної залози людини MCF-7 [76].

На початку свого дослідження Zeiyad Alkarakooly з колегами [79] припустили, що якщо поєднати дихлорооцтову кислоту та ФДТ, вони можуть посилити мітохондріальну дисфункцію та індукувати апоптоз шляхом, залежним від активних форм кисню. Для перевірки гіпотези використали клітини MCF-7 як модель *in vitro* та ФДТ, залежну від 5-амінолевулінової кислоти (5-АЛК) [80]. В результаті проведеного експерименту виявили, MCF-7 ФДТ та дихлорооцтовою кислотою не тільки посилює пригнічення росту клітин, але також вплинула на цілісність мітохондріальної мембрани, можливо, через продукцію активних форм кисню і посилює апоптоз [79].

Схожим є спосіб лікування раку, котрий був описаний у патенті Streeter Jackson, який описує наявну терапевтичну ефективність при поєднанні дихлорооцтової кислоти та електромагнітного випромінювання [81].

У своїх дослідженнях Mohammad Hossain та його дослідницька група заглибилися у вивчення цитотоксичних наслідків, пов'язаних з 3,5-біс(бензиліден)-4-піперидонами [82]. Їх результати виявили помітний метаболічний зсув у кількох пухлинах, де гліколіз став переважним методом

виробництва енергії, на відміну від окисного фосфорилування [83]. Цей зсув є добре задокументованою подією, яку називають ефектом Варбурга [84]. Одним із ключових факторів у полегшенні гліколізу є піруватдегідрогеназна кіназа 1 (PDK1), і це гальмування ферментів має потенціал для зворотного ефекту Варбурга. Серед досліджуваних сполук дихлорооцтова кислота, інгібітор PDK1, ретельно оцінюється за її протипухлинними властивостями [85, 86]. Згодом була задумана нова категорія гібридних молекул (**1.79**) з потенціалом функціонування як протипухлинних агентів, що об'єднує особливості 3,5-біс(бензиліден)-4-піперидонів (**1.77**) та дихлорооцтової кислоти (**1.78**) (рис. 1.20) [82].

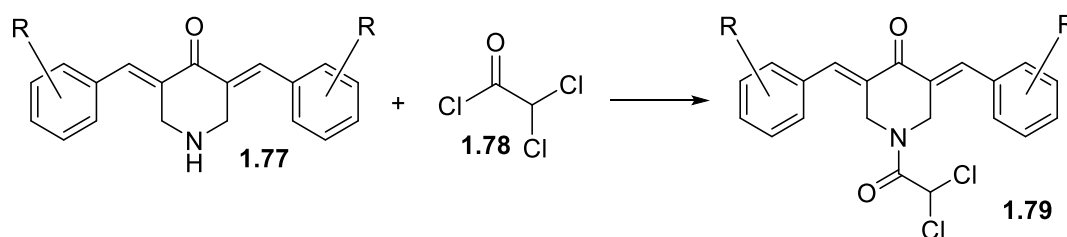


Рис. 1.20. Синтез нових гібридних молекул 3,5-біс(бензиліден)-4-піперидону (**1.79**)

Загалом ці нові гібридні молекули є потужними цитотоксинами для людських клітин раку товстої кишки HCT116 [86].

Margaret O. James та співавтори досліджували терапевтичне застосування дихлороацетату, що базується на його фармакологічній властивості інгібувати кіназу піруватдегідрогенази та глутатіон-трансферазу зета-1. Першим кроком метаболізму ДХА є перетворення на гліюксилат, що каталізується глутатіон-трансферазою зета 1, для якої ДХА є інактиватором [87]. Швидкість інактивації GSTz1 за допомогою ДХА залежить від віку, гаплотипу GSTz1 та клітинної концентрації хлориду, а також вплив ДХА на власний метаболізм ускладнює підбір ефективної дози з мінімальними побічними ефектами [88].

Shanta Dhara та Stephen J. Lippar досліджували можливість впливу мітаплатину (*c,t,c*-[Pt(NH₃)₂(O₂CHCl₂)₂Cl₂]) на ефект Варбурга, що пояснює

стійкість більшості солідних пухлин до апоптозу, за рахунок пригнічення кінази піруватдегідрогенази (рис. 1.21) [89]. У молекулі мітаплатину (**1.80**) дві одиниці ДХА приєднані до осьових положень шестикоординатного центру Pt(IV) [89].

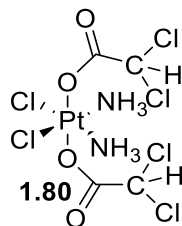


Рис. 1.21. Структура мітаплатину (**1.80**)

За допомогою унікального механізму мітаплатин селективно атакує ядерну ДНК за допомогою цисплатину та мітохондрії за допомогою ДХА в ракових клітинах. Цитотоксичність мітаплатину в різних лініях ракових клітин дорівнює або перевищує цитотоксичність усіх відомих сполук Pt (IV) і є порівнюваною з цитотоксичністю цисплатину. Мітаплатин змінює градієнт потенціалу мітохондріальної мембрани ($\Delta\psi_m$) ракових клітин, сприяючи апоптозу шляхом вивільнення цитохрому С і перенесення фактору, що індукує апоптоз, з мітохондрій до ядра. Цисплатин, який утворюється при клітинному відновленні мітаплатину, потрапляє в ядро та націлюється на ДНК, утворюючи 1,2-внутрішньоланцюгові d (GpG) перехресні зв'язки, характерні для його власної ефективності як протипухлинного препарату. Ці властивості мітаплатину проявляються в його здатності вибірково вбивати ракові клітини, культивовані разом із нормальними фібробластами, і частково долати стійкість до цисплатину [89].

Stacpoole із співавторами (1983) вивчали вплив дихлороацетату та споріднених карбонових кислот на активність ферментів. ДХА помітно знижує рівень циркулюючого холестерину у тварин і пацієнтів з комбінованою гіперліпопротеїнемією або гомозиготною сімейною гіперхолестеринемією. Щоб дослідити механізм його холестеринознижувальної дії, вивчався вплив ДХА та його печінкових метаболітів, гліоксилату та оксалату, на активність 3-

гідрокси-3-метилглутарил коензим А редуктази, отриманої з печінки здорових щурів зі зворотним світловим циклом. Пероральне введення ДХА протягом 4 днів знижувало активність ГМГ-КоА-редуктази на 46% при дозі 50 мг/кг на день і на 82% при дозі 100 мг/кг на день. Інгібуючий ефект препарату зумовлений зниженням як вираженої активності ферменту, так і загальної кількості присутніх молекул редуктази [90].

У подальших дослідженнях Stacpoole з колегами спробували змінити фармакокінетику та біодоступність дихлорооцтової кислоти шляхом синтезу різних похідних, що містять ефіри дихлорооцтової кислоти з поліолами та іонними комплексами дихлорооцтової кислоти. Дослідження проводились на лабораторних тваринах: щурі без діабету протягом 24 годин отримували одноразові орогастральні дози фізіологічного розчину (контроль) ДХА (100 мг/кг) або наступних похідних (D1-4): ефіри D1–D3: тетра(дихлороацетил)глюкуронат калію (D1), інозитол-монофосфат-тетрадихлороацетат (D2), інозитол-гексдихлороацетат (D3) та інозитол-гекса[N-метилнікотинат]гексдихлороацетат (D4). Кожне похідне вводили в дозі, яка в кінцевому підсумку забезпечувала б 100 мг/кг ДХА як аніону. Усі похідні були ефективними при пероральному застосуванні щодо значного зниження рівня глюкози та лактату в крові. D4 мав найсильніший і тривалий ефект зниження рівня глюкози та лактату, але підвищував концентрацію ДХА у плазмі менше, ніж еквівалентна доза натрієвої солі. При введенні щурам зі зворотним світловим циклом D4 помітно пригнічував включення тритієвої води в холестерин і тригліцериди [38, 90]. У підсумку дійшли висновку, що похідні дихлорооцтової кислоти зберігають біологічну активність вихідної сполуки, але можуть проявляти іншу фармакокінетику. Згодом вони можуть виявитися корисними для лікування цукрового діабету, гіперліпідемії та лактоацидозу у людини [91].

Дихлороацетати можуть бути представлені в якості різноманітних лікарських форм. В огляді літератури, що був викладений К. Ж. Касеновим, згадується можливість створення трансдермальних терапевтичних систем із

вмістом дипромонію (диізопропіламонію дихлороацетату) для лікування такого поширеного захворювання як гіперхолестеринемія з можливістю позбавлення пацієнтів таких побічних дій препарату як нудота та блювання, що часто спостерігаються при пероральному прийомі препарату [92].

Точна доставка ліків до мітохондрій клітини при протираковій терапії досліджувалась вченими Shanta Dhar та Rakesh Pathak, які у своєму патенті охарактеризували цільовий молекулярний каркас (**1.81**) для конструювання метаболічного інгібітору, який має специфічну активність по відношенні до ракових клітин і протипухлинний імунітет. Включення фрагмента, націленого на мітохондрії, такого як катіон трифенілфосфонію, через лінкер, що біологічно розкладається, дозволило націлити на мітохондрії певні метаболічні інгібітори, такі як дихлорооцтова кислота (рис. 1.22) [93].

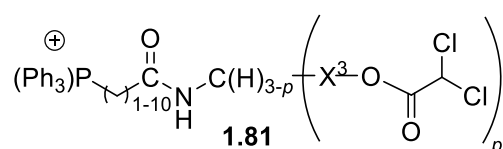


Рис. 1.22. Структура запропонованого молекулярного каркасу (**1.81**) (у цій формулі p дорівнює від 1 до 3, а X^3 є лінкером [93])

Вартим уваги є протираковий препарат іматинібу дихлороацетат (**1.82**), який згідно з винаходом корейських вчених (Kim Kyoung Soo та ін., 2012) та проведеними експериментами може інгібувати тирозинкіназу, а також спонукати ракові клітини до самознищення шляхом апоптозу, тим самим пригнічуючи ріст ракових клітин і призводячи до їх знищення, і демонструє значно посилені протиракові ефекти завдяки синергії між іматинібом і дихлорооцтовою кислотою (рис. 1.23) [94].

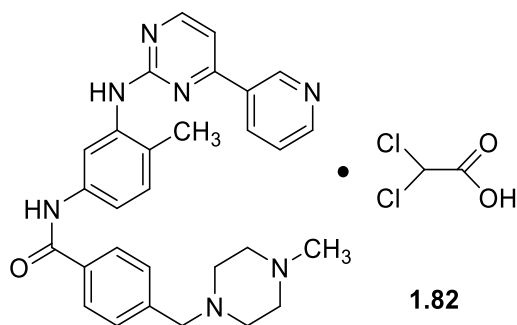


Рис. 1.23. Структура імаїнібу дихлороацетату (1.82)

Інший винахід розкриває комбінований лікарський засіб мангано-порфірин-дихлорооцтова кислота для лікування пухлин. Лікарський засіб містить мангано-порфірин і дихлорооцтову кислоту або фармацевтично прийнятну сіль дихлорооцтової кислоти і може містити один або кілька фармацевтично прийнятних носіїв (необов'язково). Експерименти Baoqiu Li продемонстрували наступне: після комбінованого введення мангано-порфірину та дихлорооцтової кислоти, які не мають протипухлинної дії, ефект лікування пухлин може бути очевидно покращений; токсичність може бути знижена; тривалість життя піддослідних тварин може бути подовжена [95].

Evangelos Michelakis та Stephen Archer отримали патент на дихлороацетат та використання його хімічних аналогів при лікуванні раку, зокрема для індукції апоптозу або відновлення стійкості до апоптозу всередині клітини. ДХА визнається як прототипний інгібітор мітохондріальної кінази піруватдегідрогенази, тим самим полегшуючи активацію піруватдегідрогенази та посилення окислення глюкози. Отже, ДХА посилює постачання НАДН⁺, що призводить до комплексної зміни транспорту електронів. Цей складний процес призводить до ескалаційних змін в мітохондріальному комплексі I та до наступної деполаризації мітохондрій, тим самим ініціюючи апоптоз, як з'ясовано в запропонованому механізмі (рис. 1.24) [96].

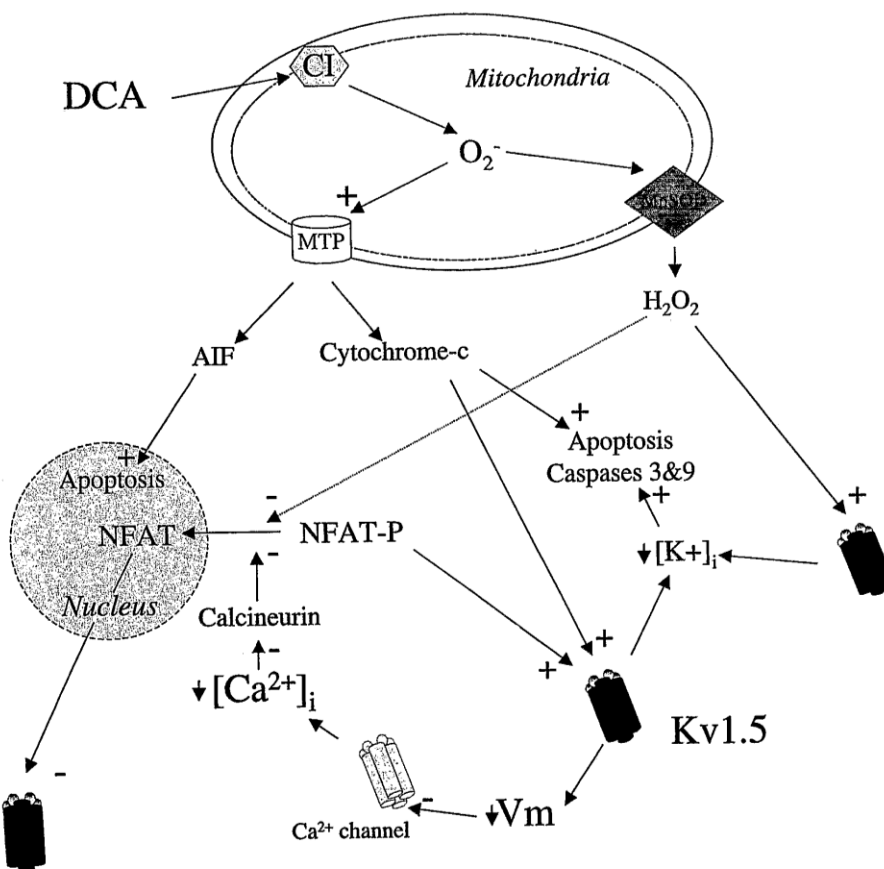


Рис. 1.24. Запропонований механізм дії дихлороацетату [96]

Щоб встановити, що ефекти ДХА не є випадковими та неспецифічними, а скоріше метаболічними та мають регуляторний вплив на апоптичні шляхи, було проведено всебічний аналіз, що охоплює генетичне чіпування та онтологію генів, як на лікованих, так і на нелікованих клітинах. Досліджуючи ці ефекти як на клітинну лінію A549, так і на клітинну лінію гліобластоми, яка являє собою тип пухлини, що суттєво відрізняється від раку легень гліальною клітинною диференціацією епітелію, і зосередившись на спільних змінах, спричинених терапією ДХА, було можливо визначити послідовні зрушення в експресії генів за рахунок ДХА, тим самим відрізняючи їх від будь-яких унікальних, специфічних для пухлини генетичних змін [97].

Пара-дихлорооцтовий фенформін $C_{14}H_{19}Cl_4N_5O_4$ (**1.83**) є сполукою, що виявляє протипухлинну активність (рис. 1.25) [97, 98].

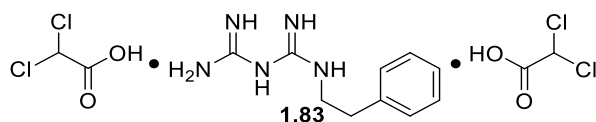


Рис. 1.25. Структура пара-дихлорооцтового фенформіну (1.83)

Його властивості були запатентовані у 2017 році китайськими вченими Du Jianping та Lan Quan [97].

1.3. Сучасні тенденції захворюваності на рак та фармакотерапія алкілюючими агентами

У 21-му столітті рак є основою медичною та соціально-економічною проблемою людства, адже причиною кожної четвертої смерті (23%) від неінфекційних захворювань та кожної шостої (17%) смерті у структурі смертності є саме онкопатології. З кожним роком ситуація лише погіршується і позитивної динаміки у структурі захворюваності не спостерігається. Статистичні дані за 2022 рік свідчать, що для вікової категорії 30-69 років рак входить у трійку основних причин смертності у більш як 180 країнах. У Європі рівень захворюваності та смертності від раку є непропорційно високим: на континент припадає близько 20% світових випадків захворювання та смертності від раку, попри те, що на ньому живе менше 10% населення світу [98, 99]. Онкопатології все частіше розглядають не лише як причину зменшення тривалості життя, але і як соціальну проблему для населення та макроекономічну проблему для держави в цілому. Одне з досліджень, яке було проведено у 2020 році доводить, що упродовж аналізованого року близько одного мільйона дітей стали сиротами через те, що їх матері померли від раку [98, 100].

Сучасні стратегії лікування раку здебільшого включають такі складові: хірургічне втручання, хіміотерапія та променева терапія. Майже для всіх видів раку хіміотерапія є тим варіантом терапії, що застосовується або самостійно, або в поєднанні з іншими методами лікування. Найчастіше використовуються протипухлинні лікарські засоби (ЛЗ), які належать до алкілюючих агентів,

інгібіторів клітинного циклу, інгібіторів малих молекул, антиметаболітів та специфічних моноклональних антитіл [101].

Одним із актуальних питань є розвиток резистентності пухлин до існуючих ЛЗ, оскільки на початку пухлини реагують на дію ЛЗ, але згодом вони стають невразливими і лікування захворювання суттєво ускладнюється. Резистентність може бути характерна для клонів пухлин або набута в процесі терапії, в її основі лежать механізми зниження активації ліків, зміни мішеней, підвищення деградації активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) [101].

Алкілюючі агенти застосовуються для лікування раку вже більше як 70 років, проте їхній асортимент продовжує розширюватися. Ці ЛЗ діють на всіх фазах клітинного циклу, безпосередньо на ДНК, зшиваючи залишки N-7-гуаніну, спричиняючи розриви ланцюгів ДНК, що призводить до аномального спарювання основ, пригнічення поділу клітин і, зрештою, до їх загибелі. Перешкодами до застосування алкілюючих агентів, які суттєво обмежують їх клінічну ефективність, є системна токсичність та резистентність [102].

Нами було проаналізовані нормативно-правові документи (НПД), якими керуються на практиці онкологи, та виділено ті, в яких описано терапію лікарськими препаратами (ЛП) темозоломідом та дакарбазином. Так, Уніфікований клінічний протокол первинної та спеціалізованої медичної допомоги при злоякісній меланомі шкіри (2023) зазначає, що для системного лікування нерезектабельної III і IV стадій меланоми шкіри ЛП темозоломідом, дакарбазином є альтернативною паліативною терапією або ж терапією переходу; можуть бути призначені як терапія другої лінії [103].

При лікуванні метастатичних форм сарком м'яких тканин методом вибору є хірургічне лікування при метастатичних ураженнях легень або інших органів, якщо можливим є їх повне видалення. В інших випадках призначається хіміотерапія. Дакарбазин рекомендовано Стандартом медичної допомоги при саркомі м'яких тканин кінцівок та тулуба (2023) при наявності рецидивів [104].

При системній терапії саркоми матки у пацієнок, в яких наявне рецидивуюче або метастазуюче захворювання, що прогресувало під час

попереднього курсу цитотоксичної терапії, Клінічна настанова, заснована на доказах: Новоутворення матки (2023) розглядає призначення темозоломід. Також дакарбазин та темозоломід є варіантами для монотерапії ендометріальної стромальної саркоми високого ступеня злякисності, лейоміосаркоми та недиференційованої саркоми матки [105].

У 2014 році дакарбазин було перенесено із категорії наукової обґрунтованості і консенсусу NCCN (National Comprehensive Cancer Network – Національна загальна онкологічна мережа США) 2B у більш високу категорію 2A. Дакарбазин було застосовано в групі стандартної терапії в декількох клінічних дослідженнях другої фази. Для препаратів категорії 2A рекомендації засновані на об'єктивних наукових даних меншого у порівнянні з категорією 1 ступеня достовірності, проте всі учасники NCCN одногосно згодні з тим, що відповідне втручання є доцільним [106].

В якості терапії при низько-диференційованій ендометріальній стромальній саркомі, лейоміосаркомі та недиференційованій саркомі матки Стандарт медичної допомоги: Злякисні новоутворення тіла матки (2023) рекомендує комбінацію доксорубіцин/дакарбазин, а при розповсюдженій або метастазуючій пухлині темозоломід та дакарбазин можуть застосовуватись як монотерапія [107].

НПД звертають увагу не лише на лікування, але й на токсичність та побічні реакції ЛЗ. Так, Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної, третинної медичної допомоги при неходжкінських лімфомах та лімфомі Ходжкіна (2013) зазначає, що дакарбазин як компонент поліхіміотерапії доволі часто спричиняє токсичні флебіти. При класифікації ступеня ускладнень екстравазації дакарбазин буде належати до везикантів групи С – групи високого ризику, при застосуванні якого можливі серйозні пошкодження навколишніх тканин [108].

Клінічна настанова, заснована на доказах, яка описує ведення хворих на гліобластому (2023) [109], об'єднує чимало інформації про застосування та клінічні дослідження з використанням темозоломід. У ній описано клінічне

дослідження CATNON [110], в якому застосування темозоломід було поєднано з променевою терапією. Було доведено, що така комбінована терапія дозволяє збільшити термін виживання лише у пацієнтів з мутацією гену IDH зі ступенем злоякісності 3 за класифікацією WHO, проте для анапластичних гліом з геном IDH немутованого типу таке поєднання ніяк не впливало на термін виживання [111]. Темозоломід є ДНК-алкілюючим агентом, що проникає через гемато-енцефалічний бар'єр, тому під час його застосування можлива мієлосупресія, що виявляється у формі тромбоцитопенії [112].

Аналізу наукових публікацій фармацевтичного напрямку виявив достатню кількість наукових досліджень, присвячених аналізу ФР, показників доступності ЛП для лікування пацієнтів з онкопатологією різних органів і систем, проведених науковцями харківської школи організаційно-економічної фармацевтичної науки під керівництвом професорів Алли Немченко, Ганни Панфілової [113-116]. Однак даних про здійснення сучасного маркетингового дослідження ЛП групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» не знайдено.

Висновки до розділу 1

1. Систематизовано сучасні дані щодо медико-хімічної значущості похідних дихлороацетату, які є універсальними інструментами в розробці нових лікарських засобів.

2. Проаналізовано вплив структурних модифікацій похідних хлороцтової кислоти на їхню фармакокінетику та фармакодинаміку, що дозволяє створювати препарати з покращеними терапевтичними властивостями.

3. Обґрунтовано, що похідні дихлороацетату знаходять застосування в синтезі широкого спектру терапевтичних засобів, зокрема протиракових, нестероїдних протизапальних засобів та антимікробних агентів, в тому числі проліків.

4. Показано потенціал контрольованого вивільнення лікарських засобів на основі похідних дихлороацетату, що сприяє підвищенню ефективності терапії та покращенню комплаєнсу пацієнтів.

5. Установлено, що онкопатології є провідною причиною смертності серед населення віком 30-69 років у понад 180 країнах світу, при цьому Європа демонструє непропорційно високий рівень захворюваності та смертності від раку порівняно з часткою населення.

6. Показано, що алкілюючі лікарські засоби, зокрема темозоломід і дакарбазин, продовжують залишатися актуальними компонентами системної хіміотерапії при різних формах онкологічної патології, незважаючи на існуючі обмеження, пов'язані з розвитком резистентності пухлин і системною токсичністю.

7. Зазначено, що вітчизняна фармацевтична наука, незважаючи на загальний прогрес у галузі дослідження фармацевтичного ринку, досі не висвітлила маркетингову ситуацію ЛП групи L01AX «Інші алкілюючі агенти», що свідчить про наявність нішевих наукових прогалин у цій сфері.

РОЗДІЛ 2

МАРКЕТИНГОВИЙ АНАЛІЗ ПРОТИПУХЛИННИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ ГРУПИ L01AX «ІНШІ АЛКІЛУЮЧІ АГЕНТИ» В УКРАЇНІ

2.1. Методологія маркетингового аналізу протипухлинних лікарських препаратів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти»

Для оцінки реєстраційного статусу ЛП групи L01AX «Інші алкілюючі агенти», їх асортименту у Державному реєстрі ЛЗ, на оптовому і роздрібному сегментах вітчизняного фармацевтичного ринку (ФР), наявності ЛЗ у соціально-економічних регулюючих переліках ЛЗ в Україні (СЕРП ЛЗ) були використані дані Державного реєстру ЛЗ України [117], Proxima Apteka (<https://pharmbase.com.ua/uk/optovi-propozitsiyi/>) [118], Пенсійного фонду України [119], Національного переліку основних лікарських засобів (ОЛЗ) [120], Переліку ЛЗ, медичних виробів та допоміжних засобів до них, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм та здійснення централізованих заходів з охорони здоров'я (ОЗ) [121], Переліку ЛЗ, які підлягають реімбурсації за програмою державних гарантій медичного обслуговування населення [122], Реєстру оптово-відпускних цін (ОВЦ) на ЛЗ [123], Державного формуляру лікарських засобів (ДФ ЛЗ) [124].

Методологія включала [125-128]:

- кількісний та якісний аналіз асортименту зареєстрованих та фактично присутніх на ФР ЛП групи L01AX «Інші алкілюючі агенти»;
- оцінку фізичної і соціально-економічної доступності ЛП темозоломід у і дакарбазину за результатами щомісячного моніторингу ОВЦ за даними Proxima Apteka (<https://pharmbase.com.ua/uk/optovi-propozitsiyi/>) [118] упродовж листопада 2023 – серпня 2024 років, розрахунку коефіцієнтів доступності ЛП: ліквідності (C_{liq}), адекватності платоспроможності (C_{as}) та доступності (D) у кожному місяці моніторингу. Оскільки з вересня 2024 року на <https://pharmbase.com.ua/uk/optovi-propozitsiyi/> не були доступні прайси оптових постачальників, це позбавило можливості проводити

проспективний аналіз цього сегменту ФР упродовж довшого періоду спостереження;

- вивчення динаміки ОВЦ ЛП темозоломідру та дакарбазину і порівняння її із динамікою курсу долара США (дол.) відносно гривні (грн), динаміки середньої заробітної плати (ЗП) в Україні, динаміки C_{liq} , C_{as} , D упродовж 10 місяців дослідження; C_{liq} – відношення різниці між максимальним та мінімальним значенням ціни упаковки ЛП до її мінімального значення; C_{as} визначали шляхом поділу середньої роздрібною ціни ЛП на середню ЗП за відповідний період, а D розраховували як модуль різниці між співвідношенням роздрібною ціни ЛП до значення середньої заробітної плати та одиницею. Між коефіцієнтами доступності C_{as} і D існує обернена залежність – чим менше значення C_{as} , тим доступніший ЛП, і, навпаки, чим більше значення D наближається до 1 – тим доступніший ЛП для пацієнта;
- контент-аналіз НПД, що регламентують застосування темозоломідру і дакарбазину у медичній практиці, а також СЕРП ЛЗ.

Дослідження було проведено методами моніторингу, аналізу, синтезу, порівняння, узагальнення даних.

2.2. Результати маркетингового аналізу протипухлинних лікарських засобів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» в Україні

Станом на початок дослідження (листопад 2023 року) в Україні було зареєстровано 27 ЛП з врахуванням дозування та лікарської форми (ЛФ) з групи L01AX «Інші алкілюючі агенти», а на кінець (серпень 2024 року) – 29 ЛП. Серед них: на основі МНН темозоломідру (L01AX03) – 5 торгових найменувань (ТН), а з врахуванням дозувань – 23 ЛП (79%) і на основі МНН дакарбазину (L01AX04) – 2 ТН у вигляді 6 ЛП різного дозування (21%). Розподіл ЛП за імпортерами поданий на рис. 1.

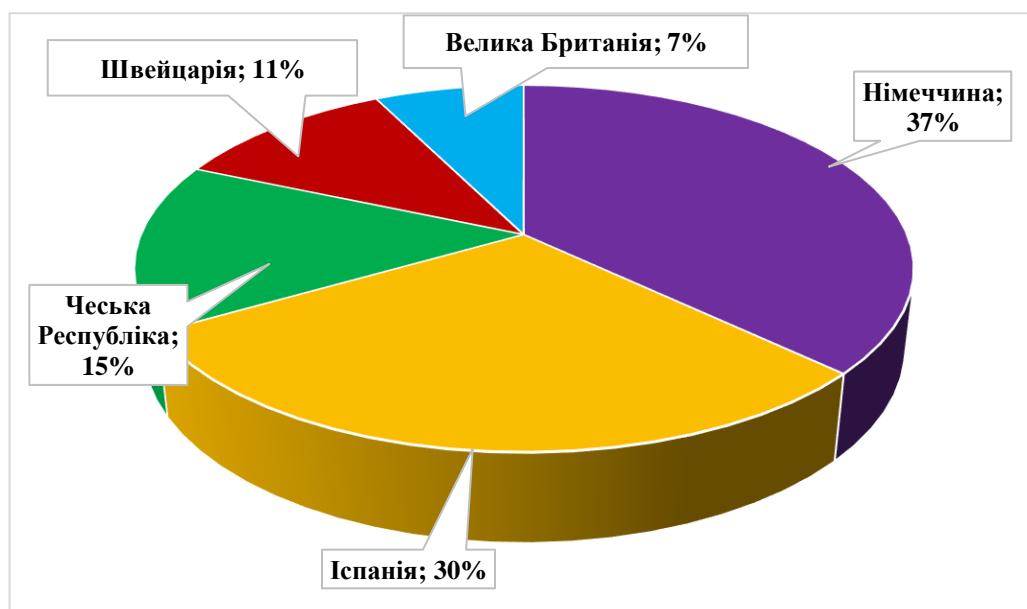


Рис. 2.1. Розподіл ЛПІ групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» за імпортерами

Результати аналізу, показані на рис. 2.1, доводять, що найчастіше (37.04%) зареєстровані ЛПІ групи L01AX походили з Німеччини, які пропонував один заявник – Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціальпрепарате мБХ; у трійку країн-імпортерів також увійшли Іспанія (29.63%) (заявник: Аккорд Хелскеа С.Л.У.) та Чеська Республіка (14.81%) (заявник: Зентіва, к. с.). Решта ЛПІ походили зі Швейцарії (11.11%) (заявник: Мерк Шарп і Доум ІДЕА ГмБХ,) та Великої Британії (7.41%) (заявник: Мілі Хелскере Лімітед).

Кількість виробників, що виготовляли ЛПІ досліджуваної групи була обмеженою, і доволі часто певна лікарська форма (ЛФ) у визначеному дозуванні пропонувалась виключно одним виробником, що фактично робило його монополістом.

Серед ЛФ найбільшого поширення в асортименті ЛПІ групи L01AX мали капсули (74.07%), а решту ЛПІ випускалися у формі порошків (18.52%) або ліофілізатів (7.41%) для ін'єкцій та інфузій (рис. 2.2).

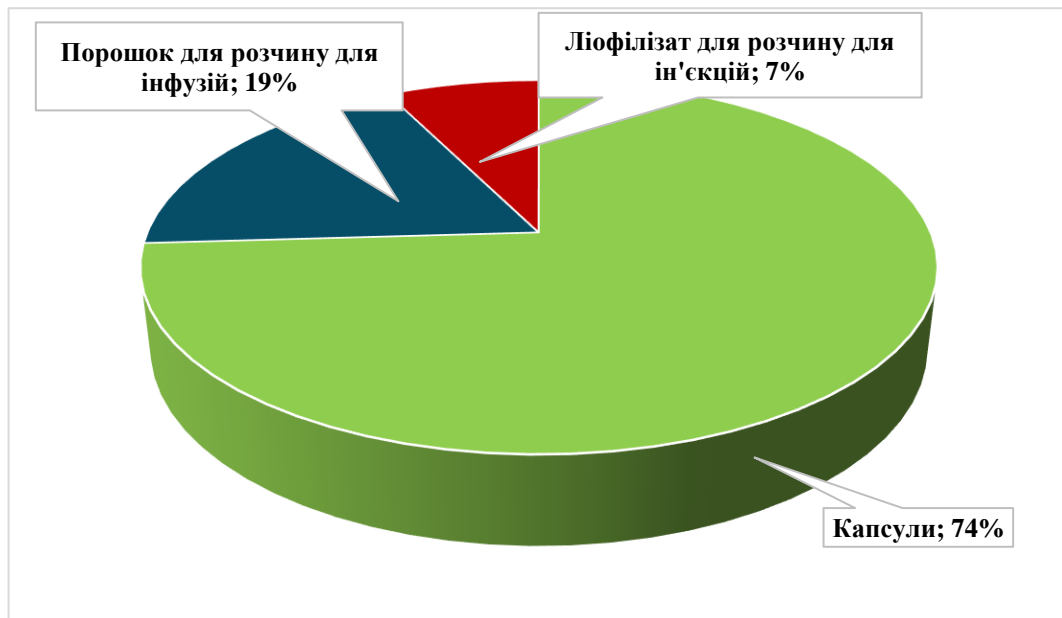


Рис. 2.2. Розподіл ЛП групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» за ЛФ

Установлено, що із 29 зареєстрованих ЛП групи L01AX оптовий ФР пропонував лише 8 ЛП (27.59%), а саме: 2 найменування МНН темозоломід у 5-х і 2-х дозуваннях відповідно і 1 найменування МНН дакарбазину – в 1-у дозуванні. Серед МНН темозоломід були присутні на ФР Темомедак (20, 100, 140, 180, 250 мг) і Темодал (20, 100 мг), а серед МНН дакарбазину – Дакарбазин Медак (200 мг). Перший і третій ЛП виготовляв завод-виробник «Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціальпрепарате мбХ» (Medac) в Німеччині, другий – в Бельгії (Органон Хейст бв) / Нідерландах (Мерк Шарп і Доум Б.В.) / Швейцарії (Мерк Шарп і Доум ІДЕА Гмб – Merck Sharp & Dohme Idea). Було здійснено аналіз динаміки їх ОВЦ за період листопад 2023 – серпень 2024 року. Критеріями оцінки була вартість 1 дози ЛП у грн та у дол. США з урахуванням курсу НБУ на день оновлення прайсів постачальниками. У випадку наявності пропозицій від 2-х оптових постачальників обчислювали середнє арифметичне значення вартості.

Динаміка курсу дол. за період листопад 2023 – серпень 2024 років представлена на рис. 2.3. Вона виявила, що за аналізований період середній готівковий курс дол. США до грн зріс на 13.02%.

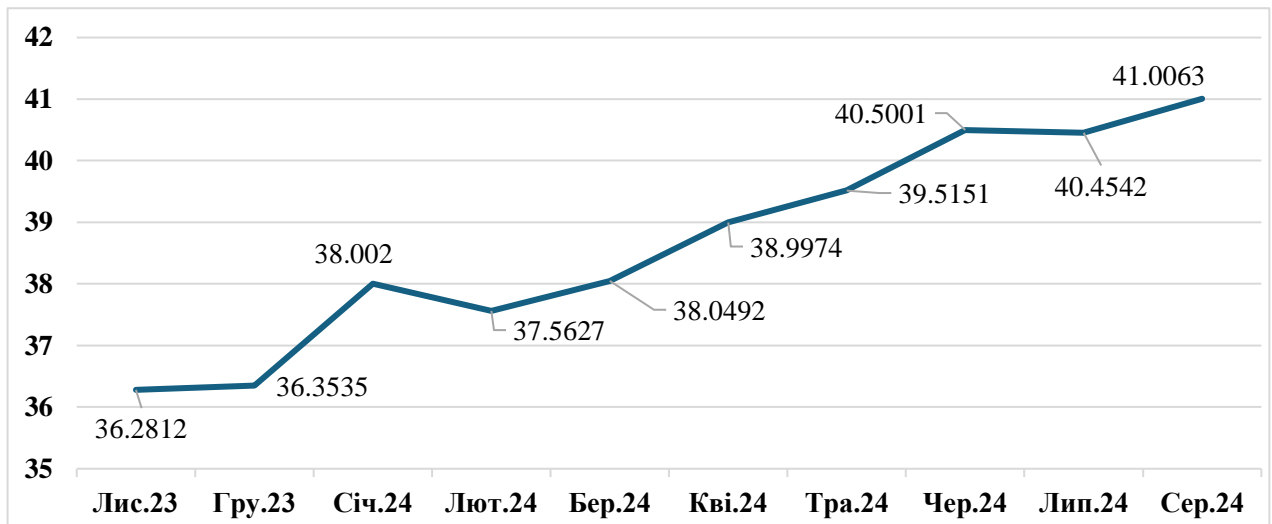
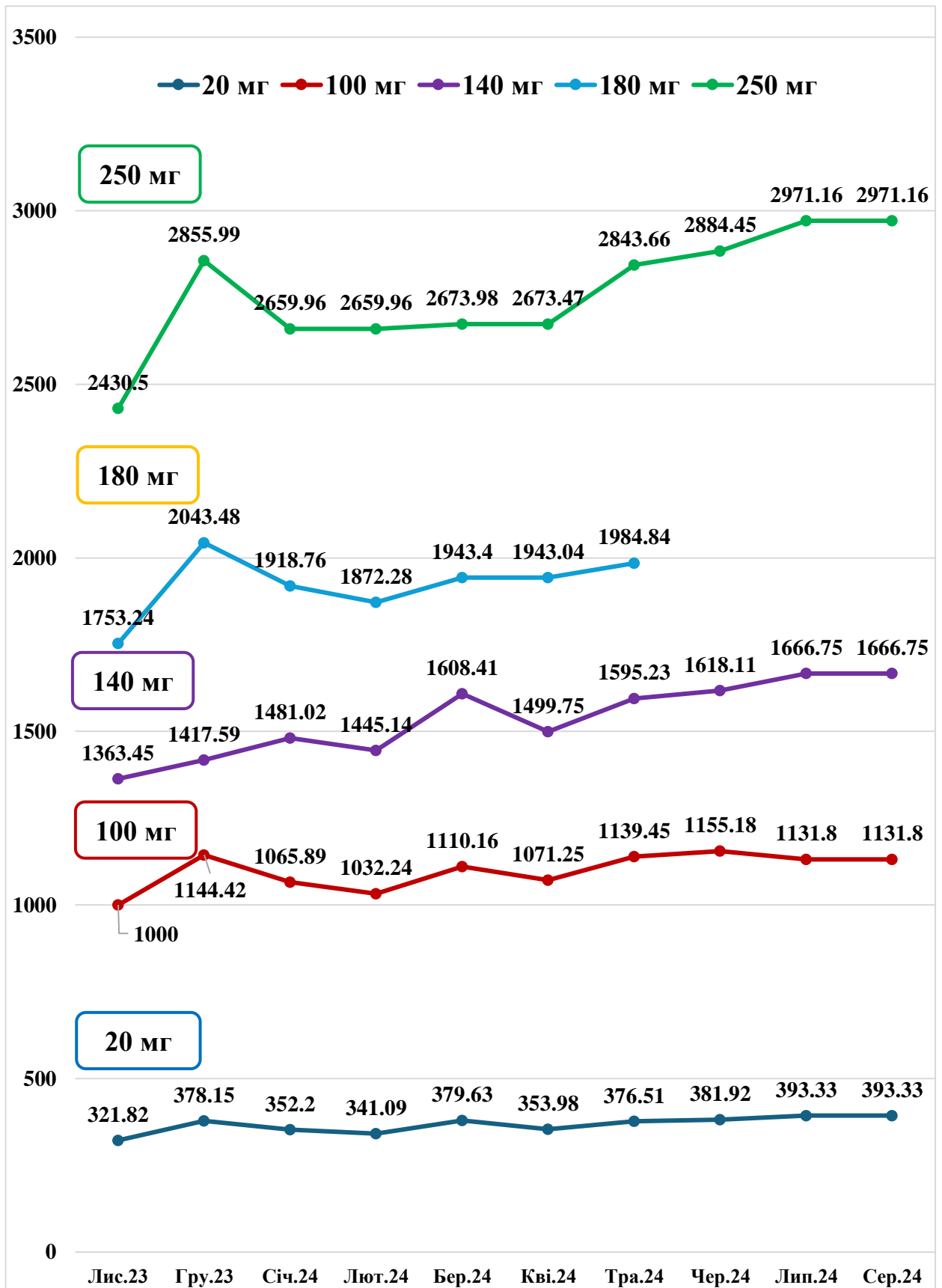


Рис. 2.3. Динаміка курсу дол. до грн за період листопад 2023 – серпень 2024 року

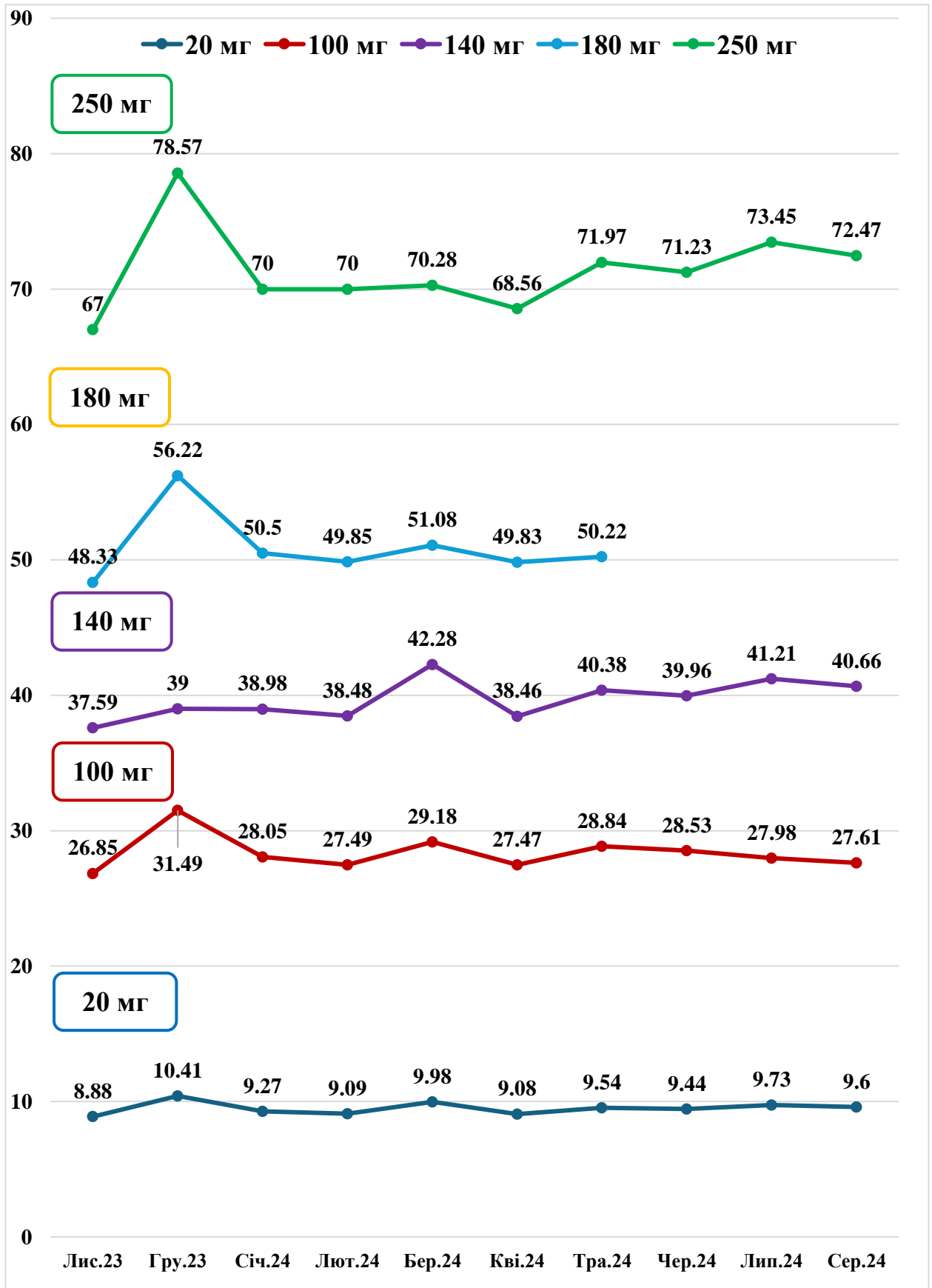
Отже, Темомедак, капсули по 20, 100, 140, 180, 250 мг, по 5 капсул у флаконі, по 1 флакону в пачці, Medac, Німеччина пропонували 2 оптові постачальники: ТОВ «БадМ» і ПП «O.L.KAR. ФАРМ-СЕРВІС». У другого оптовика у певні місяці була відсутня та чи інша доза ЛП. Динаміка середньої ОВЦ у гривневому і доларовому еквівалентах представлена на рис. 2.4 (а і б).

Установлено, що ОВЦ Темомедаку, Medac як у грн, так і в дол. нерівномірно коливались у сторону збільшення щомісяця у залежності від дози. Щодо загальних тенденцій, то спостерігалися 2 піки підйому цін: перший, найбільш відчутний, який стосувався обох видів грошових еквівалентів, у грудні 2023 року і другий – у березні 2024 року. При першому різкому підйомі ОВЦ у грн і дол. на наступний місяць ціни пішли на спад (окрім дози 140 мг), хоча і не досягли позначок початку моніторингу. У грн ОВЦ грудня 2023 року не були найвищими (окрім дози 180 мг), а у дол. – залишилися найвищими у всіх дозах, окрім 140 мг. Якщо порівняти криві (рис. 2.3, 2.4 а, 2.4 б), то напрашується висновок, що не можна пропорційно прив'язати ріст ОВЦ до росту курсу дол. Загалом, від листопада 2023 року до серпня 2024 року ціна 1 капсули ЛП у дозі 20 мг у грн зросла на 22.2%, а у дол. – на 8.1%; у дозі 100 мг – на 16.2% і 2.8%; у дозі 140 мг – на 22.2% і 8.2%; у дозі 180 мг – на 13.2% і 3.9% (до травня 2024 року); у дозі 250 мг – на 22.2% і 8.2% відповідно.



а

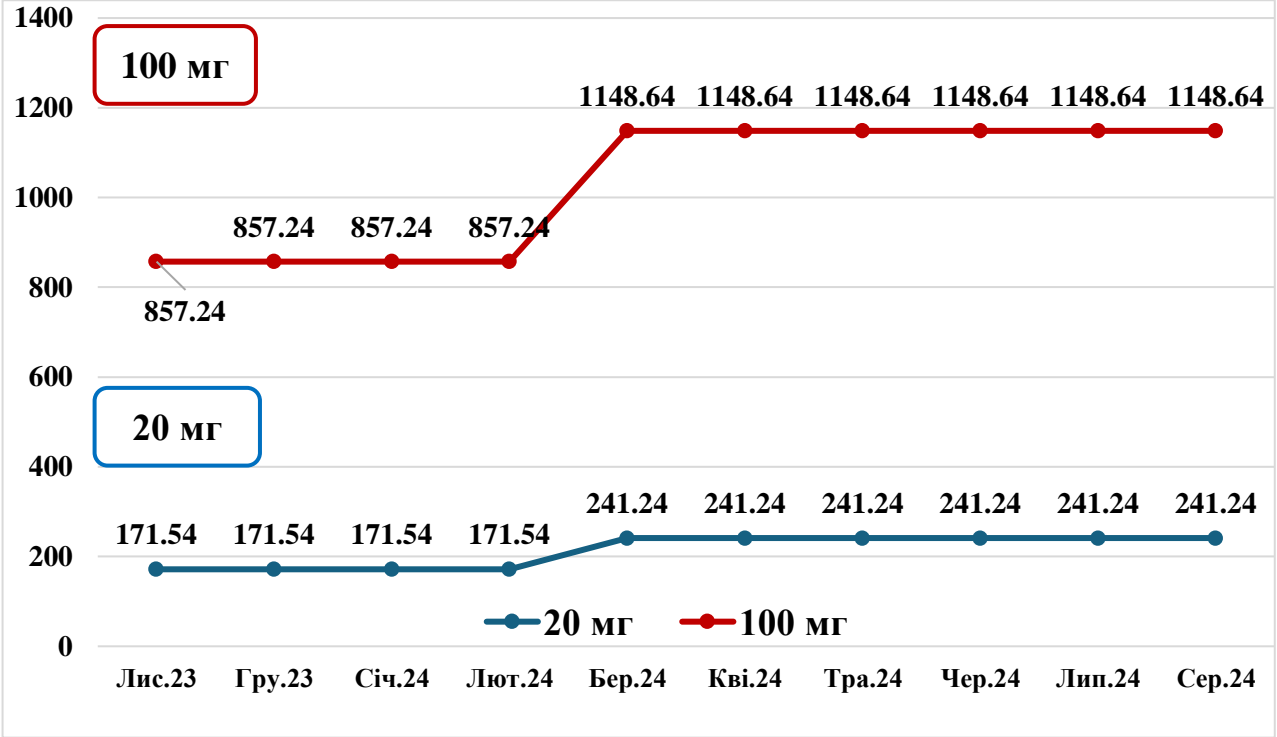
Рис. 2.4. Динаміка ОВЦ 1 капсули Темомедаку, Медас у дозі 20 мг, 100 мг, 140 мг, 180 мг, 250 мг у грн (а) і дол. США (б).



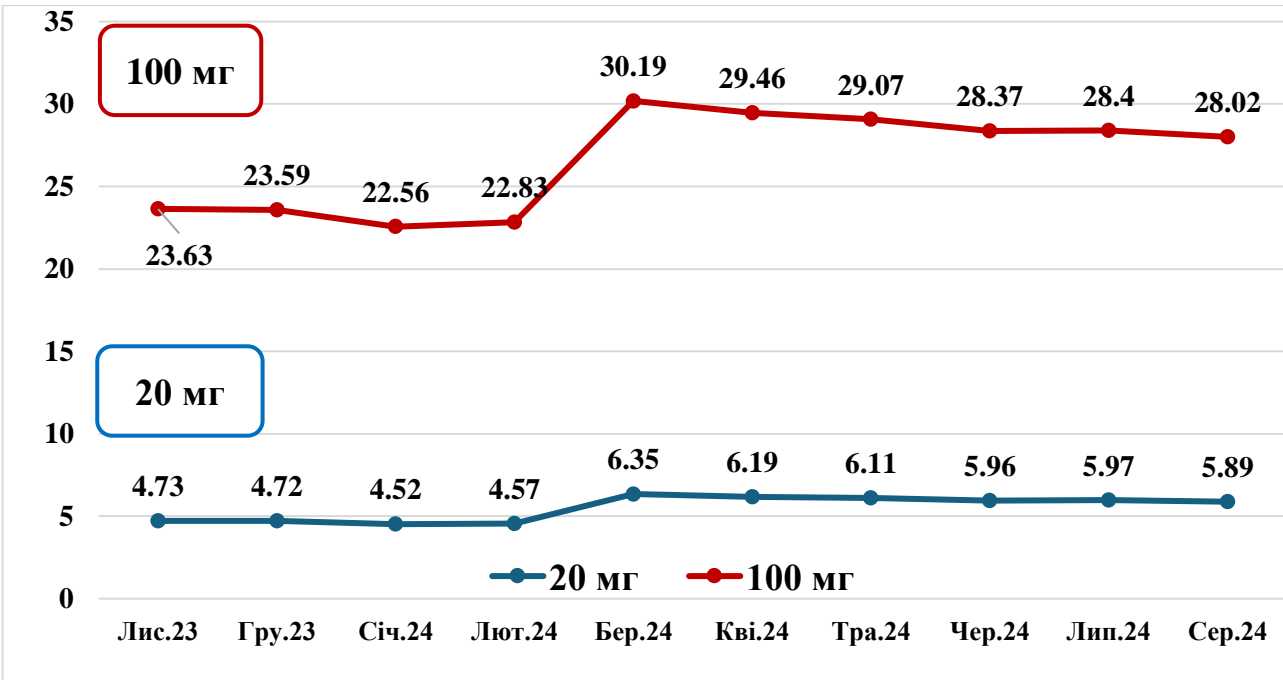
б

Закінчення

Інший представник темозоломіду – Темодал, капсули по 20, 100 мг, по 1 капсулі в саше, по 5 саше в коробці, Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія – пропонував 1 оптовий постачальник, а саме: ТОВ «Бізнес Центр Фармація». Динаміка ОВЦ 1 дози ЛП у грн (а) і дол. (б) показана на рис. 2.5.



а

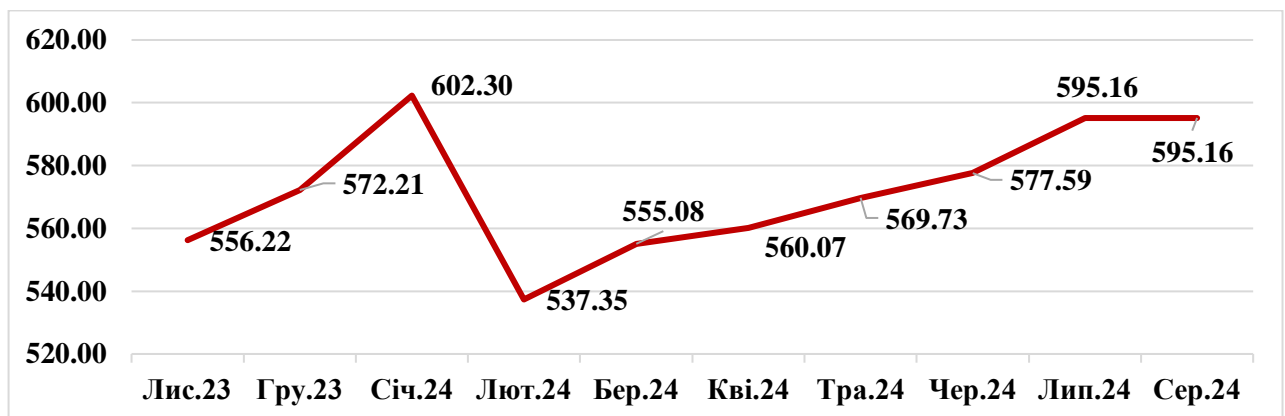


б

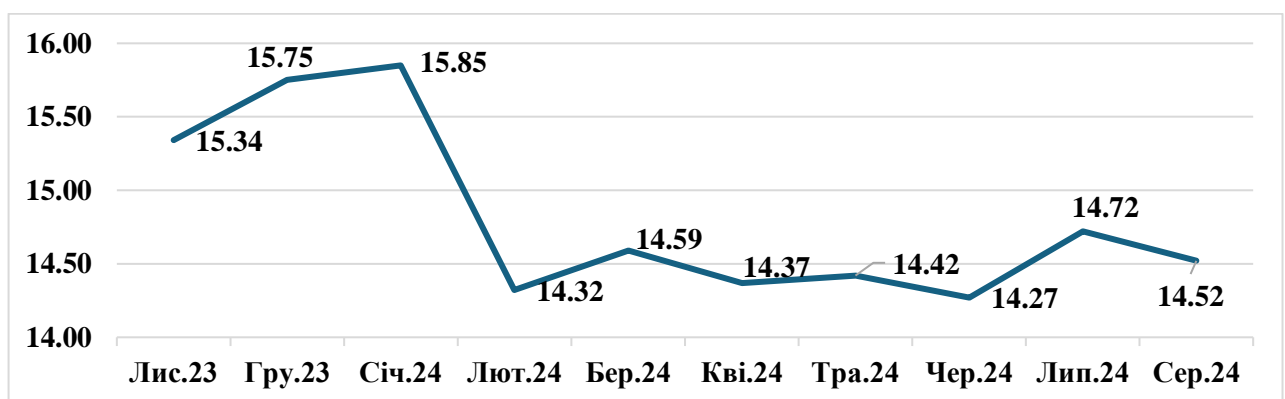
Рис. 2.5. Динаміка ОВЦ 1 капсули Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea у дозі 20 мг і 100 мг у грн (а) і дол. (б).

Результати моніторингу ОБЦ 1 капсули Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea, представлені на рис. 2.5, дозволяють стверджувати, що суттєве підвищення ціни обидвох дозувань як у грн, так і в дол. відбулося 1 раз – у березні 2024 року, що не мало прямого зв'язку зі зростанням курсу дол. в аналізований місяць. Як до того, так і опісля – ОБЦ обидвох дозувань у грн зберігало однакове значення, що відображувалося прямою. Загалом ОБЦ 1 капсули 20 мг зросла на 40.6% у грн і на 24.5% – у дол., 100 мг – на 34.0% і 18.6% відповідно.

Представник дакарбазину (L01AX04) Дакарбазин Медак, порошок для приготування розчину для ін'єкцій та інфузій 200 мг у флаконі, 10 скляних флаконів у картонній упаковці, Medac, Німеччина пропонували 2 оптові постачальники: ТОВ «БадМ» та ПП «О. Л. KAR. ФАРМ-СЕРВІС». Динаміка середньої ОБЦ 1 флакону по 200 мг у грн (а) і дол. (б) представлена на рис. 2.6.



а



б

Рис. 2.6. Динаміка ОБЦ 1 флакону Дакарбазину Медак, Medac у дозі 200 мг порошку для приготування розчину для ін'єкцій та інфузій у грн (а) і дол. (б).

Аналіз кривої моніторингу ОВЦ Дакарбазину Медак, Medac, показаної на рис. 2.6, дозволив установити, саме вона із 3-х найменувань ЛП найбільш близька до кривої росту дол. відносно грн, оскільки її підйом також було зафіксовано у січні 2024 року з наступним різким спадом вже у лютому того ж року. Проте, на цьому усі аналогії вичерпуються. Загалом, від листопада 2023 року до серпня 2024 року спостерігався ріст ОВЦ одиниці дозування цього ЛЗ у грн на 7.0%, а у дол., навпаки, спад – на 5.3%.

На наступному етапі роботи нами було визначено роздрібні ціни (РЦ) 3-х найменувань досліджуваних ЛП у наявних на ФР дозуваннях, а також обчислено коефіцієнти ліквідності (C_{liq}) для ОВЦ і РЦ, адекватності платоспроможності (C_{as}), доступності (D), які опосередковано вказують на лояльність ФР до ЛП та спроможність його придбання.

C_{liq} ОВЦ та РЦ Темомедаку, Medac представлені у табл. 2.1 та на рис. 2.7. Оскільки найбільш оптимальне значення C_{liq} знаходиться у межах 0-0.15, то на рис. 2.7 дана межа показана у вигляді неперервної обмежувальної лінії.

Як вказують дані розрахунків, представлених у табл. 2.1 та рис. 2.7, C_{liq} ОВЦ і РЦ Темомедаку, Medac всього лише 1 раз за аналізований період (у грудні 2023 року) перевищували значення 0.15, а у всі інші місяці аналізованого періоду вони знаходилися у межах передбаченої лояльності ФР до споживачів.

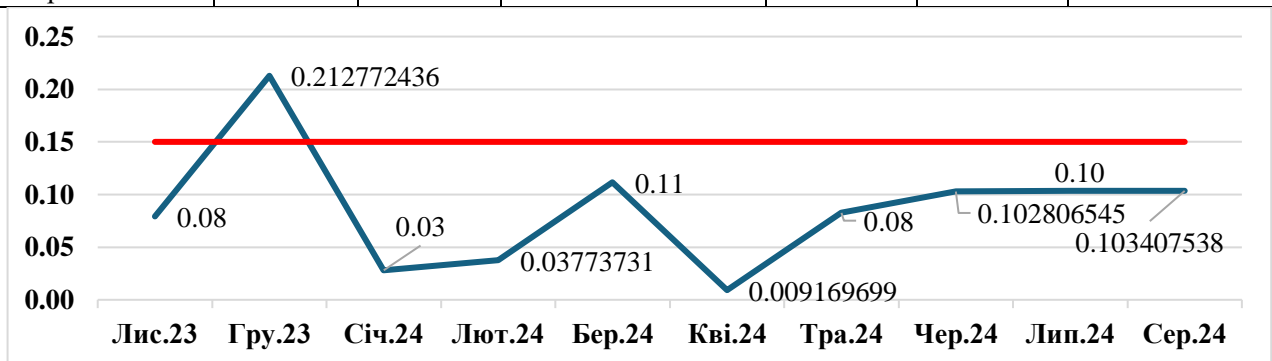
Таблиця 2.1

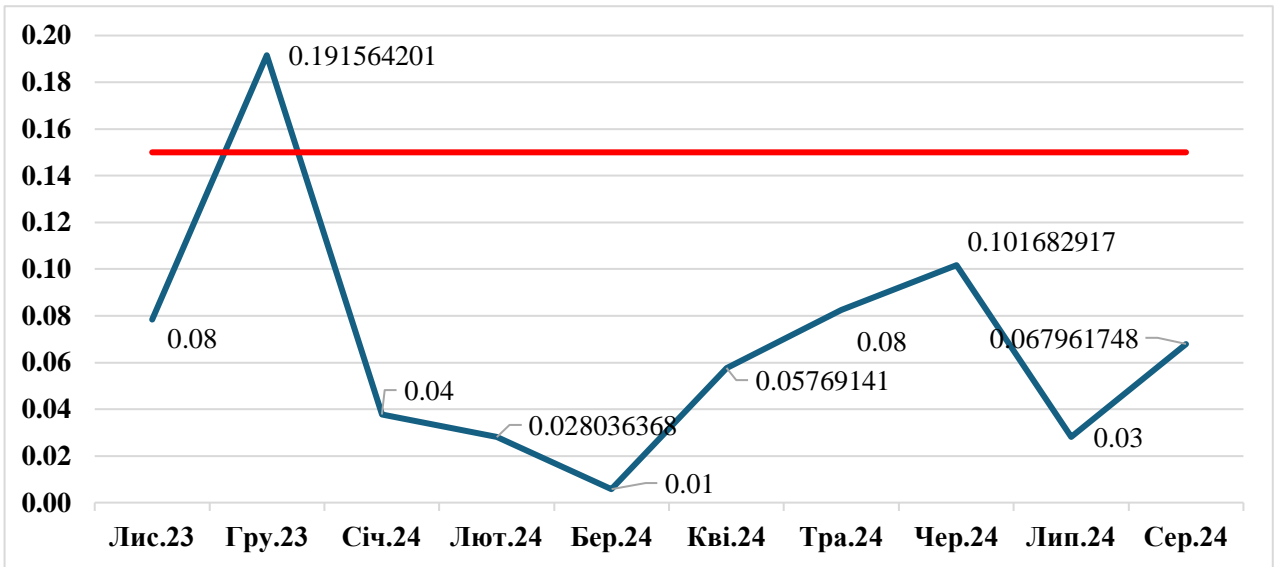
Моніторинг значень C_{liq} ОВЦ та РЦ 1-ї упаковки Темомедаку, Medac

Місяць рік	ОВЦ, грн		C_{liq} ОВЦ	РЦ, грн		C_{liq} РЦ
	мін.	макс.		мін.	макс.	
1	2	3	4	5	6	7
Темомедак, капс. 20 мг фл., №5, Medac, Німеччина						
Листопад 2023	1 609.09	-	0.00	1 625.18	1 753.90	0.08
Грудень 2023	1 672.98	2 108.50	0.26	2 150.67	1 773.35	0.21
Січень 2024	1 761.00	-	0.00	1 884.27	1 937.10	0.03
Лютий 2024	1 705.44	-	0.00	1 807.76	1 875.98	0.04
Березень 2024	1 770.23	1 898.11	0.07	1 878.21	2 087.92	0.11
Квітень 2024	1 769.89	-	0.00	1 929.18	1 946.87	0.01
Травень 2024	1 957.15	1 957.15	0.08	2 152.86	1 988.69	0.08
Червень 2024	1 816.21	2 002.93	0.10	1 997.83	2 203.22	0.10
Липень 2024	1 869.92	2 063.29	0.10	2 056.91	2 269.61	0.10
Серпень 2024	1 869.92	2 063.29	0.10	2 056.91	2 269.61	0.10
Темомедак, капс. 100 мг фл., №5, Medac, Німеччина						
Листопад 2023	4 869.71	-	0.00	4 967.10	5 356.68	0.08

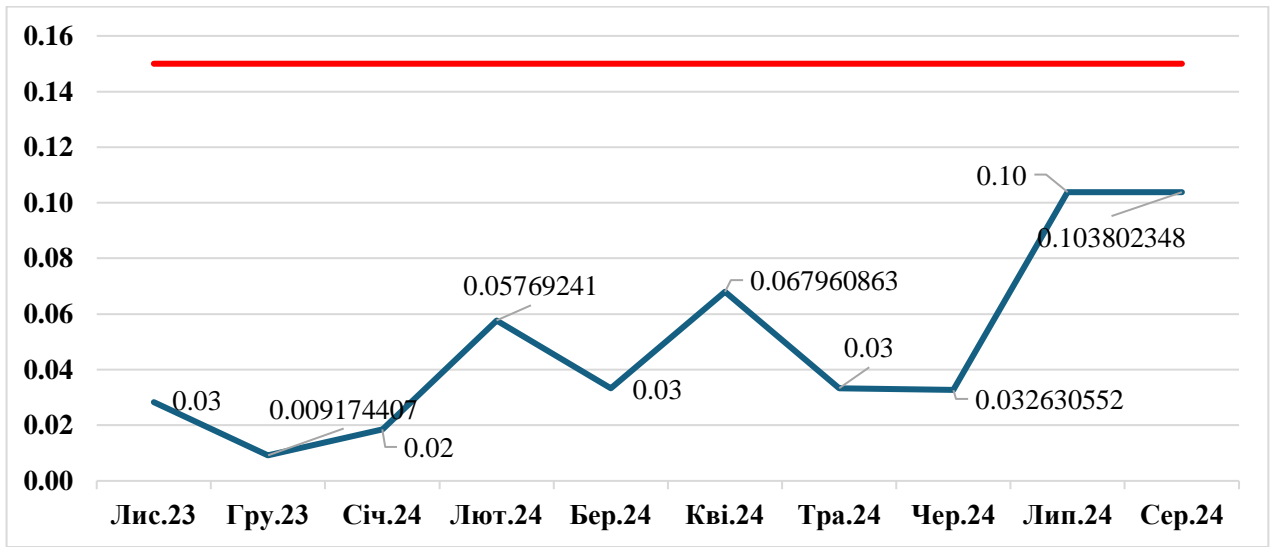
Продовження Таблиці 2.1

1	2	3	4	5	6	7
Грудень 2023	5 063.06	6 381.01	0.26	5 569.36	6 636.25	0.19
Січень 2024	5 329.45	-	0.00	5 649.21	5 862.39	0.04
Лютий 2024	5 161.19	-	0.00	5 522.47	5 677.30	0.03
Березень 2024	5 357.26	5 744.29	0.07	5 859.17	5 892.98	0.01
Квітень 2024	5 356.25	-	0.00	5 570.50	5 891.87	0.06
Травень 2024	5 471.49	5 922.95	0.08	6 018.63	6 515.24	0.08
Червень 2024	5 496.41	6 055.30	0.10	6 046.05	6 660.83	0.10
Липень 2024	5 658.96	-	0.00	6 055.08	6 224.85	0.03
Серпень 2024	5 658.96	-	0.00	6 224.85	5 828.72	0.07
Темомедак, капс. 140 мг фл., №5, Медас, Німеччина						
Листопад 2023	6 817.25	-	0.00	7 226.28	7 430.80	0.03
Грудень 2023	7 087.93	-	0.00	7 725.84	7 796.72	0.01
Січень 2024	7 405.06	-	0.00	7 997.46	8 145.56	0.02
Лютий 2024	7 225.66	-	0.00	7 514.68	7 948.22	0.06
Березень 2024	7 500.16	8 042.01	0.07	8 250.17	8 524.53	0.03
Квітень 2024	7 500.16	-	0.00	7 723.71	8 248.62	0.07
Травень 2024	7 660.08	8 292.13	0.08	8 426.08	8 706.73	0.03
Червень 2024	7 694.97	8 486.08	0.10	8 464.46	8 740.66	0.03
Липень 2024	7 922.55	8 744.93	0.10	8 160.22	9 007.27	0.10
Серпень 2024	7 922.55	8 744.93	0.10	8 160.22	9 007.27	0.10
Темомедак, капс. 180 мг фл., №5, Медас, Німеччина						
Листопад 2023	8 766.20	-	0.00	8 941.52	9 642.82	0.08
Грудень 2023	9 114.25	11320.52	0.24	11 660.13	10 025.67	0.16
Січень 2024	9 593.79	-	0.00	10 361.29	10 553.16	0.02
Лютий 2024	9 361.36	-	0.00	9 642.20	10 297.49	0.07
Березень 2024	9 717.00	-	0.00	10 105.68	10 688.70	0.06
Квітень 2024	9 715.16	-	0.00	10 298.06	10 686.67	0.04
Травень 2024	9 924.19	-	0.00			0.07
Темомедак, капс. 250 мг фл., №5, Медас, Німеччина						
Листопад 2023	12152.49	-	0.00	12 517.06	13 367.73	0.07
Грудень 2023	12635.00	15924.81	0.26	13 898.50	16 243.30	0.17
Січень 2024	13299.78	-	0.00	13 831.77	14 629.75	0.06
Березень 2024	13369.86	-	0.00	13 770.95	14 706.84	0.07
Квітень 2024	13367.33	-	0.00	13 634.67	14 704.06	0.08
Травень 2024	13654.93	14781.61	0.08	14 337.67	15 520.69	0.08
Червень 2024	13717.13	15127.36	0.10	14 677.32	16 640.09	0.13
Липень 2024	14122.80	15588.78	0.10	15 535.08	16 524.10	0.06
Серпень 2024	14122.80	15588.78	0.10	15 535.08	17 147.65	0.10

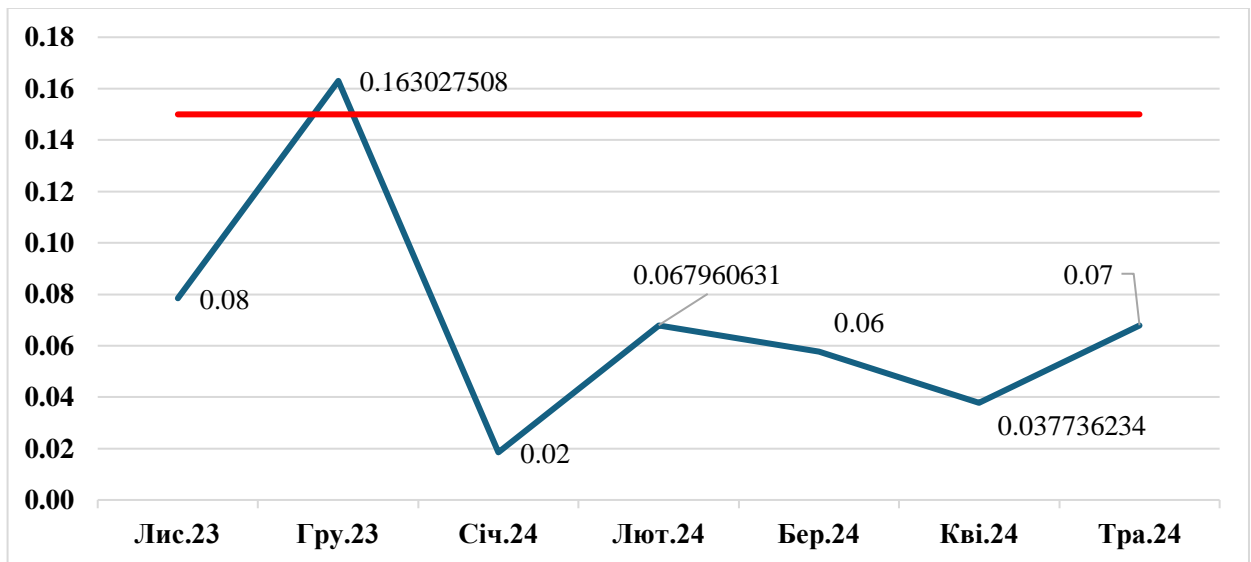




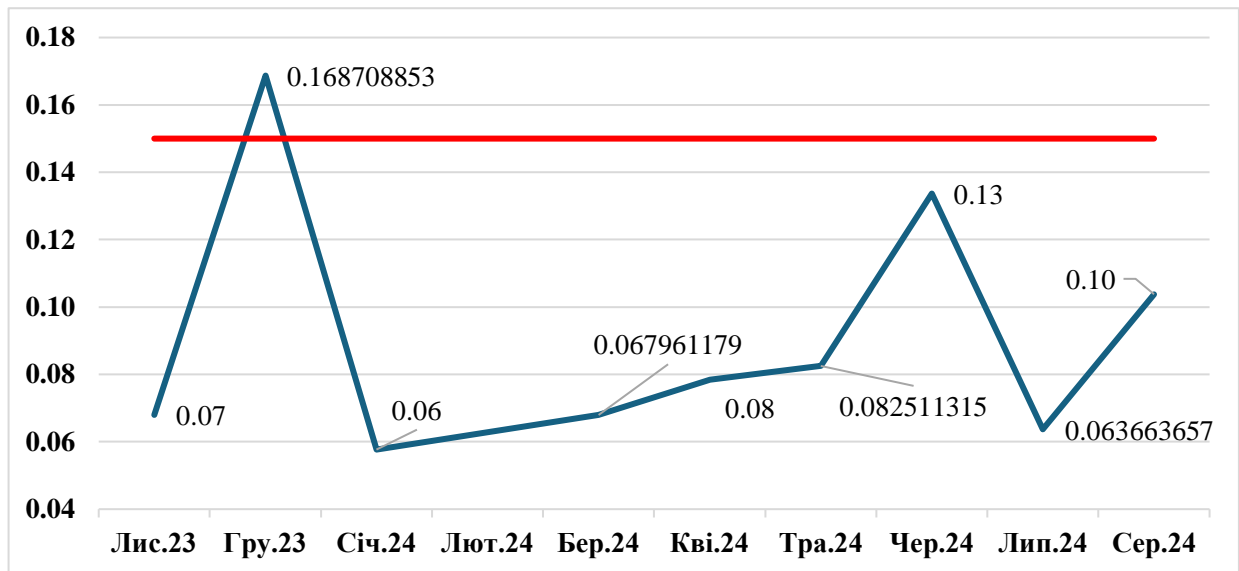
б



в



г



д

Рис. 2.7. Динаміка значення C_{liq} РЦ Темомедаку, Medac: а – доза 20 мг; б – доза 100 мг; в – доза 140 мг; г – доза 180 мг; д – доза 250 мг

Значення C_{liq} РЦ Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea представлені у табл. 2.2 та на рис. 2.8. C_{liq} для ОВЦ не обчислювався, оскільки даний ЛП пропонував лише 1 оптовий постачальник.

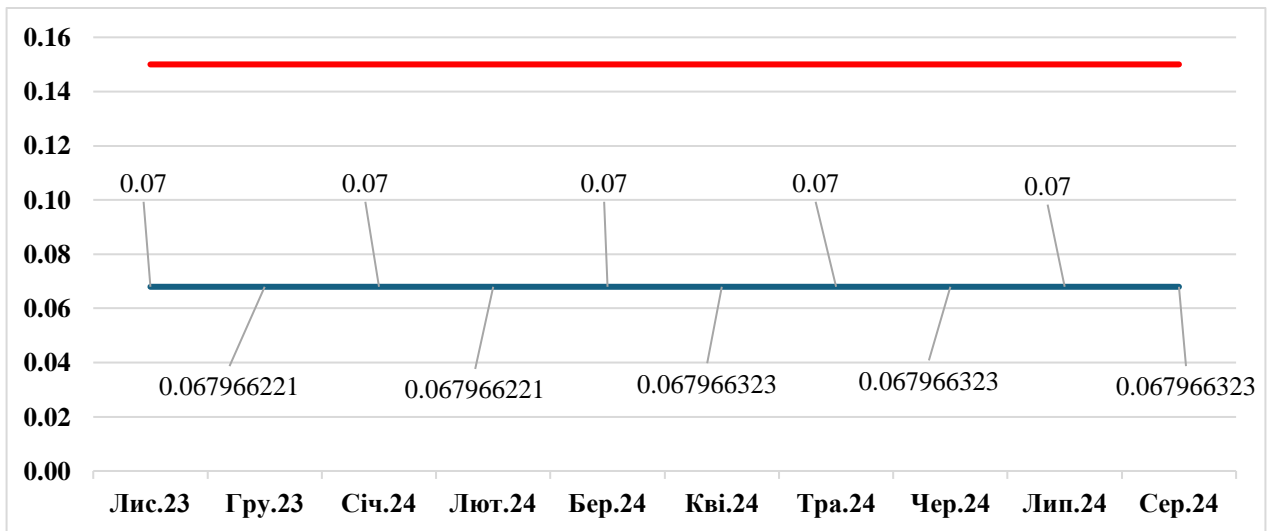
Таблиця 2.2

Моніторинг значень C_{liq} РЦ 1-ї упаковки Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea

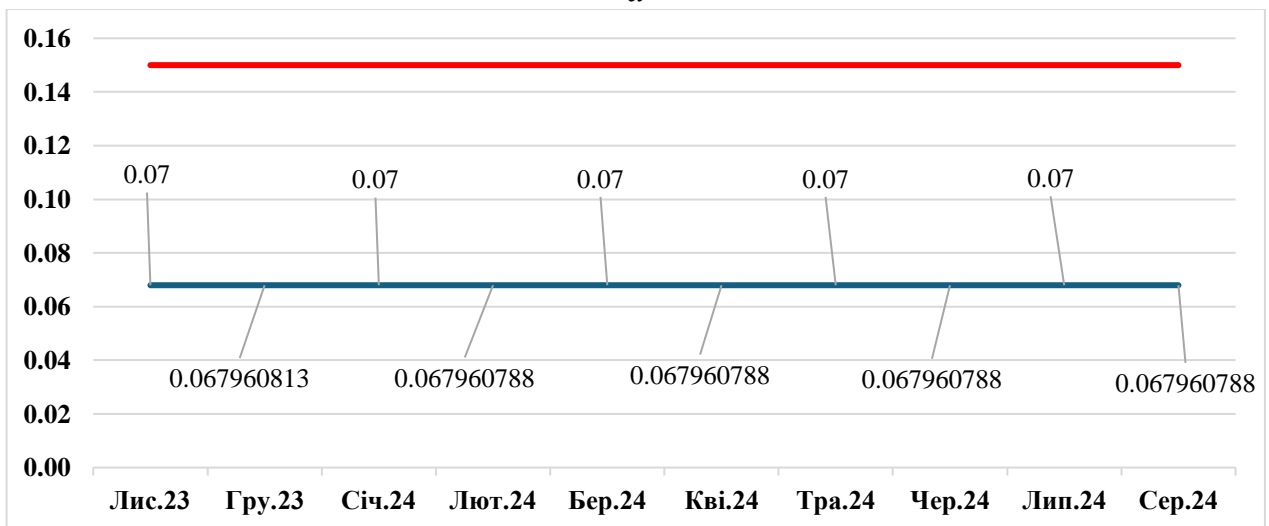
Місяць рік	РЦ, грн		C_{liq} РЦ
	мін.	макс.	
1	2	3	4
Темодал, капс. 20 мг саше №5, Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія			
Листопад 2023	883.38	943.42	0.07
Грудень 2023	883.38	943.42	0.07
Січень 2024	883.38	943.42	0.07
Лютий 2024	883.38	943.42	0.07
Березень 2024	1 242.38	1 326.82	0.07
Квітень 2024	1 242.38	1 326.82	0.07
Травень 2024	1 242.38	1 326.82	0.07
Червень 2024	1 242.38	1 326.82	0.07
Липень 2024	1 242.38	1 326.82	0.07
Серпень 2024	1 242.38	1 326.82	0.07
Темодал капс. 100 мг саше, №5, Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія			
Листопад 2023	4 414.75	4 714.78	0.07
Грудень 2023	4 414.75	4 714.78	0.07
Січень 2024	4 414.75	4 714.78	0.07

Продовження Таблиці 2.2

1	2	3	4
Лютий 2024	4 414.75	4 714.78	0.07
Березень 2024	5 915.47	6 317.49	0.07
Квітень 2024	5 915.47	6 317.49	0.07
Травень 2024	5 915.47	6 317.49	0.07
Червень 2024	5 915.47	6 317.49	0.07
Липень 2024	5 915.47	6 317.49	0.07
Серпень 2024	5 915.47	6 317.49	0.07



а



б

Рис. 2.8. Динаміка значення C_{liq} роздрібних цін ЛПІ Темодал, Merck Sharp & Dohme Idea: а – доза 20 мг; б – доза 100 мг

Аналізом даних табл. 2.2 і рис. 2.8 встановлено, що коливання РЦ на ЛПІ Темодал, Merck Sharp & Dohme Idea було мінімальним, тому C_{liq} знаходився в межах прийнятої норми упродовж всього аналізованого періоду.

Динаміку значень C_{liq} ОВЦ та РЦ Дакарбазину Медак, Medac показано у табл. 2.3 та на рис. 2.9.

Таблиця 2.3

Моніторинг значень C_{liq} ОВЦ і РЦ 1-ї упаковки Дакарбазину Медак, Medac

Місяць рік	ОВЦ, грн		C_{liq} ОВЦ	РЦ, грн		C_{liq} РЦ
	мін.	макс.		мін.	макс.	
Дакарбазин Медак, р-н д/ін. та інф. 200 мг фл., №10, Medac, Німеччина						
Листопад 2023	4 869.71	6 254.42	0.28	5 210.58	6 379.50	0.22
Грудень 2023	5 063.06	6 381.08	0.26	5 468.10	6 444.89	0.18
Січень 2024	5 289.33	6 756.54	0.28	5 765.36	6 824.10	0.18
Лютий 2024	5 161.19	5 585.73	0.08	5 367.63	5 641.58	0.05
Березень 2024	5 357.26	5 744.29	0.07	5 571.55	5 859.17	0.05
Квітень 2024	5 356.25	5 844.95	0.09	5 677.62	5 903.39	0.04
Травень 2024	5 471.49	5 922.95	0.08	5 909.20	6 041.40	0.02
Червень 2024	5 496.41	6 055.30	0.10	5 881.15	6 115.85	0.04
Липень 2024	5 658.96	6 244.20	0.10	6 168.26	6 369.08	0.03
Серпень 2024	5 658.96	6 244.20	0.10	6 168.26	6 369.08	0.03

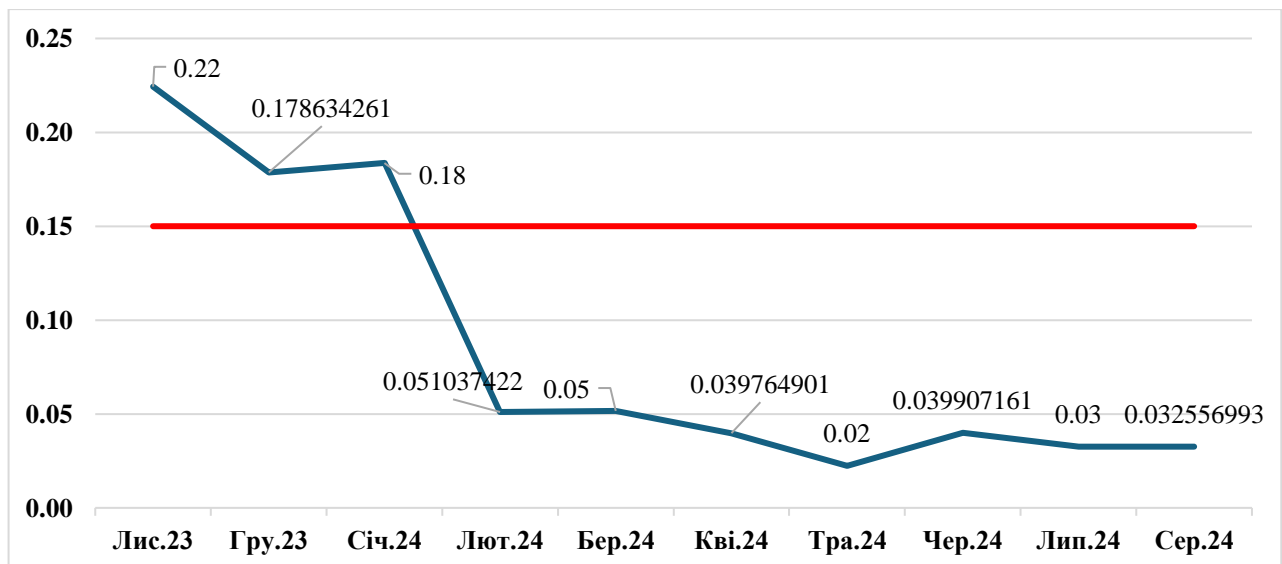


Рис. 2.9. Динаміка значення C_{liq} РЦ Дакарбазину Медак, Medac

Як виявив аналіз даних табл. 2.3 та рис. 2.9, наприкінці 2023 і на початку 2024 років спостерігалась певна нестабільність цінової політики оптових постачальників та роздрібних мереж щодо Дакарбазину Медак, Medac, оскільки C_{liq} як для ОВЦ, так і РЦ були вищими 0.15, а з лютого 2024 року ціни ЛП стабілізувались і C_{liq} увійшли у межі передбаченої норми.

Ще одними аналізованими показниками лояльності ФР були коефіцієнти адекватності платоспроможності (C_{as}) і доступності (D) [125, 126]. Значення середньої ЗП за 2023 та 2024 роки було отримано з інформаційного порталу Пенсійного фонду України [119] (рис. 2.10).

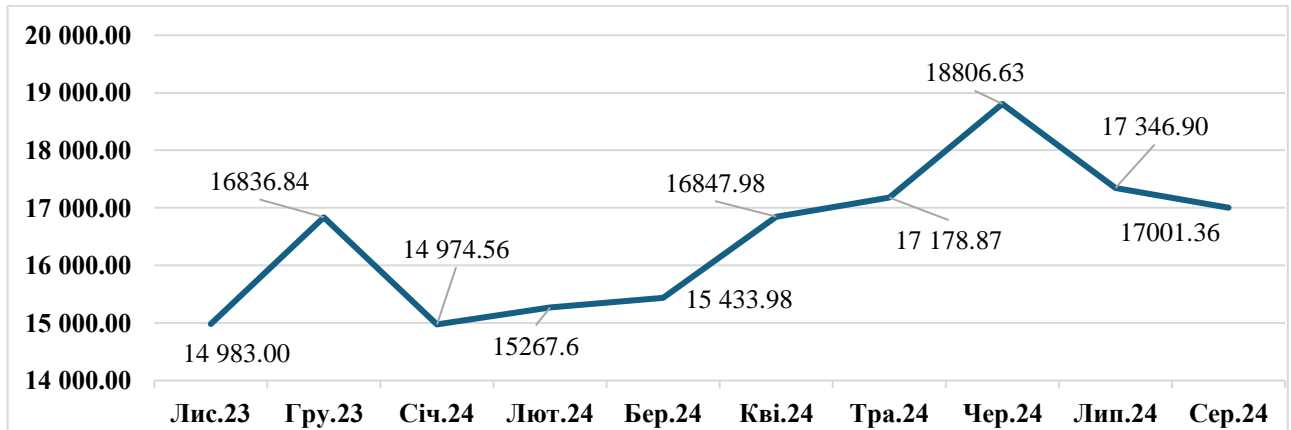


Рис. 2.10. Динаміка середньої ЗП в Україні (листопад 2023 – серпень 2024)

Отже, встановлено, що за аналізований період середня ЗП в Україні зросла на 13.47% (рис. 2.10), що було співмірно зі зростанням курсу дол., який зріс відносно грн на 13.02% (див. рис. 2.3). Найвища ЗП була у червні 2024 року.

Значення коефіцієнтів C_{as} і D, середнє значення РЦ 1-ї упаковки ЛП у розрізі місяців моніторингу та загальне середнє значення РЦ упродовж періоду дослідження, стандартне відхилення загальної середньої РЦ (SD) та коефіцієнт варіації (CV%) у відсотках для Темомедаку, Medac представлено у табл. 2.4.

Таблиця 2.4

Моніторинг значень коефіцієнтів C_{as} і D для 1-ї упаковки Темомедаку, Medac

Місяць рік	Середня РЦ у місяці моніторингу, грн	Середня загальна РЦ, грн	SD (стандартне відхилення)	CV% (коэф. варіації)	Середня ЗП, грн	C_{as}	D
1	2	3	4	5	6	7	8
Темомедак, капс. 20 мг фл., №5, Medac, Німеччина							
Листопад 2023	1 689.54	1 982.30	149.16	7.52%	14 983.00	0.11	0.89
Грудень 2023	1 962.01				16 836.84	0.12	0.88
Січень 2024	1 910.69				14 974.56	0.13	0.87
Лютий 2024	1 841.87				15 267.60	0.12	0.88
Березень 2024	1 983.07				15 433.98	0.13	0.87
Квітень 2024	1 938.03				16 847.98	0.12	0.88
Травень 2024	2 070.78				17 178.87	0.12	0.88
Червень 2024	2 100.53				18 806.63	0.11	0.89

Продовження Таблиці 2.5

1	2	3	4	5	6	7	8
Липень 2024	2 163.26				17 346.90	0.12	0.88
Серпень 2024	2 163.26				17 001.36	0.13	0.87
Темомедак, капс. 100 мг фл., №5, Медас, Німеччина							
Листопад 2023	5 161.89	5 901.48	355.86	6.03%	14 983.00	0.34	0.66
Грудень 2023	6 102.81				16 836.84	0.36	0.64
Січень 2024	5 755.80				14 974.56	0.38	0.62
Лютий 2024	5 599.89				15 267.60	0.37	0.63
Березень 2024	5 876.08				15 433.98	0.38	0.62
Квітень 2024	5 731.19				16 847.98	0.34	0.66
Травень 2024	6 266.94				17 178.87	0.36	0.64
Червень 2024	6 353.44				18 806.63	0.34	0.66
Липень 2024	6 139.97				17 346.90	0.35	0.65
Серпень 2024	6 026.79				17 001.36	0.35	0.65
Темомедак, капс. 140 мг фл., №5, Медас, Німеччина							
Листопад 2023	7 328.54	8 160.28	452.63	5.55%	14 983.00	0.49	0.51
Грудень 2023	7 761.28				16 836.84	0.46	0.54
Січень 2024	8 071.51				14 974.56	0.54	0.46
Лютий 2024	7 731.45				15 267.60	0.51	0.49
Березень 2024	8 387.35				15 433.98	0.54	0.46
Квітень 2024	7 986.17				16 847.98	0.47	0.53
Травень 2024	8 566.41				17 178.87	0.50	0.50
Червень 2024	8 602.56				18 806.63	0.46	0.54
Липень 2024	8 583.75				17 346.90	0.49	0.51
Серпень 2024	8 583.75				17 001.36	0.50	0.50
Темомедак, капс. 180 мг фл., №5, Медас, Німеччина							
Листопад 2023	9 292.17	10 288.71	510.27	4.96%	14 983.00	0.62	0.38
Грудень 2023	10 842.90				16 836.84	0.64	0.36
Січень 2024	10 457.23				14 974.56	0.7	0.30
Лютий 2024	9 969.85				15 267.60	0.65	0.35
Березень 2024	10 397.19				15 433.98	0.67	0.33
Квітень 2024	10 492.37				16 847.98	0.62	0.38
Травень 2024	10 569.26				17 178.87	0.62	0.38
Темомедак, капс. 250 мг фл., №5, Медас, Німеччина							
Листопад 2023	12 942.40	14 845.68	1 071.43	7.22%	14 983.00	0.86	0.14
Грудень 2023	15 070.90				16 836.84	0.90	0.10
Січень 2024	14 230.76				14 974.56	0.95	0.05
Березень 2024	14 238.90				15 433.98	0.92	0.08
Квітень 2024	14 169.37				16 847.98	0.84	0.16
Травень 2024	14 929.18				17 178.87	0.87	0.13
Червень 2024	15 658.71				18 806.63	0.83	0.17
Липень 2024	16 029.59				17 346.90	0.92	0.08
Серпень 2024	16 341.37				17 001.36	0.96	0.04

Як вказують результати дослідження, подані у табл. 2.4, значення C_{as} для всіх ЛП Темомедаку, Медас були у межах 0.11–0.96, а D – 0.04–0.89 у залежності від дозування. Оскільки дані показники доступності прийнято застосовувати

лише до вартості упаковки ЛП, а не курсової вартості, а також вони не враховують інші, окрім ЗП, впливи на доступність ЛП, то їх варто, на нашу думку, застосовувати для порівняння відносної доступності у межах групи ЛП, МНН чи окремих дозувань. Так, за динамікою двох коефіцієнтів доступності препарату Темомедаку, Medac виявлено, що усі дозування ЛП (окрім 180 мг через відсутність на ФР) були найдоступнішими у червні 2024 року – у місяці найвищої в аналізованому періоді середньої ЗП в Україні. Коефіцієнти варіації загальних середніх РЦ цього ЛП не перевищували 8%.

Розрахунок аналогічних показників доступності для ЛП Темодал, Merck Sharp & Dohme Idea представлено у табл. 2.5.

Таблиця 2.5

Моніторинг значень коефіцієнтів C_{as} і D для 1-ї упаковки Темодалу Merck Sharp & Dohme Idea

Місяць рік	Середня РЦ у місяці моніторингу, грн	Середня загальна РЦ, грн	SD (стандартне відхилення)	CV% (коэф. варіації)	Середня ЗП, грн	C_{as}	D
Темодал капс. 20 мг саше, №5, Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія							
Листопад 2023	913.40	1 136.12	191.69	16.87%	14 983.00	0.06	0.94
Грудень 2023	913.40				16 836.84	0.05	0.95
Січень 2024	913.40				14 974.56	0.06	0.94
Лютий 2024	913.40				15 267.60	0.06	0.94
Березень 2024	1 284.60				15 433.98	0.08	0.92
Квітень 2024	1 284.60				16 847.98	0.08	0.92
Травень 2024	1 284.60				17 178.87	0.07	0.93
Червень 2024	1 284.60				18 806.63	0.07	0.93
Липень 2024	1 284.60				17 346.90	0.07	0.93
Серпень 2024	1 284.60				17 001.36	0.08	0.92
Темодал капс. 100 мг саше, №5, Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія							
Листопад 2023	4 564.77	5 495.79	801.30	14.58%	14 983.00	0.30	0.70
Грудень 2023	4 564.77				16 836.84	0.27	0.73
Січень 2024	4 564.77				14 974.56	0.30	0.70
Лютий 2024	4 564.77				15 267.60	0.30	0.70
Березень 2024	6 116.48				15 433.98	0.40	0.60
Квітень 2024	6 116.48				16 847.98	0.36	0.64
Травень 2024	6 116.48				17 178.87	0.36	0.64
Червень 2024	6 116.48				18 806.63	0.33	0.67
Липень 2024	6 116.48				17 346.90	0.35	0.65
Серпень 2024	6 116.48				17 001.36	0.36	0.64

Отже, обидва дозування Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea були найдоступнішими у грудні 2023 року, коли мали найнижчий C_{as} і найвищий D (табл. 2.5). Водночас коефіцієнт варіації РЦ становив 16.87% для дози 20 мг та 14.58% – 100 мг, що пов'язано з одноразовим суттєвим підвищенням як ОВЦ, так і РЦ у березні 2024 року.

Значення C_{as} і D, загальної середньої РЦ, стандартного її відхилення та коефіцієнта варіації для Дакарбазину Медак, Medac представлено у табл. 2.6.

Таблиця 2.6

**Моніторинг значень коефіцієнтів C_{as} і D для 1-ї упаковки Дакарбазину
Медак, Medac**

Місяць рік	Середня РЦ у місяці моніторингу, грн	Середня загальна РЦ, грн	SD (стандартне відхилення)	CV% (коэф. варіації)	Середня ЗП, грн	C_{as}	D
Дакарбазин Медак, р-н д/інф. та інф. 200 мг фл., №10, Medac, Німеччина							
Листопад 2023	5 795.04	5 956.79	264.03	4.43%	14 983.00	0.39	0.61
Грудень 2023	5 956.50				16 836.84	0.35	0.65
Січень 2024	6 294.73				14 974.56	0.42	0.58
Лютий 2024	5 504.61				15 267.60	0.36	0.64
Березень 2024	5 715.36				15 433.98	0.37	0.63
Квітень 2024	5 790.51				16 847.98	0.34	0.66
Травень 2024	5 975.30				17 178.87	0.35	0.65
Червень 2024	5 998.50				18 806.63	0.32	0.68
Липень 2024	6 268.67				17 346.90	0.36	0.64
Серпень 2024	6 268.67				17 001.36	0.37	0.63

Результат аналізу, представлений у табл. 2.6, вказує, що для Дакарбазину Медак, Medac, найоптимальніші значення C_{as} (найнижчий) і D (найвищий) також були у червні 2024 року, коли було зафіксовано найвищу ЗП в Україні за період моніторингу. Значення коефіцієнту варіації РЦ у цей період становило 4.43%.

Отже, на ріст доступності ЛП найбільш суттєво впливало зростання ЗП.

Наступним етапом аналізу соціально-економічної доступності представників групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» була оцінка їх наявності у вітчизняних СЕРП ЛЗ. Результати дослідження присутності темозоломідів і дакарбазину у СЕРП ЛЗ в Україні подані у табл. 2.7.

Оцінка присутності ЛП МНН темозоломіду та дакарбазину у соціально-економічних регулюючих переліках ЛЗ в Україні (жовтень 2024 року)

МНН	Форма випуску	Дозування	Торговельна назва ЛЗ, виробник	Державний реєстр ЛЗ [117]	Національний перелік ОЛЗ [120]	Перелік ЛЗ, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм та здійснення централізованих заходів з ОЗ [121]	Перелік ЛЗ, які підлягають реімбурсації за програмою державних гарантій медичного обслуговування населення [122]	Реєстр ОВЦ [123]	ДФ ЛЗ [124]	Фізична наявність на ФР [118]
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Темозоломід	тверда перор. ЛФ	5 мг	Темомедак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль-препарате мБХ	+	+	-	-	-	+	-
			Темомедак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль-препарате мБХ	+	+	+	-	-	+	+
			Темодал, Оріон Фарма	+	+	+	-	-	+	+
		20 мг	Темозоломід Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В.	+	+	+	-	-	+	-
			Аккотім, Інтас Фармасьютікалз Лімітед	+	+	+	-	-	+	-
			Гліозомід, ЕйГен Фарма Лімітед	+	+	+	-	-	+	-
		100 мг	Темомедак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль-препарате мБХ	+	+	+	-	-	+	+
			Темодал, Оріон Фарма	+	+	+	-	-	+	+
			Темозоломід Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В.	+	+	+	-	-	+	-
			Аккотім, Інтас Фармасьютікалз Лімітед	+	+	+	-	-	+	-
			Гліозомід, ЕйГен Фарма Лімітед	+	+	+	-	-	+	-

Продовження Таблиці 2.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
		140 мг	Темомедак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль- препарате мБХ	+	+	-	-	-	+	+	
			Темозоломід Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В.	+	+	-	-	-	-	-	
			Аккотім, Інтас Фармасью- тікалз Лімітед	+	+	-	-	-	+	-	
		180 мг	Темомедак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль- препарате мБХ	+	+	-	-	-	+	+	
			Темозоломід Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В.	+	+	-	-	-	-	-	
			Аккотім, Інтас Фармасью- тікалз Лімітед	+	+	-	-	-	+	-	
			Гліозомід, ЕйГен Фарма Лімітед	+	+	-	-	-	+	-	
		250 мг	Темомедак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль- препарате мБХ	+	+	+	-	-	+	+	
			Темозоломід Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В.	+	+	+	-	-	+	-	
			Аккотім, Інтас Фармасью- тікалз Лімітед	+	+	+	-	-	+	-	
			Гліозомід, ЕйГен Фарма Лімітед	+	+	+	-	-	+	-	
		пор. для р- ну для інф.	100 мг	Темодал, Оріон Фарма	+	+	-	-	+	+	-
		сусп. ораль на	30 мг/мл	-	-	+	-	-	-	-	-

Продовження Таблиці 2.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Дакарбазин	пор./ліоф. для р-ну для ін. / інф.	100 мг	Дакарбазин Медак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль- препарате мБХ	+	+	-	-	-	+	-		
			Дакарбазин, Венус Ремедіс Лімітед	+	+	+	-	-	+	-		
		200 мг	Дакарбазин Медак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль- препарате мБХ	+							+	+
			Дакарбазин, Венус Ремедіс Лімітед	+	+	-	-	-	+	-		
		500 мг	Дакарбазин Медак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль- препарате мБХ	+	+	-	-	-	+	-		
			Дакарбазин, Венус Ремедіс Лімітед	+	+	-	-	-	+	-		
		1000 мг	Дакарбазин Медак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль- препарате мБХ	+	+	-	-	-	+	-		

Результати дослідження, згруповані у табл. 2.7 свідчать, що до Національного переліку ОЛЗ [120] увійшли 30 представників за кодами L01AX03 і L01AX04, серед яких 5 найменувань темозоломіду, з врахуванням дозувань і ЛФ – 24 ЛП і 2 найменування дакарбазину – 6 ЛП. Водночас, у Державному реєстрі ЛЗ [117] на один ЛП було менше, оскільки не була зареєстрована оральна суспензія темозоломіду у дозуванні 30 мг/мл. Фізично на ФР були присутні 2 найменування у вигляді 7 ЛП темозоломіду і 1 ЛП дакарбазину (усього 8 ЛП) [118], з яких до Переліку ЛЗ, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм та здійснення централізованих заходів з ОЗ [121] для потреб онкологічних хворих увійшли

тверді ЛФ у дозуванні 20, 100 та 250 мг темозоломід у порошок / ліофілізат для розчину для інфузій / ін'єкцій у дозуванні 200 мг дакарбазину. Виявлено, що ЛП темозоломід та дакарбазину не належать до таких, які підлягають частковій чи повній реімбурсації за програмою «Доступні ліки» [122]. Станом на 16.08.2024 р. Реєстр ОВЦ на ЛЗ із задекларованими змінами [123] включав усього 1 ЛП із зареєстрованих, а саме: Темодал, Оріон Фарма у формі порошку для приготування розчину для інфузій по 100 мг, який був відсутній на ФР [118]. У 16-му випуску ДФЛЗ (2024) [124] були наявні ті ж 27 зареєстрованих ЛП, що і в Національному переліку ОЛЗ, окрім 2-х дозувань Темозоломід Аккорд (Аккорд Хелскеа С.Л.У., Іспанія) та незареєстрованої суспензії темозоломід.

2.3. Окреслення ролі фармацевтів у реалізації Національної стратегії контролю злоякісних новоутворень та дослідження проблем доступності медичної і фармацевтичної допомоги пацієнтам з онкопатологіями в системі громадського здоров'я в Україні

02 серпня 2024 р. Кабінет Міністрів України (КМУ) ухвалив Розпорядження за №730-р «Про схвалення Національної стратегії контролю злоякісних новоутворень на період до 2030 року та затвердження плану дій з її реалізації на період до 2025 року» [129]. У цій Стратегії акцентовано пріоритети у подоланні онкопатологій у такій послідовності: профілактика → рання діагностика → лікування → реабілітація → паліативна допомога. Особливий акцент зроблено на раннє розпізнання онкопатологій, що покращує прогноз хвороби та підносить шанс на одужання пацієнта. Реалізація Стратегії передбачена у три послідовні етапи: перший – 2024-2025 роки, другий – 2026-2028 роки, третій – 2029-2030 роки. На перший етап разом зі Стратегією був затверджений план її виконання. Фінансування Стратегії відбуватиметься у розрізі видатків, передбачених у державному та місцевих бюджетах на відповідний рік із залученням міжнародної допомоги, інших джерел, не заборонених законодавством [129].

Стратегія має 7 цілей, які схематично представлені на рис. 2.11.

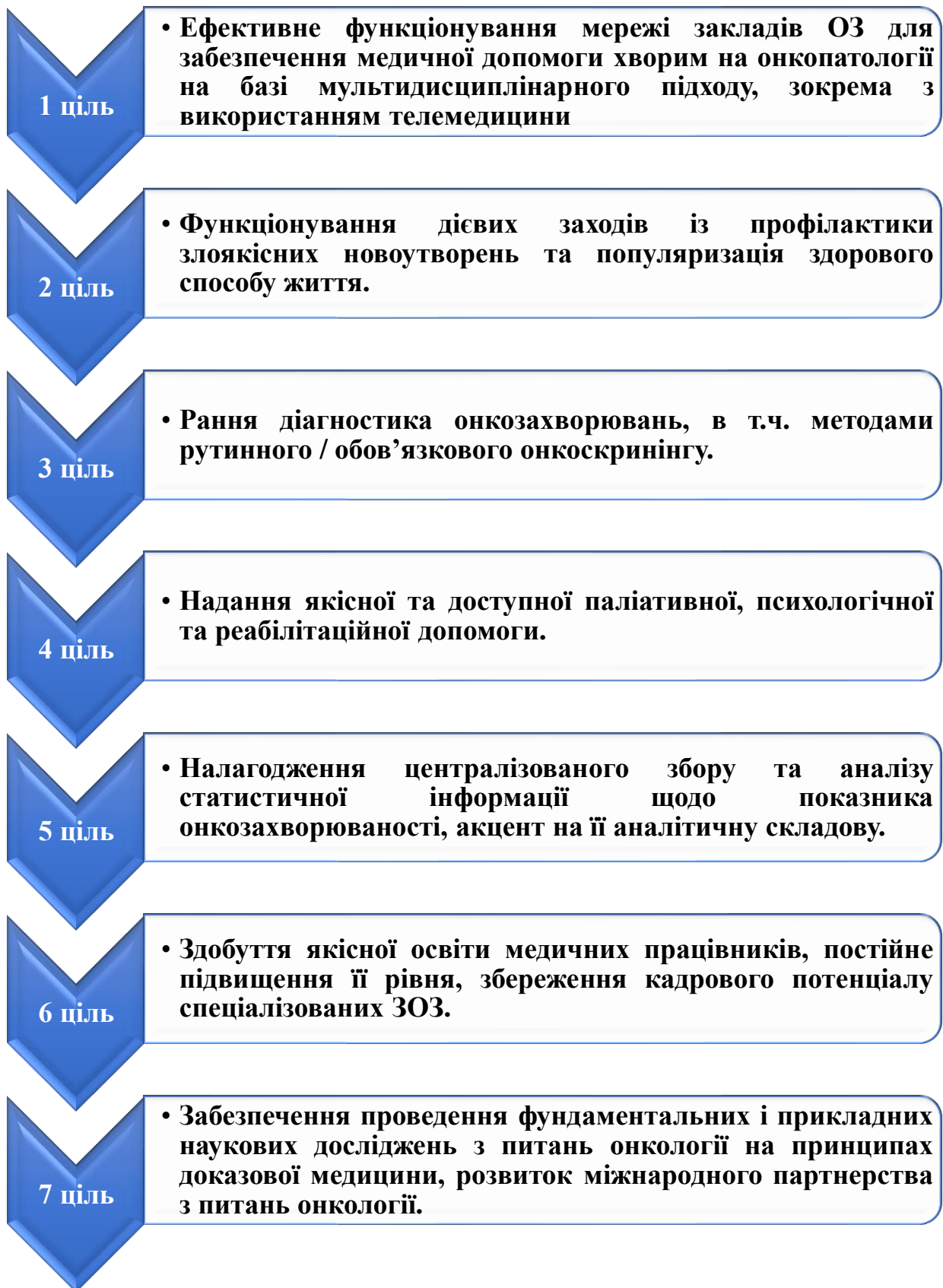


Рис. 2.11. Опрацювання стратегічних цілей реалізації Національної стратегії контролю злякисних новоутворень в Україні на період до 2030 року.

Фармацевтична галузь ОЗ покликана брати безпосередню участь у реалізації 1, 2, 3 і 7 стратегічних цілей Стратегії. Це здійснюється шляхом:

- надання фармацевтами першого контакту фармацевтичної допомоги у вигляді забезпечення фізичної та інформування про соціально-економічну доступність ЛЗ і медичних виробів (1 ціль);
- популяризації в окремо взятих аптеках, аптечних пунктах здорового способу життя, повсякчасного інформування відвідувачів про фактори ризику онкопатологій, зокрема поведінкові (2 ціль);
- постійного візуалізованого, вербального та невербального нагадування про доцільність раннього виявлення раку для формування в населення поміркованої онкологічної настороженості і прихильності до профілактичних оглядів (3 ціль);
- участі у розробці, доклінічних, клінічних, академічних дослідженнях активних фармацевтичних інгредієнтів для терапії онкопатологій (7 ціль).

У подальшому було вивчено питання фінансування діагностики та лікування хворих з онкопатологіями у вітчизняній системі громадського здоров'я (рис. 2.12).

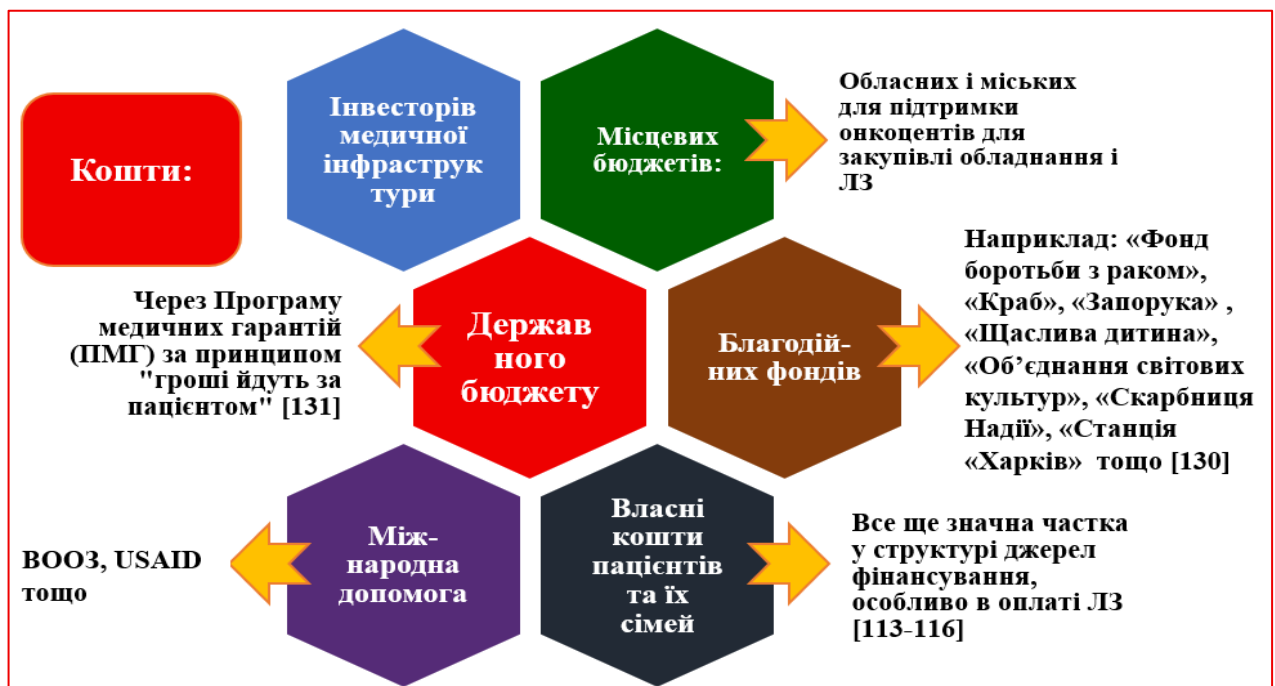


Рис. 2.12. Схема розподілу можливих джерел фінансування медичної і фармацевтичної допомоги пацієнтам із онкопатологіями в Україні (2025 рік).

Отже, держава декларує переважно бюджетне забезпечення профілактики, діагностики, лікування, реабілітації, паліативної допомоги онкохворим в Україні у 2025 році. При цьому співфінансування надходить з місцевих бюджетів, благодійних фондів, міжнародної допомоги, інвестицій у медичну інфраструктуру; залишається вагомою частка власних коштів пацієнтів та їх родин, особливо серед виділених на закупівлю ЛЗ (рис. 2.12). На рис. 2.13 представлено схему опрацювання нормативного підґрунтя доступності медичної і фармацевтичної допомоги для пацієнтів з онкопатологіями, прийнятих в Україні на 2025 рік.

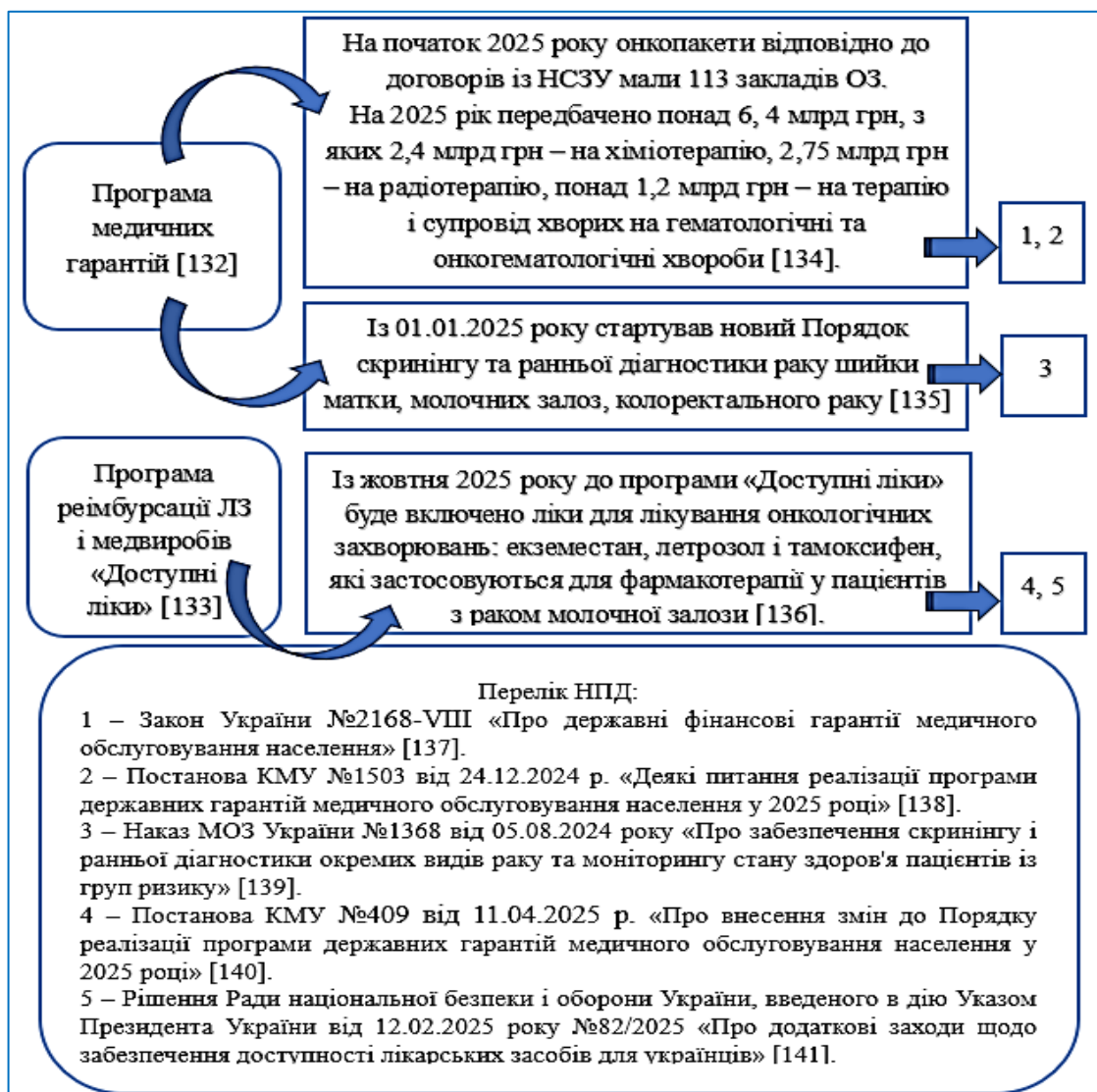


Рис. 2.13. Аналіз НПД, які регламентують доступність медичної і фармацевтичної допомоги онкохворим у 2025 році за рахунок державного бюджету.

За даними сайту Національної служби здоров'я України (НСЗУ), ПМГ – це перелік медичних послуг та ЛП, отримання яких гарантує держава безоплатно за адміністрування НСЗУ. Кошти перераховуються напряму закладам ОЗ на основі укладених договорів [131]. Пацієнт самостійно обирає заклад ОЗ, де буде одержувати послуги, місцезнаходження якого не залежить від його реєстрації чи перебування. Серед 44 пакетів медичних послуг, які охоплює ПМГ-2025 [132], пацієнти з онкопатологіями можуть у 2025 році розраховувати на ті послуги, які опрацьовано на рис. 2.14.

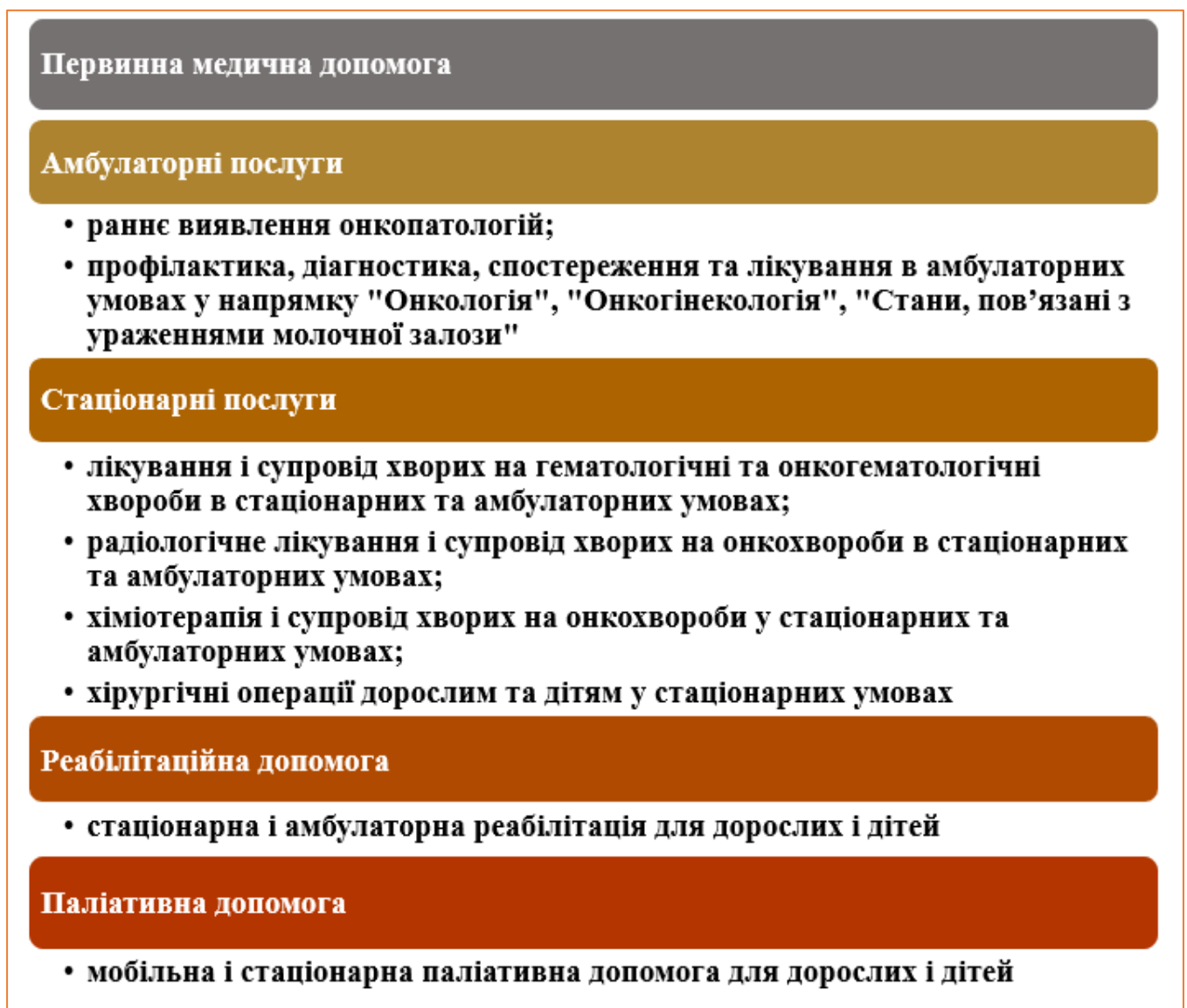


Рис. 2.14. Результат вивчення пакетів ПМГ, які передбачені для пацієнтів із онкопатологіями в Україні у 2025 році [131].

Як вказують дані дослідження, графічно представлені на рис. 2.14, особа, якій встановлено діагноз онкозахворювання чи з підозрою на нього відповідно до ПМГ безоплатно може отримати наступні послуги у системі медичної, фармацевтичної, реабілітаційної, паліативної допомоги:

1. Діагностика: безкоштовними є 6 досліджень для раннього виявлення раку, а саме – мамографія, цистоскопія, гістероскопія, бронхоскопія, колоноскопія та гастроскопія. Рекомендовано їх регулярне проходження громадянами після 40 років (мамографія, колоноскопія) і 50 років (усі решта). Окрім того, безоплатною передбачена діагностика під час амбулаторного чи стаціонарного лікування. Це – лабораторні аналізи та інструментальні дослідження, у тому числі магнітно-резонансна томографія, комп'ютерна томографія, ультразвукова діагностика, рентген-дослідження, ендоскопічні дослідження, сцинтиграфія тощо.

2. Лікування. Метод хіміотерапії: для онкохворого з підтвердженим діагнозом безоплатними є ЛП, засоби інтенсивної, кисневої терапії, знеболення. Метод радіологічного втручання: безоплатною передбачається променева терапія, медичні вироби та витратні матеріали для її проведення, супровідна фармакотерапія. Хірургічний метод покриває пакет «Хірургічні операції дорослим та дітям у стаціонарних умовах», безоплатними є також засоби для анестезії.

3. Ліки фінансуються з декількох джерел (див. рис. 2.12). Державою передбачено у 2025 році покриття ЛП з Національного переліку ОЛЗ [117] за ПМГ для стаціонарних хворих. Дороговартісні ЛП для лікування онкозахворювань придбаваються державою централізовано відповідно до Переліку ЛЗ, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм та здійснення централізованих заходів з ОЗ [121]. Наявні ЛП із цього Переліку заклади ОЗ публікують на сайті та стенді у приміщенні закладу.

Так, дослідження виявило, що згідно із інформацією сайту Державного некомерційного підприємства «Національний інститут раку» (м. Київ) у закладці

«Безоплатні ліки станом на 05 травня 2025 року» серед переліку ЛП за Дорослою програмою були наявні такі залишки ЛП Temozolomide і Dacarbazine [142]:

- 1 190 капсул Темозоломідум Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В. (тверді капсули, 100 мг, по 1 капсулі у саше, по 5 саше у пачці) з терміном придатності до 31.03.2026;
- 1 155 капсул Темозоломідум Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В. (капсули тверді, по 250 мг, по 1 капсулі у саше, по 5 саше у пачці) з терміном придатності до 31.07.2026;
- 320 флаконів порошку для приготування розчину для ін'єкцій / інфузій Дакарбазину Медак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль-препарате мБХ (пор. д/пригот. розч. д/ін'єк. або інф. по 200 мг, 10 фл. з порош. у короб. карт.) з терміном придатності до 03.05.2026;
- 745 флаконів ліофілізату для розчину для інфузій Дакарбазину, Венус Ремедіс Лімітед (ліоф. для розчину для ін. по 200 мг, 1 флакон з ліофілізатом у картонній коробці) з терміном придатності до 30.04.2026 р.

Перелічені ЛП надаються пацієнтам Національного інституту раку безкоштовно. За інформацією сайту, ЛП видають працівники фармацевтичної служби 3 рази на тиждень, а старша медсестра і завідувач відповідних відділень формують потребу і звітують про прихід та видачу ЛП 1 раз на місяць.

Окрім того, НСЗУ компенсує повне чи часткове відшкодування ЛП за програмою «Доступні ліки». З жовтня до грудня 2025 року до неї увійдуть ЛП для онкопацієнтів 3-х МНН: Екземестану (Exemestane), Летрозолу (Letrozole), Тамоксифену (Tamoxifen) у твердій пероральній ЛФ, які будуть у Національному переліку ОЛЗ (див. рис. 2.13) [117]. А з липня 2025 року усі аптеки повинні бути долучені до цієї програми.

Доцільним вважаємо розширення програми «Доступні ліки» для онкопацієнтів, у тому числі на досліджувані МНН темозоломідум (L01AX03) та дакарбазину (L01AX04), які вже включені в Національний перелік ОЛЗ [117].

4. Супровід онкохворого з ремісією, реабілітація та паліативна допомога таких пацієнтів також увійшли у ПМГ-25.

Водночас зберігається дефіцит державного фінансування на надання допомоги пацієнтам із онкозахворюваннями під час російсько-української війни; спостерігається нерівномірний розподіл бюджетних коштів, за яким жителі великих міст мають кращий доступ до діагностики і лікування раку; а також витрати на розробку, дослідження, впровадження і застосування новітніх ЛП не покриваються ПМГ [137, 138].

2.4. Обґрунтування доцільності розробки нових вітчизняних протипухлинних препаратів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти»

За даними Міністерства охорони здоров'я України [129], у 2023 році, серед співвітчизників онкопатології виявили у 110 022 дорослих осіб: 52 626 чоловіків та 57 396 жінок; а також у 484 дитини. Більша частка раку у чоловіків України припала на рак легені, передміхурової залози, колоректальний рак і рак шлунку; у жінок – рак молочної залози, тіла і шийки матки та колоректальний рак [129].

Не дивлячись на явний прогрес у доступності медичної та фармацевтичної допомоги пацієнтам із онкопатологіями в Україні в останні роки, зберігається дефіцит державного фінансування на надання допомоги онкохворим новітніми методами (наприклад, шляхом використання доказової імунотерапії); спостерігається нерівномірний розподіл бюджетних коштів, за яким жителі великих міст мають кращий доступ до діагностики і лікування раку; а також витрати на розробку, дослідження, впровадження і застосування інноваційних ЛЗ не покриваються ПМГ [144,145].

Одними із напрямків виходу із ситуації, що склалася, вбачаємо розвиток державно-приватного партнерства у цій царині, ширше залучення іноземних інвестицій, диверсифікація шляхів фінансування, в тому числі наукових розробок нових АФІ із протипухлинної активністю.

На прикладі досліджуваних ЛП групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» обґрунтовано їх 100% імпортозалежність, а також аналіз діючих СЕРП ЛЗ в Україні виявив значний дисонанс між ними та фізичною доступністю ЛП групи L01AX на ФР. Оскільки усього лише 6 імпортних зареєстрованих ЛП групи, що

становило 20.69%, серед яких 5 ЛП темозоломід у і 1 – дакарбазину, які реально пропонує ФР, можуть закуповуватися для онкохворих за державні кошти в Україні. А опрацювання залишків ЛП темозоломід у і дакарбазину в Національному інституті раку показало, що серед МНН темозоломід у там пропонують для пацієнтів 1 ЛП іноземного виробника – Темозоломід у Аккорд, Аккорд Хелскеа Б. В., відсутній на ФР на час дослідження, а серед МНН дакарбазину – 2 ЛП: Медак, Медак Гезельшафт фюр клініше Шпеціаль-препарате мБХ і Дакарбазину, Венус Ремедіс Лімітед, також відсутній на вітчизняному ФР у серпні 2024 року. Це вказує на те, що ЛП надійшли з-за кордону через міжнародні організації [144] відповідно до Переліку ЛЗ, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм та здійснення централізованих заходів з ОЗ [121].

З огляду на сказане, доцільним буде синтез нових АФІ, які становитимуть основу вітчизняних МНН даної групи ЛП для терапії пацієнтів із онкозахворюваннями.

Висновки до розділу 2

1. Установлено, що станом на початок дослідження – листопад 2023 року – в Україні було зареєстровано 27 ЛП, а на кінець – серпень 2024 року – 29 ЛП з групи L01AX «Інші алкілюючі агенти». Серед них було зареєстровано 5 торгових найменувань темозоломід у (L01AX03) (23 ЛП з врахуванням різних дозувань і ЛФ, що становило 79.3% кількості ЛП групи) і 2 торгові найменування дакарбазину (L01AX04) – 6 ЛП (20.7%).

2. Досліджено, що усі зареєстровані ЛП темозоломід у і дакарбазину були закордонного походження з Німеччини (37.04%), Іспанії (29.63%), Чеської Республіки (14.81%), Швейцарії (11.11%), Великої Британії (7.41%). За ЛФ лідирували капсули (74.07%), решта ЛФ – порошки (18.52%) і ліофілізати (7.41%) для ін'єкцій та інфузій.

3. Виявлено фізичну присутність на ФР 8 (27.59%) ЛП групи за даними сервісу Proxima Apteka. З них 7 ЛП – 2 торгові найменування темозоломід у:

Темомедак (капс. 20, 100, 140, 180, 250 мг), Medac, Німеччина та Темодал (капс. 20, 100 мг), Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія і 1 ЛП – 1 торгове найменування дакарбазину – Дакарбазин Медак (пор. 200 мг для приг. р-ну для ін. / інф.), Medac, Німеччина. За цими ЛП упродовж 10 місяців був проведений щомісячний моніторинг ОВЦ в грн і дол. США, визначена РЦ, обчислені коефіцієнти соціально-економічної доступності: ліквідності (Cliqu), адекватності платоспроможності (Cas), доступності (D).

4. Досліджено, що ОВЦ на аналізовані ЛП переважно зростали щомісяця, проте амплітуда їх росту пропорційно не співпадала із ростом дол. США відносно грн у кожному місяці моніторингу. Так, ОВЦ усіх доз Темомедаку, Medac зроста: для доз 20, 140, 250 мг на 22.2% у грн. і 8.2% у дол., 100 мг – на 16.2% і 2.8%, 180 мг – 13.2% і 3.9% відповідно. Якщо ОВЦ Темомедаку, Medac мали 2 піки підйому, то Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea – 1 підйом без прив'язки до росту дол.: для дози 20 мг – на 40.6% у грн і на 24.5% – у дол., 100 мг – на 34.0% і 18.6% відповідно. ОВЦ Дакарбазину Медак (пор. 200 мг), Medac демонструвала зростання на 7.0% у грн і спадання на 5.3% у дол.

5. Установлено, що значення Cliqu ОВЦ і РЦ Темомедаку, Medac лише у грудні 2023 року перевищило 0.15; Cliqu РЦ Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea було на рівні 0.07; Cliqu ОВЦ і РЦ Дакарбазину Медак, Medac тільки у перші 3 місяці моніторингу перевищували 0.15, а з лютого 2024 року – були нижчими за 0.15. Розраховано, що значення Cas і D для всіх доз Темомедаку, Medac знаходилися в межах 0.11–0.96 і 0.04–0.89; для Темодалу, Merck Sharp & Dohme Idea – 0.05–0.4 і 0.6–0.95; для Дакарбазин Медак, Medac – 0.32–0.42 і 0.58–0.68 відповідно. Установлено, що найдоступнішими, у більшості випадків, ЛП були у місяці, коли була зафіксована найвища ЗП (червень 2024 року), тоді ж спостерігалися найнижчі значення Cas і найвищі – D.

6. Виявлено дисонанс між присутністю ЛП групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» у соціально-економічних регулюючих переліках ЛЗ в Україні і фізичною доступністю ЛП на ФР. Так, зареєстровані МНН темозоломід у дакарбазину на 100% присутні у Національному переліку ОЛЗ і на 90% – у

Державному формулярі ЛЗ, натомість вони на 100% відсутні у Переліку ЛЗ, які підлягають реімбурсації, на 97% відсутні у Реєстрі ОВЦ. Усього 6 ЛП групи (20.69%), а саме: 5 ЛП темозоломід (Темомедак, Medac, Німеччина у дозах 20, 100, 250 мг і Темодал, Merck Sharp & Dohme Idea, Швейцарія у дозах 20, 100 мг) і 1 ЛП дакарбазину (Дакарбазину Медак, Medac, Німеччина у дозі 200 мг), які присутні на ФР, забезпечують потребу для онкохворих у препаратах цієї групи відповідно до Переліку ЛЗ, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм та здійснення централізованих заходів з ОЗ.

7. Шляхом опрацювання Національної стратегії контролю злякисних новоутворень на період до 2030 року виокремлено ті стратегічні цілі (1, 2, 3, 7), в реалізації яких можуть бути долучені фармацевтичні працівники, включаючи участі у розробці, доклінічних, клінічних, академічних дослідженнях АФІ для терапії онкопатологій (7 ціль).

8. Вивчення питання нормативного та фінансового підґрунтя надання медичної і фармацевтичної допомоги пацієнтам із онкопатологіями у вітчизняній системі громадського здоров'я виявило значний поступ у 2025 році. Це дало змогу за ПМГ-25 через адміністрування НСЗУ отримувати безоплатно первинну медичну допомогу; амбулаторні послуги; стаціонарні послуги, які включають лікування і супровід онкогематологічних хворих; радіологічне лікування і супровід; хіміотерапію і супровід хворих на онкохвороби у стаціонарних та амбулаторних умовах; хірургічні операції; реабілітаційну, паліативну допомогу.

9. Досліджено, що ЛП для лікування онкохворих фінансуються в Україні з декількох джерел: ПМГ-25, дорогівартісні ЛП – закуповуються за бюджетні кошти через міжнародні організації для виконання програм; а у третьому кварталі 2025 року планується включення трьох перших МНН для лікування раку у програму «Доступні ліки».

10. У площині вивчення фармацевтичного забезпечення пацієнтів ЛП темозоломід і дакарбазину обґрунтовано доцільність розробки нових АФІ, які становитимуть основу вітчизняних МНН даної групи ліків для терапії пацієнтів із злякисними новоутвореннями.

РОЗДІЛ 3

СИНТЕЗ ТА ОЦІНКА ПРОТИРАКОВИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДИХЛОРОАЦЕТАТІВ ТА 2-ХЛОРО- і 2,2- ДИХЛОРОАЦЕТАМІДОВМІСНИХ ТІАЗОЛЬНИХ ПОХІДНИХ

У даний час різноманітність структури потенційних протиракових препаратів та агентів набула значного прогресу та досягнень, проте невеликі молекули все ще представляють більшість досліджуваних/затверджених кандидатів, які спрямовані на різні шляхи канцерогенезу [146-150]. Похідні ДХА демонструють значний потенціал при лікуванні онкологічних захворювань через їх здатність впливати на метаболічний профіль ракових клітин через інгібування піруват дегідрогенази кінази. Це призводить до активації комплексу піруват дегідрогенази, який сприяє окислювальному фосфорилуванню в мітохондріях і порушує гліколітичний метаболізм пухлинних клітин, відомий як ефект Варбурга, і впливає на цикл трикарбонової кислоти (цитрату), що є ключовим для регулювання метаболізму пухлини клітини. Ці процеси збільшують апоптоз ракових клітин і зменшують їх проліферативний потенціал. Крім того, у дослідженні впливу ДХА на модель раку легень було визначено, що його використання сприяє змінам профілю диференційно експресованих генів, зокрема MIF та CLEC3B, які можуть бути ключовими для розробки генетично цілеспрямованих стратегій лікування [151, 152]. Також, згідно з клінічними дослідженнями, ДХА може бути використаний при терапії гліобластоми, меланоми та інших типів раку через її здатність знижувати рівень лактату та індукувати апоптоз у пухлинних клітинах. Однак його терапевтична ефективність вимагає додаткових детальних досліджень, особливо в контексті молекулярних цілей та можливих токсичних ефектів [85]. У свою чергу, похідні МХА показали більшу активність у пригніченні росту певних типів пухлин порівняно з ДХА, що вимагає детального аналізу їх механізмів молекулярної дії та впливу на різні цілі білка. Однією з ключових цілей є глутатіон S-трансфераза, фермент, який захищає клітини від окисного стресу. Зокрема, дослідження показали, що похідні хлорооцтової кислоти можуть знизити

активність GST, що знижує здатність клітин до детоксикації, посилення хіміотерапії [153].

У цій галузі розробки протипухлинних лікарських засобів хлоро- (ХАА) та дихлороацетаміди (ДХАА) були об'єктами детальних досліджень протягом останніх десятиліть як ефективні цитотоксичні засоби [154-158], інгібітори FGFR- [159], алкоголь/альдегід дегідрогеназ (ADH/ALDH) [150], ковалентних зв'язків KRas [161, 162], PARP- [163], ПДК [17, 24, 164-167] та як багатоцільові агенти [19, 152]. Ця область хімічного простору охоплює прості хемотики молекул, які легко доступні з широкою варіацією та складністю структури в амідних фрагментах, що робить їх привабливими для дизайну, орієнтованого на різноманітність [168-170]. Хоча здатність впливати на широкий спектр молекулярних цілей робить їх цікавими для фармакологів. Варто зазначити, що сьогодні ХАА широко відомі і популярні як ковалентні інгібітори [171], а хіміки-синтетики частіше успішно застосовують ці молекули як ефективні ковалентні «боєголовки», що було продемонстровано в розробці інгібіторів KRas [161, 162]. Протиракові властивості ДХА спочатку повідомлялися на початку 2000-х років, а пізніше було доведено, що ДХА суттєво впливає на ріст та виживання пухлинних клітин [41, 172]. Серед інших встановлених механізмів дії ДХА було збільшення реактивних видів кисню. Пізніше синтез відповідних ДХАА був запропонований як можливий підхід оптимізації структури для протиракових та ADMET властивостей (рис. 3.1) [160].

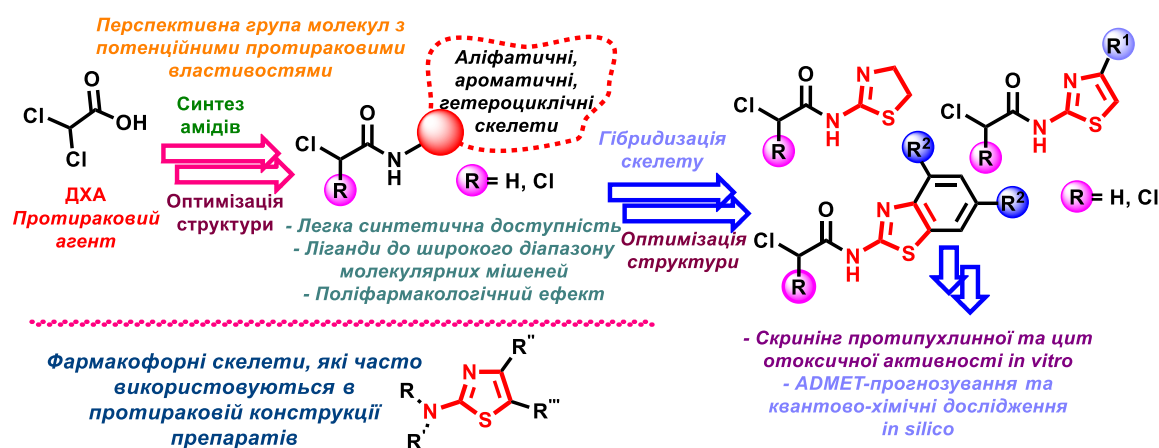


Рис. 3.1. Передумови та проектування поточних досліджень.

Слід зазначити, що кількість звітів у цій галузі щорічно зростає, що свідчить про актуальність та необхідність глибшого вивчення протиракової активності ХАА і ДХАА та розвитку цих молекул як потенційних протипухлинних агентів.

Амінотіазол-вмісні каркаси вважаються привілейованими гетероциками в молекулярному конструюванні протиракових препаратів [173, 174]. Включення цих фрагментів у структуру основних молекул використано при розробці потенційних інгібіторів до різних протиракових молекулярних мішеней, таких як тубулін, гістонова ацетилаза/деацетилаза (НАТ/HDAC), різні кінази, рецептор фактору епідермального росту та інші [173, 174]. З точки зору синтетичної хімії, наявність вільних аміногруп у молекулах амінотіазол-вмісних каркасів робить їх зручними будівельними блоками для застосування в різних методологіях гібридизації (молекулярна/каркасна/фармакофорна).

Важливо зазначити, що молекулярний докінг є потужним інструментом для аналізу взаємодії молекул з білковими мішенями. Нещодавно розроблені методи моделювання, що поєднують машинне навчання, забезпечують більш ефективне дослідження хімічного простору, що дозволяє значно знизити обчислювальні витрати, зберігаючи при цьому високу точність результатів. Це дозволяє визначити потенційно активні сполуки для подальшого вивчення та використання їх для розробки нових терапевтичних засобів. Дослідження показали, що комбіновані підходи, що включають молекулярний докінг з активним навчанням, можуть значно підвищити ефективність нового виявлення біологічно активних сполук [175].

Враховуючи все вищезазначене, у цьому розділі описано синтез серії структурно-пов'язаних дихлороацетатів та 2-хлоро- і 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних та порівняння їх протиракових та цитотоксичних властивостей *in vitro*. Значна увага в дослідженні була присвячена виконанню квантово-хімічних розрахунків та симуляцій методом молекулярного докінгу, щоб деталізувати отримані результати та прогнозувати потенційні механізми для синтезованих сполук.

3.1. Методи синтезу та оцінки фізико-хімічних і протиракових властивостей дихлороацетатів

Експериментальна хімічна частина. Синтетичні дослідження проведені з використанням реактивів компаній «Merck» (Дармштадт, Німеччина) та «Sigma-Aldrich» (Міссурі, США). Спектри ^1H ЯМР вимірювались на приладі «Varian VXR-400», розчинник $\text{DMSO-}d_6$, стандарт – тетраметилсилан. Хромато-мас-спектри одержані на приладі Agilent 1100 Series LCMS. Елементний аналіз на вміст карбону, гідрогену та нітрогену відповідає вирахованому ($\pm 0.3\%$). Протиракова активність синтезованих сполук вивчалась методом вискоефективного біологічного скринінгу згідно міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США – DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (Бетезда, Меріленд, США) [176-178].

Методика синтезу 2,2-дихлоро-N-арил(гетерил)етилацетамідів (3.1c-3.1f). У плоскодонній колбі перемішують 5 ммоль відповідного аміну та 5.5 ммоль метилдихлороацетату до утворення осаду після процесу розчинення реагентів. Реакційну суміш залишають на 30 хв при кімнатній температурі, після чого поволі нагрівають до $60\text{ }^\circ\text{C}$ і утворення прозорого розчину. Залишають при цій температурі на 15 хв. Після охолодження реакційної суміші осад відфільтровують, висушують і перекристалізують з бензолу (сполуки **3.1d**, **3.1e**) або суміші бензол-петролейний ефір (сполуки **3.1c**, **3.1f**).

Методика синтезу 2,2-дихлороацетиламінобензойних кислот (3.1g-3.1j). У круглодонній колбі із зворотним холодильником кип'ячать 20 ммоль відповідної амінобензойної кислоти в 10 мл метилдихлороацетату протягом 7 годин. Після охолодження реакційної суміші утворений осад відфільтровують, промивають бензолом та петролейним ефіром, висушують і перекристалізують з оцтової кислоти (сполуки **3.1g**, **3.1h**, **3.1j**) або бензолу (сполука **3.1i**).

Методика синтезу 2,2-дихлороацетиламіно-2-гідроксибензойних кислот (3.1k та 3.1l). До гарячого розчину відповідної аміносаліцилової кислоти і 20

ммоль триетиламіну в 8 мл безводного діоксану (сполука **3.1k**) або в суміші 15 мл ДМФА і 15 мл безводного діоксану додають розчин 21 ммоль дихлороацетилхлориду в 5 мл безводного діоксану. Утворену реакційну суміш перемішують, нагрівають до 90-95 °С і витримують в цьому режимі 10 хв. Після охолодження розводять водою очищеною, підкислюють 3 мл концентрованої НСІ. Утворений осад відфільтровують, промивають водою, висушують і перекристалізують з оцтової кислоти.

3.2. Синтез та результати оцінки фізико-хімічних і протиракових властивостей дихлороацетатів

Як вихідні речовини для синтезу цільових амідів використано дихлороацетилхлорид та метилдихлороацетат в залежності від властивостей відповідного аміну. Так, аміді на основі заміщених етиламінів (**3.1c-3.1f**) та амінобензойних кислот (**3.1h-3.1j**) синтезовано з використанням метилдихлороацетату як ацилюючого агенту (схема 3.1).

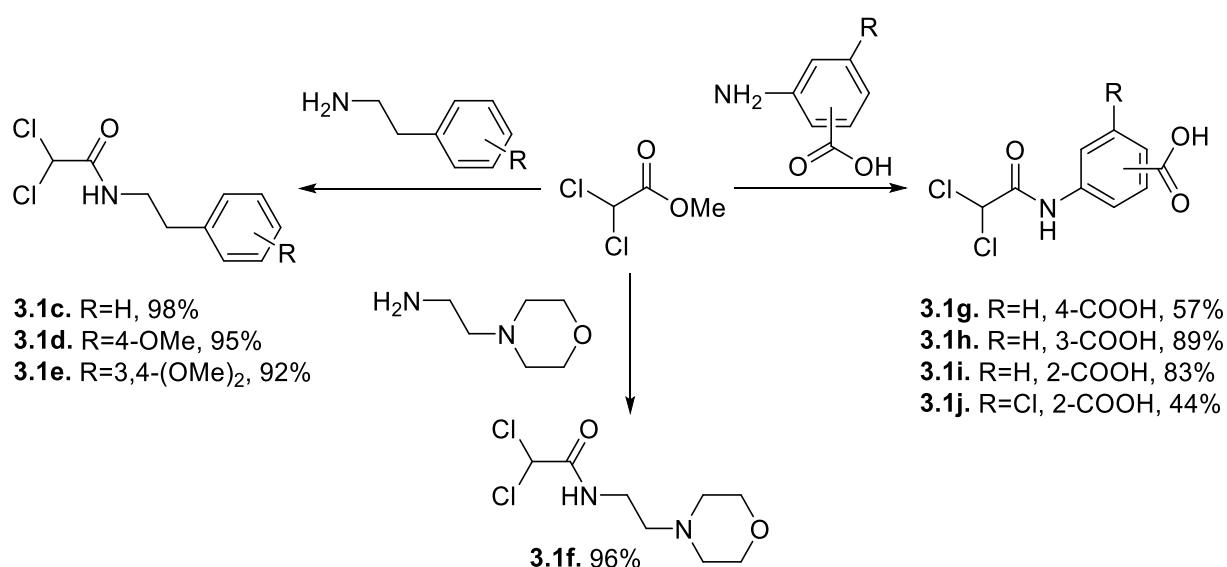


Схема 3.1. Синтез амідів на основі заміщених етиламінів (**3.1c-3.1f**) та амінобензойних кислот (**3.1h-3.1j**) з використанням метилдихлороацетату як ацилюючого агенту

Важливо відзначити, що у зазначеній реакції аліфатичні аміни реагують при кімнатній температурі, а похідні ароматичних амінокислот вимагають тривалого кип'ятіння у середовищі надлишку реагенту.

Аміди аміногідроксибензойних кислот (**3.1k**, **3.1l**) синтезовано з використанням дихлороацетилхлориду в середовищі діоксану та в присутності триетиламіну для зв'язування гідрогенхлориду, що виділяється в процесі реакції (схема 3.2).

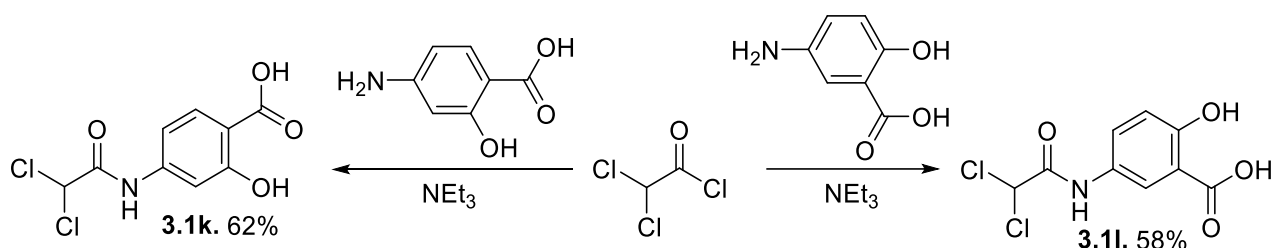


Схема 3.2. Синтез амідів аміногідроксибензойних кислот (**3.1k**, **3.1l**) з використанням дихлороацетилхлориду в якості ацилюючого агента

Використання двох методів ацилювання амінів дозволяє одержати цільові сполуки з достатньою чистотою та задовільними виходами (44-98%). Структура, склад і чистота синтезованих сполук підтверджена методами елементного аналізу, хромато-мас-спектрометрії та спектроскопії ^1H ЯМР. У спектрах ^1H ЯМР синтезованих дихлороацетамідів характеристичним є синглет протону групи CHCl_2 , який проявляється у ділянці 6.42-7.01 м. ч. Сигнал протону амідної групи ариламідів **3.1g-3.1l** резонує широким синглетом в ділянці слабого магнітного поля (10.45-12.24 м. ч.). Для 2,2-дихлоро-N-арил(гетерил)етилацетамідів **3.1c-3.1f** зазначений сигнал зміщений у сильніше магнітне поле і проявляються як триплет чи широкий синглет у ділянці 8.49-8.64 м. ч. Спектри сполук **3.1c-3.1f** також характерні наявністю субспектру фрагменту CH_2CH_2 у вигляді триплету та квартету при 2.40-2.76 та 3.25-3.36 м. ч. з константами спінової взаємодії 6.1-7.2 Гц.

2,2-Дихлоро-N-фенетилацетамід (3.1c)

Вихід 98%. $T_{пл}$ 79-81 °С. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 2.76 т (2H, $J=7.2$ Гц, CH_2), 3.36 кв (2H, $J=7.2$ Гц, CH_2), 6.42 с (1H, $CHCl_2$), 7.19-7.25 м (3H, аром.), 7.27-7.34 м (2H, аром.), 8.64 шс (1H, NH). LCMS (ESI): m/z 232/234 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_{10}H_{11}Cl_2NO$: С, 51.75; Н, 4.78; N, 6.03. Знайдено: С, 51.60; Н, 4.95; N, 6.00.

2,2-Дихлоро-N-[2-(4-метоксифеніл)етил]ацетамід (3.1d)

Вихід 96%. $T_{пл}$ 96-98 °С. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 2.69 т (2H, $J=7.2$ Гц, CH_2), 3.31 кв (2H, $J=7.2$ Гц, CH_2), 3.72 с (3H, OCH_3), 6.42 с (1H, $CHCl_2$), 6.86 д (2H, $J=8.6$ Гц, аром.), 7.13 д (2H, $J=8.6$ Гц, аром.), 8.64 т (1H, $J=5.0$ Гц, NH). LCMS (ESI): m/z 262/264 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_{11}H_{13}Cl_2NO_2$: С, 50.40; Н, 5.00; N, 5.34. Знайдено: С, 50.60; Н, 4.95; N, 5.25.

2,2-Дихлоро-N-[2-(3,4-диметоксифеніл)етил]ацетамід (3.1e)

Вихід 92%. $T_{пл}$ 128-130 °С. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 2.70 т (2H, $J=7.1$ Гц, CH_2), 3.35 кв (2H, $J=7.1$ Гц, CH_2), 3.72 с (3H, OCH_3), 3.74 с (3H, OCH_3), 6.43 с (1H, $CHCl_2$), 6.72 дд (1H, $J=1.9, 8.2$ Гц, аром.), 6.80 д (1H, $J=1.9$ Гц, аром.), 6.87 д (1H, $J=8.2$ Гц, аром.), 8.59 т (1H, $J=5.1$ Гц, NH). LCMS (ESI): m/z 292/294 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_{12}H_{15}Cl_2NO_3$: С, 49.33; Н, 5.18; N, 4.79. Знайдено: С, 49.20; Н, 5.05; N, 4.90.

2,2-Дихлоро-N-(4-морфолінілетил)ацетамід (3.1f)

Вихід 96%. $T_{пл}$ 145-148 °С. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 2.34-2.46 (6H, $3*CH_2$), 3.25 кв (2H, $J=6.1$ Гц, CH_2), 3.56 кв (4H, $J=4.3$ Гц, $2*CH_2$), 6.49 с (1H, $CHCl_2$), 6.72 дд (1H, $J=1.9, 8.2$ Гц, аром.), 6.80 д (1H, $J=1.9$ Гц, аром.), 6.87 д (1H, $J=8.2$ Гц, аром.), 8.49 шс (1H, NH). LCMS (ESI): m/z 241/243 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_8H_{14}Cl_2N_2O_2$: С, 39.85; Н, 5.85; N, 11.62. Знайдено: С, 39.70; Н, 5.75; N, 11.80.

4-(2,2-Дихлороацетиламіно)бензойна кислота (3.1g)

Вихід 57%. $T_{пл}$ 249-251 °С. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 6.61 с (1H, $CHCl_2$), 7.72 д (1H, $J=8.6$ Гц, аром.), 7.95 д (1H, $J=8.6$ Гц, аром.), 10.94 с (1H, NH), 12.86 шс (1H,

COOH). LCMS (ESI): m/z 248/250 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_9H_7Cl_2NO_3$: C, 43.58; H, 2.84; N, 5.65. Знайдено: C, 43.70; H, 2.70; N, 5.75.

3-(2,2-Дихлороацетиламіно)бензойна кислота (3.1h)

Вихід 89%. $T_{пл}$ 257-259 °C. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 6.60 с (1H, $CHCl_2$), 7.51 т (1H, $J=7.9$ Гц, аром.), 7.72 дт (1H, $J=1.1$, 7.8 Гц, аром.), 7.81 д (1H, $J=7.9$ Гц, аром.), 8.24 т (1H, $J=1.8$ Гц, аром.), 10.86 с (1H, NH), 13.06 шс (1H, COOH). LCMS (ESI): m/z 248/250 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_9H_7Cl_2NO_3$: C, 43.58; H, 2.84; N, 5.65. Знайдено: C, 43.60; H, 2.85; N, 5.55.

2-(2,2-Дихлороацетиламіно)бензойна кислота (3.1i)

Вихід 83%. $T_{пл}$ 176-178 °C. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 6.97 с (1H, $CHCl_2$), 7.23 т (1H, $J=7.5$ Гц, аром.), 7.67 т (1H, $J=8.6$ Гц, аром.), 8.04 д (1H, $J=7.9$ Гц, аром.), 8.41 д (1H, $J=8.3$ Гц, аром.), 12.07 с (1H, NH), 13.94 шс (1H, COOH). LCMS (ESI): m/z 248/250 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_9H_7Cl_2NO_3$: C, 43.58; H, 2.84; N, 5.65. Знайдено: C, 43.75; H, 2.90; N, 5.80.

4-Хлоро-2-(2,2-дихлороацетиламіно)бензойна кислота (3.1j)

Вихід 44%. $T_{пл}$ 231-233 °C. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 7.01 с (1H, $CHCl_2$), 7.36 дд (1H, $J=2.0$, 8.5 Гц, аром.), 8.05 д (1H, $J=8.5$ Гц, аром.), 8.51 д (1H, $J=2.0$ Гц, аром.), 12.24 с (1H, NH), (1H, COOH, дейтерообмін). LCMS (ESI): m/z 282/284/286 (96.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_9H_6Cl_3NO_3$: C, 38.26; H, 2.14; N, 4.96. Знайдено: C, 38.40; H, 2.00; N, 5.00.

4-(2,2-Дихлороацетиламіно)-2-гідроксибензойна кислота (3.1k)

Вихід 62%. $T_{пл}$ 236-238 °C. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 6.59 с (1H, $CHCl_2$), 7.10 дд (1H, $J=1.8$, 8.6 Гц, аром.), 7.32 д (1H, $J=1.8$ Гц, аром.), 10.94 с (1H, NH), 7.78 д (1H, $J=8.7$ Гц, аром.), 10.45с (1H, OH), 10.88 с (1H, NH), 11.42 шс (1H, COOH). LCMS (ESI): m/z 264/266 (100.0%, $[M+H]^+$). Вирахувано для $C_9H_7Cl_2NO_4$: C, 40.94; H, 2.67; N, 5.30. Знайдено: C, 40.80; H, 2.75; N, 5.45.

5-(2,2-Дихлороацетиламіно)-2-гідроксибензойна кислота (3.1l)

Вихід 58%. $T_{пл}$ 260-262 °C. ЯМР 1H , δ , м. ч.: 6.56 с (1H, $CHCl_2$), 6.98 д (1H, $J=8.9$ Гц, аром.), 7.67 дд (1H, $J=2.7$, 8.9 Гц, аром.), 8.11 д (1H, $J=2.7$ Гц, аром.), 10.39с (1H, OH), 10.63 с (1H, NH), 11.48 шс (1H, COOH). LCMS (ESI): m/z

264/266 (100.0%, [M+H]⁺). Вираховано для C₉H₇Cl₂NO₄: С, 40.94; Н, 2.67; N, 5.30. Знайдено: С, 41.00; Н, 2.70; N, 5.45.

Для сполук **3.1c**, **3.1f**, **3.1k** проводилось вивчення протипухлинної активності в концентрації 10⁻⁵ моль/л *in vitro* на 60 лініях ракових клітин, що охоплюють практично весь спектр онкологічних захворювань людини (лінії раку легень, молочної залози, яєчників, лейкемії, раку товстої кишки, нирок, меланому, раку простати та ЦНС) [176-178]. Тестовані сполуки **3.1c**, **3.1f**, **3.1k** не проявляють помітної протипухлинної активності і середні значення мітотичної активності становлять 102.11÷104.58%. Можна відзначити помірний вплив сполук на окремі клітинні лінії меланому, лейкемії та раку нирок (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Протипухлинна активність сполук **3.1c**, **3.1f**, **3.1k** в концентрації 10⁻⁵ моль/л *in vitro* на 60 лініях ракових клітин

Сполука	Середня мітотична активність, %	Діапазон мітотичної активності, %	Найчутливіші лінії ракових клітин та їх мітотична активність на фоні сполук, % росту
3.1c	104.58	91.45-118.12	UO-31 (91.45) рак нирок
3.1f	102.11	90.51-120.72	UO-31 (90.51) рак нирок SR (90.70) лейкемія
3.1k	104.54	45.83-122.08	LOX IMV (45.83) меланома A498 (82.74) рак нирок

Так, на фоні впливу 4-(2,2-дихлороацетиламіно)-2-гідроксибензойної кислоти **3.1k** мітотична активність лінії меланому LOX IMV становить 45.83%. Для зазначеної сполуки також характерний помірний цитостатичний ефект на лінію раку нирок A498. У загальному варто відзначити, що попередні дані

вивчення протипухлинної дії свідчать про певні перспективи пошуку протиракових агентів в групі дихлоарилацетамідів у порівнянні з алкіламидами.

3.3. Методи синтезу та оцінки протиракових властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

3.3.1. Загальна процедура синтезу 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

Розчин хлороацетилхлориду або дихлороацетилхлориду (3 ммоль) у 5 мл діоксану, додавали, по краплях до суміші відповідного аміну (3 ммоль) і триетиламіну (3 ммоль) у 5 мл діоксану. Отриману суміш перемішували протягом 15 хвилин за кімнатної температури, а потім нагрівали до 70-80 °С протягом 30 хвилин. Після охолодження суміш виливали в холодну воду (50 мл). Отримані порошки фільтрували, промивали водою та перекристалізували з етанолу.

3.3.2. Методи оцінки фізико-хімічних властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

Точки плавлення вимірювали у відкритих капілярних трубках на апараті для вимірювання точки плавлення BÜCHI B-545 (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Швейцарія) і не правилися. Елементарні аналізи (С, Н, N) проводили за допомогою аналізатора Perkin-Elmer 2400 CHN (Perkinelmer, Waltham, MA, США) і їх результати знаходилися в межах $\pm 0.4\%$ від теоретичних значень. Спектри 500 МГц- ^1H та 126 МГц- ^{13}C були записані на спектрометрі Bruker AVANCE-500 (Bruker, Bremen, Німеччина). Усі спектри були записані при кімнатній температурі, за винятком випадків, коли вказано інше, і внутрішньо посилалися на еталонні частоти розчинника. Хімічні зсуви (δ) зазначаються в ppm, а константи зв'язку (J) – в Гц. Спектри РХ-МС були отримані на Finnigan MAT INCOS-50 (Thermo Finnigan LLC, San Jose, CA, США). Розчинники та реагенти, які є у продажу, використовувались без подальшого очищення. Комерційно доступні хлороацетилхлорид (CAS 79-04-9), дихлороацетилхлорид

(CAS 79-36-7), 2-аміно-2-тіазолін (CAS 1779-81-3), 2-амінотіазол (96-50-4), 2-аміно-4-фенілтіазол (CAS 2010-06-2), 2-аміно-4-(4-хлорофеніл)тіазол (CAS 2103-99-3), етил 2-амінотіазол-4-ацетат (CAS 53266-94-7), 2-амінобензотіазол (CAS 136-95-8), 4,6-диметил-бензотіазол-2-іламін (CAS 64036-71-1) та триетиламін (CAS 121-44-8) використовувалися для синтезу цільових сполук **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h**; **3.4a-3.4d** в нинішніх дослідженнях. Синтез 2-хлор-*N*-(тіазол-2-іл)ацетаміду **3.3a** був раніше опублікований в [179], а фізико-хімічні властивості **3.3a** відповідають даним, опублікованим у [180].

3.3.3. Методи оцінки протиракових властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних за допомогою МТТ-аналізу

Псевдо-нормальні клітинні лінії BALB-3Т3 (фібробласти ембріонів миші) та HaCaT (епідермальні кератиноцити людини), а також ракові клітинні лінії MDA-MB-231 (потрійно-негативний рак молочної залози людини), K562 (хронічна мієлогенна лейкемія), HT-29 (рак товстої кишки людини) та Jurkat (гостра Т-клітинна лейкемія людини) були люб'язно надані Інститутом молекулярної біології та генетики, Національна академія наук України (Київ, Україна). Клітини раку товстої кишки HCT-116 були подаровані Інститутом досліджень раку Віденського медичного університету (Vienna, Австрія). Клітинні лінії Ва/Ф3, моделі мієлопроліферативних новоутворень, люб'язно надані для досліджень професором Робертом Краловічем (Віденський медичний університет (Vienna, Австрія)). Клітини підтримували в модифікованому середовищі Dulbecco (DMEM, Biowest, Франція) або середовищі RPMI-1640 (Biowest, Франція), що містять 10% сироватки плодової великої рогатої худоби (FBS, Biowest, Франція), згідно з рекомендаціями Американської колекції типових культур (ATCC) в умовах інкубації 5% CO₂ та 90-95% вологості при 37 °С.

Життєздатність ліній клітин після інкубації з сполуками оцінювали за допомогою 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифенілтетразолію броміду (МТТ-реагенту) (Sigma-Aldrich, США) [181]. 6000 адгезивних клітин або 15000

суспензійних клітин на лунку висівали в 96-лункових планшетах у 100 μL DMEM або RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США) згідно з рекомендаціями ATCC та інкубували протягом 24-72 годин при 37 °C в CO_2 інкубаторі з різними концентраціями досліджуваних сполук (3 концентрації (5, 10 та 50 μM) кожна в 3 повторах). Після інкубаційного періоду випробувальне середовище відкидали, до клітин додавали МТТ-реагент відповідно до рекомендацій виробника (остаточна концентрація 5 мг/мл) та інкубували протягом додаткових 4 годин. Кристали формазану розчиняли за допомогою ДМСО, і поглинання вимірювали за допомогою Abrowance Reader Biotek ELX800 (Biotek Instruments, Inc., Winooski, VT, США) на довжині хвилі 490 нм. Значення IC_{50} були обчислені за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism 8 (San Diego, California, США).

3.3.4. Методика квантово-хімічних розрахунків для 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

Структура синтезованих сполук та проміжних станів була оптимізована за допомогою програми Gaussian 09 [182], результати візуалізували за допомогою GaussView 5.0.8 [183]. У всіх досліджуваних структурах геометрія була оптимізована за допомогою теорії функціоналу густини (DFT) із застосуванням наближення B3LYP зі стандартним набором базисних функцій 6-311G++(d,p).

Для кожного оптимізованого перехідного стану частотний аналіз показав єдину уявну частоту коливань. Для підтвердження правильності знайдених перехідних станів було візуалізовано відповідні коливання.

На основі значень енергії граничних молекулярних орбіталей розраховуються ряд дескрипторів, що описують електронні властивості та реакційну здатність. Потенціал іонізації (IP) та спорідненість до електрону (EA) обчислюються як $IP = -E_{\text{HOMO}}$ та $EA = -E_{\text{LUMO}}$, відповідно, енергетичну щілину (різницю між HOMO і LUMO) (HLG), розрахованою як $HLG = IP - EA$.

Також було розраховано ряд інших параметрів: електронегативність ($\chi = \frac{IP+EA}{2} = -\mu$) та хімічний потенціал ($\mu = -\frac{IP+EA}{2} = -\chi$), що характеризують

електрофільні і нуклеофільні властивості молекули; глобальна твердість ($\eta = \frac{IP-EA}{2}$) і м'якість ($S = \frac{1}{2\eta}$), що кількісно оцінюють стабільність та реакційну здатність відповідно принципам Пірсона для твердих і м'яких кислот і основ; електрофільність ($\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$), яка вимірює здатність молекули приймати електрони та додаткові дескриптори, а саме, електронно-донорну ($\omega^- = \frac{(3IP+EA)^2}{16(IP-EA)}$) та електронно-акцепторну сили ($\omega^+ = \frac{(IP+3EA)^2}{16(IP-EA)}$) [184, 185].

3.3.5. Методика молекулярного докінгу 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

Потенційні кон'югати глутатіон-хлороацетамід були побудовані шляхом модифікації 3D-структури глутатіону алкільними групами з синтезованих сполук. Протонаційні стани структур були скориговані для відображення фізіологічного рН (7.4). Згодом ці кон'югати були мінімізовані за допомогою підходу до оптимізації на основі молекулярної механіки. Мінімізацію проводили за допомогою силового поля MMFF94 [186, 187] в програмному забезпеченні Avogadro, використовуючи максимум 10000 кроків [187].

Кристалічна структура глутатіону S-трансферази (GST) (PDB ID: 11GS) [186] була отримана з банку даних білків (PDB). Для докінгових симуляцій ми використовували алгоритм FlexX [187], реалізований у LeadIT 2.3.2 через його здатність точно передбачити положення зв'язування комплексу глутатіону-етакринової кислоти. Алгоритм продемонстрував достатню точність із значеннями середнього квадратного відхилення (RMSD) менше 2 Å (спостережуване RMSD: 1,8402 Å) (рис. 3.40) [190].

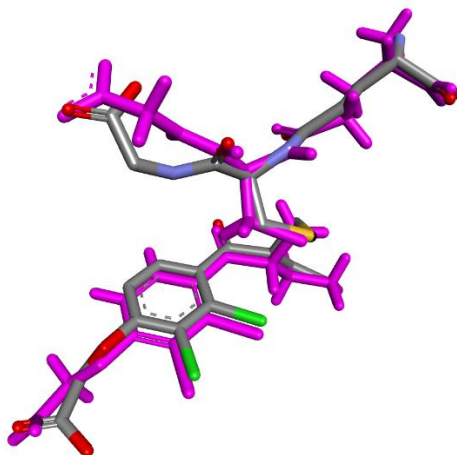


Рис. 3.2. Показані реальні (забарвлені в сірій) та передбачувані положення комплексу глутатіон-етакринової кислоти всередині GST (PDB 11GS), з RMSD 1,8402 Å.

Місце зв'язування для стикування визначали за залишками амінокислот, що оточують область зв'язування GST. Щоб забезпечити всебічне висвітлення потенційних взаємодій, радіус місця для докінгу був розширений від за замовчуванням 6,5 Å до 8,5 Å. Кон'югат «глутатіон-етакринова кислота» з наявної рентгенівської кристалічної структури був використаний для перевірки параметрів докінгу та для оцінки показників докінгу порівняно з показниками передбачуваних комплексів. Візуалізація та аналіз результатів стикування проводили за допомогою BIOVIA Discovery Studio та вбудованого модуля PoseView від LeadIT.

3.4. Синтез та оцінка фізико-хімічних властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

Цільові ХАА та ДХАА **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h**; **3.4a-3.4d** синтезували за допомогою раніше відкритих методик [179, 191], які ґрунтуються на ацилюванні відповідних тіазол-вмісних амінів хлороацетил- або дихлороацетилхлоридами у середовищі сухого діоксану в присутності триетиламіну. Сполуки **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h** і **3.4a-3.4d** були отримані із

задовільними виходами (58-81%) та чистотою. Виконані синтетичні перетворення та структури синтезованих молекул зображені в схемі 3.3.

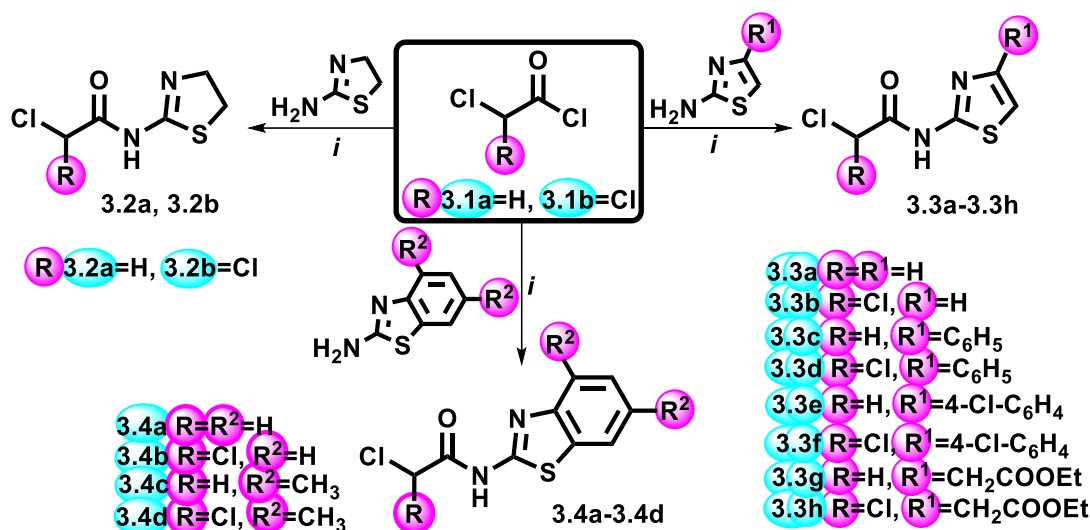


Схема 3.3. Синтез цільових хлоро- та дихлороацетамідів **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h**; **3.4a-3.4d**. Реагенти та умови: *i* – відповідний амін (10 ммоль), хлороацетилхлорид або дихлороацетилхлорид (10 ммоль), триетиламін (10 ммоль), діоксан (10 мл), перемішування 15 хвилин (при кімнатній температурі), а потім нагрівання до 70-80 °С протягом 30 хвилин.

Структуру синтезованих похідних **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h**; **3.4a-3.4d** було підтверджено за допомогою спектрів 1H , ^{13}C ЯМР та РХ-МС (рис. 3.3-3.40). У 1H ЯМР спектрах ХАА **3.3c**, **3.3e**, **3.3g**, **3.4a** та ДХАА **3.3b**, **3.3d**, **3.3f**, **3.3h**, **3.4b** сигнали аліфатичних CH_2 і CH протонів відображаються як синглети при 4.35-4.46 мд та при 6.64-6.71 мд, відповідно. Молекулярні йонні піки, що спостерігаються при значеннях m/z в режимі позитивної іонізації в мас-спектрах, підтвердили утворення цільових похідних.

2-хлоро-*N*-(4,5-дигідротіазол-2-іл)ацетамід (**3.2a**)

Білий порошок, вихід 58%, $T_{пл}$ 131-133 °С (*i*-PrOH). 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 9.86 (s, 1H, NH), 4.22 (s, 2H, CH_2), 3.63 (t, $J=8.0$ Гц, 2H, CH_2), 3.23 (t, $J=8.0$ Гц, 2H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 173.7 (C=O), 171.4, 46.2 (CH_2), 45.7 (CH_2), 29.8 (CH_2). РХ-МС (ESI+) m/z 179.0/181.0 (100.0%, $[M+H]^+$).

Аналітичні розрахунки для $C_5H_7ClN_2OS$: C, 33.62%; H, 3.95%; N, 15.68%.
Знайдено: C, 33.80%; H, 4.10%; N, 15.80% (рис. 3.3-3.5).

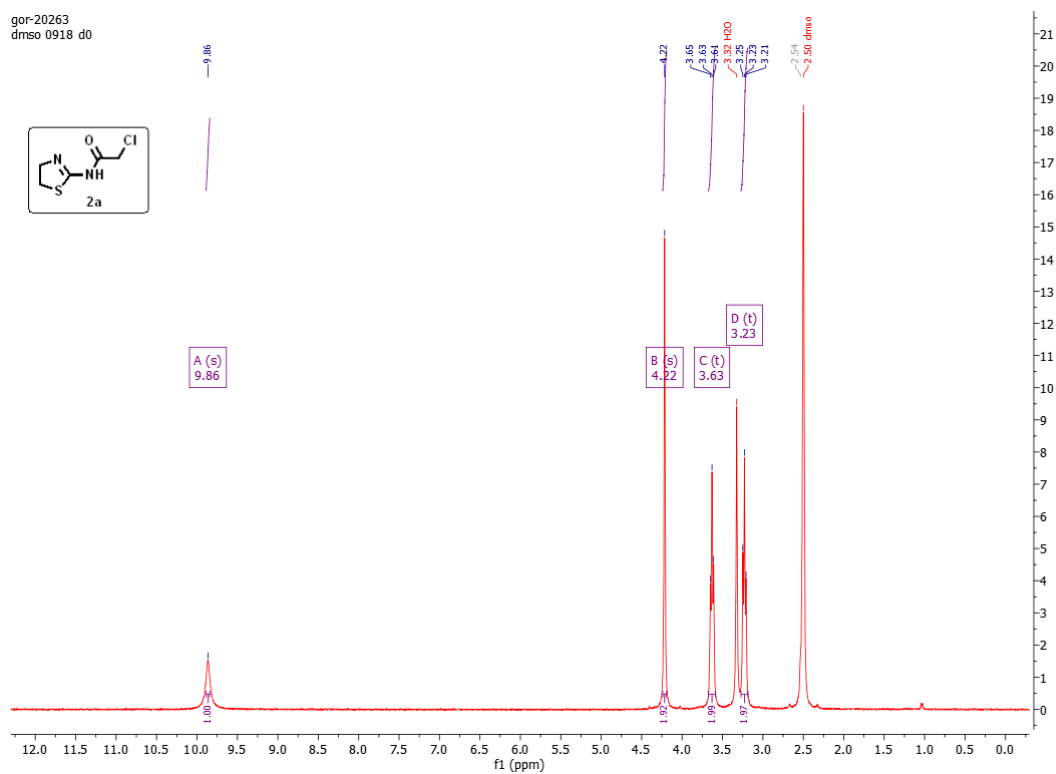


Рис. 3.3. 1H ЯМР-спектр сполуки 3.2a

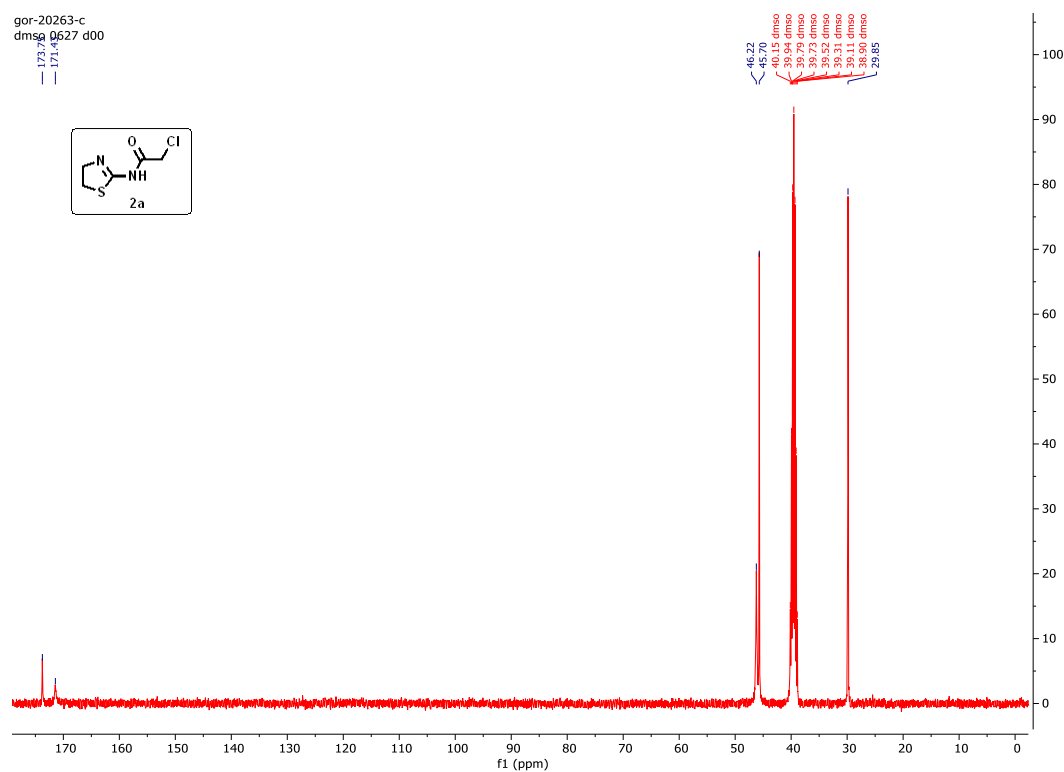
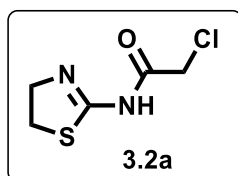
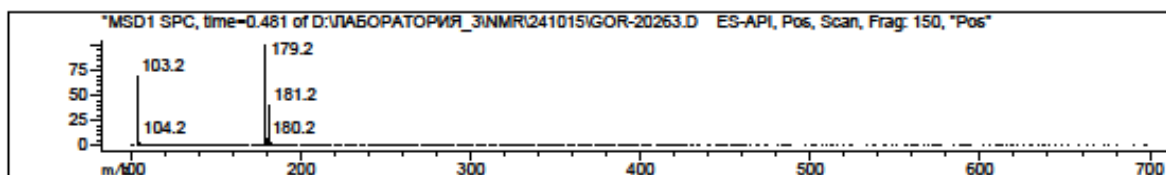


Рис. 3.4. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 3.2a



Molecular Weight: 178,63

Рис. 3.5. РХ-МС-спектр сполуки **3.2a**

2,2-дихлоро-N-(4,5-дигідротіазол-2-іл)ацетамід (3.2b)

Білий порошок, вихід 64%, $T_{пл}$ 150-152 °С (*i*-PrOH). 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 9.91 (s, 1H, NH), 6.44 (s, 1H, CH), 3.65-3.59 (m, 2H, CH₂), 3.29 (td, $J=7.9, 4.0$ Гц, 2H, CH₂). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 177.5 (C=O), 172.7 (C-2), 70.3 (CH), 44.1(CH₂), 29.42 (CH₂). РХ-МС (ESI+) m/z 213.0/215.0 (100.0%, $[M+H]^+$). Аналітичні розрахунки для C₅H₆Cl₂N₂OS: C, 28.18%; H, 2.84%; N, 13.15%. Знайдено: C, 28.30%; H, 3.10%; N, 13.30% (рис. 3.6-3.8).

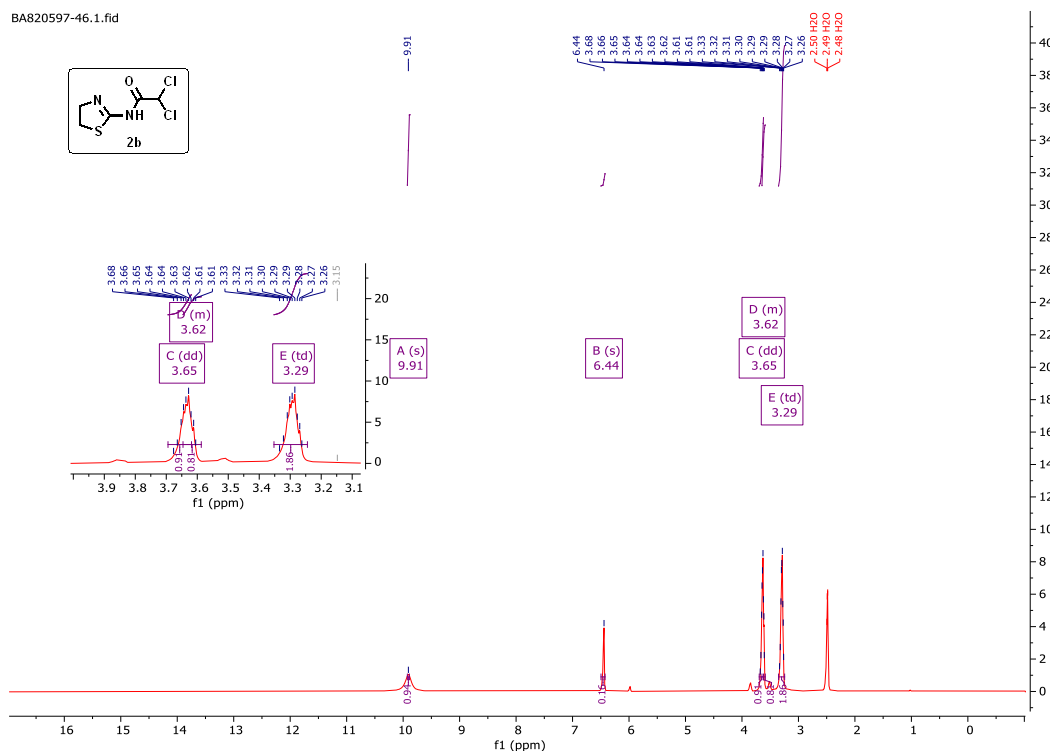


Рис. 3.6. 1H ЯМР-спектр сполуки **3.2b**

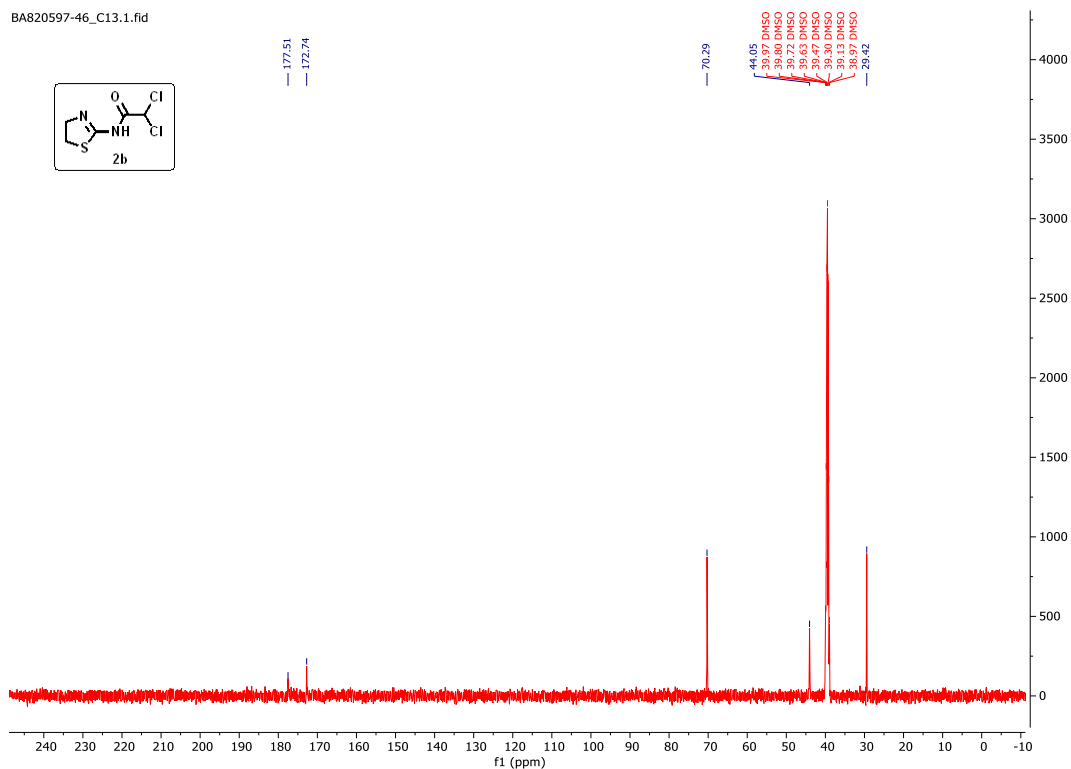
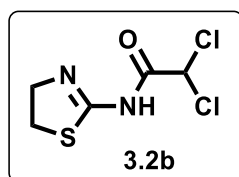
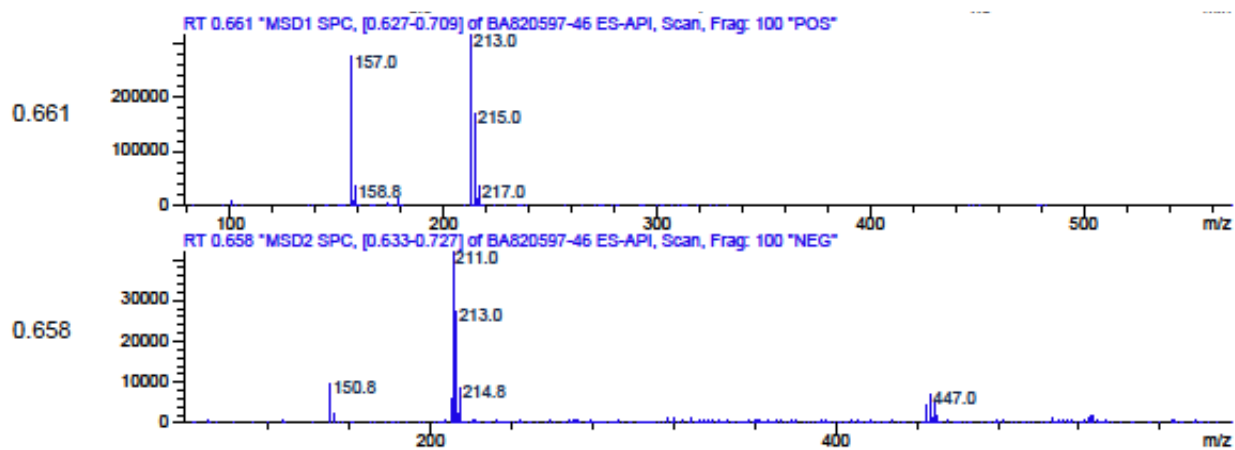


Рис. 3.7. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки **3.2b**



Molecular Weight: 213,08

Рис. 3.8. РХ-МС-спектр сполуки **3.2b**

2,2-дихлоро-N-(тіазол-2-іл)ацетамід (3.3b)

Білий порошок, вихід 73%, $T_{\text{пл}}$ 180-182 °C (*i*-PrOH). ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 13.01 (s, 1H, NH), 7.55 (d, $J=3.7$ Гц, 1H, тіазол), 7.33 (d, $J=3.7$ Гц,

1H, thiazole), 6.64 (s, 1H, CH). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 166.22 (C=O), 160.64 (C-2), 137.61 (C-4), 114.64 (C-5), 66.5 (CH). PX-МС (ESI+) m/z 211.0/213.0 (100.0%, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Аналітичні розрахунки для $\text{C}_5\text{H}_4\text{Cl}_2\text{N}_2\text{OS}$: С, 28.45%; Н, 1.91%; N, 13.27%. Знайдено: С, 28.60%; Н, 2.10%; N, 13.50% (рис. 3.9-3.11).

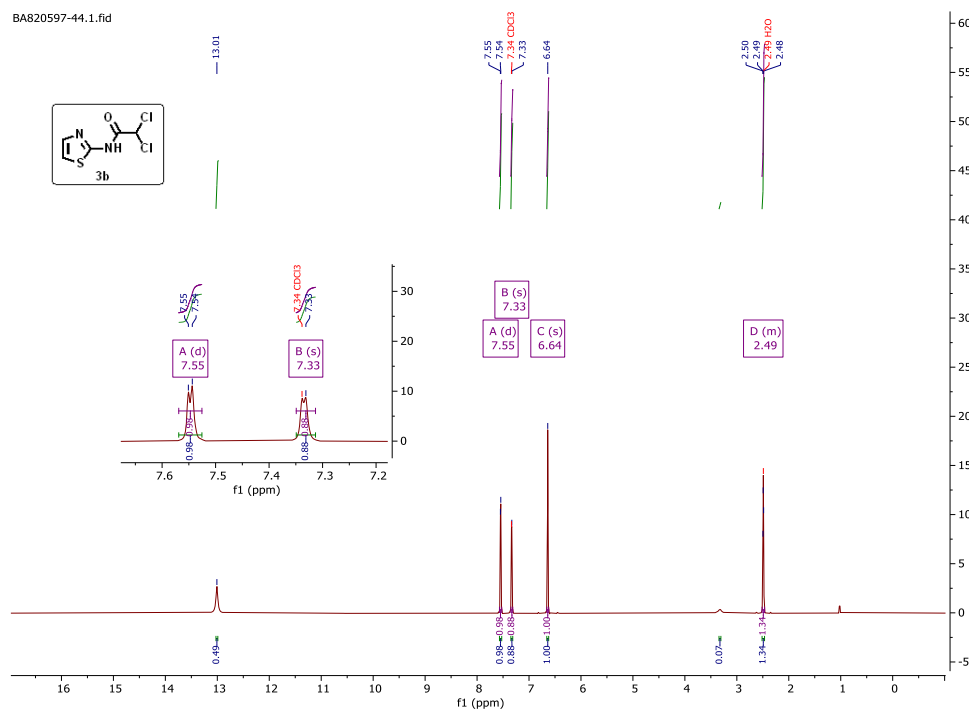


Рис. 3.9. ^1H ЯМР-спектр сполуки 3.3b

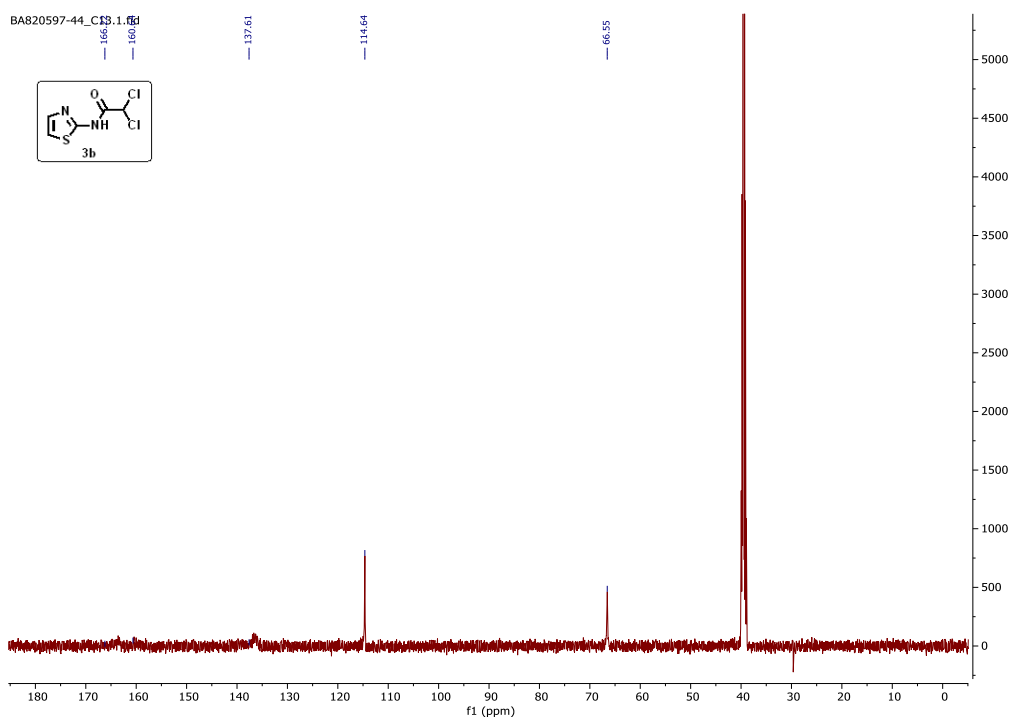
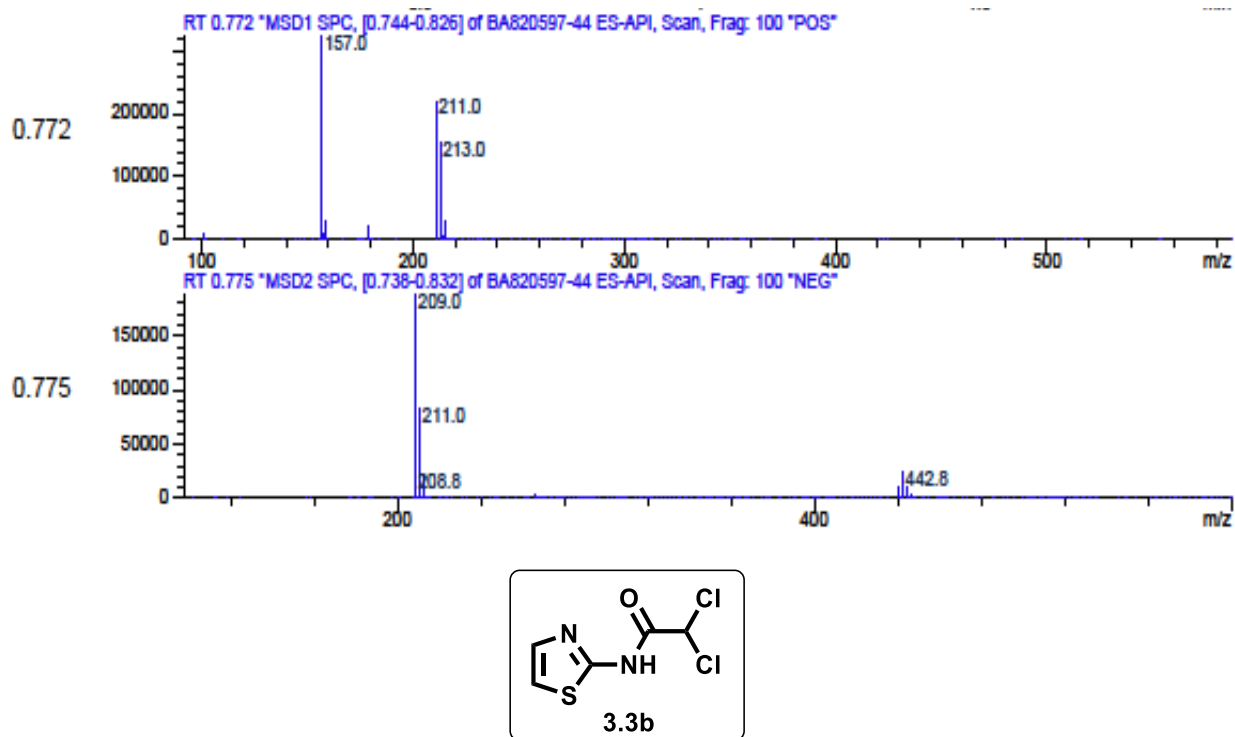


Рис. 3.10. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 3.3b



Molecular Weight: 211,06

Рис. 3.11. РХ-МС-спектр сполуки 3.3b

2-хлоро-N-(4-фенілтіазол-2-іл)ацетамід (3.3c)

Білий порошок, вихід 81%, $T_{пл}$ 147-149 °C (*i*-PrOH). 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 12.63 (s, 1H, NH), 7.89 (d, $J=7.6$ Гц, 2H, аром.), 7.67 (s, 1H, тіазол), 7.42 (t, $J=7.5$ Гц, 2H, аром.), 7.32 (t, $J=7.6$ Гц, 1H, аром.), 4.41 (s, 2H, CH₂). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 165.1 (C=O), 164.9, 157.4, 149.0, 134.1, 128.7, 127.8, 125.6, 108.5, 42.3 (CH₂). РХ-МС (ESI+) m/z 253.0/255.0 (100.0%, [M+H]⁺). Аналітичні розрахунки для C₁₁H₉ClN₂OS: C, 52.28%; H, 3.59%; N, 11.09%. Знайдено: C, 52.40%; H, 3.80%; N, 11.20% (рис. 3.12-3.14).

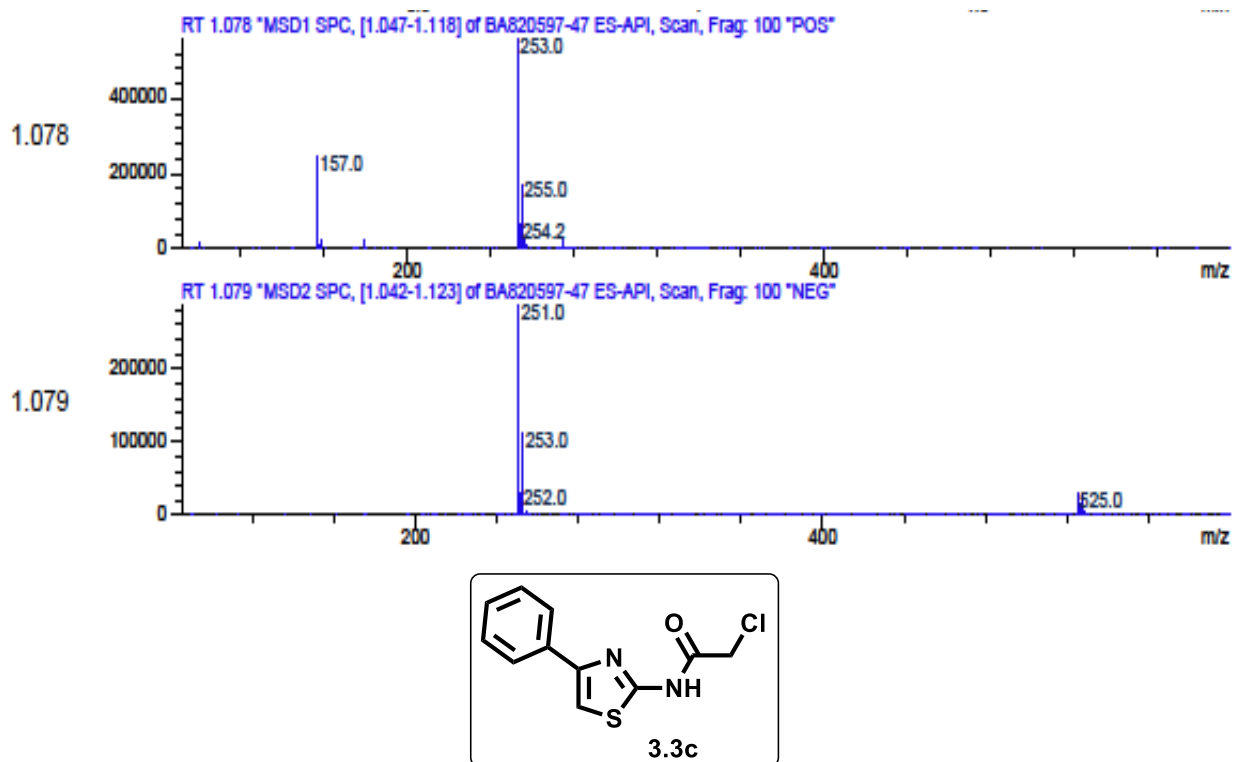
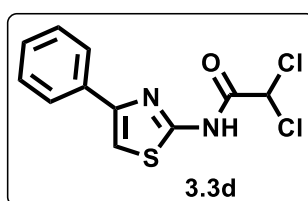
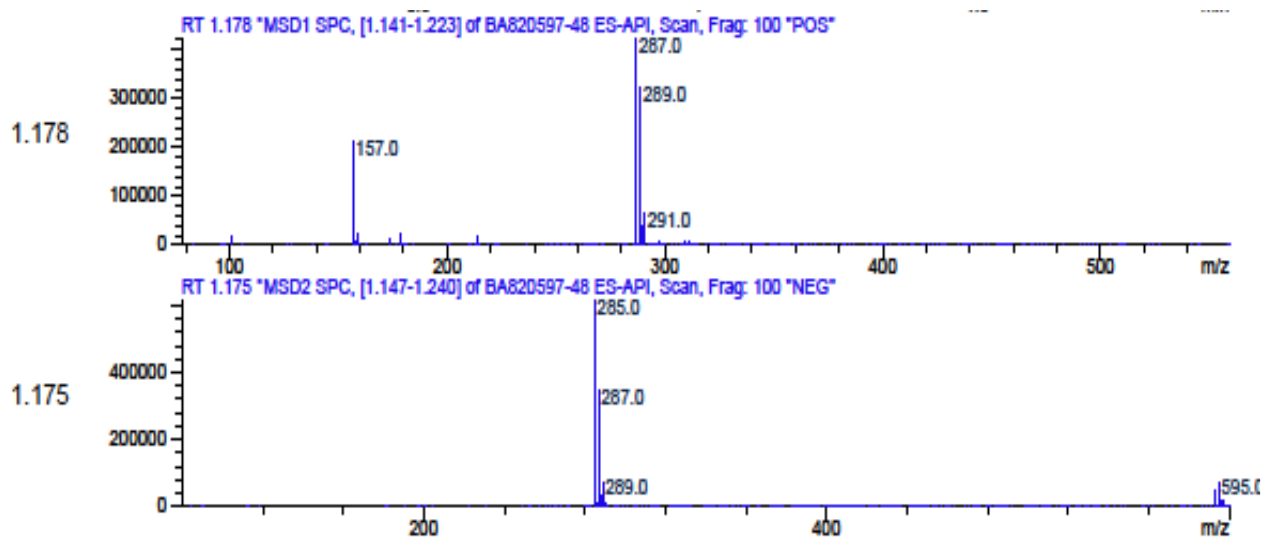


Рис. 3.14. PX-МС-спектр сполуки **3.3c**

2,2-дихлоро-N-(4-фенілтіазол-2-іл)ацетамід (3.3d)

Білий порошок, вихід 79%, $T_{пл}$ 111-113 °C (EtOH-H₂O 2:1). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, δ): 13.08 (s, 1H, NH), 7.90 (d, *J*=7.6 Гц, 2H, аром.), 7.77 (s, 1H, thiazole), 7.43 (t, *J*=7.5 Гц, 2H, аром.), 7.34 (t, *J*=7.3 Гц, 1H, аром.), 6.68 (s, 1H, CH). ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*₆, δ): 162.1 (C=O), 156.8, 149.5, 133.8, 128.7, 28.0, 125.7, 109.5, 65.8 (CH). PX-МС (ESI+) *m/z* 287.0/289.0 (100.0%, [M+H]⁺). Аналітичні розрахунки для C₁₁H₈Cl₂N₂OS: C, 46.01%; H, 2.81%; N, 9.76%. Знайдено: C, 46.20%; H, 3.00%; N, 9.90% (рис. 3.15-3.17).

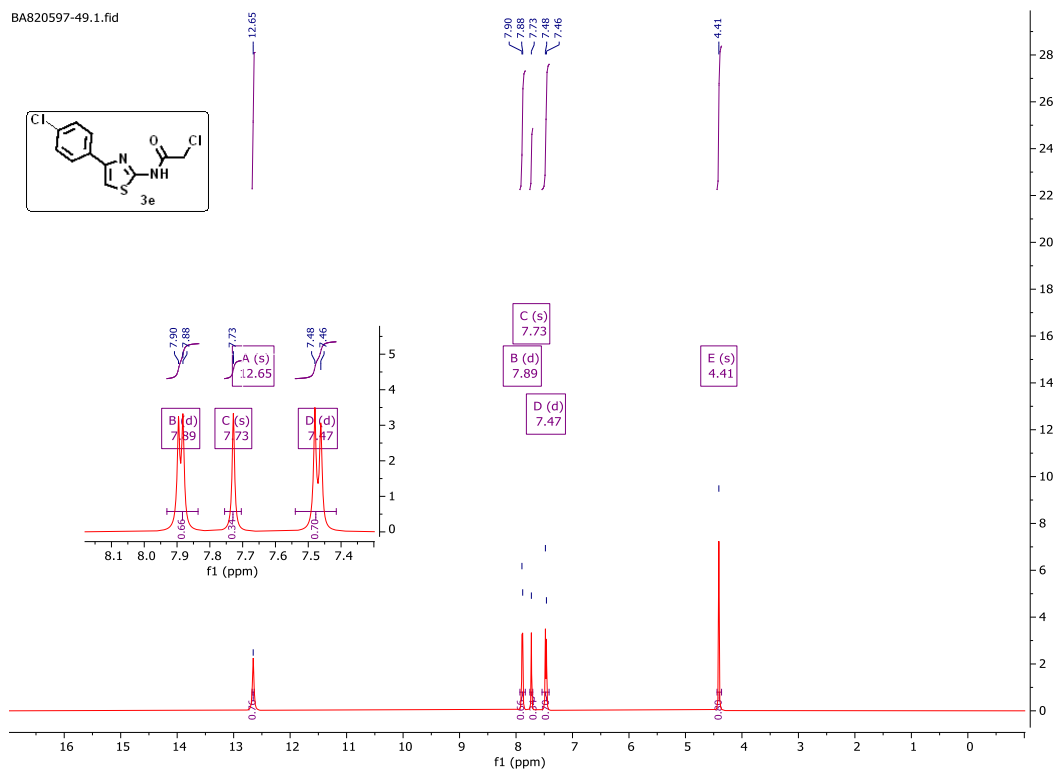
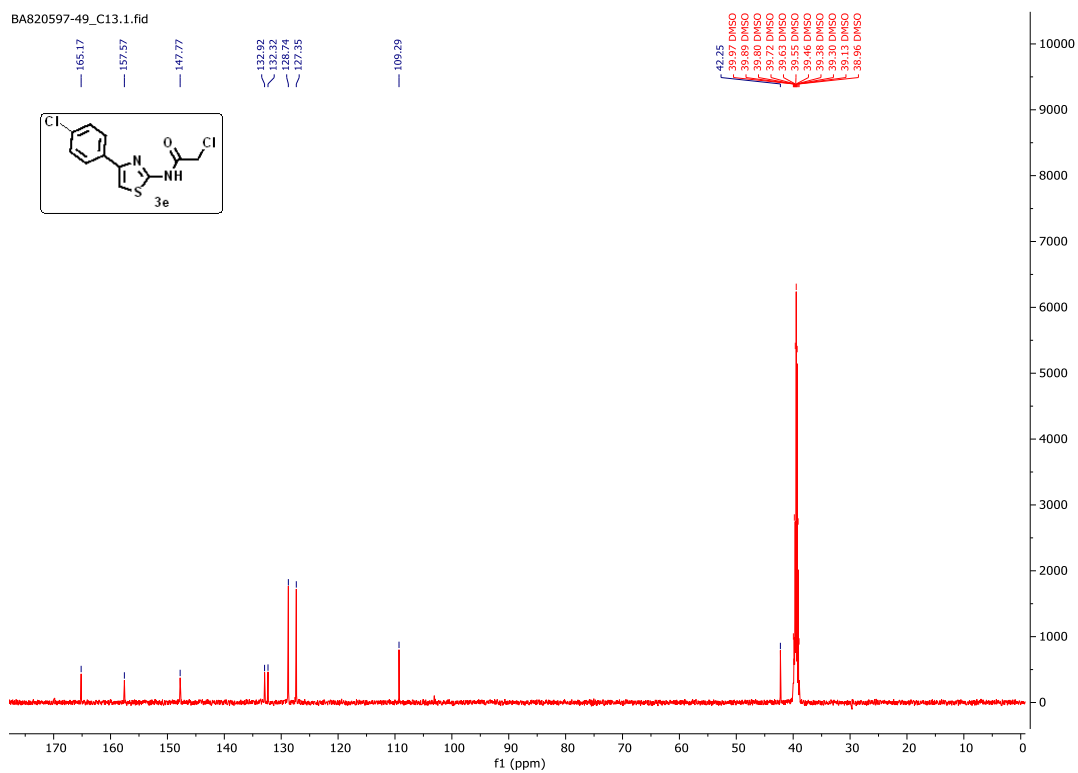


Molecular Weight: 287,16

Рис. 3.17. РХ-МС-спектр сполуки **3.3d**

2-хлоро-N-(4-(4-хлорофеніл)тіазол-2-іл)ацетамід (3.3e)

Білий порошок, вихід 78%, $T_{пл}$ 168-170 °С (*i*-PrOH). 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 12.65 (s, 1H, NH), 7.89 (d, $J=7.7$ Гц, 2H, аром.), 7.73 (s, 1H, тіазол), 7.47 (d, $J=7.7$ Гц, 2H, аром.), 4.41 (s, 1H, CH₂). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 165.2 (C=O), 157.5, 147.7, 132.9, 132.3, 128.7, 127.3, 109.2, 42.2 (CH₂). РХ-МС (ESI+) m/z 287.0/289.0 (100.0%, [M+H]⁺). Аналітичні розрахунки для C₁₁H₈Cl₂N₂OS: С, 46.01%; Н, 2.81%; N, 9.76%. Знайдено: С, 46.10%; Н, 3.10%; N, 10.00% (рис. 3.18-3.20).

Рис. 3.18. ^1H ЯМР-спектр сполуки 3.3eРис. 3.19. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 3.3e

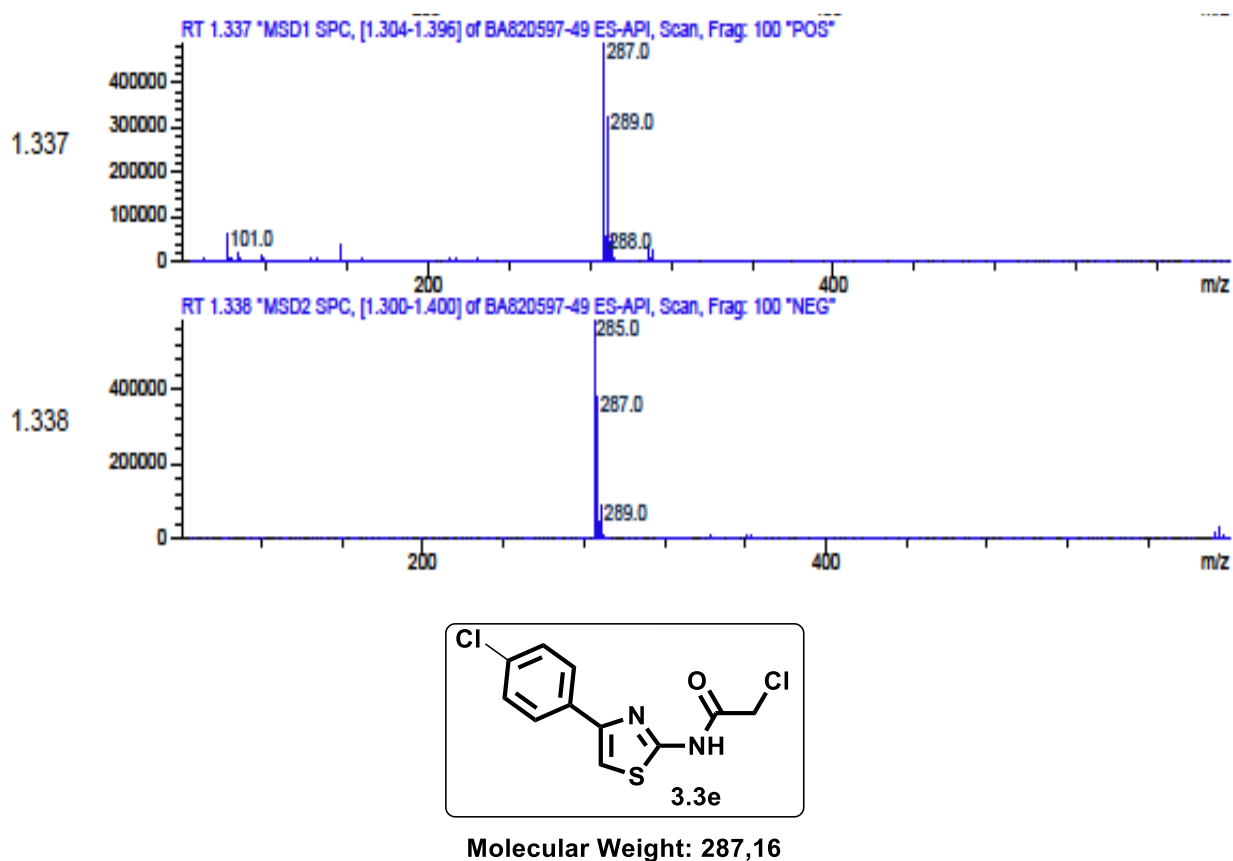
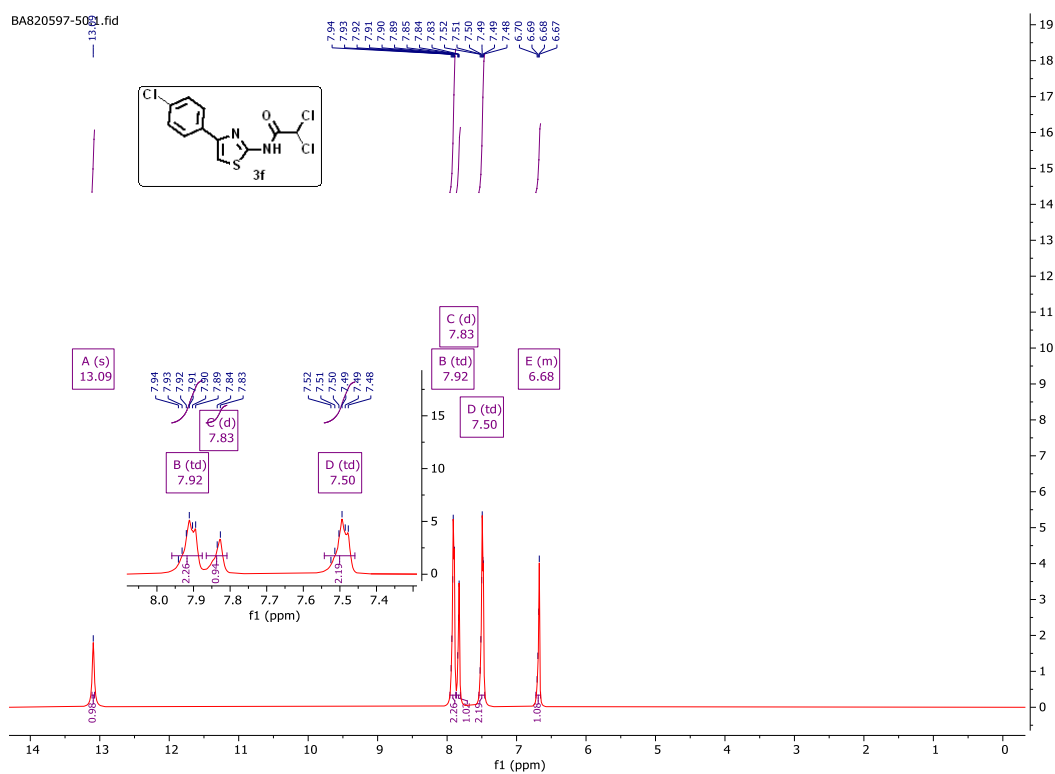
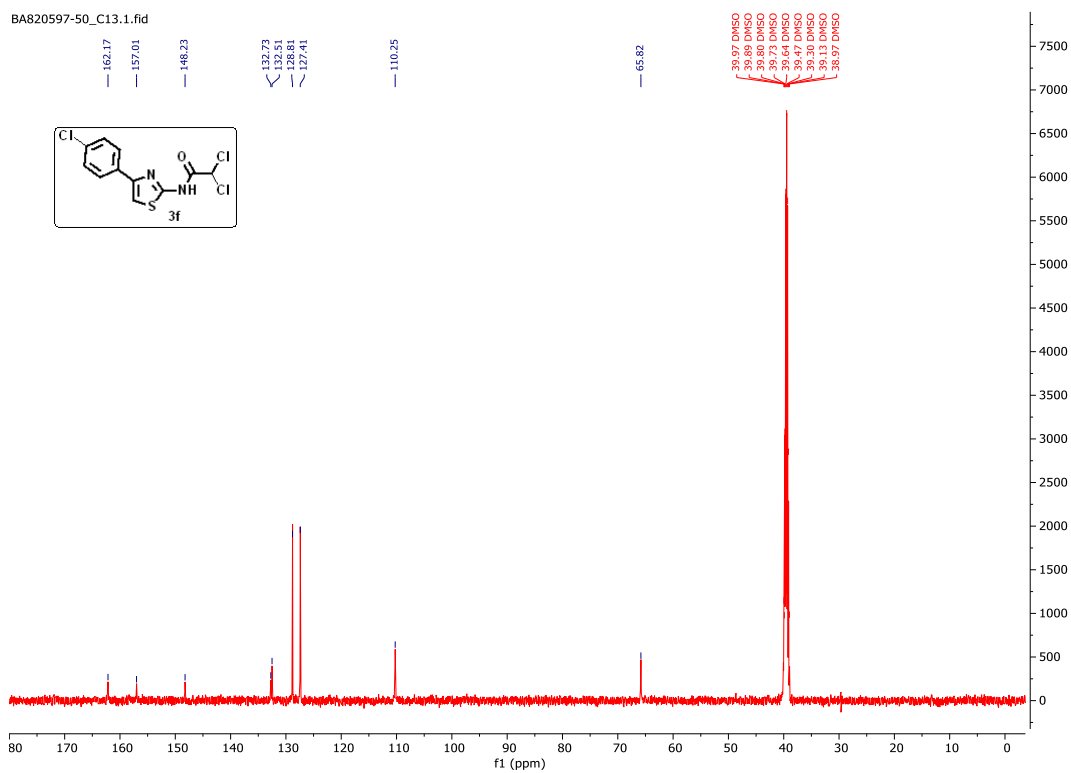
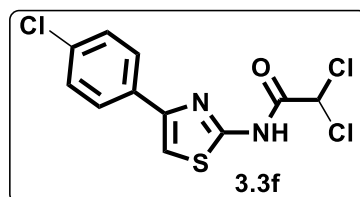
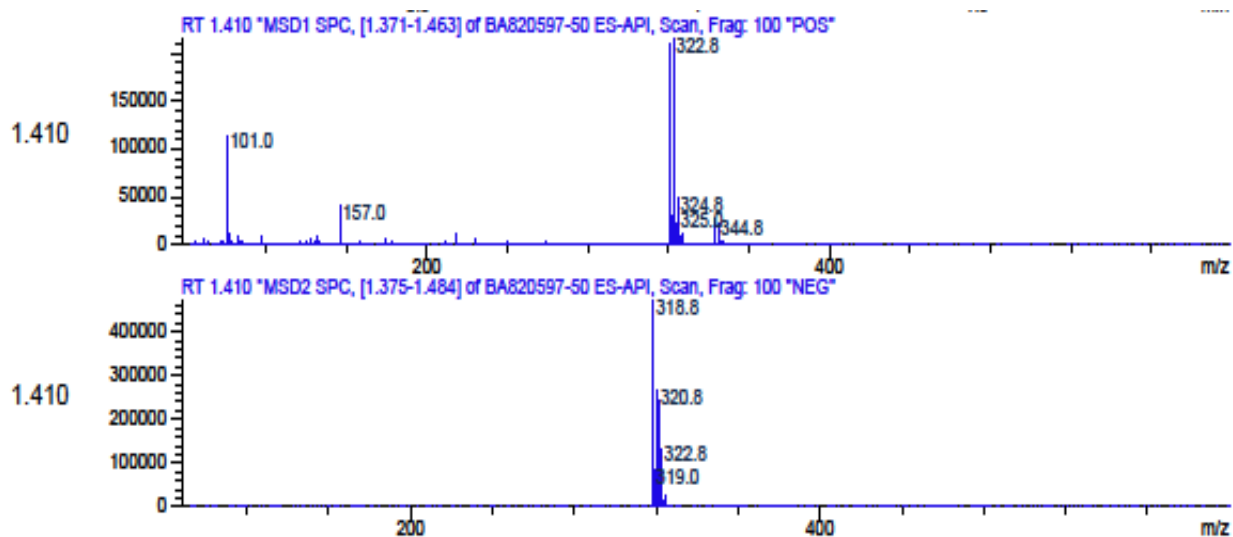


Рис. 3.20. РХ-МС-спектр сполуки **3.3e**

2,2-дихлор-N-(4-(4-хлорофеніл)тіазол-2-іл)ацетамід (3.3f)

Білий порошок, вихід 75%, $T_{пл}$ 128-122 °С (*i*-PrOH). 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 13.09 (s, 1H, NH), 7.92 (d, $J=8.0$ Гц, 2H, аром.), 7.83 (s, 1H, тіазол), 7.50 (d, $J=8.0$ Гц, 2H, аром.), 6.69 (s, 1H, CH). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 162.1 (C=O), 157.0, 148.2, 132.7, 132.5, 128.8, 127.4, 110.2, 65.8 (CH). РХ-МС (ESI+) m/z 322.0/324.0 (100.0%, $[M+H]^+$). Аналітичні розрахунки для $C_{11}H_7Cl_3N_2OS$: C, 41.08%; H, 2.19%; N, 8.71%. Знайдено: C, 41.20%; H, 2.40%; N, 8.90% (рис. 3.21-3.23).

Рис. 3.21. ^1H ЯМР-спектр сполуки 3.3fРис. 3.22. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 3.3f

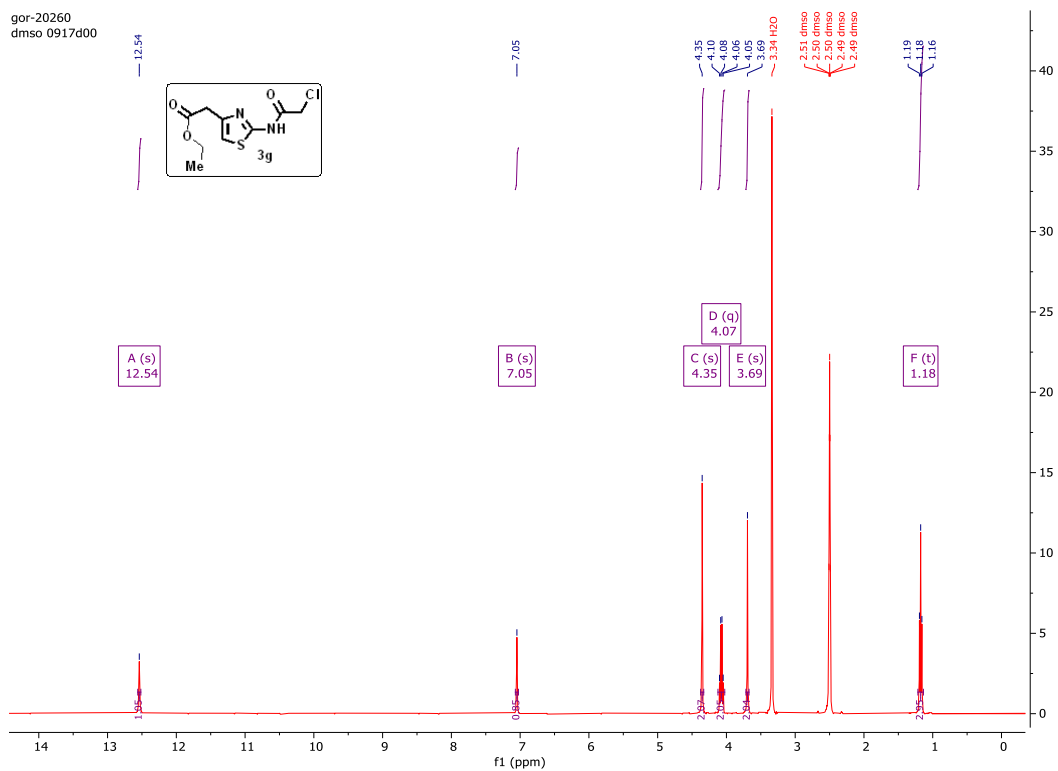
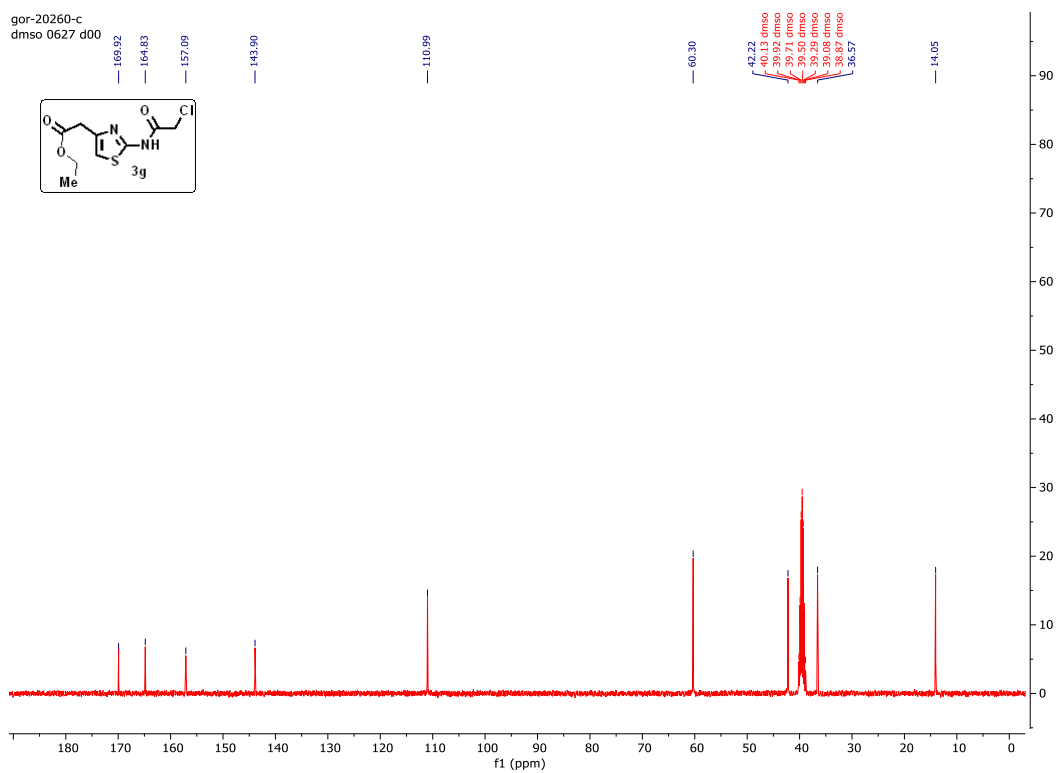


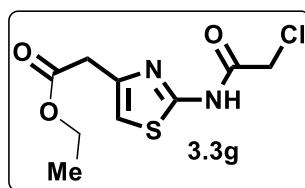
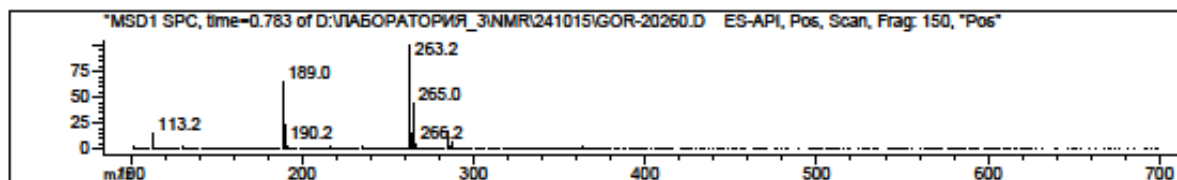
Weight: 321,60

Рис. 3.23. PX-МС-спектр сполуки 3.3f

Етил 2-(2-(2-хлороацетамідо)тіазол-4-іл)ацетат (3.3g)

Білий порошок, вихід 72%, $T_{\text{пл}}$ 145-147 °С (EtOH). ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 12.54 (s, 1H, NH), 7.05 (s, 1H, тіазол), 4.35 (s, 2H, CH_2), 4.07 (q, $J=7.1$ Гц, 2H, CH_2), 3.69 (s, 2H, CH_2), 1.18 (t, $J=7.1$ Гц, 3H, CH_3). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 169.9 (C=O), 164.8 (C=O), 157.0, 143.9, 110.9, 60.3 (CH_2), 42.2 (CH_2), 36.5 (CH_2), 14.0 (CH_3). PX-МС (ESI+) m/z 263.0/265.0 (100.0%, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Аналітичні розрахунки для $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$: С, 41.15%; Н, 4.22%; N, 10.66%. Знайдено: С, 41.40%; Н, 4.40%; N, 10.80% (рис. 3.24-3.26).

Рис. 3.24. ^1H ЯМР-спектр сполуки 3.3gРис. 3.25. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 3.3g



Molecular Weight: 262,71

Рис. 3.26. РХ-МС-спектр сполуки 3.3g

Етил 2-(2-(2,2-дихлороацетамідо)тіазол-4-іл)ацетат (3.3h)

Білий порошок, вихід 75%, $T_{пл}$ 89-91 °С (EtOH-H₂O 1:1). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, δ): 13.01 (s, 1H, NH), 7.14 (s, 1H, тіазол), 6.62 (s, 1H, СН), 4.08 (s, 2H, CH₂), 3.73 (s, 2H, CH₂), 1.18 (s, 3H, CH₃). ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*₆, δ): 169.7 (C=O), 161.9 (C=O), 156.5, 144.3, 111.9, 66.0 (CH), 60.3 (CH₂), 36.3 (CH₂), 14.05 (CH₃). РХ-МС (ESI+) m/z 297.0/299.0 (100.0%, [M+H]⁺). Аналітичні розрахунки для C₉H₁₀Cl₂N₂O₃S: С, 36.38%; Н, 3.39%; N, 9.43%. Знайдено: С, 36.50%; Н, 3.50%; N, 9.70% (рис. 3.27-3.29).

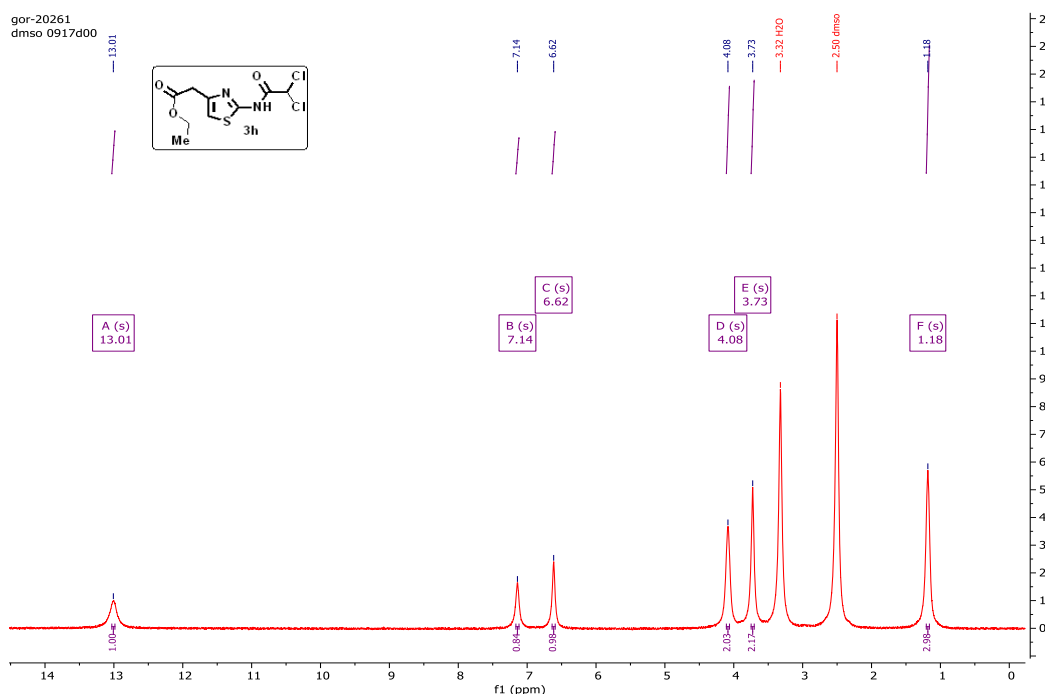
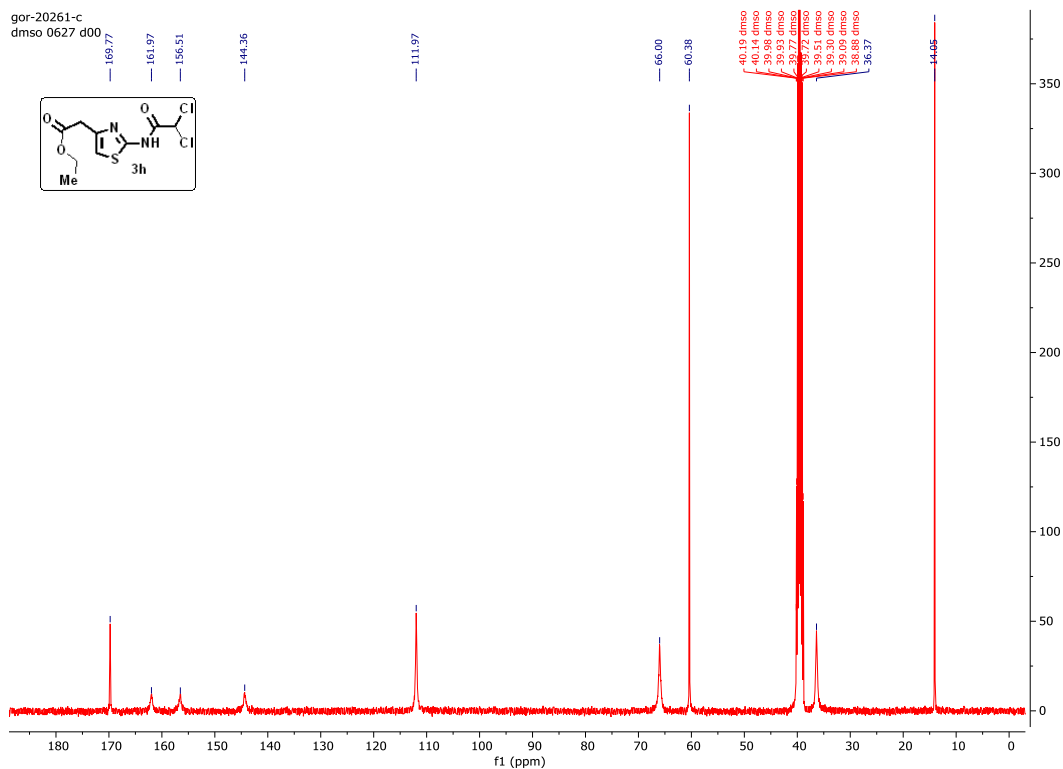
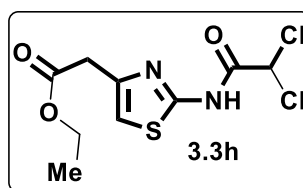
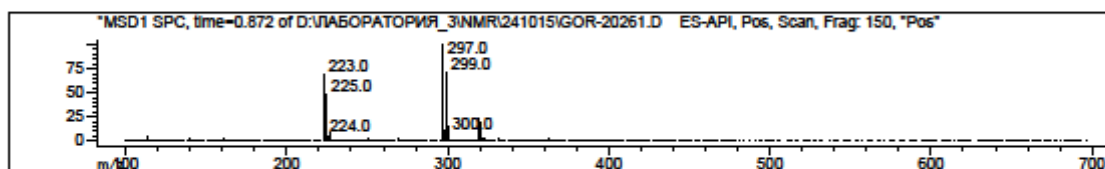


Рис. 3.27. ^1H ЯМР-спектр сполуки 3.3hРис. 3.28. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 3.3h

Molecular Weight: 297,15

Рис. 3.29. РХ-МС-спектр сполуки 3.3h

N-(бензо[*d*]тіазол-2-іл)-2-хлороацетамід (3.4a)

Білий порошок, вихід 79%, $T_{\text{пл}}$ 163-165 °С (*i*-PrOH). ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 12.70 (s, 1H, NH), 7.99 (d, $J=7.9$ Гц, 1H, аром.), 7.76 (d, $J=8.1$ Гц, 1H, аром.), 7.44 (t, $J=7.7$ Гц, 1H, аром.), 7.31 (t, $J=7.6$ Гц, 1H, аром.), 4.46 (s, 2H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 165.8 (C=O), 157.5, 148.4, 131.4, 126.2, 123.7, 121.7, 120.6, 42.5 (CH_2). РХ-МС (ESI+) m/z 227.0/229.0 (100.0%, $[\text{M}+\text{H}]^+$).

Аналітичні розрахунки для $C_9H_7ClN_2OS$: C, 47.69%; H, 3.11%; N, 12.36%.
Знайдено: 47.90%; H, 3.30%; N, 12.50% (рис. 3.30-3.32).

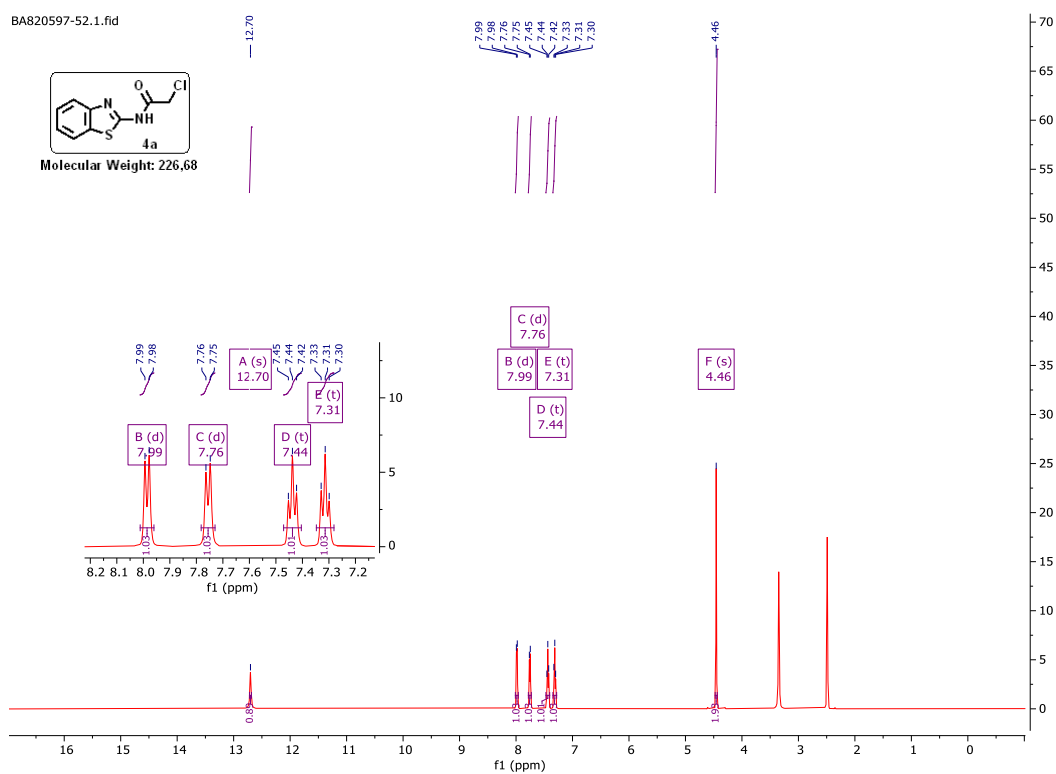


Рис. 3.30. 1H ЯМР-спектр сполуки **3.4a**

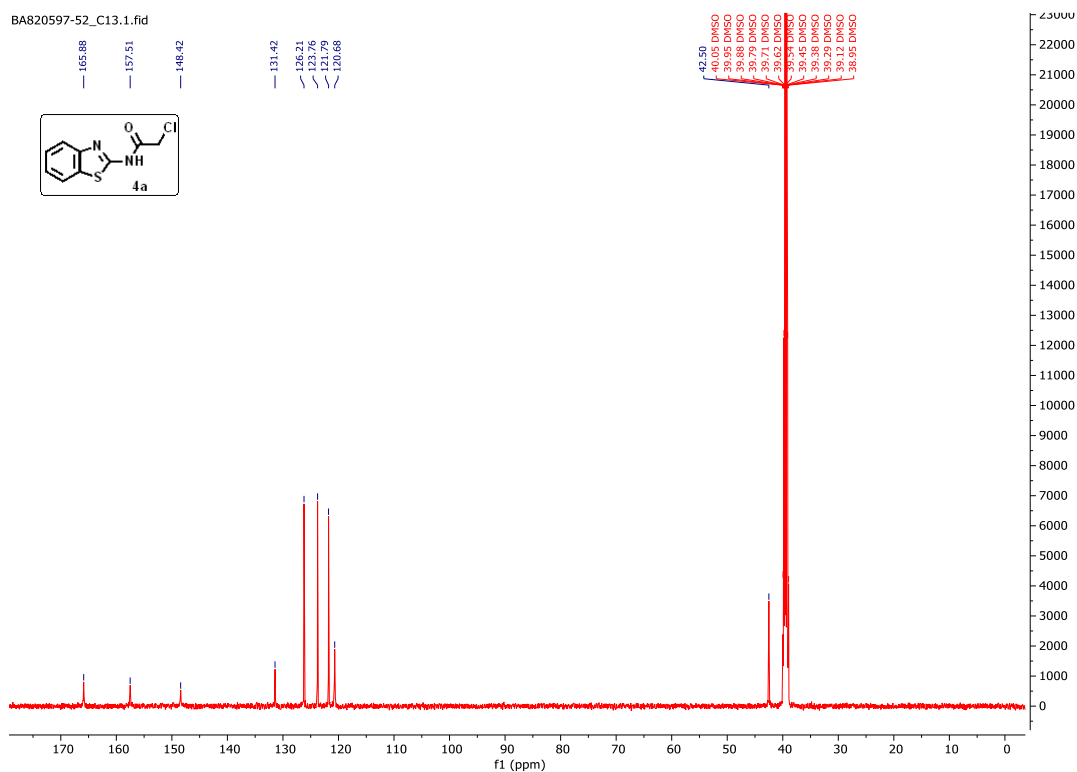


Рис. 3.31. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки **3.4a**

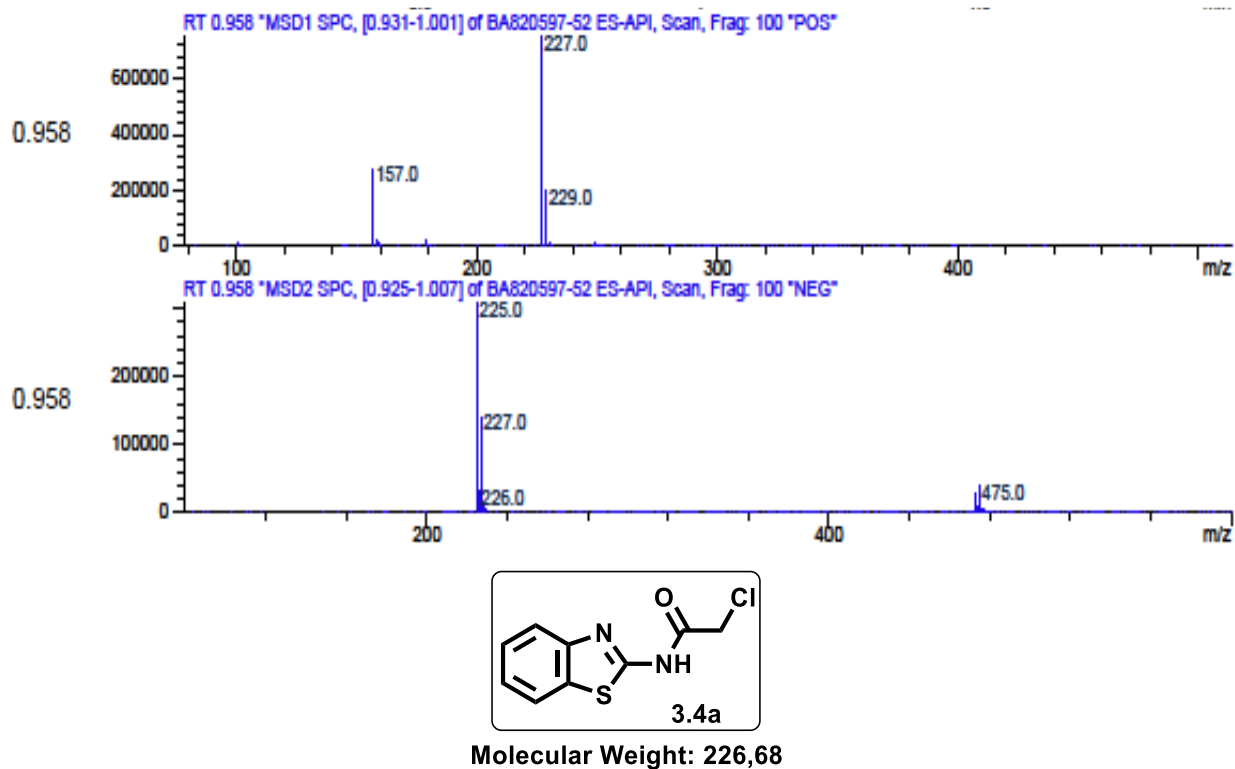
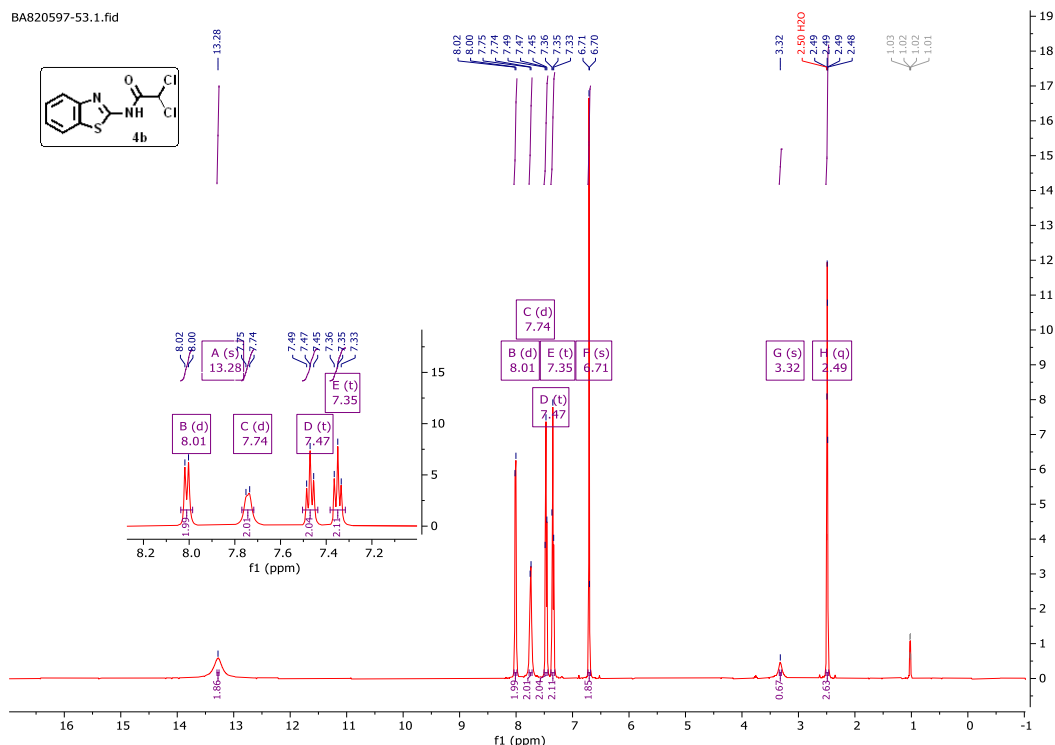
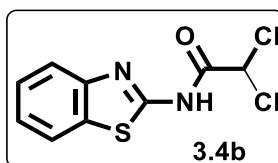
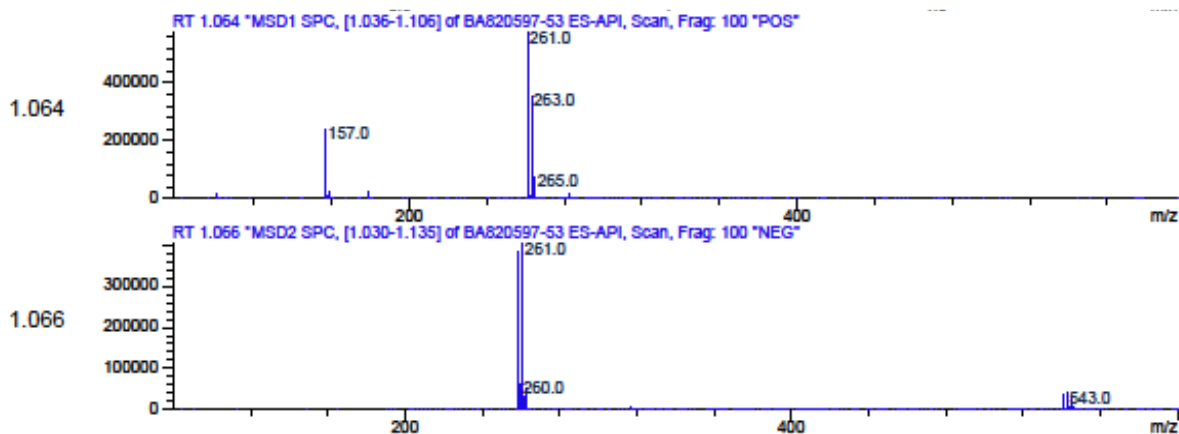


Рис. 3.32. PX-МС-спектр сполуки 3.4а

N-(бензо[*d*]тіазол-2-іл)-2,2-дихлорацетамід (3.4b)

Білий порошок, вихід 80%, $T_{пл}$ 188-190 °C (*i*-PrOH). 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 13.28 (s, 1H, NH), 8.01 (d, $J=7.9$ Гц, 1H, аром.), 7.74 (d, $J=8.1$ Гц, 1H, аром.), 7.47 (t, $J=7.7$ Гц, 1H, аром.), 7.35 (t, $J=7.6$ Гц, 1H, аром.), 6.71 (s, 1H, CH). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 163.2 (C=O), 157.0, 147.9, 131.0, 126.6, 124.2, 122.2, 121.0, 64.6 (CH). PX-МС (ESI+) m/z 261/263 (100.0%, $[M+H]^+$). Аналітичні розрахунки для $C_9H_6Cl_2N_2OS$: C, 41.40%; H, 2.32%; N, 10.73%. Знайдено: C, 41.60%; H, 2.50%; N, 10.90% (рис. 3.33-3.34).

Рис. 3.33. ^1H ЯМР-спектр сполуки 3.4b

Molecular Weight: 261,12

Рис. 3.34. РХ-МС-спектр сполуки 3.4b

2-хлоро-N-(4,6-диметилбензо[d]тіазол-2-іл)ацетамід (3.4c)

Білий порошок, вихід 77%, $T_{\text{пл}}$ 196-198 °C (*i*-PrOH). ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 12.71 (s, 1H, NH), 7.56 (s, 1H, аром.), 7.06 (s, 1H, аром.), 4.42 (s,

2H, CH₂), 2.51 (s, 3H, CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃). ¹³C ЯМР (126 МГц, ДМСО-*d*₆, δ): 165.5 (C=O), 155.6, 145.5, 133.1, 131.2, 129.5, 128.1, 118.7, 42.3 (CH₂), 20.9 (CH₃), 17.7 (CH₃). PX-МС (ESI+) m/z 255/257 (100.0%, [M+H]⁺). Аналітичні розрахунки для C₁₁H₁₁ClN₂OS: C, 51.87%; H, 4.35%; N, 11.00%. Знайдено: C, 52.10%; H, 4.50%; N, 11.20% (рис. 3.35-3.37).

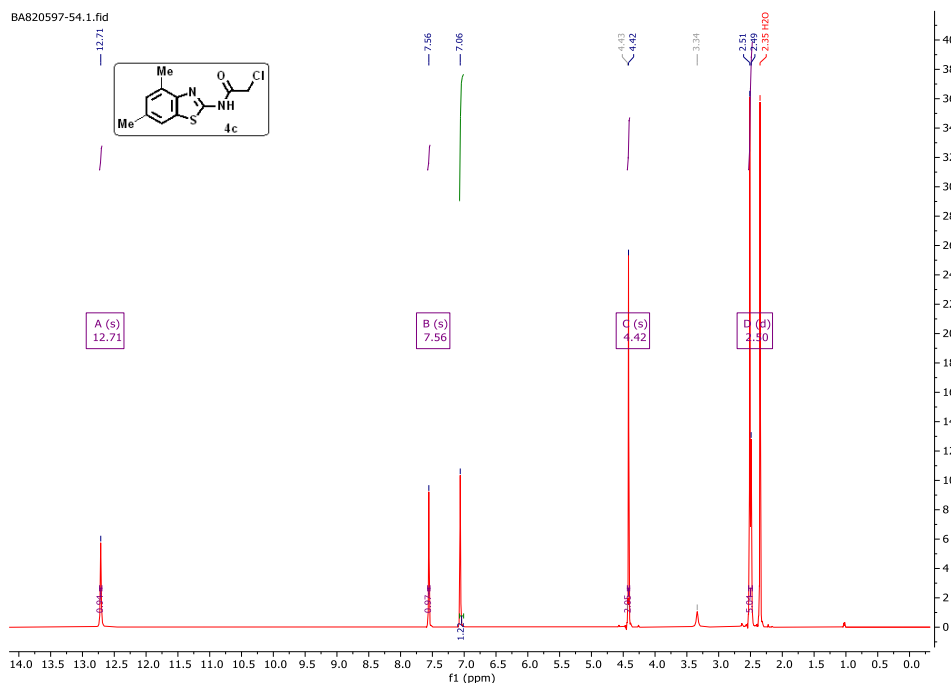


Рис. 3.35. ¹H ЯМР-спектр сполуки 3.4с

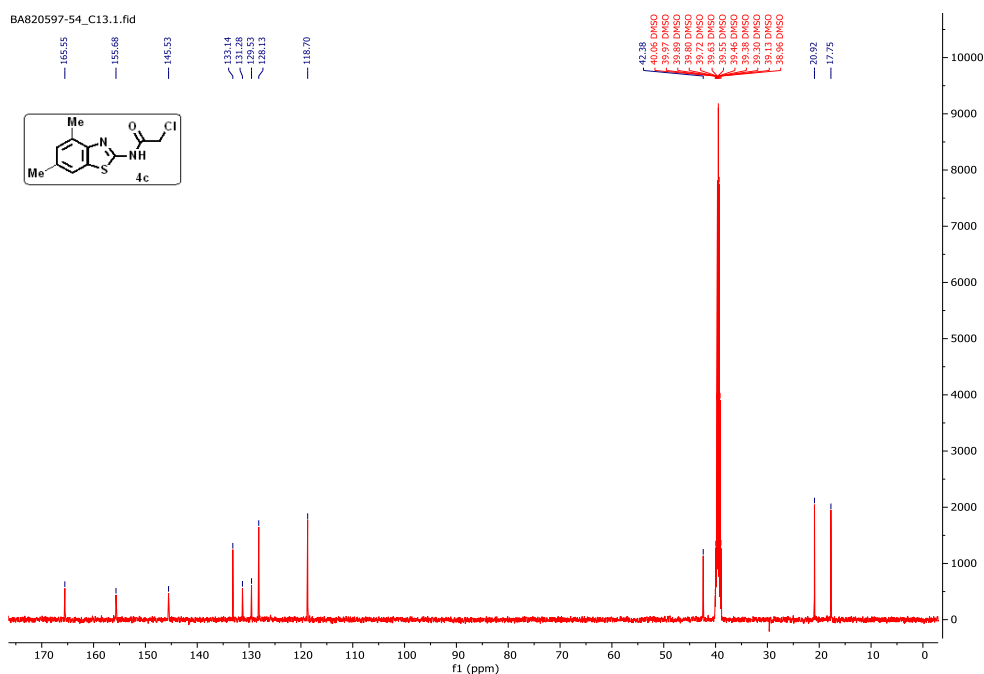
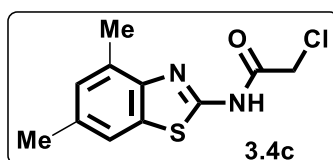
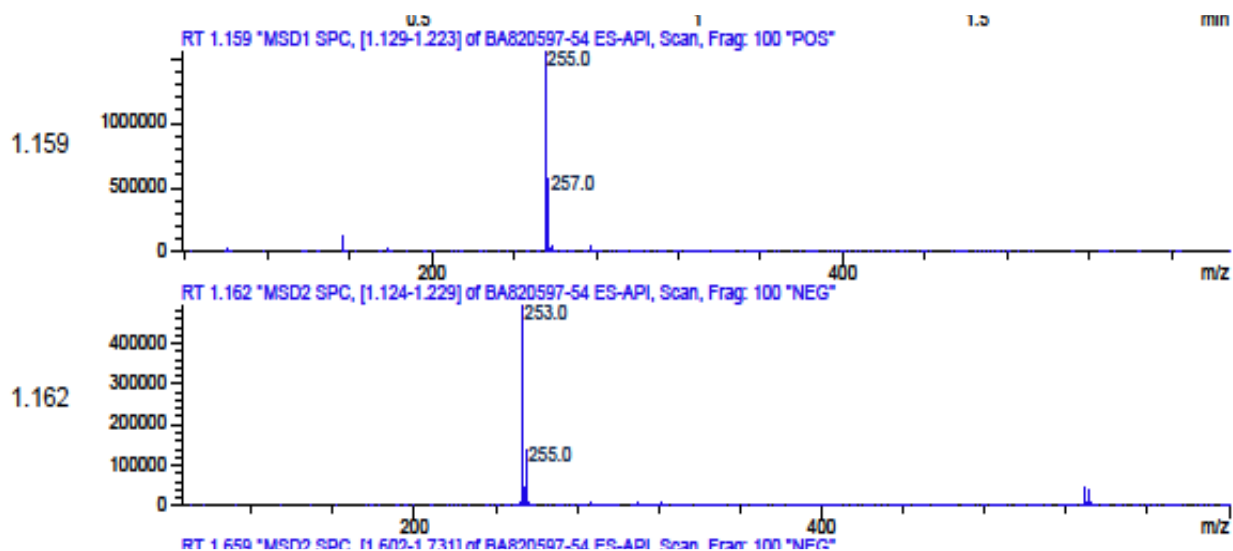


Рис. 3.36. ¹³C ЯМР-спектр сполуки 3.4с

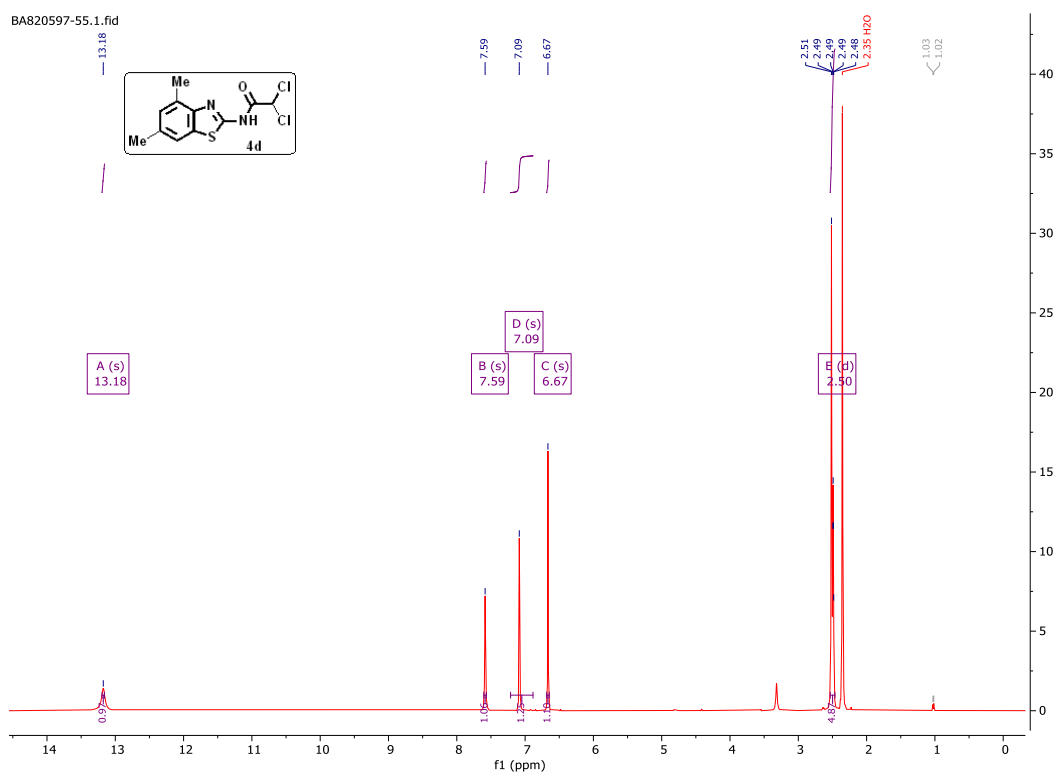
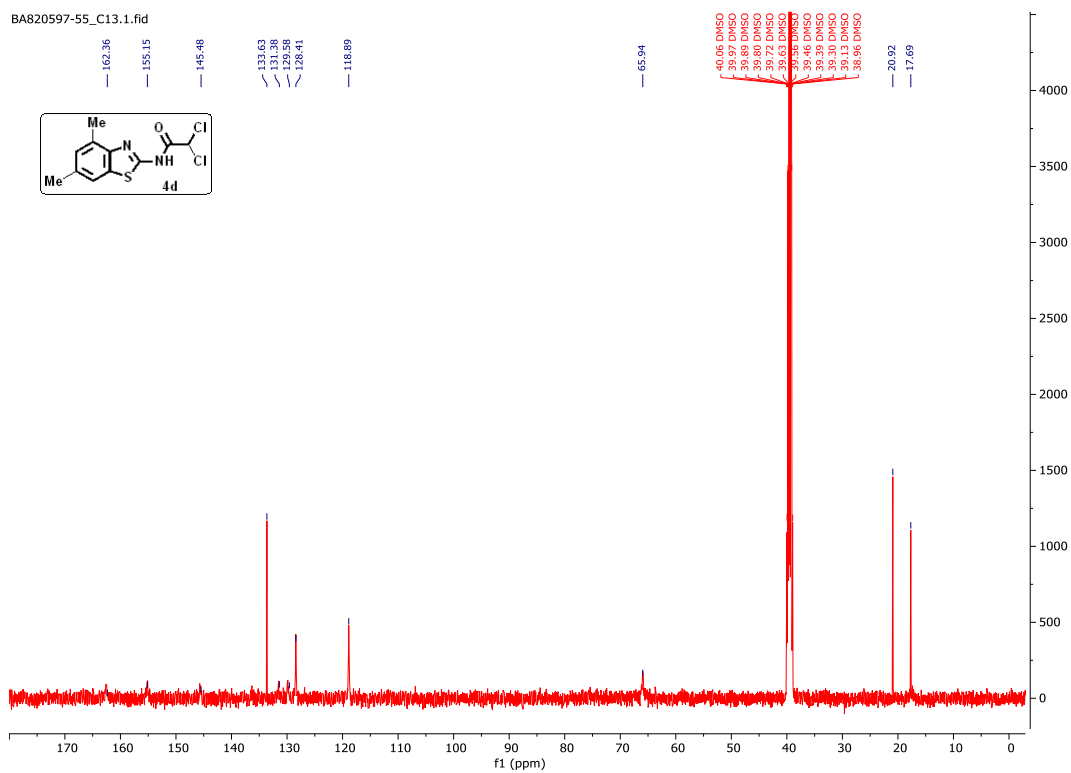


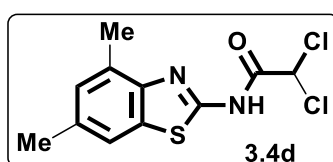
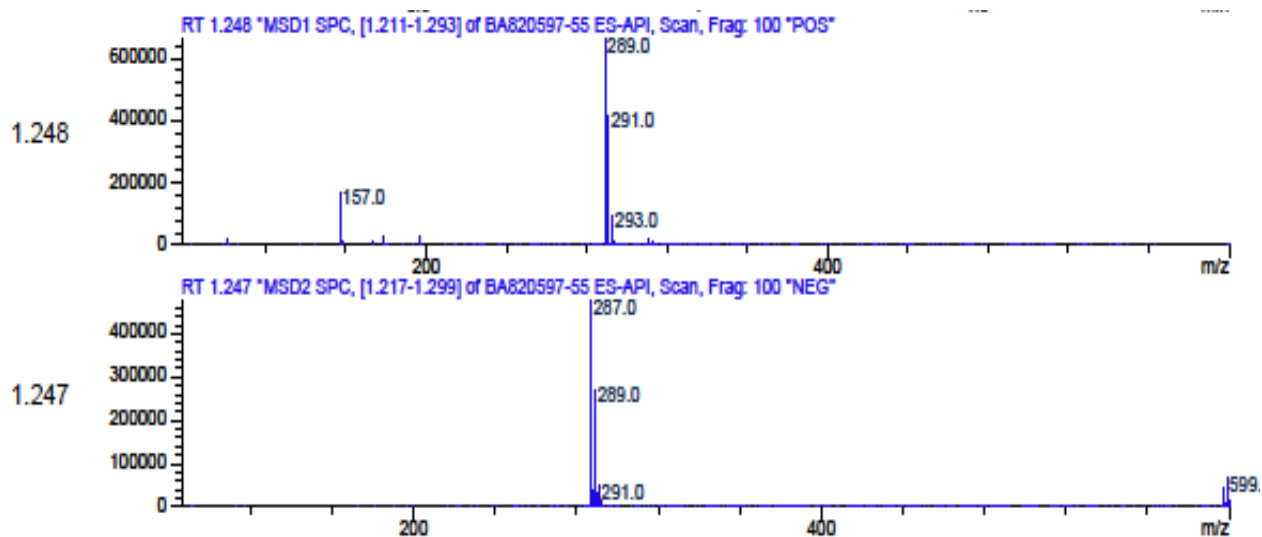
Molecular Weight: 254,73

Рис. 3.37. PX-МС-спектр сполуки 3.4c

2,2-дихлоро-N-(4,6-диметилбензо[d]тіазол-2-іл)ацетамід (3.4d)

Білий порошок, вихід 80%, $T_{пл}$ 195-197 °C (*i*-PrOH). 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 13.18 (s, 1H, NH), 7.59 (s, 1H, аром.), 7.09 (s, 1H, аром.), 6.67 (s, 1H, CH), 2.51 (s, 3H, CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 162.3 (C=O), 155.1, 145.8, 133.6, 131.3, 129.5, 128.4, 118.9, 65.9 (CH), 20.9 (CH₃), 17.7 (CH₃). PX-МС (ESI+) m/z 289/291 (100.0%, [M+H]⁺). Аналітичні розрахунки для C₁₁H₁₀Cl₂N₂OS: C, 45.69%; H, 3.49%; N, 9.69%. Знайдено: C, 45.90%; H, 3.70%; N, 9.90% (рис. 3.38-3.40).

Рис. 3.38. ^1H ЯМР-спектр сполуки 3.4dРис. 3.39. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 3.4d



Molecular Weight: 289,17

Рис. 3.40. РХ-МС-спектр сполуки **3.4d**

3.5. Скринінг цитотоксичної активності 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних на ракових та псевдонормальних клітинних лініях

З метою дослідження цитотоксичності синтезованих сполук **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h**; **3.4a-3.4d** на різних типах раку та нормальних клітин, МТТ-аналіз застосовували на моделях мієлопроліферативних новоутворень (клітинні лінії Ba/F3 wt Mouse Pro B, Ba/F3 CALRins 5 Mouse Pro B та Ba/F3 CALRdel 52 Mouse Pro B), клітинах раку товстої кишки людини (HT-29), клітинах карциноми товстої кишки людини (HCT-116), клітинах хронічної мієлогенної лейкемії людини (K562), клітинах гострої Т-клітинної лейкемії людини (Jurkat), клітинах потрійно-негативного раку молочної залози людини (MDA-MB-231), фібробластах мишей (BALB-3T3) та епідермальних кератиноцитах людини (HaCat) протягом 72 годин. Значення IC_{50} (μM) представлені у табл. 3.1.

Таблиця 3.1

IC₅₀ сполук **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h**; **3.4a-3.4d** на ракових та псевдо-нормальних клітинних лініях на основі даних МТТ-тесту протягом 72 год (μМ).

Клітинні лінії/ Сполуки	Моделі мієлопроліферативних новоутворень			Ракові клітинні лінії					Псевдо-нормальні клітинні лінії	
	Ba/F3 wt	Ba/F3 CALR Ins5	Ba/F3 CALR Del52	HT-29	HCT-116	K562	Jurkat	MDA-MB-231	BALB-3T3	Ha-Cat
3.2a	34.77	33.89	≥50	≥50	≥50	48.85	n/d	39.58	≥50	n/d
3.2b	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	>50	≥50	≥50	n/d
3.3a	7.72	7.45	7.88	n/d	34.42	33.12	≥50	7.97	>50	≥50
3.3b	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	n/d	≥50	≥50	n/d
3.3c	6.05	6.78	6.99	27.61	7.92	5.99	6.4	7.67	32.24	≥50
3.3d	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	n/d	≥50	≥50	n/d
3.3e	27.08	8.67	31.41	14.78	49.35	31.34	n/d	14.72	33.61	≥50
3.3f	≥50	47.05	≥50	≥50	38.60	42.54	n/d	47.54	≥50	≥50
3.3g	7.34	7.26	9.73	n/d	34.70	36.47	8.54	8.96	n/d	n/d
3.3h	≥50	≥50	≥50	n/d	≥50	>50	>50	>50	n/d	n/d
3.4a	25.06	6.42	14.08	33.66	30.62	27.71	n/d	8.60	35.65	n/d
3.4b	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	≥50	>50	≥50	≥50	n/d
3.4c	7.08	6.98	7.42	30.33	33.81	19.22	n/d	7.60	4.51	≥50
3.4d	≥50	≥50	41.90	≥50	≥50	≥50	n/d	47.54	≥50	≥50

Результати скринінгу цитотоксичності показали, що синтезовані ХАА мають значно більші рівні активності відносно тестованих ракових клітинних ліній порівняно з їх дихлорозаміщеними аналогами (табл. 3.1, рис. 3.41-3.48).

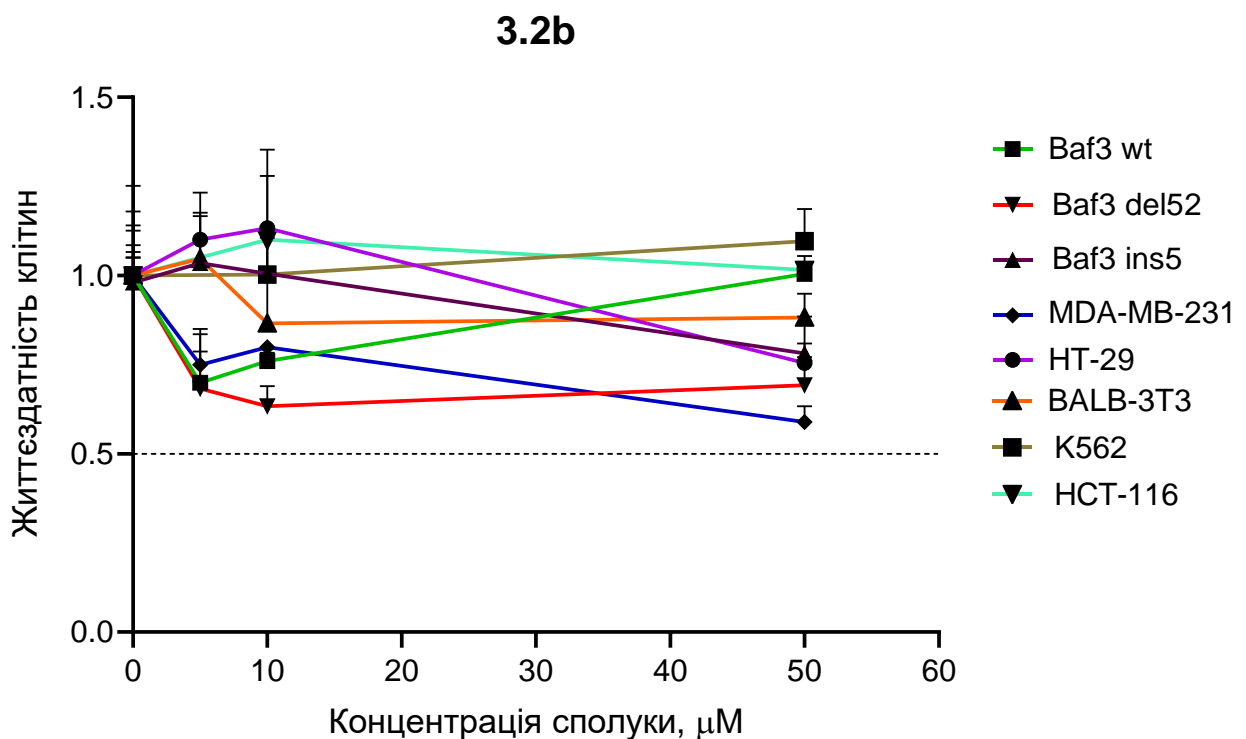
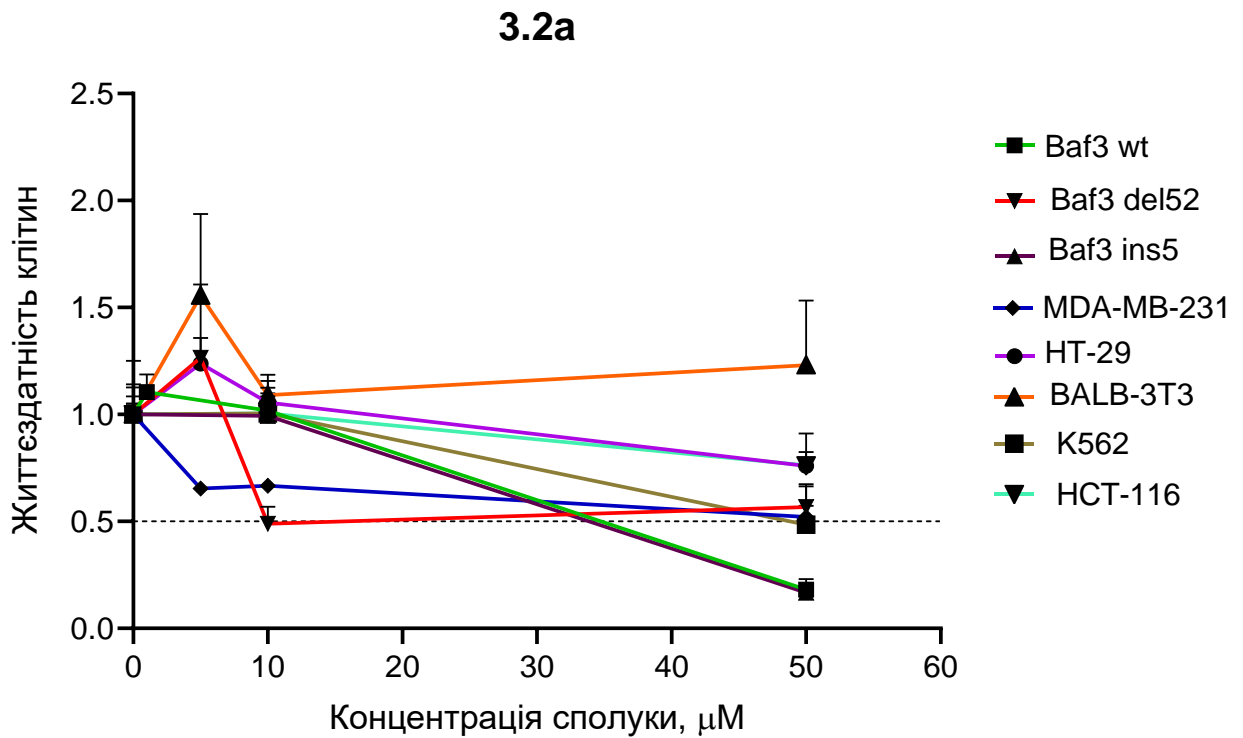


Рис. 3.41. Графічне представлення життєздатності ракових та псевдо-нормальних клітин, оброблених сполуками **3.2a** і **3.2b** (72 години впливу).

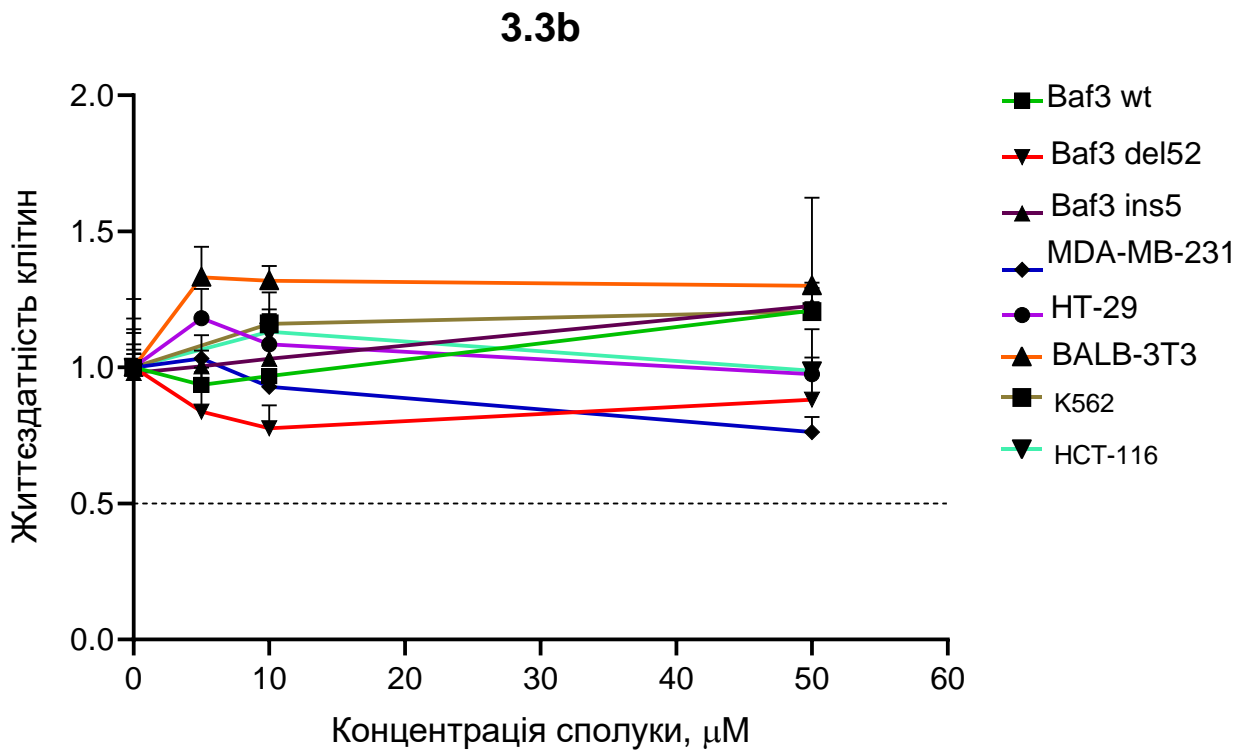
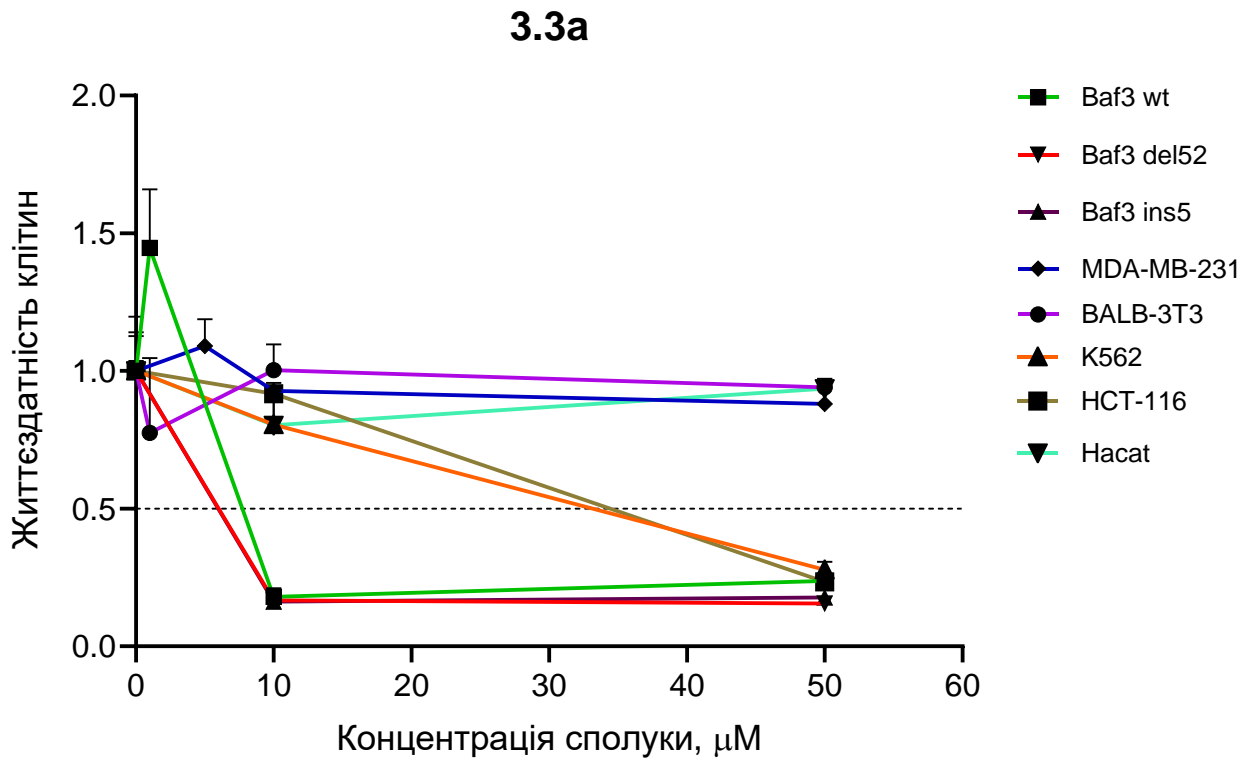


Рис. 3.42. Графічне представлення життєздатності ракових та псевдо-нормальних клітин, оброблених сполуками **3.3a** і **3.3b** (72 години впливу).

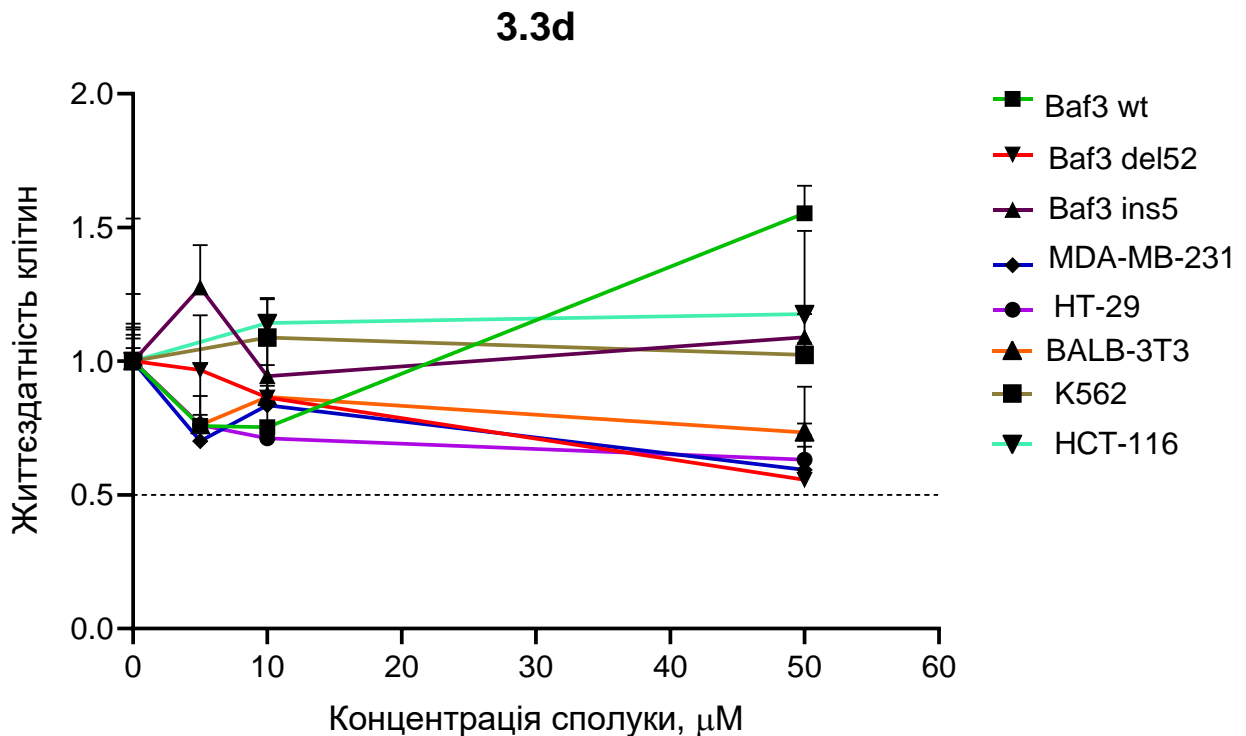
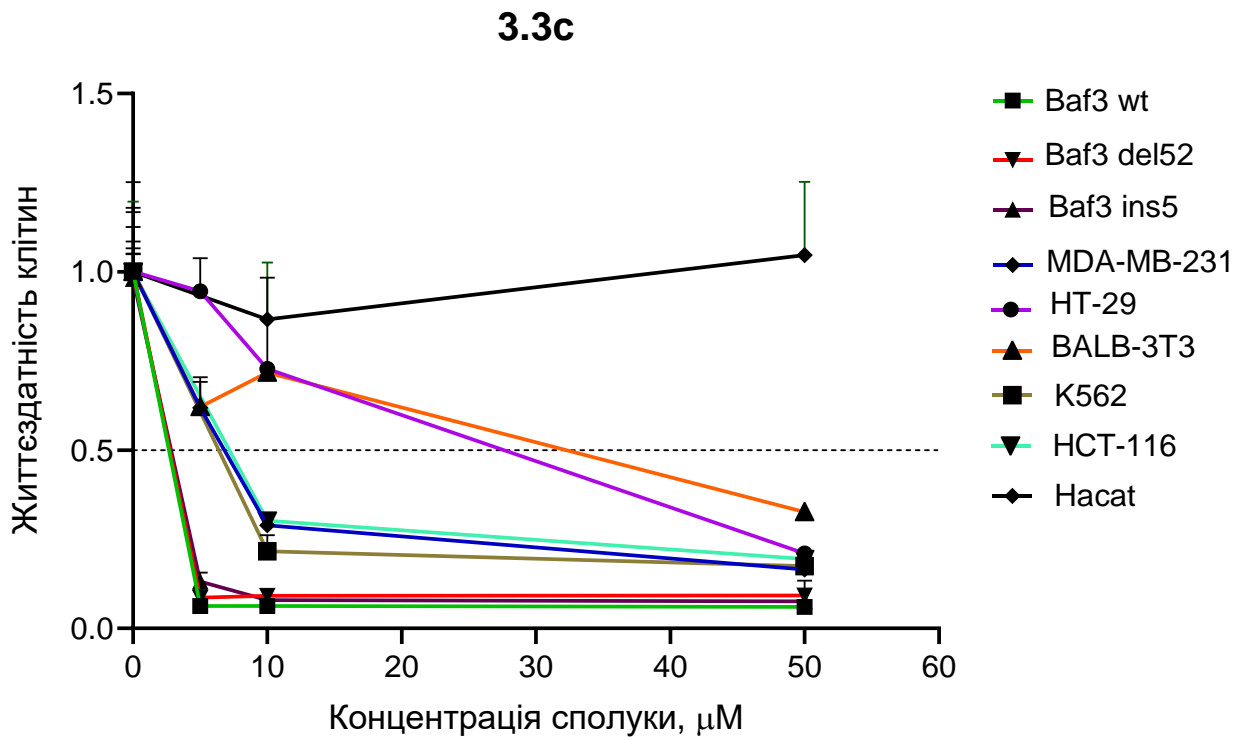


Рис. 3.43. Графічне представлення життєздатності ракових та псевдо-нормальних клітин, оброблених сполуками **3.3c** і **3.3d** (72 години впливу).

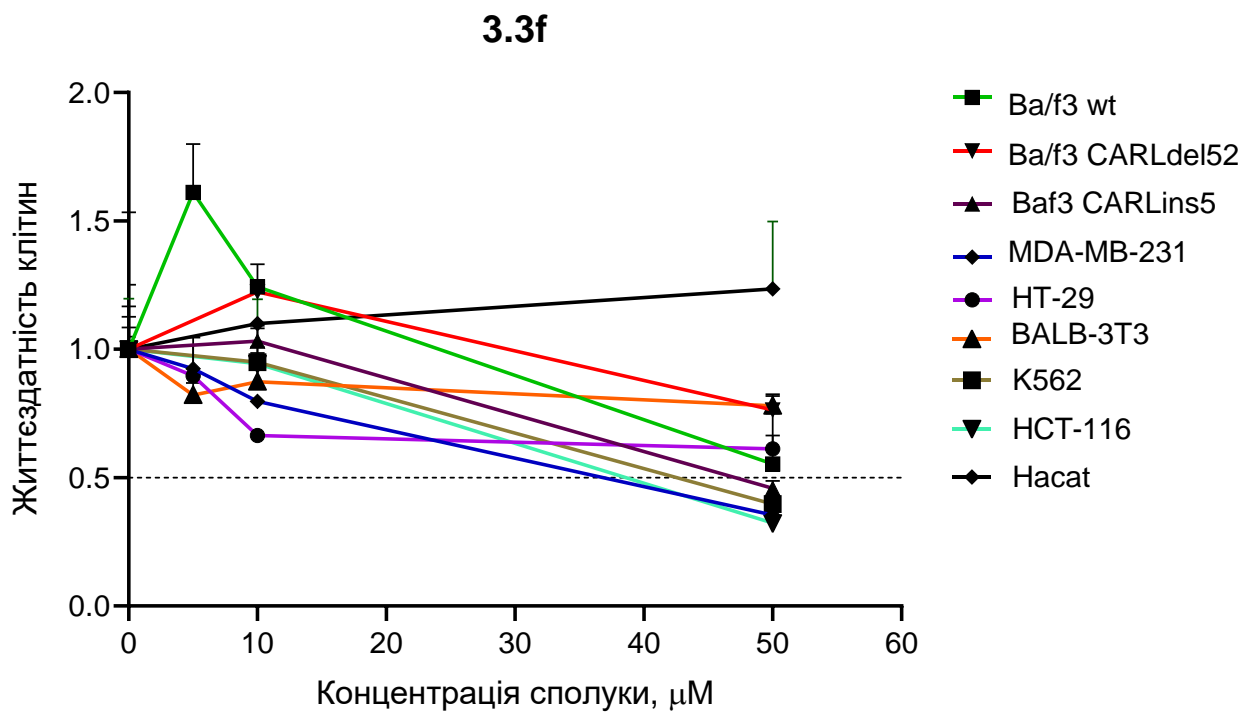
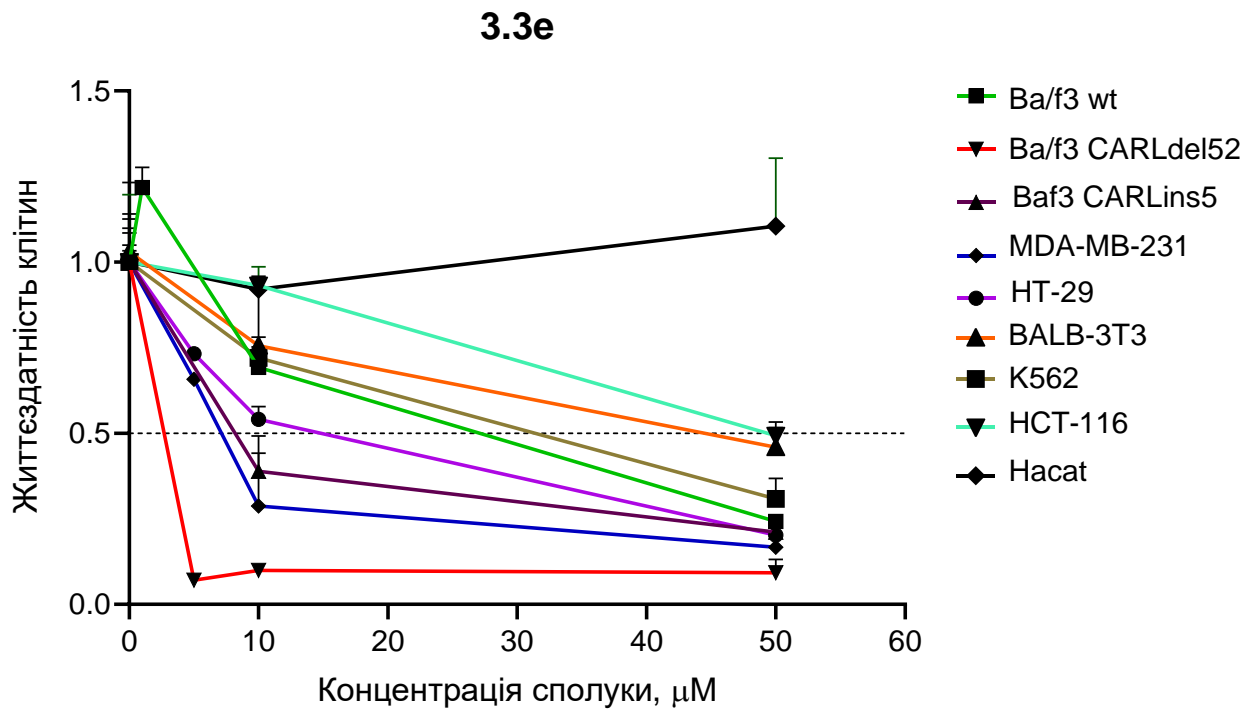


Рис. 3.44. Графічне представлення життєздатності ракових та псевдо-нормальних клітин, оброблених сполуками **3.3e** і **3.3f** (72 години впливу).

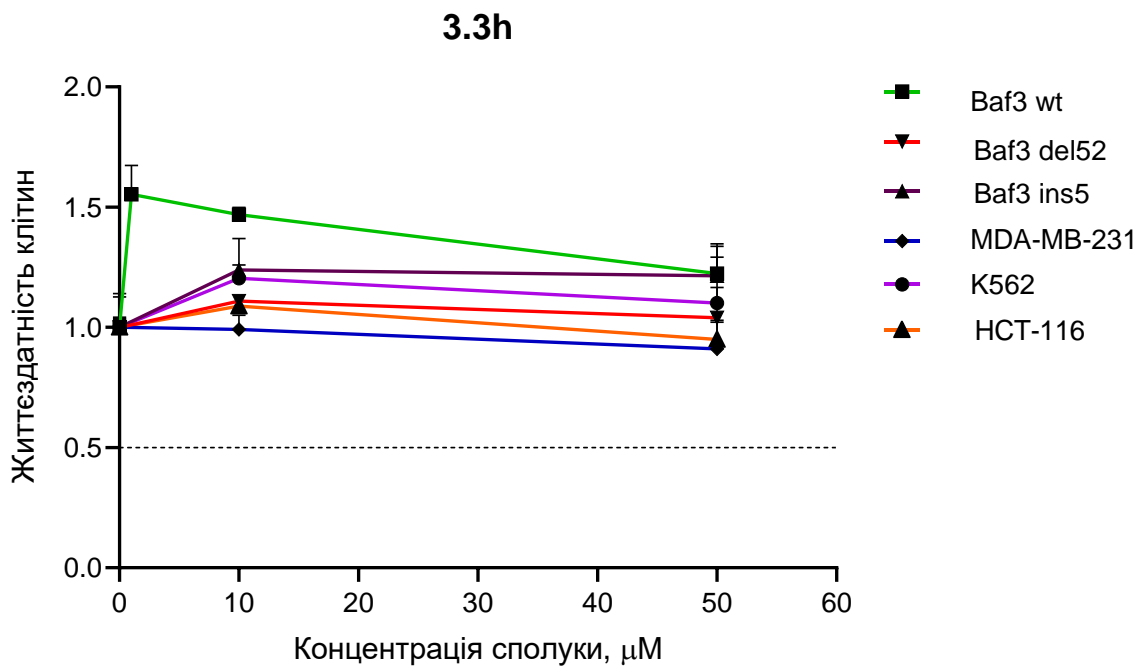
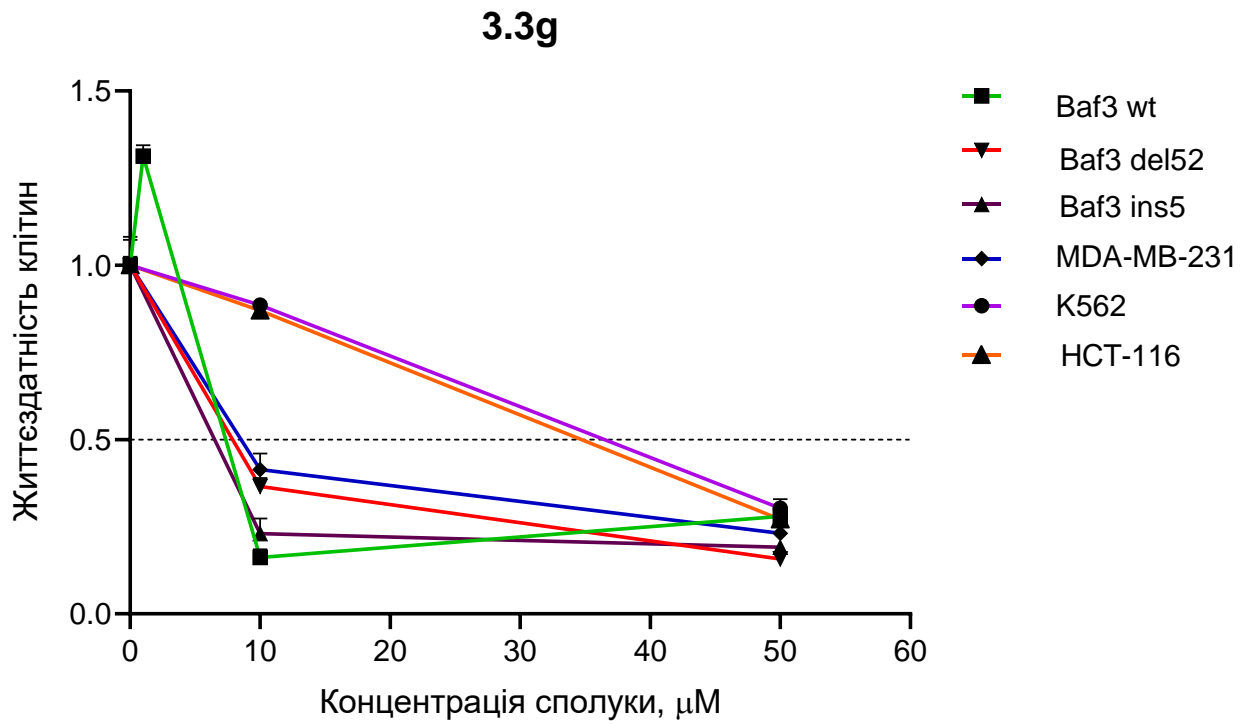


Рис. 3.45. Графічне представлення життєздатності ракових та псевдонормальних клітин, оброблених сполуками **3.3g** і **3.3h** (72 години впливу).

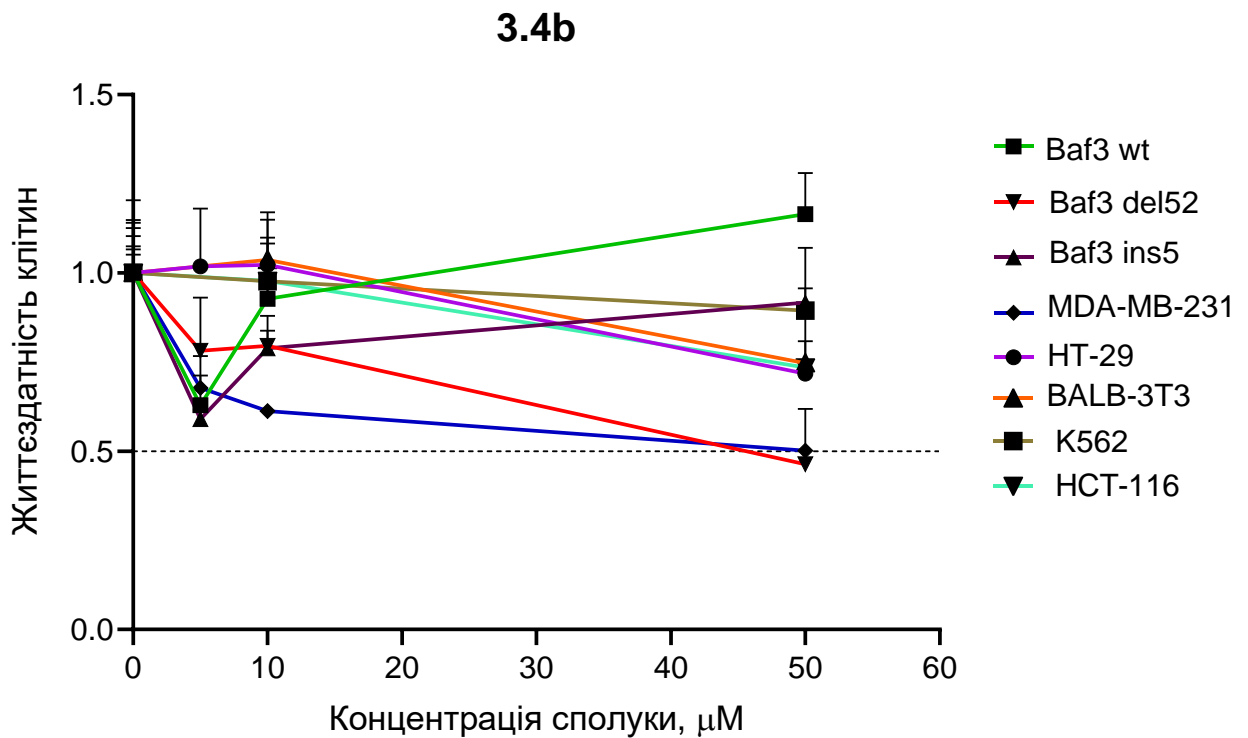
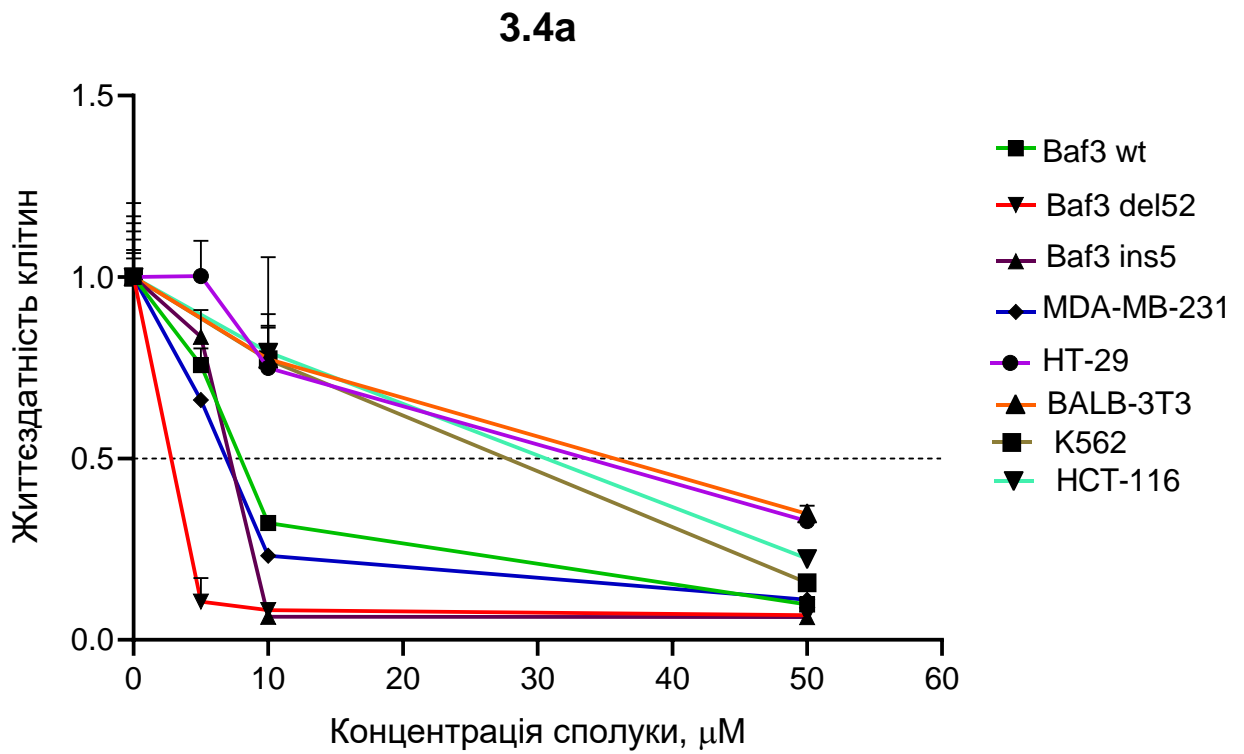


Рис. 3.46. Графічне представлення життєздатності ракових та псевдо-нормальних клітин, оброблених сполуками **3.4a** і **3.4b** (72 години впливу).

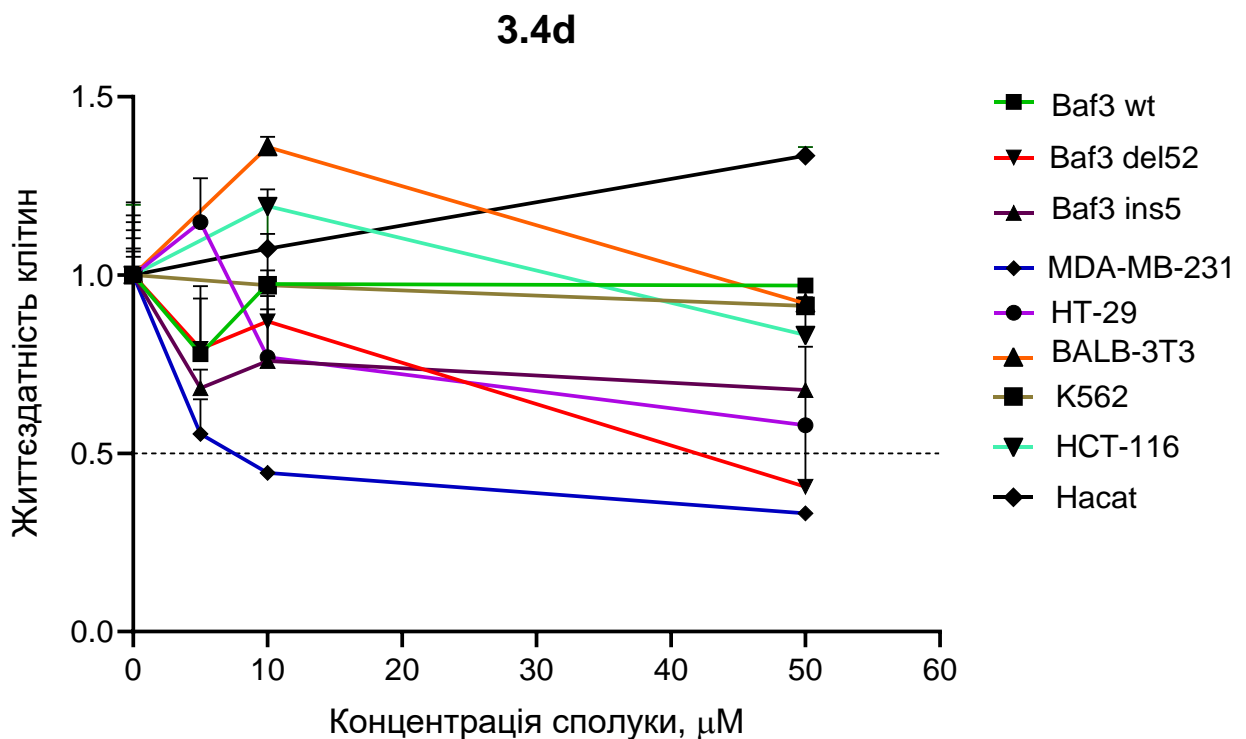
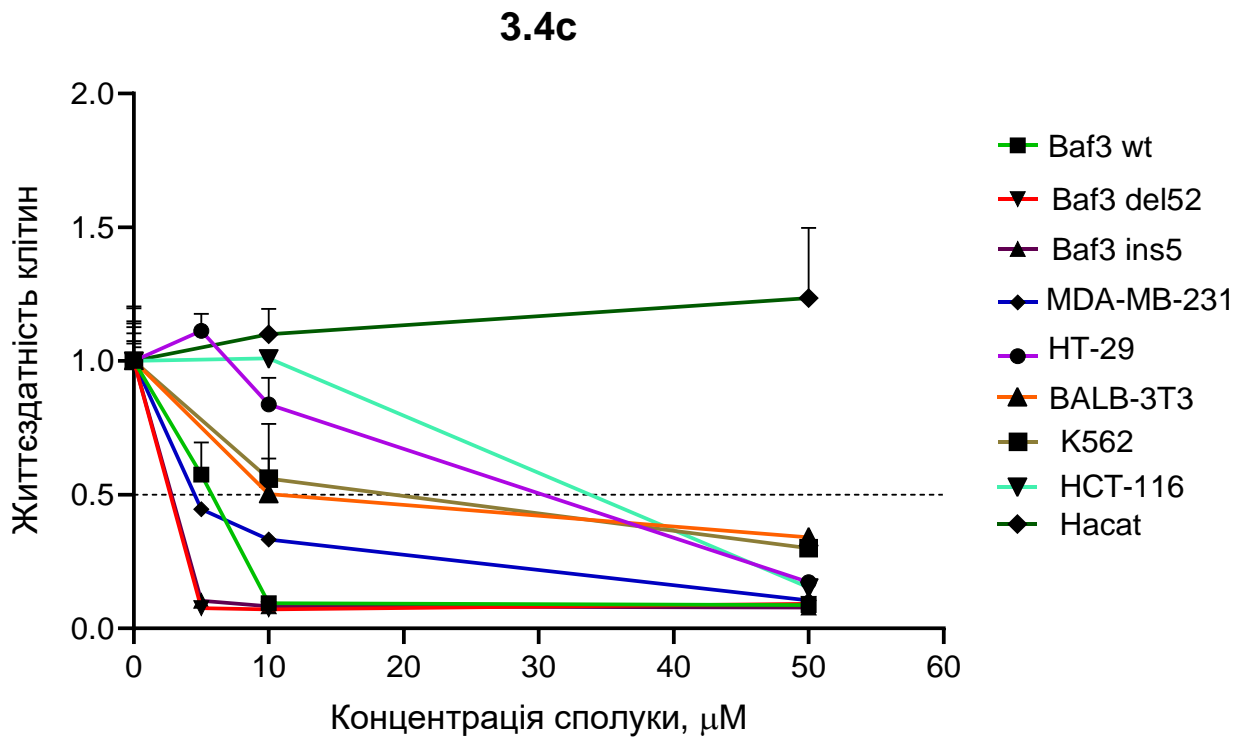


Рис. 3.47. Графічне представлення життєздатності ракових та псевдо-нормальних клітин, оброблених сполуками **3.4c** і **3.4d** (72 години впливу).

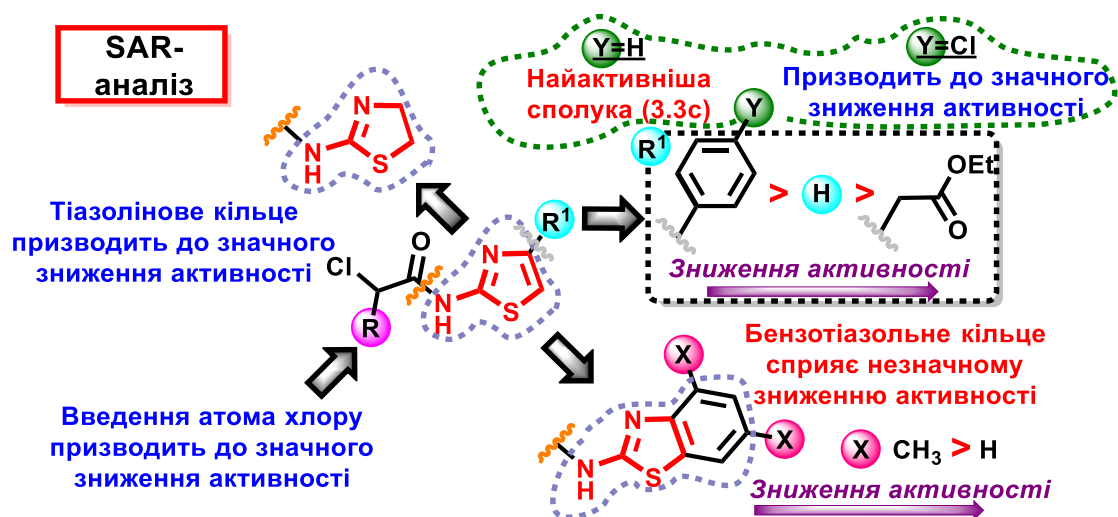


Рис. 3.48. Деякі взаємозв'язки «структура-протиракова активність» для синтезованих ХАА та ДХАА **3.2a**, **3.2b**; **3.3a-3.3h**; **3.4a-3.4d**.

Найпотужніші ХАА **3.3a**, **3.3c**, **3.4c**, та **3.3g** продемонстрували сильний цитотоксичний ефект зі значеннями IC_{50} від 5.99 до ≥ 50 μM відносно тестованих моделей раку.

У той час як дихлорозаміщені аналоги **3.3d**, **3.3b**, **3.4d** та **3.3h** знижували життєздатність клітин меншою мірою з IC_{50} в діапазоні від 41.90 до ≥ 50 μM , сполуки **3.3e**, **3.2a** та **3.4a** продемонстрували помірний цитотоксичний ефект зі значеннями IC_{50} переважно в межах 30-40 μM . На відміну від них, ДХАА **3.3f**, **3.2b** та **3.4b** не впливали на життєздатність як ракових, так і псевдо-нормальних клітинних ліній (MDA-MB-231, K562, HT-29, HCT-116, Jurkat та Ba/F3wt, BALB-3T3, HaCat відповідно). Також було помічено, що тіазолін-вмісне похідне **3.2a**, виявляло меншу цитотоксичність по всіх клітинних лініях порівняно з тіазольними та бензотіазольними аналогами **3.3a**, **3.4c** та **3.4a**. Зокрема, найвища чутливість до ХАА спостерігалася в клітинах моделі мієлопроліферативної патології, що несуть мутації генів кальретикуліну (Ba/F3CALRins5 та Ba/F3CALRdel52), клітинах їх аналога дикого типу Ba/F3wt, клітинах гострої Т-клітинної лейкемії людини (Jurkat) та клітинах потрійно-негативного раку молочної залози людини (MDA-MB-231). Нижча чутливість була продемонстрована клітинними лініями раку товстої кишки HT-29 і HCT-

116 та клітинною лінією хронічної мієлоїдної лейкемії K562. Окрім того, ХАА певною мірою знизили життєздатність фібробластів BALB-3T3.

3.6. *In silico* оцінка ADMET властивостей 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних за допомогою ADMETLab 3.0

Прогнози деяких ADMET властивостей досліджуваних сполук **3.3а**, **3.3с**, **3.3g** та **3.4с** проводили за допомогою ADMETLab 3.0 [192]. Розраховані прогностичні ADMET параметри узагальнені та представлені в табл. 3.2-3.4, з ключовими висновками, виділеними нижче.

Таблиця 3.2

Прогнозовані параметри ADMET для сполук **3.3с**, **3.3а**, **3.4с** та **3.3g**, обчислених за допомогою ADMETlab 3.0 (дані, представлені у форматі: передбачуване значення (пояснення)/ймовірність значення)

Сполуки/ Параметри	Фізико -хімічні властивості						Медична хімія			
	Молекулярна маса, ≤500	nHA, ≤10	nHD, ≤5	TPSA, ≤140	Log S,	Log P, ≤5	Fsp ³	Правило Ліпінського	Правило Pfizer	Правило GSK
3.3с	252.01	3	1	41.99	-4.233	3.092	0.091 (непридатна)/ низька	Відповідає/ висока	Не відповідає (токсична)/ висока	Відповідає/ висока
3.3а	175.98	3	1	41.99	-2.541	1.341	0.2 (непридатна)/ низька	Відповідає/ висока	Відповідає (не токсична)/ висока	Відповідає/ висока
3.4с	254.03	3	1	41.99	-4.63	3.395	0.273 (непридатна)/ низька	Відповідає/ висока	Не відповідає (токсична)/ висока	Відповідає/ висока
3.3g	242.07	5	1	68.29	-2.588	1.645	0.5 (придатна)/ висока	Відповідає/ висока	Відповідає (не токсична)/ висока	Відповідає/ висока

Усі чотири сполуки дотримуються основних правил медичної хімії, включаючи Правило Ліпінського, що прогнозує хорошу пероральну біодоступність на основі молекулярної маси, ліпофільності (log P), донорів

(HBD) та акцепторів водневих зв'язків (HBA). Вони також відповідають правилу GSK, яке призначене для мінімізації ризиків токсичності в розробці лікарських засобів. Однак сполуки **3.3c** та **3.4c** порушили правило Pfizer, яке позначає потенційну токсичність за рахунок високої ліпофільності та молекулярної маси. Сполука **3.3g** продемонструвала найбільш збалансовані властивості, з прийнятною молекулярною масою, полярною площею поверхні (TPSA), ліпофільністю та відповідним балом Fsp³, що вказує на потенціал достатньої розчинності та біодоступності.

Таблиця 3.3

Прогнозовані параметри ADMET для сполук **3.3c**, **3.3a**, **3.4c** та **3.3g**, обчислених за допомогою ADMETlab 3.0 (дані, представлені у форматі: передбачуване значення (пояснення)/ймовірність значення)

Сполуки/ Параметри	Абсорбція					Розподіл			Метаболізм	
	Проникність MDCK ^a , см/с	Проникність Caco-2 ^b , см/с	Pgp ^c - інгібітор	Pgp ^c - субстрат	НІА ^d	PPV ^e	BBV ^f	Fu ^g	CY ^h P2D6 інг. та суб.	CY ^h P3A4 інг. та суб.
3.3c	-4.326 (низька проникність)/ низька	-4.595 (оптимальна проникність)/ висока	0.063/ висока	0.001/ висока	0.035% (НІА-)/ висока	98.858% (низький терапевтичний індекс)/ висока	0.796/ низька	0.481% (низька)/ низька	0.0 та 0.002/ висока та висока	0.781 та 0.0/ низька та висока
3.3a	-4.339 (низька проникність)/ низька	-4.498 (оптимальна проникність)/ висока	0.015/ висока	0.003/ висока	0.284% (НІА-)/ висока	64.946% (оптимальний терапевтичний індекс)/ роог	0.813/ низька	29.347% (висока)/ висока	0.255 та 0.394/ висока та середня	0.984 та 0.001/ низька та висока
3.4c	-4.505 (низька проникність)/ низька	-4.745 (оптимальна проникність)/ висока	0.029/ висока	0.004/ висока	0.001% (НІА-)/ висока	98.855% (низький терапевтичний індекс)/ висока	0.67/ низька	0.929% (низька)/ низька	0.014 та 0.0324/ висока та середня	0.895 та 0.047/ низька та висока
3.3g	-4.311 (низька проникність)/ низька	-4.631 (оптимальна проникність)/ висока	0.064/ висока	0.017/ висока	0.057% (НІА-)/ висока	67.529% (оптимальний терапевтичний індекс)/ висока	0.779/ низька	32.373% (висока)/ висока	0.001 та 0.0/ висока та висока	0.911 та 0.0564/ низька та середня

^aMDCK – клітини нирок собаки Мадіна-Дарбі; ^bCaco-2 – human colorectal adenocarcinoma cell line; ^cPgp – Р-глікопротеїн; ^dНІА – всмоктування кишківника

людини; ^ePPB – зв’язування білка плазми крові ; ^fBVB – гемато-енцефалічний бар’єр; ^gFu – частка незв’язана у плазмі; ^hCY – цитохром

Прогнозовані дані про поглинання вказували на низьку проникність всіх сполук через моделі MDCK та Caco-2. Усі сполуки ймовірно не є субстратами або інгібіторами P-глікопротеїну, що забезпечує сприятливу фармакокінетику. Прогнози всмоктування кишківника людини (НІА) показали не високе всмоктування для всіх похідних, зокрема **3.4c** та **3.3c**. Зв’язування білка плазми крові (PPB) було високим для сполук **3.3c** та **3.4c**, що вказує на низьку фракцію незв’язаної сполуки, тоді як сполука **3.3g** показала помірне зв’язування, що може призвести до кращого терапевтичного індексу. Також, жодна із сполук не прогнозується, як ефективно перетинаюча гемато-енцефалічний бар’єр (ГЕБ), зменшуючи ймовірність побічних ефектів ЦНС.

Таблиця 3.4

Прогнозовані параметри ADMET для сполук **3.3c**, **3.3a**, **3.4c** та **3.3g**, обчислених за допомогою ADMETlab 3.0 (дані, представлені у форматі: передбачуване значення (пояснення)/ймовірність значення)

Сполуки/ Параметри	Виведення		Токсичність		Підхід Tox21					
	CL _{plasma} ⁱ , мл/хв/кг	T _{1/2} ^j , год	Н-НТ ^k	Токсичність AMES ^l	AR ^m	AhR ⁿ	Aromatase ^o	ER ^p	PPAR γ ^q	ARE ^r
3.3c	4.363 (низький кліренс)/ висока	0.627 (короткий)/ низька	0.645/ середня	0.951/ низька	0.167/ висока	1.0/ низька	0.199/ висока	0.706/ низька	0.985/ низька	1.0/ низька
3.3a	4.774 (низький кліренс)/ висока	1.095 (середній)/ середня	0.528/ середня	0.958/ низька	0.018/ висока	0.668/ середня	0.0/ висока	0.498/ середня	0.006/ висока	0.999/ низька
3.4c	4.866 (низький кліренс)/ висока	0.635 (короткий)/ низька	0.714/ низька	0.947/ низька	0.366/ середня	1.0/ низька	0.21/ висока	0.829/ низька	0.985/ низька	1.0/ низька
3.3g	6.316 (середній кліренс)/ середня	0.405 (короткий)/ низька	0.573/ середня	0.377/ середня	0.187/ висока	0.708/ низька	0.013/ висока	0.043/ висока	0.007/ висока	0.274/ висока

ⁱCL_{plasma} – кліренс плазми сполук; ^jT_{1/2} – період напіввиведення сполук; ^kH-NT – людська гепатотоксичність; ^lТоксичність AMES – найпоширеніший аналіз для тестування мутагенності сполук; ^mAR – андрогенний рецептор, прогнозоване значення – це ймовірність бути агоністом для андрогенних рецепторів; ⁿAhR – арилвуглеводневий рецептор, прогнозоване значення – це ймовірність бути агоністом для арилвуглеводневих рецепторів; ^oAromatase – прогнозоване значення – це ймовірність бути інгібітором ароматази; ^pER – естрогеновий рецептор, прогнозоване значення – це ймовірність бути агоністом для естрогенових рецепторів; ^qPPAR γ – γ -рецептори, активовані пероксисомою, прогнозоване значення – це ймовірність бути агоністом до γ -рецепторів, активованих пероксисомою; ^rARE – сигнальний шлях елемента антиоксидантної реакції, прогнозоване значення – це ймовірність бути активатором сигнального шляху

Усі сполуки демонстрували низький кліренс плазми, при цьому сполука **3.3g** демонструє помірний кліренс. Прогнозований період напіввиведення був коротким для всіх похідних, крім сполуки **3.3a**, яка показала проміжний період напіввиведення, що вказує на необхідність меншого дозування. Щодо токсичності, сполуки **3.3c** та **3.4c** мали більш високу ймовірність гепатотоксичності людини (H-NT) та мутагенності (AMES). На відміну від них, **3.3g** виявляв найнижчі ризики гепатотоксичності та мутагенності, що робить його найбезпечнішим кандидатом.

Сполуки **3.3c** та **3.4c** продемонстрували сильний потенціал бути агоністами PPAR γ , тоді як сполука **3.3g** виявляла незначну активність, що свідчить про потенційні метаболічні або протизапальні застосування. Зокрема, сполука **3.3g** також демонструвала низькі ймовірності бути агоністом рецепторів естрогену (ER) або інгібітором ароматази, зменшуючи занепокоєння щодо нецільових гормональних ефектів.

Прогнозовані ADMET профілі свідчать про те, що сполука **3.3g** має найбільш сприятливий баланс лікоподібних властивостей, включаючи зменшені

ризика токсичності, помірний кліренс та метаболічну стабільність. Це робить її найбільш перспективним кандидатом для подальшої фармакологічної оцінки.

3.7. Квантово-хімічні розрахунки для 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

Результат скринінгу протиракової активності показав значну різницю між синтезованими ХАА та їх дихлорозаміщеними аналогами. Оскільки ХАА володіють більшою активністю, ніж ДХАА, і відрізняються лише наявністю в структурі одного додаткового атома хлору, їх дія, як очікується, в основному залежатиме від реакційної здатності атома вуглецю, пов'язаного з одним або двома атомами хлору. Для пояснення різниці протиракової активності у сполуках, пов'язаних з структурою, для деяких синтезованих ХАА та ДХАА були проведені квантово-хімічні розрахунки їх електронної будови.

Біологічна активність хлороацетамідів зазвичай пов'язана з їх здатністю ковалентно зв'язуватися з молекулами білка. Утворення ковалентних зв'язків можливе завдяки заміщенню атома хлору на залишок цистеїну. Така реакція заміщення можлива як у ХАА, так і в ДХАА. На реакційну здатність сполук безпосередньо впливає їх електронна структура. При обчисленні параметрів реактивності, розташування їх граничних орбіталей має вирішальний вплив. Порівнюючи розташування рівнів енергії, слід зазначити, що на це впливають, як атоми хлору, так і природа та замісники гетероциклу (рис. 3.49).

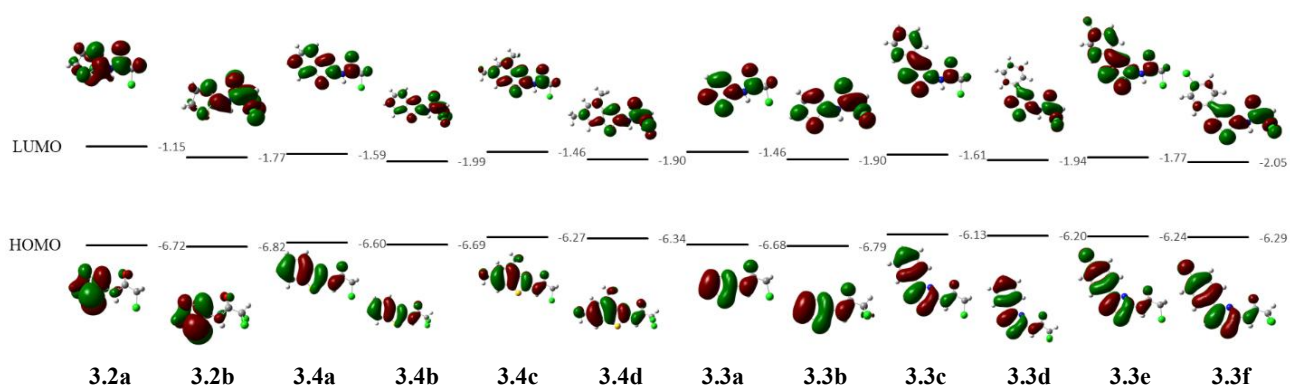


Рис. 3.49. Енергія та форма граничних молекулярних орбіталей сполук 3.2а, 3.2b, 3.3а-3.3f та 3.4а-3.4d

Загалом, рівень енергії ДХАА зміщується вниз через додатковий акцепторний ефект атома хлору. На розташування НОМО менше впливає додатковий атом хлору, оскільки атоми кон'югованої системи в основному беруть участь у її формуванні. Відповідно, енергія НОМО збільшується з появою донорних замісників у тiazольному кільці. Порівнюючи природу гетероциклу, слід зазначити, що він має менший вплив на енергію НОМО, що незначно зменшується в наступному ряду: дигідротіазол, тіазол та бензотіазол. Наявність двох атомів хлору в молекулі має набагато більший вплив на зниження енергії LUMO. З одного боку, це пояснюється більшим електронно-акцепторним впливом двох атомів хлору, а з іншого – просторовим розташуванням атомів хлору. При оптимізації геометрії один атом хлору ХАА розташований у анти-положенні відносно кисню і хлору (антиперипланарна конформація), а два атоми хлору ДХАА займають положення, при якому атом кисню і водню займають заслону (антиклинальну) конформацію, в якому їх орбіталі можуть частково взаємодіяти з орбіталами кон'югованої системи. У результаті такої взаємодії LUMO також охоплює два атоми хлору в ДХАА, що допомагає зменшити їх енергію. Тоді як в ХАА, орбіталі хлору не беруть участі у формуванні LUMO. Окрім того, у ДХАА LUMO більш зосереджені на тій же стороні молекули, що і кінцевий карбон з двома атомами хлору. Все це вказує на більші електрофільні властивості ДХАА порівняно з ХАА. Такі закономірності не є фундаментальними, і їх вплив показує лише частковий випадок, оскільки немає значних просторових перешкод, а при кімнатній температурі можливе повне обертання навколо кінцевого зв'язку С–С, хоча більшість часу молекула буде у найбільш сприятливій заслуненій конформації, яка моделюється в результаті відповідної оптимізації геометрії сполук. Однак відомо, що результати квантово-хімічних розрахунків реакційної здатності ХАА не показали кореляції з індексом електрофільності активної частини [193]. Тому їх алкілююча здатність буде визначатись більше механізмом реакції, ніж електронними ефектами в молекулі.

Різні розташування енергетичних рівнів сприятиме різній реакційній здатності. Розраховані параметри (табл. 3.5), що є результатом аналізу граничних молекулярних орбіталей, показують залежність їх реакційної здатності від структури. Енергетична щільність, що характеризує здатність переходу до збудженого стану, як правило, нижчий у ДХАА.

Таблиця 3.5

Розраховані параметри реактивності ХАА та ДХАА

	3.2a	3.2b	3.4a	3.4b	3.4c	3.4d	3.3a	3.3b	3.3c	3.3d	3.3e	3.3f
LUMO, eV	-1.15	-1.77	-1.59	-1.99	-1.46	-1.90	-1.46	-1.90	-1.61	-1.94	-1.77	-2.05
HOMO, eV	-6.72	-6.82	-6.60	-6.69	-6.27	-6.34	-6.68	-6.79	-6.13	-6.20	-6.24	-6.29
EA	1.15	1.77	1.59	1.99	1.46	1.90	1.46	1.90	1.61	1.94	1.77	2.05
IP	6.72	6.82	6.60	6.69	6.27	6.34	6.68	6.79	6.13	6.20	6.24	6.29
HLG	5.57	5.06	5.01	4.69	4.81	4.45	5.22	4.89	4.52	4.27	4.46	4.24
χ	3.94	4.29	4.09	4.34	3.86	4.12	4.07	4.34	3.87	4.07	4.00	4.17
μ	-3.94	-4.29	-4.09	-4.34	-3.86	-4.12	-4.07	-4.34	-3.87	-4.07	-4.00	-4.17
η	2.78	2.53	2.50	2.35	2.40	2.22	2.61	2.45	2.26	2.13	2.23	2.12
S	0.18	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.19	0.20	0.22	0.23	0.22	0.24
ω	2.78	3.65	3.34	4.01	3.10	3.82	3.17	3.85	3.31	3.88	3.59	4.10
ω^-	5.10	6.11	5.70	6.47	5.34	6.16	5.53	6.33	5.52	6.18	5.87	6.45
ω^+	1.16	1.82	1.61	2.13	1.47	2.03	1.46	1.99	1.66	2.11	1.87	2.28

Досліджувані сполуки діють як електрофіли в реакціях заміщення з аніоном цистеїну. Тому їх реакційна здатність у таких реакціях повинна визначатися їх електрофільністю (ω). Згідно з розрахунками, можна однозначно стверджувати більш високу електрофільність і, відповідно, реакційну здатність ДХАА. Однак на практиці вони менш ефективні для різних ракових клітин (див. табл. 3.1, рис. 3.41-3.48). Найбільш електрофільне похідне ДХАА **3.3f** виявило малу активність на деяких лініях, а інші не виявляли майже жодної активності. Якщо порівнювати активність ХАА, загалом, їх активність збільшується зі збільшенням електрофільності, за винятком сполук **3.3e** та **3.4a** (хоча, на деяких

лініях, вони працювали краще, ніж інші), що повинно бути пов'язане не лише з їх реакційною здатністю, але і з їх просторовою структурою. Ще одним дескриптором, який вимірює здатність системи приймати часткову кількість заряду є електронно-донорна здатність (ω^+). Його значення приблизно корелюються з електрофільністю, тому вона також може бути використана для прогнозування реактивності.

Ковалентне зв'язування ХАА та ДХАА відбувається через заміну галогену з залишком цистеїну. У цьому випадку реакція відбувається або через утворення карбокатиону (за механізмом S_N1) або через перехідний стан (за механізмом S_N2), в обох випадках атом вуглецю змінює свою початкову sp^3 -гібридизацію на sp^2 -гібридизацію з приблизно перпендикулярною p -орбіталлю. Ця p -орбіталь входить у спряження з іншою спряженою системою, і у випадку ДХАА, в цю систему включений ще один атом хлору, який у цьому випадку вже буде виявляти M^+ ефект і зменшувати електронну густину на карбокатионі, що зменшить його реакційну здатність. Були розраховані два таких катіони, які утворюються при вилученні атома хлору з ХАА **3.4a** (катіон **A**) та з ДХАА (катіон **B**), енергія та форма граничних орбіталей показані на рис. 3.50.

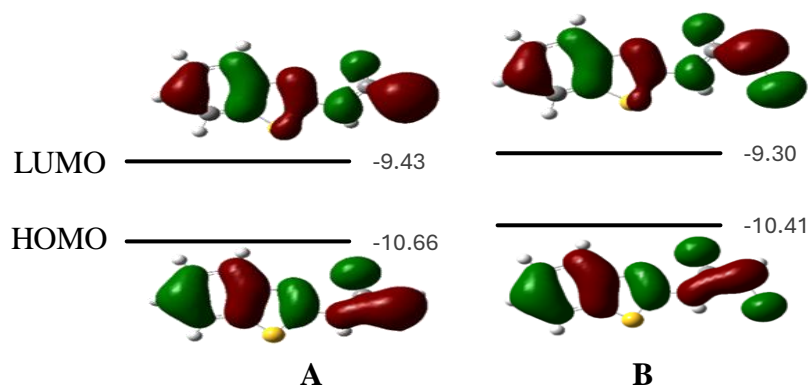


Рис. 3.50. Енергія та форма граничних молекулярних орбіталей проміжних катіонів, утворених під час вилучення аніона хлору з сполук **3.4a** (**A**) та **3.4b** (**B**).

Донорний ефект атома хлору у перехідному стані впливає на розташування енергетичних рівнів, які вищі в катіоні **B**, що містить

кон'югований атом хлору. Було розраховано індекси Фукуї для атома карбону в карбокатионах **A** $f^+(C^+)=0.191$ і **B** $f^+(C^+)=0.162$, що вказує на більшу здатність проміжної сполуки карбокатиону **A** піддатися атаці нуклеофілом.

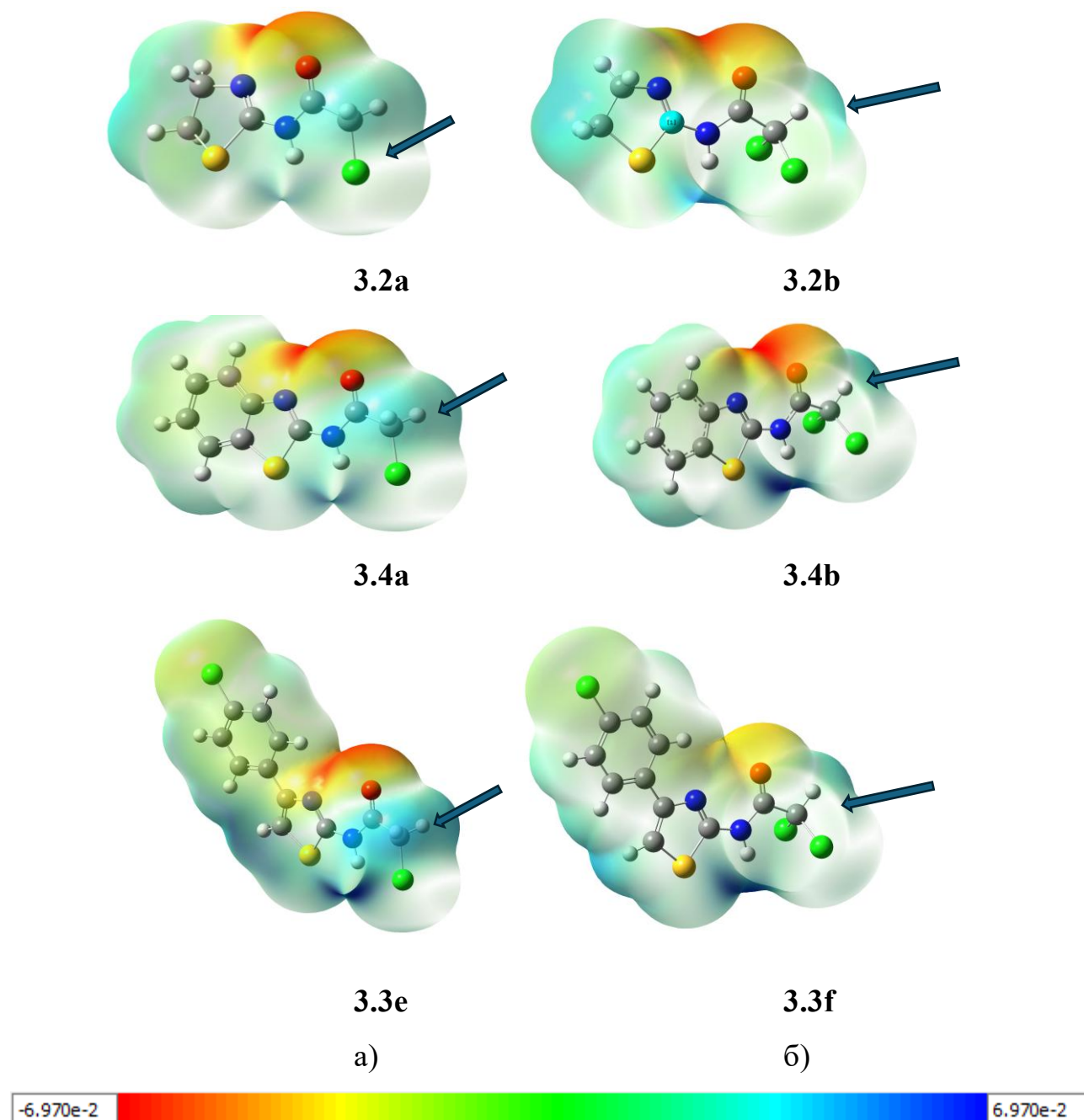


Рис. 3.51. MESP синтезованих тiazол-вмісних ХАА **3.2a**, **3.4a**, **3.3e** (а) та ДХАА **3.2b**, **3.4b**, **3.3f** (б) з позначенням напрямку атаки залишком цистеїну. (Для порівняння, кольорова шкала для всіх молекул була встановлена з червоного на $-0,0697$ а. о. ($-43,7$ ккал/моль) до синього при $+0.0697$ а. о. ($+43,7$ ккал/моль))

Оптимізація геометрії та обчислення молекулярного електростатичного потенціалу (MESP) дозволяють нам оцінити, наскільки схильне місце атаки до електрофільної або нуклеофільної атаки [194, 195]. Можливі місця нуклеофільної атаки позначені на MESP синім кольором, а електрофільні – червоним кольором. У досліджуваних сполуках, як правило, можна розрізнити три області: нуклеофільний центр поблизу карбонільної групи та атома азоту тіазольного кільця, електрофільний центр поблизу амідної групи та менш позитивно заряджений електрофільний центр поблизу атома вуглецю, пов'язаного з хлором (рис. 3.51).

Останній є реакційним центром в реакції заміщення, і заряд на ньому вплине на електрофільну атаку цистеїну. Загалом, тип спряженої системи, наявність донорних або акцепторних замісників має незначний вплив на електростатичний потенціал поблизу реакційного центру. При порівнянні MESP ХАА та ДХАА, відзначено набагато більшу різницю в розподілі електростатичного потенціалу поблизу кінцевого атома вуглецю, через який проводиться атака на атом сірки. Як відомо, при нуклеофільному заміщенні (S_N2) атака відбувається з протилежної сторони атома хлору (як це вказують стрілки на рис. 3.51), і в цих місцях видно різницю в розподілі MESP між ХАА та ДХАА. У місці атаки ХАА мають більш позитивно заряджену область, яка може сприяти легшій нуклеофільній атаці, тоді як місця нападу ДХАА менш позитивно заряджені через великий розмір двох атомів хлору, які мають дещо негативний заряд. Тому одним із факторів зниження активності ДХАА будуть стеричні перешкоди під час реакції заміщення.

У реакціях заміщення перехідний стан відбувається через зміну гібридизації атома вуглецю від sp^3 до sp^2 (рис. 3.52).

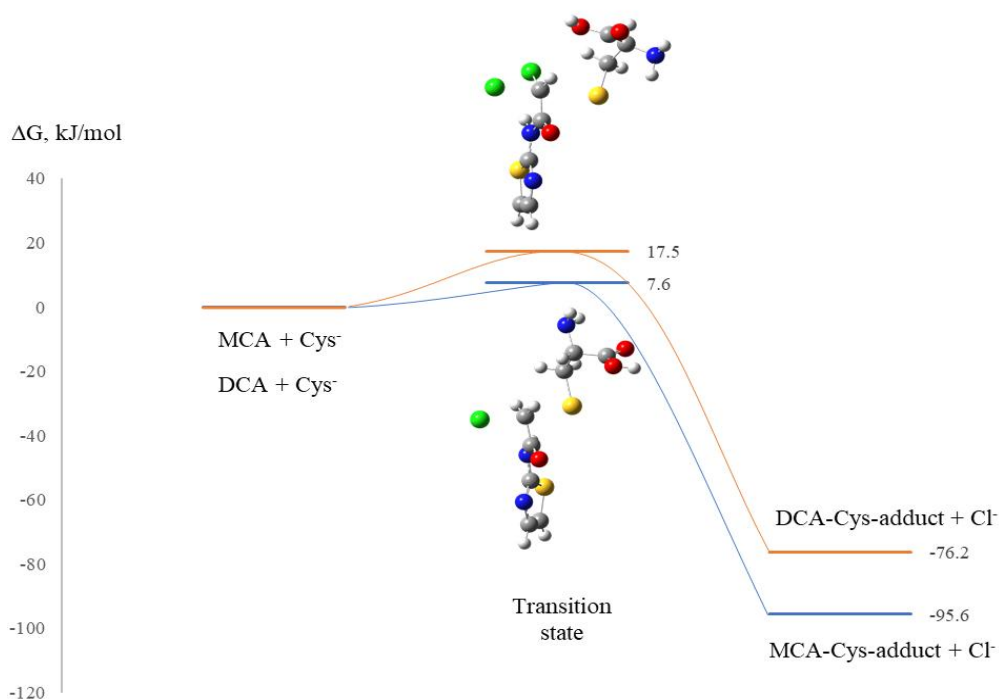


Рис. 3.52. Зміна енергії Гіббса в реакції під час заміни атома хлору аніоном цистеїну у ХАА **3.3a** (синій) та ДХАА **3.3b** (оранжевий)

Відповідно, у перехідному стані вільна електронна пара *p*-орбітали другого атома хлору, який не заміщується в ДХАА, вступає в спряження з атомом вуглецю, на який відбувається атака, і рештою спряженої системи цих сполук та, через донорний ефект M^+ , зменшить густину електронів на атомі вуглецю, що зменшить його здатність до взаємодії. Було обчислено енергії Гіббса всіх реагентів, перехідний стан та продукти модельної реакції з аніоном цистеїну в стандартних умовах. Для порівняння, загальну енергію Гіббса ХАА **3.3a** з аніоном цистеїну та ДХАА **3.3b** з тим самим аніоном цистеїну приймали як 0. Правильність моделювання перехідного стану підтверджувалася наявністю однієї уявної (негативної) частоти коливання та візуалізації відповідних коливань для обох перехідних станів. Енергія активації цієї реакції незначна, що вказує на легкість взаємодії досліджуваних речовин з аніоном цистеїну, однак, перехідний стан у реакції з ДХАА має на 10 кДж/моль вищу енергію, ніж з ХАА, через причини, обговорені вище. Слід також відзначити

більш високу термодинамічну стійкість ХАА аддукту. Відповідно, аддукт ДХАА менш стабільний і згодом більш здатний до подальших перетворень.

Якщо припустити, що нуклеофільна заміна відбувається за механізмом S_N1 , ключову роль відіграватиме енергія дисоціації атома хлору (BDE). Її можна обчислити як $BDE = E_{cation} + E_{Cl-} - E_{neutral}$. Обчислена BDE атома хлору в ХАА **3.4a** становить 747,5 кДж/моль, а в ДХАА **3.4b** – 694,6 кДж/моль. Враховуючи великий розмір атомів хлору, які створюють стеричні перешкоди і нижчу BDE для ДХАА, механізм S_N1 більш імовірний. Однак під час утворення карбокатиону з ДХАА, атом хлору, що залишився, з його вільною електронною парою, входить у кон'югацію з рештою спряженої системи і діє як донор, оскільки вуглець переходить в sp^2 -гібридизацію, як у перехідному стані (див. рис. 3.52). Тому, через донорний ефект хлору, перебіг реакції S_N1 за механізмом ХАА буде складнішим.

Виходячи з електронної структури досліджуваних ХАА та ДХАА, можна стверджувати, що другий атом хлору, який проявляє електронно-акцепторний ефект, повинен сприяти більш легкому проходженню реакції заміщення. Однак спостережувану нижчу швидкість реакції заміни в ДХАА [196] можна пояснити, з одного боку, стеричними перешкодами двох атомів хлору, що чітко видно з аналізу MESP, а також структурою перехідного стану, в якому атом хлору починає діяти як донор, зменшуючи їх здатність до подальшої атаки. Низька біологічна активність ДХАА може бути пояснена не лише через зниження реакційної здатності, але й тому, що утворений ДХАА-тіольний аддукт може гідролізувати і відокремити атом хлору у водному середовищі з подальшою взаємодією з водою та перетворенням на альдегід, унеможливаючи подальшу взаємодію з цистеїном. ХАА-тіольні аддукти не мають атома хлору, який можна відщепити, тому така трансформація під дією води неможлива, і вони можуть бути пов'язані з цільовим білком на більш тривалий час. ДХАА можуть бути достатньо добрими інгібіторами лише за умови, що аддукт, який утворюється в активному сайті молекули білка через

специфічне розташування, буде унеможливити доступ води до місця зв'язування, що не дозволить йому додатково взаємодіяти з водою.

Підсумовуючи отримані результати квантово-хімічних досліджень, може бути зазначено нижчу активність ДХАА порівняно з ХАА, що обумовлено поєднанням електронних ефектів та стабільності проміжних продуктів. Більш високі електрофільні властивості ДХАА через акцепторний ефект атомів хлору можуть знизити реактивність карбокатиону, особливо в механізмі S_N1 , де донорний ефект хлору знижує щільність електронів. У механізмі S_N2 кон'югація з атомами хлору, ймовірно, ускладнює стабільне утворення перехідного стану. Крім того, ДХАА-тіольний аддукт є менш стабільним у водному середовищі, що призводить до його гідролізу та втрати алкілюючих властивостей. З іншого боку, ХАА-тіольні аддукти демонструють більш високу стабільність, що може пояснити їх вищу активність. Таким чином, відмінності в активності, ймовірно, пов'язані з хімічними властивостями проміжних продуктів та стабільністю утворених продуктів, що вимагає подальших досліджень для визначення застосувань ДХАА.

3.8. Молекулярний докінг 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідовмісних тіазольних похідних

Щоб перевірити розташування синтезованих сполук в активному центрі цільового білка, було проведено молекулярний докінг. Попередні дослідження похідних хлороацетамідів свідчать про те, що потенційні цілі можуть включати рецептори фактору росту фібробластів (FGFR 1-4) [159] та епідермальний рецептор фактору росту (EGFR) [197]. Однак незворотні інгібітори цих рецепторів, як правило, є великими молекулами, оскільки вони повинні імітувати аденозинтрифосфат (АТФ), щоб ефективно зв'язуватися з доменом кінази [196]. Водночас, синтезовані похідні значно менші, що викликає сумніви щодо їх здатності ефективно інгібувати ці кінази.

Відповідно до даних літератури, біологічно активні ХАА (включаючи гербіциди), можуть взаємодіяти з глутатіоном (GSH) [199-202]. Ймовірно, що ця

взаємодія сприяє їх головному механізму дії, а також пов'язана з токсичними побічними ефектами. Однак, за даними літератури, деякі сполуки, такі як етакринова кислота (ЕК), яка може ковалентно зв'язуватися з глутатіоном, діють як ліганди, які блокують активність GST [203-204]. Таке гальмування GST може підвищити ефективність схеми хіміотерапії за рахунок підвищення рівня активних форм кисню (АФК), тим самим сприяючи пошкодженню клітин [206, 207]. Якщо ці кон'югати виявляють сильну спорідненість до GST, вони також можуть функціонувати як інгібітори GST. Цей підхід може бути корисним для протиракової терапії або як доповнення до існуючих методів лікування, для зниження резистентності або підвищення ефективності вибраного режиму хіміотерапії [203, 207-211].

Тому було оцінено спорідненість потенційних кон'югатів «глутатіон–ХАА» як інгібіторів GST. Отримані оцінки FlexX докінгу представлені в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Оцінки FlexX докінгу прогнозованих кон'югатів «глутатіон-ХАА», «глутатіон-ДХАА» та комплексу з етакриновою кислотою

Сполука	Оцінка FlexX докінгу GST (PDB 11GS), ккал/моль	Сполука	Оцінка FlexX докінгу GST (PDB 11GS), ккал/моль
Комплекс GSH-ЕК	-29.2766		
ХАА		ДХАА	
3.2a	-26.5358	3.2b	-33.2352
3.4a	-33.2909	3.4b	-36.2589
3.4c	-31.4291	3.4d	-28.1277
3.3a	-28.9050	3.3b	-30.4950
3.3c	-34.4758	3.3d	-31.3164
3.3e	-33.0665	3.3f	-37.0972
3.3g	-29.8119	3.3h	-24.4709

Оцінки FlexX докінгу для ДХАА переважно вищі, порівняно з показниками ХАА. Однак, як зазначалося раніше [194], такі похідні часто нестабільні, що призводить до швидкої інактивації, і нездатності ефективно інгібувати активність GST. Більшість кон'югатів демонструють покращену спорідненість зв'язування порівняно з нативним комплексом «глутатіон-етакринова кислота». Найкращий показник докінгу було отримано для комплексу «глутатіон-**3.3c**». Як показано на рис. 3.53, 2-хлоро-*N*-(4-фенілтіазол-2-іл)ацетамід добре вписується в гідрофобну кишеню, утворену декількома ліпофільними амінокислотами, включаючи Ile104, Tyr108, Val10, Tyr7 та Phe8.

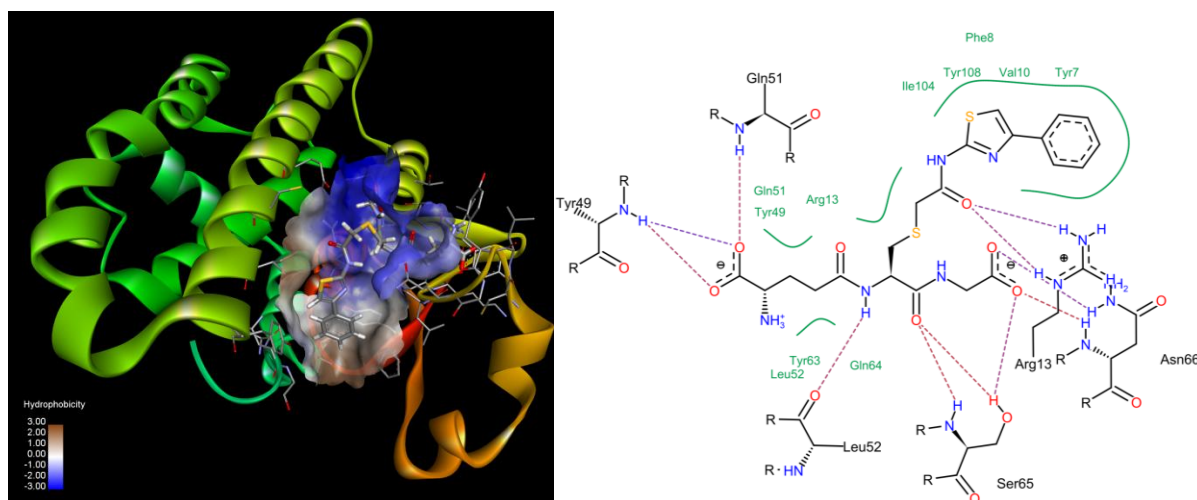


Рис. 3.53. 3D та 2D діаграми взаємодії кон'югату «глутатіон-**3.3c**» з GST (PDB-код 11GS). Рожевий колір позначає водневі зв'язки, зелений – ліпофільні взаємодії.

Інші ХАА взаємодіють аналогічно, однак у випадку сполуки **3.3c** наявність фенільного замісника збільшує кількість амінокислот, що беруть участь у ліпофільних взаємодіях.

Дані *in silico* моделювання, як правило, підтримують кореляцію між показниками FlexX докінгу кон'югатів та спостережуваною цитотоксичністю випробуваних сполук. Однак, як зазначалося раніше, ХАА можуть вражати інші ферменти з тіольними групами в їх активних або алостеричних центрах. Таким

чином, загальний цитотоксичний ефект випробуваних похідних хлороацетаміду може включати більш складні механізми.

Висновки до розділу 3

1. Одержано серію амідів на основі заміщених етиламінів, ароматичних амінокислот та гетероциклічних амінів шляхом ацилювання хлороацетилхлоридом, дихлороацетилхлоридом та метилдихлороацетатом.

2. Структура, склад і чистота синтезованих дихлороацетатів підтверджена методами елементного аналізу, хромато-мас-спектрометрії та спектроскопії ^1H ЯМР.

3. Визначено помірну протипухлинну активність дихлороацетамідів заміщених етиламінів та ароматичних амінокислот на окремі клітинні лінії меланоми, лейкемії та раку нирок.

4. Показано, що синтезовані 2-хлороацетаміди демонструють значно вищу цитотоксичну активність проти ракових клітин порівняно з дихлороацетамідними аналогами.

5. Визначено, що найактивніші похідні ХАА (**3.3a**, **3.3c**, **3.4c** та **3.3g**) мають IC_{50} у діапазоні від 5.99 до ≥ 50 μM , що свідчить про їх потенціал у протипухлинній терапії, особливо проти клітин моделей з мутаціями гену калретикуліну.

7. Визначено, що незважаючи на розраховану вищу електрофільність ДХАА щодо ХАА, вони мають нижчу швидкість реакції заміщення, що може бути пояснено стеричними утрудненнями двох атомів хлору та будовою перехідного стану.

8. Показано, що молекулярне докінгове моделювання демонструє вищу афінність глутатіон-2-хлороацетамідних кон'югатів до ферменту GST порівняно з нативним кон'югатом глутатіону з етакриновою кислотою, що може пояснювати їх підвищену цитотоксичність.

9. Визначено, що оптимальне розташування 2-хлоро-*N*-(4-фенілтіазол-2-іл)ацетаміду, у випадку з кон'югатом «глутатіон-**3.3c**», сприяє інтеграції в гідрофобну кишеню GST, що збільшує кількість ліпофільних взаємодій.

10. Досліджено, що ДХАА практично не впливають на життєздатність клітин, що можна частково пояснити їх електронною будовою та стабільністю проміжних продуктів взаємодії, а також не стабільністю утворених аддуктів з залишком цистеїну з можливістю їх руйнування через гідроліз.

11. Показано, що комбінований підхід, який включає квантово-хімічний аналіз та молекулярне докінгове моделювання, є ефективним для прогнозування механізмів дії цих сполук, що може слугувати базою для розробки нових таргетних лікарських засобів з покращеною ефективністю та селективністю.

РОЗДІЛ 4

СИНТЕЗ ТА ОЦІНКА ПРОТИРАКОВИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ 2-ХЛОРО- і 2,2-ДИХЛОРОАЦЕТАТОВМІСНИХ ДИГІДРОПІРАЗОЛІВ

4.1. Методи синтезу та оцінки протиракових властивостей 2-хлоро- і 2,2-дихлороацетатовмісних дигідропіразолів

Експериментальна хімічна частина. Синтетичні дослідження проведені з використанням реактивів компаній «Merck» (Дармштадт, Німеччина) та «Sigma-Aldrich» (Міссурі, США). Спектри ^1H ЯМР вимірювались на приладі «Varian VXR-400», розчинник $\text{DMSO-}d_6$, стандарт – тетраметилсилан. Хромато-мас-спектри одержані на приладі Agilent 1100 Series LCMS. Елементний аналіз на вміст карбону, гідрогену та нітрогену відповідає вирахованому ($\pm 0.3\%$). Життєздатність ліній клітин в МТТ-тесті (протиракова активність) після інкубації з сполуками оцінювали за допомогою 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифенілтетразолію броміду (МТТ- реагенту) (Sigma-Aldrich, США) [179].

Методика синтезу 2-хлоро- і 2,2-дихлороацетатовмісних дигідропіразолів (4.2a-4.2g). Розчин хлороацетилхлориду або дихлороацетилхлориду (3 ммоль) у 5 мл діоксану, додавали, по краплях до суміші відповідного дигідропіразолу (3 ммоль) і триетиламіну (3 ммоль) у 5 мл діоксану. Отриману суміш перемішували протягом 15 хвилин за кімнатної температури, а потім нагрівали до 70-80 °С протягом 30 хвилин. Після охолодження суміш виливали в холодну воду (50 мл). Отримані порошки фільтрували, промивали водою та перекристалізували з етанолу.

4.2. Синтез та результати оцінки фізико-хімічних і протиракових властивостей 2-хлоро- і 2,2-дихлороацетатовмісних дигідропіразолів

Як вихідні речовини для синтезу цільових дигідропіразолів (4.2a-4.2j) використано хлоро- та дихлороацетилхлориди як ацилюючі агенти (схема 4.1). Реакцію проводили за класичною методикою з використанням як розчинника

безводного діоксану та еквімолекулярної кількості триетиламіну для усунення водню гідрохлориду, який утворюється у процесі реакції ацилювання.

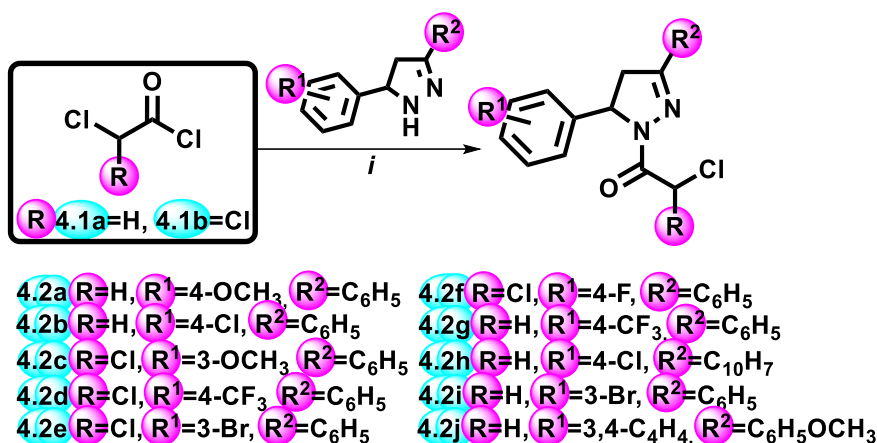


Схема 4.1. Синтез цільових 2-хлоро- і 2,2-дихлороацетатовмісних дигідропіразолів **4.2a-4.2j**. Реагенти та умови: *i* – відповідний дигідропіразол (10 ммоль), хлороацетилхлорид або дихлороацетилхлорид (10 ммоль), триетиламін (10 ммоль), діоксан (10 мл), перемішування 15 хвилин (при кімнатній температурі), а потім нагрівання до 70-80 °С протягом 30 хвилин.

Структура та склад синтезованих сполук підтверджена елементним аналізом та методами ¹H/¹³C ЯМР спектроскопії та хромато-мас-спектрометрії. У спектрах ¹H ЯМР спостерігається характерна АМХ система дигідропіразольного фрагменту у вигляді субспектру з трьох дублетів при ~3.20, ~3.90 та ~5.60 м. ч. з відповідними константами спінової взаємодії (~18.2, ~11.9 та ~5.0). Для хлороацетамідів метиленова група містить магнітно-нееквівалентні протони, які проявляються у вигляді двох дублетів при 4.67-4.80 м. ч. (*J* ~13.9 Гц). Для дихлороацетамідів група СНCl₂ утворює синглет при 7.40 м. ч.

2-Хлоро-1-(5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2a)

Білий порошок, вихід 76%, *T*_{пл} 132–134 °С. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆, δ): 7.83-7.78 (m, 2H, аром.), 7.71 (d, *J*=8.0 Гц, 2H, аром.), 7.51-7.44 (m, 5H, аром.), 5.68 (dd, *J*=11.9, 5.0 Гц, 1H, СН), 4.79 (d, *J*=13.9 Гц, 1H, СН₂), 4.70 (d, *J*=13.9 Гц, 1H, СН₂), 3.93 (dd, *J*=18.3, 11.9 Гц, 1H, СН₂), 3.29 (s, 3H, СН₃), 3.25 (dd, *J*=18.2,

5.1 Гц, 1H). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 163.5 (C=O), 159.0, 156.1, 134.1, 131.1, 129.9, 129.2, 127.3, 127.3, 114.4, 59.9 (CH), 55.5 (CH₃), 42.9 (CH₂), 42.4 (CH₂). РХ-МС (ESI+) m/z 329.0 (100.0 %, [M+H]⁺). Вирахувано для C₁₈H₁₇ClN₂O₂: C, 65.80; H, 5.20; N, 8.50. Знайдено: C, 65.70; H, 5.00; N, 8.45 (рис. 4.1, 4.2).

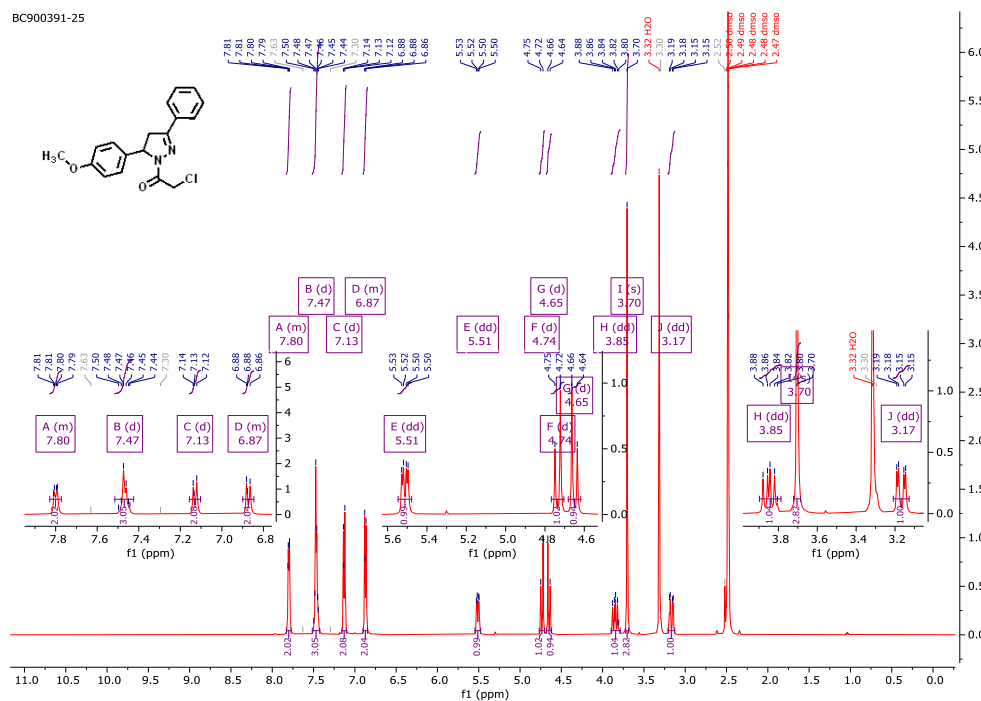


Рис. 4.1. ^1H ЯМР-спектр сполуки 4.2а

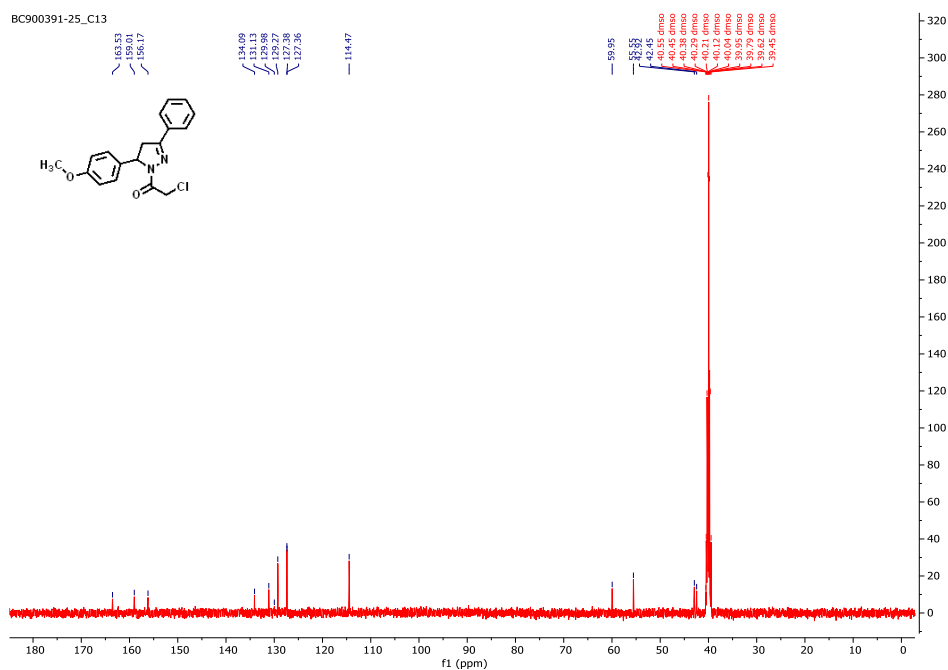


Рис. 4.2. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 4.2а

2-Хлоро-1-(5-(4-хлорофеніл)-3-феніл-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2b)

Білий порошок, вихід 82%, $T_{\text{пл}}$ 128–130 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 7.83–7.77 (m, 2H, аром.), 7.51–7.46 (m, 3H, аром.), 7.39 (d, $J=8.1$ Гц, 2H, аром.), 7.25 (d, $J=8.1$ Гц, 2H, аром.), 5.58 (dd, $J=11.7, 4.9$ Гц, 1H, CH), 4.77 (d, $J=13.9$ Гц, 1H, CH_2), 4.67 (d, $J=13.8$ Гц, 1H, CH_2), 3.89 (dd, $J=18.2, 11.8$ Гц, 1H, CH_2), 3.20 (dd, $J=18.2, 4.9$ Гц, 1H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 163.2 (C=O), 155.6, 140.4, 131.9, 130.7, 130.5, 128.7, 128.6, 127.6, 126.9, 59.3 (CH), 42.3 (CH_2), 41.8 (CH_2). РХ-МС (ESI+) m/z 333.0 (100.0 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Вираховано для $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$: С, 61.30; Н, 4.20; N, 8.40. Знайдено: С, 61.50; Н, 4.00; N, 8.45 (рис. 4.3, 4.4).

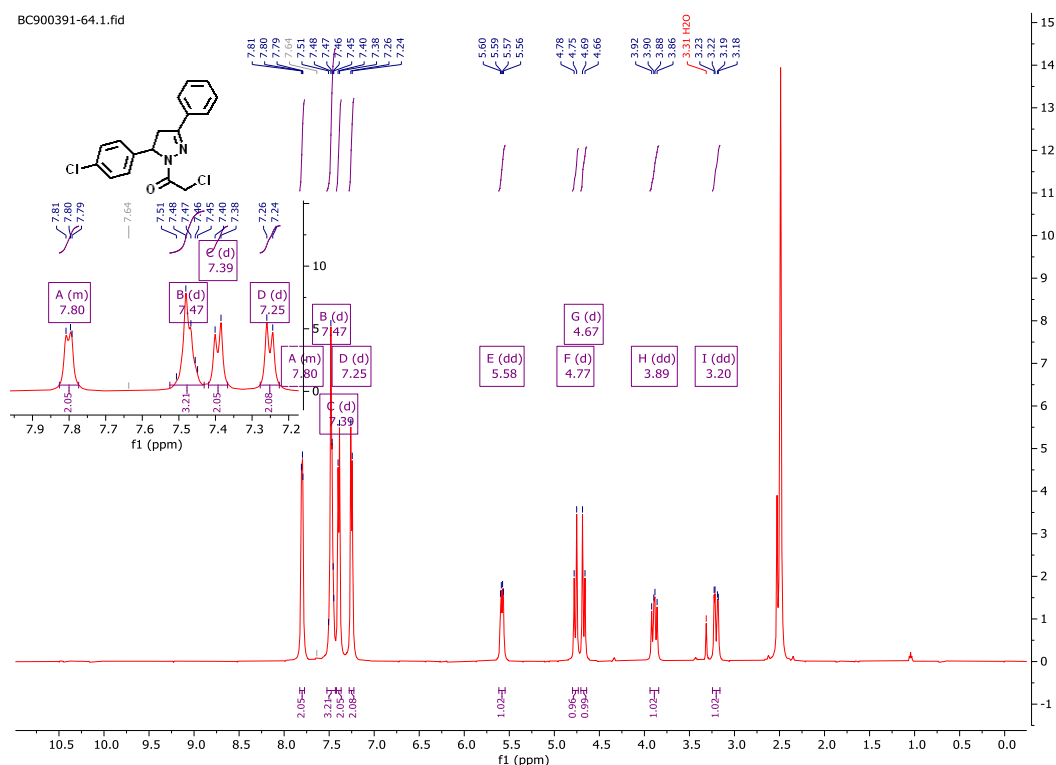


Рис. 4.3. ^1H ЯМР-спектр сполуки 4.2b

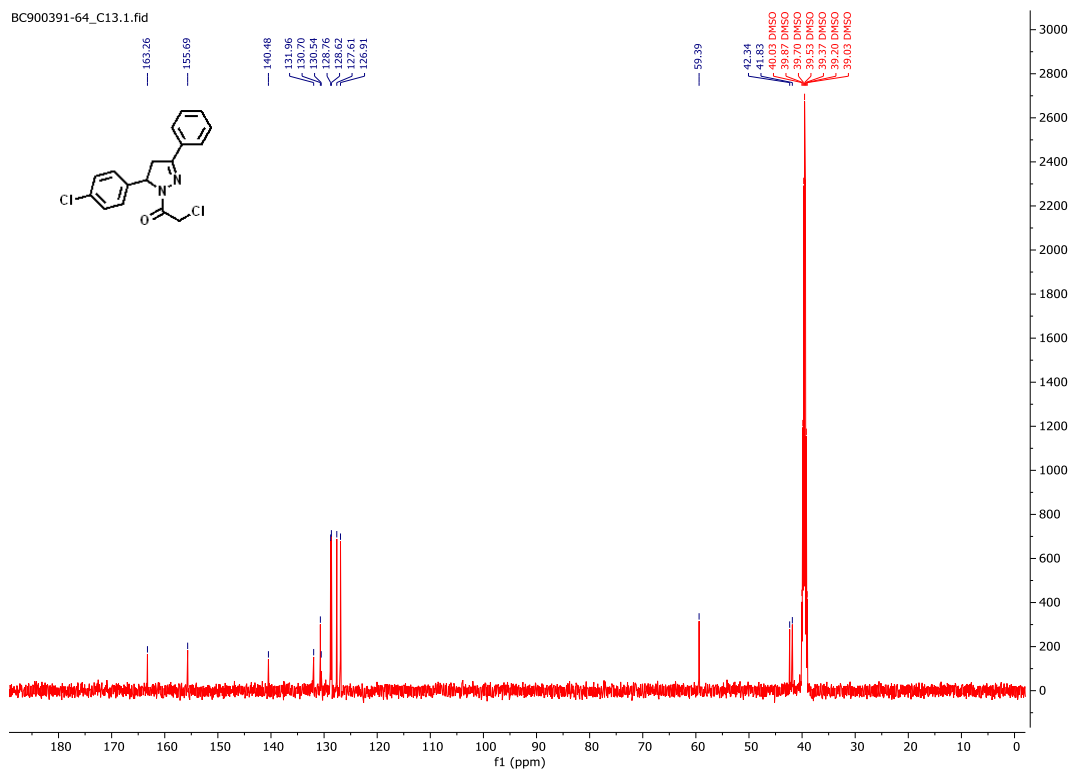
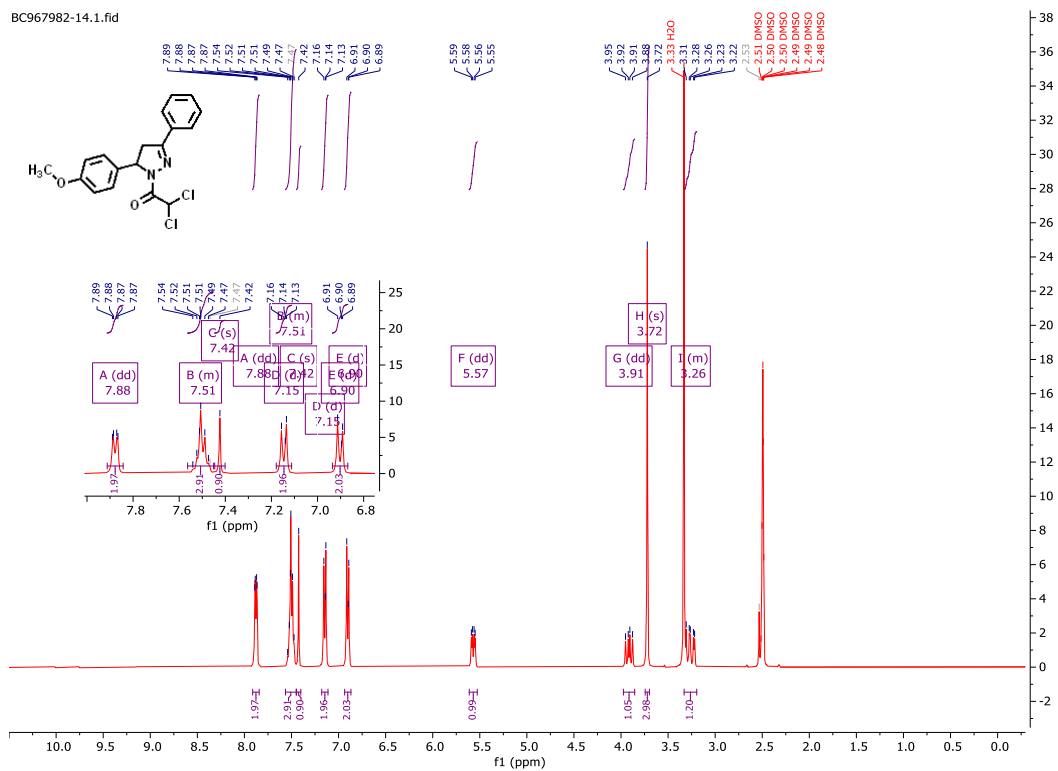
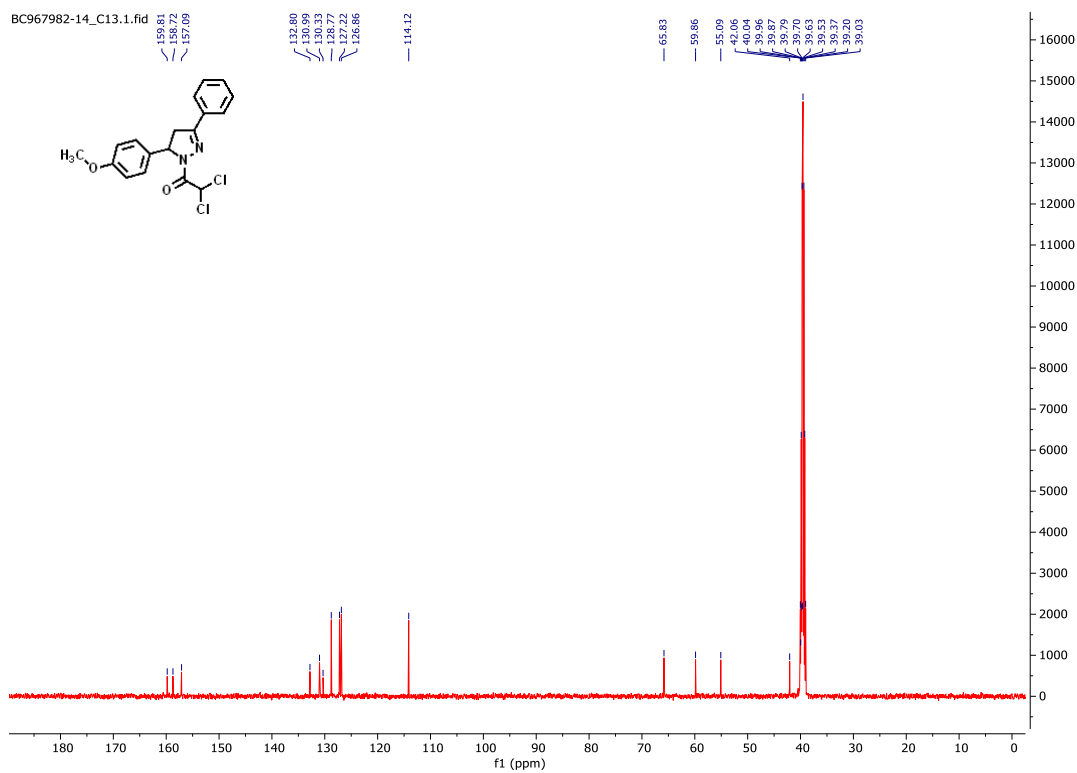


Рис. 4.4. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 4.2b

2,2-Дихлоро-1-(5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2c)

Білий порошок, вихід 76 %, $T_{\text{пл}}$ 169–171 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 7.94-7.86 (m, 2H, arom.) 7.56-7.45 (m, 3H, arom.), 7.42 (s, 1H, CH), 7.15 (d, $J=8.6$ Гц, 2H, arom.), 6.90 (d, $J=8.6$ Гц, 2H, arom.), 5.57 (dd, $J=11.5, 4.5$ Гц, 1H, CH), 3.91 (dd, $J=18.3, 11.5$ Гц, 1H, CH_2), 3.72 (s, 3H, CH_3), 3.33-3.20 (m, 1H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 159.8 (C=O), 158.7, 157.0, 132.8, 130.9, 130.3, 128.7, 127.2, 126.8, 114.1, 65.8 (CH), 59.8 (CH), 55.0 (CH_3), 42.0 (CH_2). РХ-МС (ESI+) m/z 363.0 (100.0 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Вирахувано для $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$: C, 59.50; H, 4.40; N, 7.70. Знайдено: C, 59.70; H, 4.30; N, 7.55 (рис. 4.5, 4.6).

Рис. 4.5. ^1H ЯМР-спектр сполуки 4.2сРис. 4.6. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 4.2с

2,2-Дихлоро-1-(3-феніл-5-(4-(трифторометил)феніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2d)

Білий порошок, вихід 76%, $T_{\text{пл}}$ 174–176 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 7.92–7.84 (m, 2H, arom.), 7.74 (d, $J=8.1$ Гц, 2H, arom.), 7.57–7.43 (m, 6H, arom.+CH), 5.74 (dd, $J=11.7, 4.9$ Гц, 1H, CH), 3.98 (dd, $J=18.4, 11.7$ Гц, 1H, CH_2), 3.36 (d, $J=4.9$ Гц, 1H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 160.6 (C=O), 157.7, 145.8, 131.7, 130.6, 129.3, 128.9, 127.8, 126.9, 126.3, 126.3, 66.2 (CH), 60.4 (CH), 42.4 (CH_2). РХ-МС (ESI+) m/z 401.0 (100.0 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Вираховано для $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$: С, 53.90; Н, 3.30; N, 7.00. Знайдено: С, 54.10; Н, 3.35; N, 7.15 (рис. 4.7, 4.8).

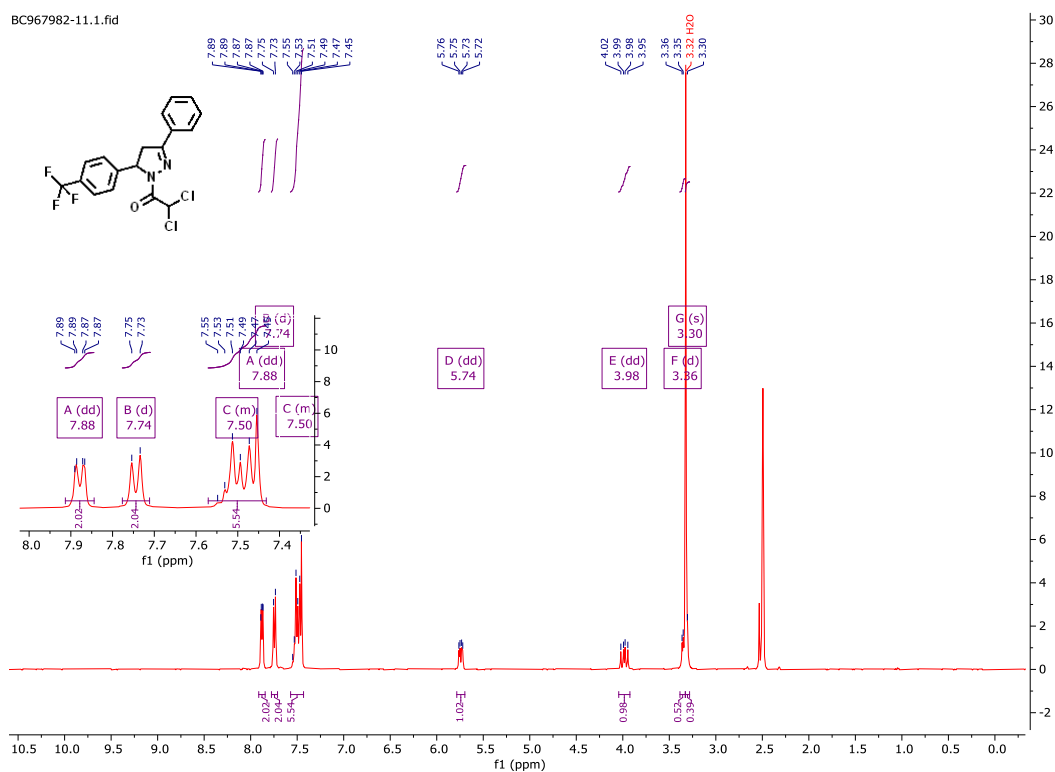


Рис. 4.7. ^1H ЯМР-спектр сполуки 4.2d

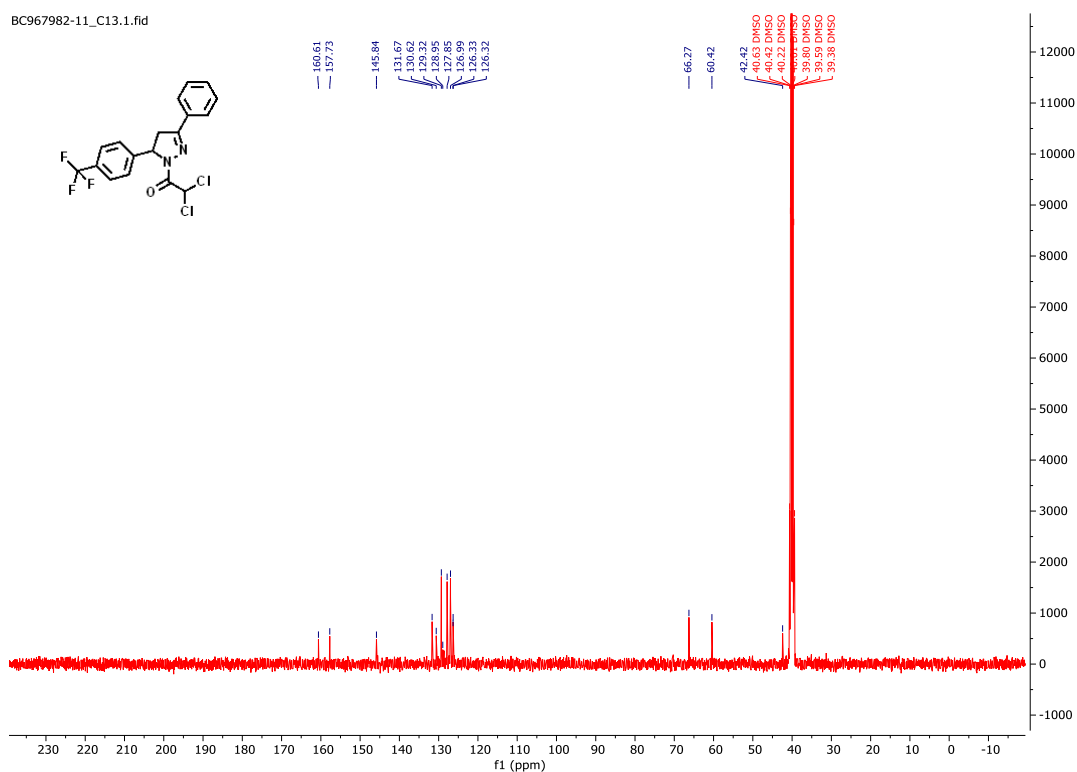
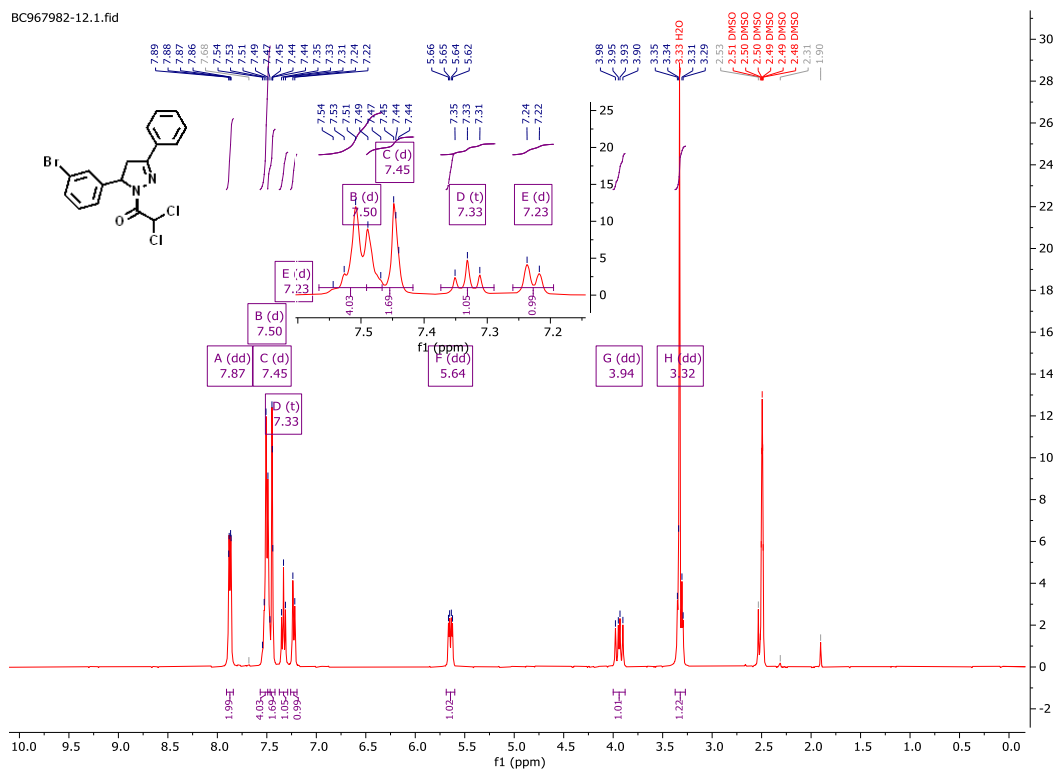
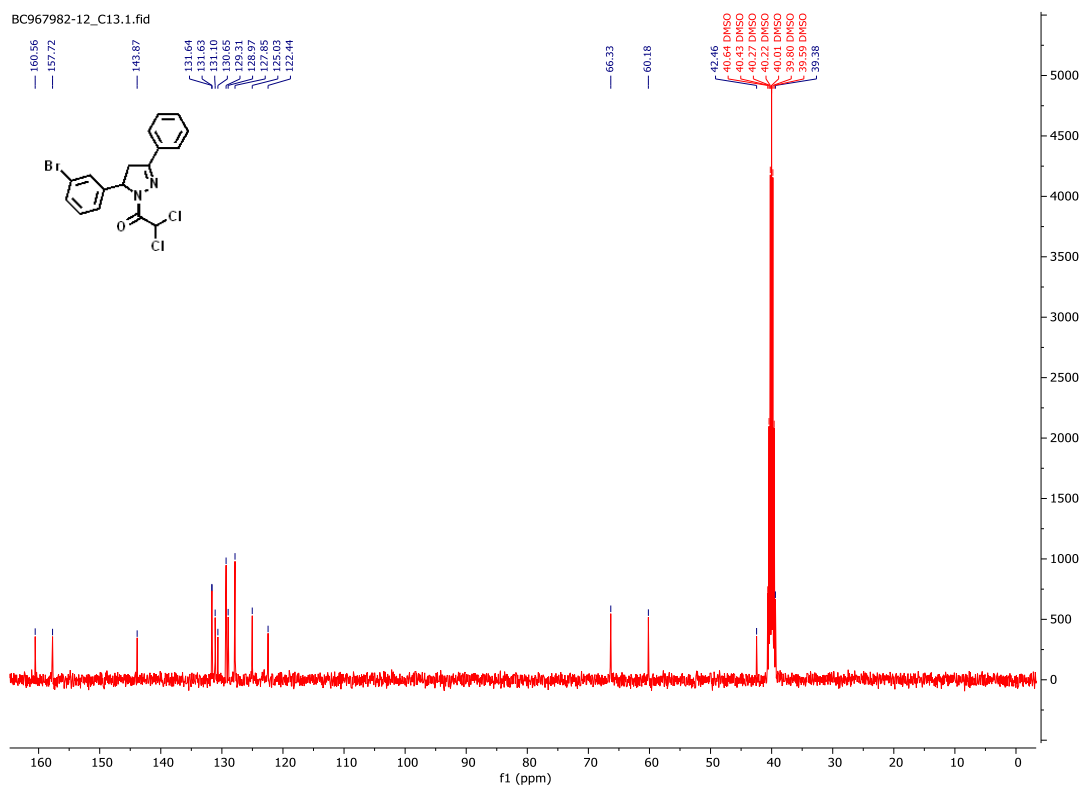


Рис. 4.8. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 4.2d

1-(5-(3-Бромофеніл)-3-феніл-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)-2,2-дихлоретан-1-он (4.2e)

Білий порошок, вихід 65%, $T_{\text{пл}}$ 162–164 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 7.92-7.84 (m, 2H, arom.), 7.54-7.47 (m, 4H, arom.), 7.45 (br. s., 2H, arom.+CH), 7.33 (t, $J=7.8$ Гц, 1H, arom.), 7.23 (d, $J=7.8$ Гц, 1H, arom.), 5.64 (dd, $J=11.6, 4.7$ Гц, 1H, CH), 3.94 (dd, $J=18.4, 11.7$ Гц, 1H, CH_2), 3.32 (dd, $J=18.2, 4.9$ Гц, 1H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 160.5 (C=O), 157.7, 143.8, 131.6, 131.5, 131.1, 130.6, 129.3, 128.9, 127.8, 125.0, 122.4, 66.3 (CH), 60.1 (CH), 42.4 (CH_2). РХ-МС (ESI+) m/z 413.0 (100.0 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Вираховано для $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BrCl}_2\text{N}_2\text{O}$: C, 49.50; H, 3.20; N, 6.80. Знайдено: C, 49.10; H, 3.35; N, 7.00 (рис. 4.9, 4.10).

Рис. 4.9. ^1H ЯМР-спектр сполуки 4.2еРис. 4.10. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки 4.2е

2,2-Дихлоро-1-(5-(4-фторофеніл)-3-феніл-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2f)

Білий порошок, вихід 60%, $T_{\text{пл}}$ 159–161 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 7.92–7.84 (m, 2H, arom.), 7.57–7.45 (m, 3H, arom.), 7.43 (s, 1H, CH), 7.32–7.24 (m, 2H, arom.), 7.24–7.14 (m, 2H, arom.), 5.64 (dd, $J=11.6, 4.7$ Гц, 1H, CH), 3.94 (dd, $J=18.4, 11.6$ Гц, 1H, CH_2), 3.33–3.23 (m, 1H, CH_2). ^{13}C ЯМР (126 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 161.5 ($J_{\text{C-F}}=244.4$ Гц), 159.9 (C=O), 157.1, 136.9, 131.0, 130.2, 128.7, 127.7 ($J_{\text{C-F}}=8.8$ Гц), 127.2, 115.5 ($J_{\text{C-F}}=21.4$ Гц), 65.8 (CH), 59.7 (CH), 42.0 (CH_2). РХ-МС (ESI+) m/z 351.0 (100.0 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Вираховано для $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}$: С, 58.10; Н, 3.70; N, 8.00. Знайдено: С, 58.20; Н, 3.55; N, 7.90 (рис. 4.11, 4.12).

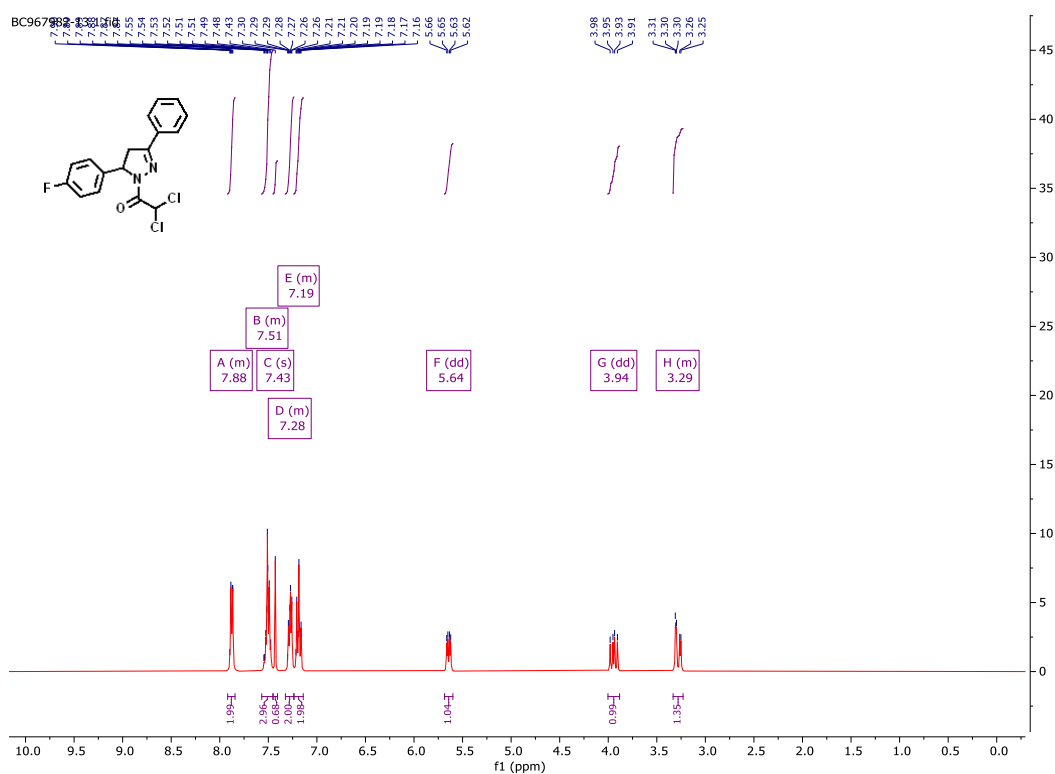


Рис. 4.11. ^1H ЯМР-спектр сполуки 4.2f

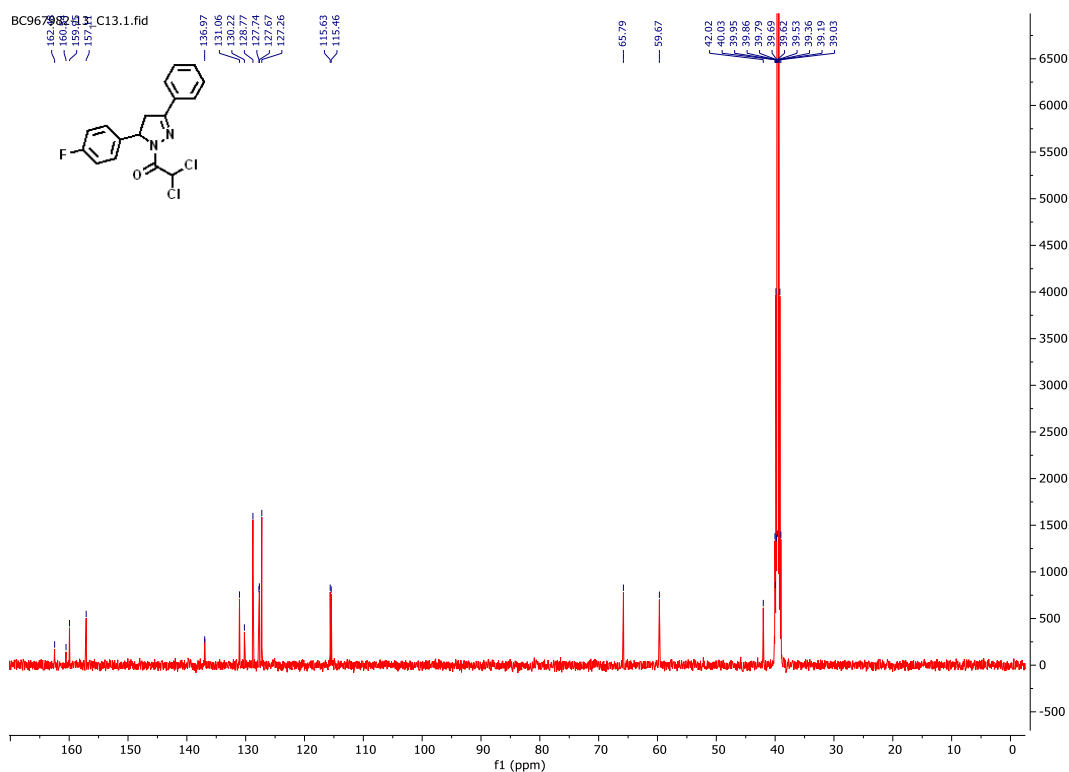


Рис. 4.12. ^{13}C ЯМР-спектр сполуки **4.2f**

2-Хлоро-1-(3-феніл-5-(4-трифторофеніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2g)

Білий порошок, вихід 65%, $T_{\text{пл}}$ 159–161 °С. ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ): 7.83-7.78 (m, 2H, arom.), 7.71 (d, $J=8.0$ Гц, 2H, arom.), 7.53-7.47 (m, 5H, arom.), 5.68 (dd, $J=11.9, 5.0$ Гц, 1H, CH), 4.79 (d, $J=13.9$ Гц, 1H, CH_2), 4.70 (d, $J=13.9$ Гц, 1H, CH_2), 3.93 (dd, $J=18.3, 11.9$ Гц, 1H, CH_2), 3.29 (s, 1H), 3.25 (dd, $J=18.2, 5.1$ Гц, 1H), 2.53 (s, 1H). ^{13}C ЯМР (100 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ): 162.78, 160.82, 159.14, 157.74, 136.97, 131.06, 128.77, 127.74, 127.67, 127.26, 115.63, 115.46, 65.79, 59.67, 42.02, 40.02, 39.95, 39.86, 39.79, 39.62, 39.53, 39.36, 39.19, 39.03. PX-МС (ESI+) m/z 367.0 (100.0 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$). Вирахувано для $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClF}_3\text{N}_2\text{O}$: С, 58.90; Н, 3.80; N, 9.70. Знайдено: С, 58.70; Н, 3.65; N, 9.90 (рис. 4.13).

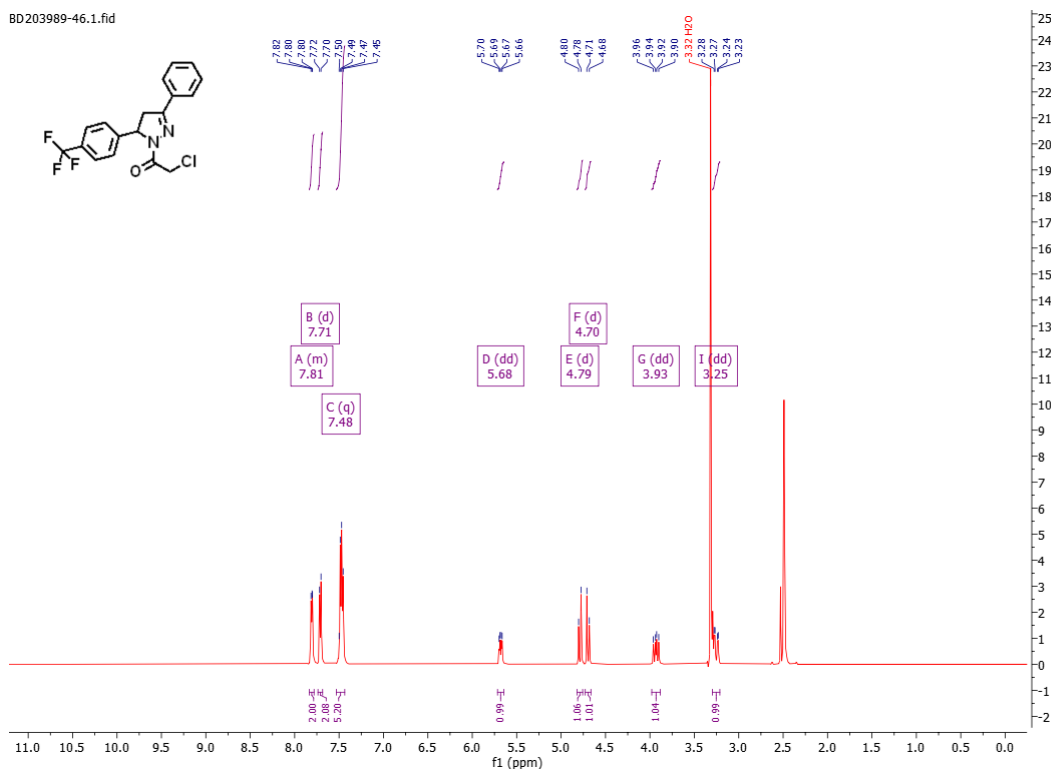


Рис. 4.13. ^1H ЯМР-спектр сполуки **4.2g**

2-Хлоро-1-(3-(2-нафтил)-5-(4-хлорофеніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2h)

Білий порошок, вихід 75%, $T_{\text{пл}}$ 133–136 °С. Вирахувано для $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$: С, 65.80; Н, 4.20; N, 7.30. Знайдено: С, 65.70; Н, 4.10; N, 7.10

2-Хлоро-1-(3-феніл-5-(3-бромфеніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2i)

Білий порошок, вихід 82%, $T_{\text{пл}}$ 134–136 °С. Вирахувано для $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{BrClN}_2\text{O}$: С, 54.10; Н, 3.70; N, 9.40. Знайдено: С, 54.20; Н, 3.65; N, 9.60.

2-Хлоро-1-(3-(2-нафтил)-5-(4-метоксифеніл)-4,5-дигідро-1H-піразол-1-іл)етан-1-он (4.2j)

Білий порошок, вихід 75%, $T_{\text{пл}}$ 143–145 °С. Вирахувано для $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_2$: С, 69.70; Н, 5.10; N, 7.40. Знайдено: С, 69.80; Н, 5.20; N, 7.20

З метою дослідження цитотоксичності синтезованих сполук **4.2a-4.2j** на різних типах раку та нормальних клітин, МТТ-аналіз застосовували на моделях мієлопроліферативних новоутворень (клітинні лінії Ba/F3 wt Mouse Pro B, Ba/F3 CALRdel 52 Mouse Pro B та Ba/F3 ins5), клітинах хронічної мієлогенної

лейкемії людини (K562), клітинах лейкемії людини (Jurkat та HL-60), клітинах мультиформної гліобластоми людини (U-251 MG), та клітинах недрібноклітинного раку легень (A549) протягом 72 годин. Значення IC₅₀ (μM) представлені у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

IC₅₀ сполук **4.2a-4.2j** на ракових клітинних лініях на основі даних МТТ-тесту протягом 72 год (μM).

Ракові лінії / Сполуки	Ba/F3 wt	Ba/F3 del52	Ba/F3 ins5	K562	Jurkat	HL-60	U-251 MG	A549
4.2a	7,76 ± 0,19	6,68 ± 0,45	6,30 ± 0,66	3,68 ± 0,15	0,430 ± 0,096	0,73 ± 0,12	7,11 ± 0,40	6,85 ± 0,38
4.2b	6,62 ± 0,41	6,11 ± 0,73	4,27 ± 1,00	0,42 ± 0,08	0,036 ± 0,014	0,61 ± 0,09	6,09 ± 0,83	5,84 ± 1,04
4.2c	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	5,62 ± 1,02
4.2d	>50	>50	>50	>50	>50	20,56 ± 0,00	>50	5,85 ± 0,76
4.2e	45,94 ± 0,75	>50	>50	21,25 ± 7,24	3,647 ± 1,126	10,09 ± 1,87	34,26 ± 12,56	5,31 ± 0,86
4.2f	41,17 ± 1,81	34,87 ± 0,25	35,36 ± 1,98	22,18 ± 3,43	7,881 ± 0,719	21,40 ± 3,51	31,84 ± 5,95	5,53 ± 0,84
4.2g	6,80 ± 0,28	6,56 ± 0,60	4,52 ± 0,96	2,30 ± 0,14	0,034 ± 0,015	0,60 ± 0,09	6,20 ± 0,71	6,44 ± 0,66
4.2h	4,78 ± 0,86	6,69 ± 0,54	5,10 ± 0,88	2,93 ± 0,08	0,034 ± 0,012	0,43 ± 0,12	5,46 ± 1,01	5,49 ± 1,13
4.2i	5,94 ± 0,32	5,23 ± 0,90	4,70 ± 0,94	0,53 ± 0,09	0,036 ± 0,012	0,61 ± 0,09	5,93 ± 0,91	5,20 ± 1,13
4.2j	7,19 ± 0,59	5,99 ± 0,77	4,10 ± 1,00	3,60 ± 0,16	0,054 ± 0,017	0,42 ± 0,13	6,92 ± 0,63	4,38 ± 1,02

Результати скринінгу цитотоксичності показали, що синтезовані 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетатовмісні дигідропіразоли (**4.2a-4.2j**) демонструють різний рівень цитотоксичної активності на різних ракових клітинних лініях залежно від типу ракових клітин, а їхня активність значною мірою залежить від хімічної структури, зокрема від замісників у положеннях R та R¹ (табл. 4.1, рис. 4.14-4.21).

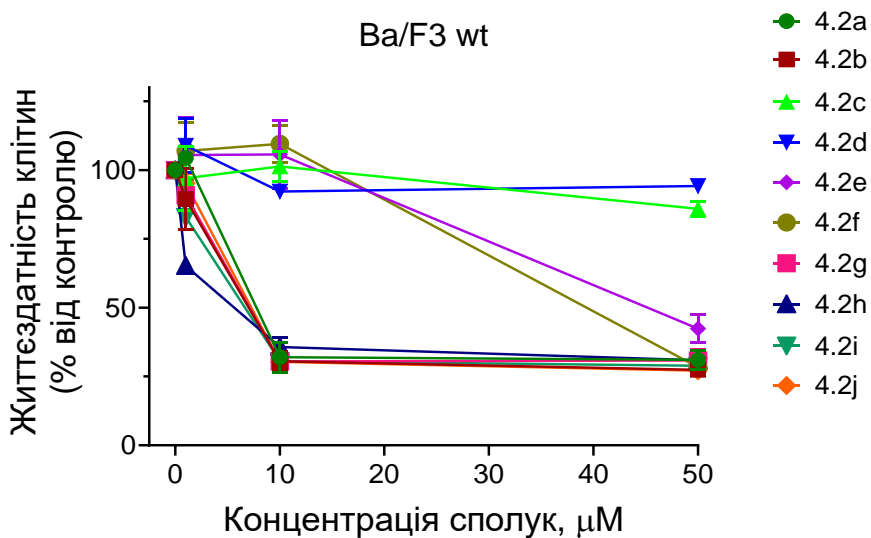


Рис. 4.14. Графічне представлення життєздатності клітинної лінії мієлопроліферативних новоутворень Va/F3 wt Mouse Pro B, оброблених сполуками **4.2a-4.2j** (72 години впливу)

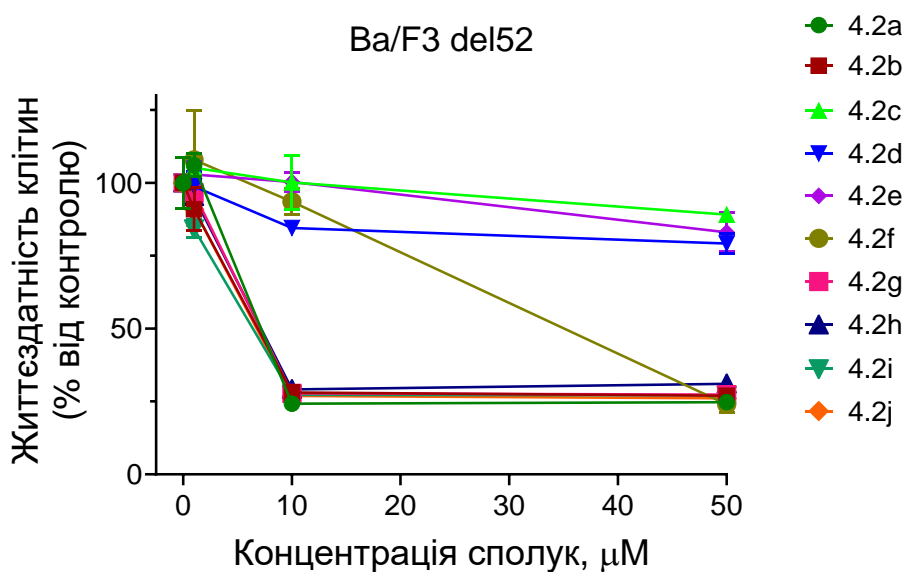


Рис. 4.15. Графічне представлення життєздатності клітинної лінії мієлопроліферативних новоутворень Va/F3 CALRdel 52 Mouse Pro B, оброблених сполуками **4.2a-4.2j** (72 години впливу)

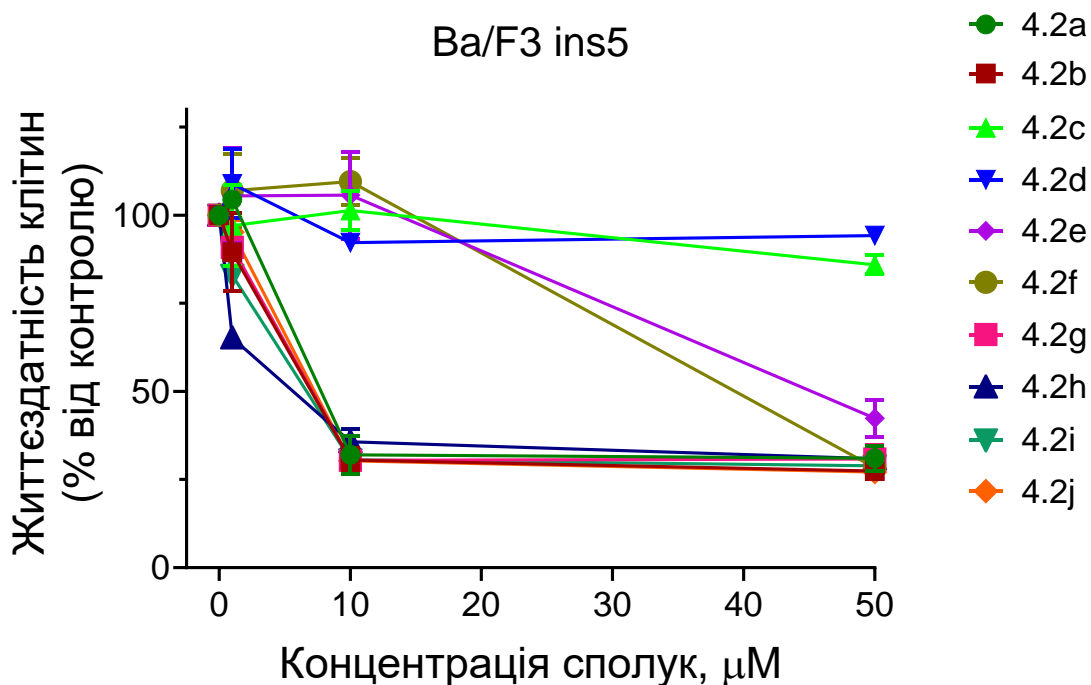


Рис. 4.16. Графічне представлення життєздатності клітинної лінії мієлопроліферативних новоутворень Ba/F3 ins5, оброблених сполуками **4.2a-4.2j** (72 години впливу)

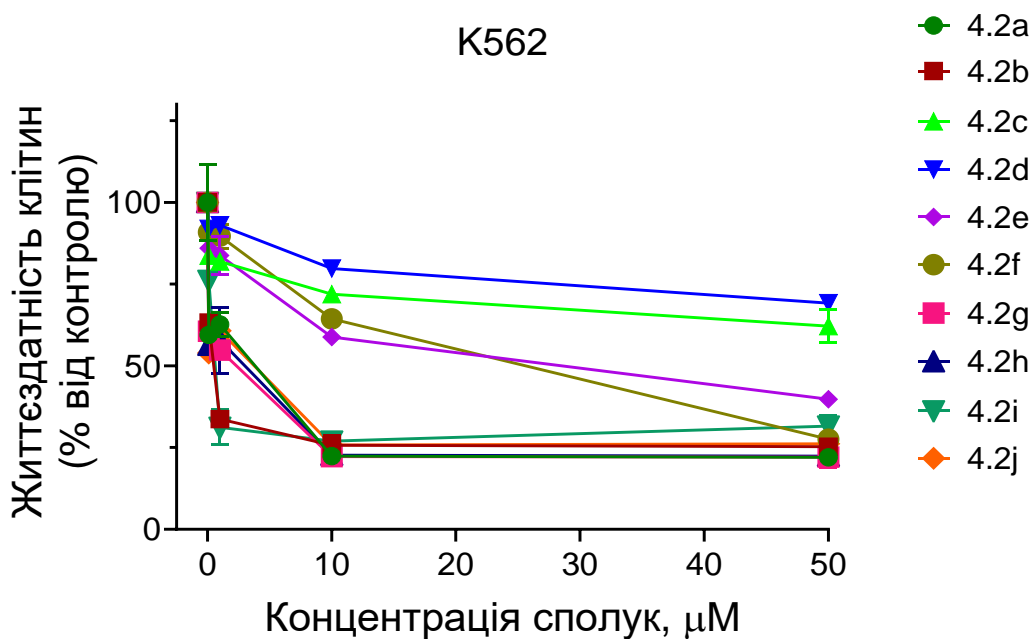


Рис. 4.17. Графічне представлення життєздатності клітин хронічної мієлогенної лейкемії людини K562, оброблених сполуками **4.2a-4.2j** (72 години впливу)

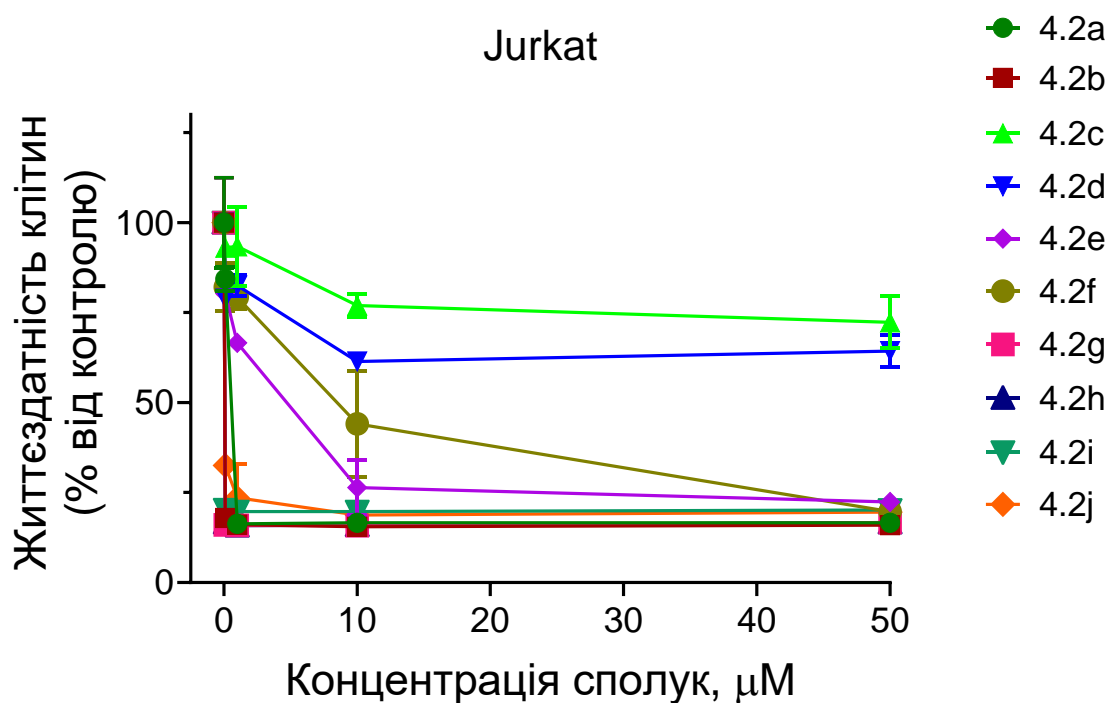


Рис. 4.18. Графічне представлення життєздатності клітин лейкемії людини Jurkat, оброблених сполуками 4.2a-4.2j (72 години впливу)

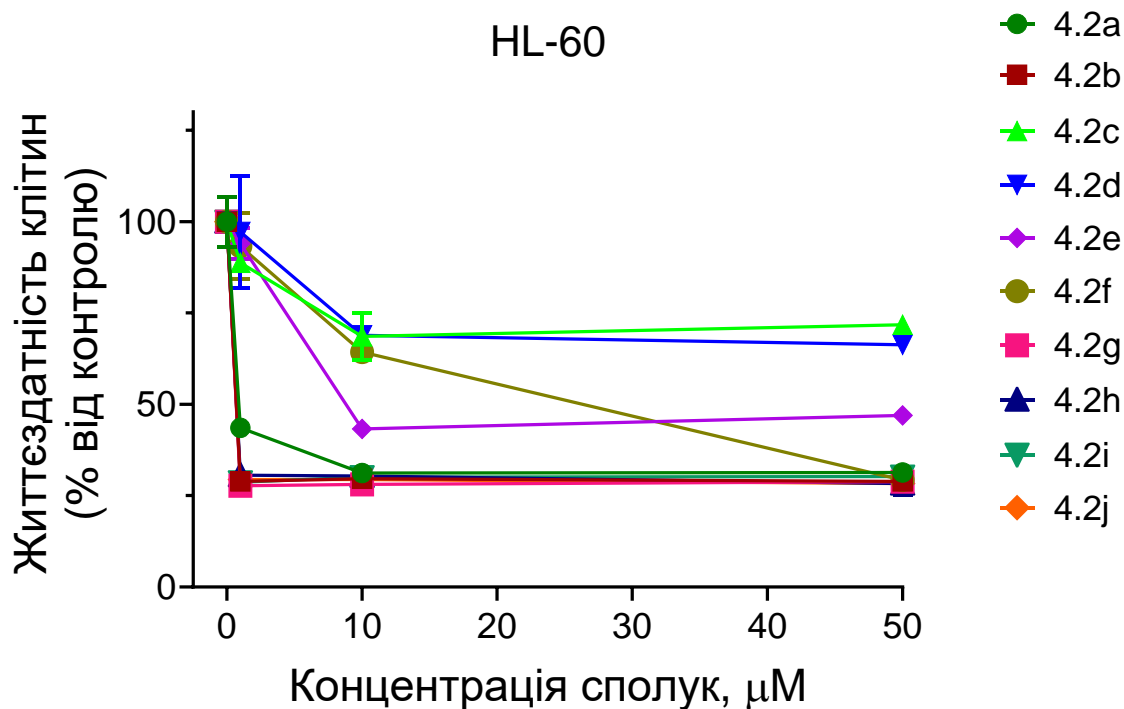


Рис. 4.19. Графічне представлення життєздатності клітин лейкемії людини HL-60, оброблених сполуками 4.2a-4.2j (72 години впливу)

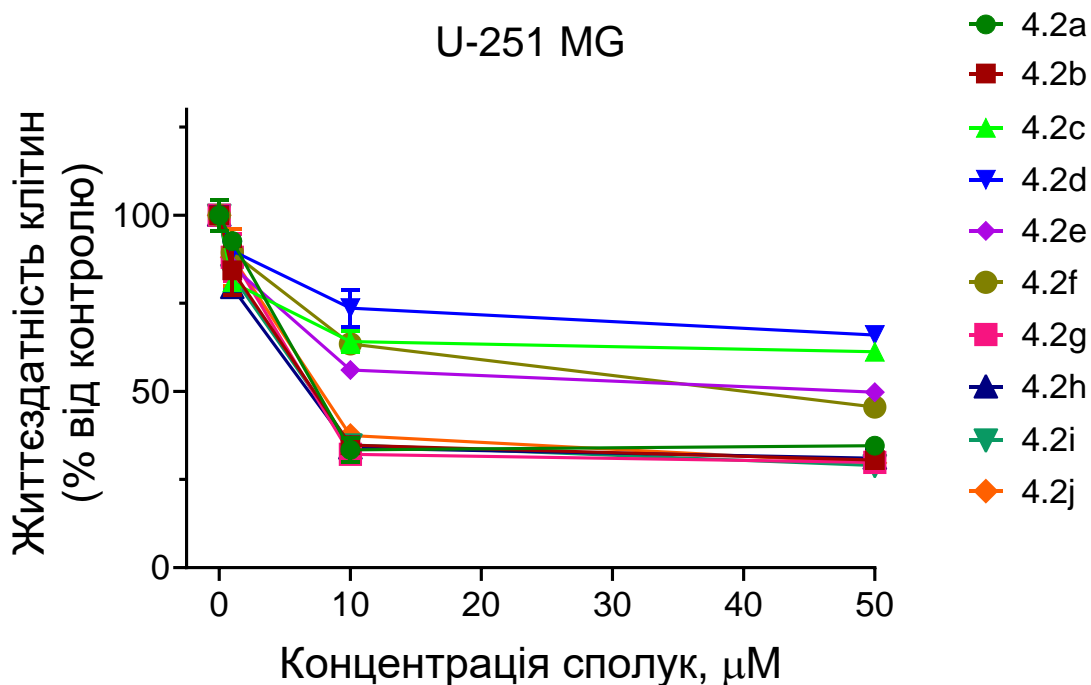


Рис. 4.20. Графічне представлення життєздатності клітин мультиформної гліобластоми людини U-251 MG, оброблених сполуками 4.2a-4.2j (72 години впливу)

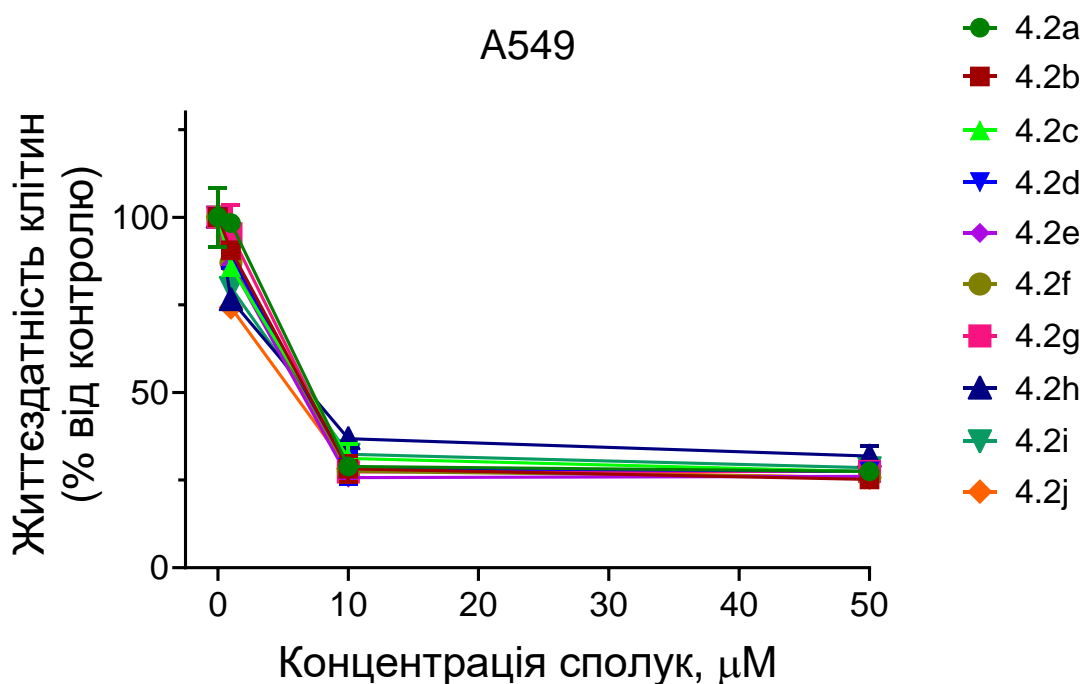


Рис. 4.21. Графічне представлення життєздатності клітин недрібноклітинного раку легень A549, оброблених сполуками 4.2a-4.2j (72 години впливу)

Серед досліджених сполук монохлоропохідні дигідропіразолів **4.2a**, **4.2b**, **4.2g**, **4.2h**, **4.2i** та **4.2j** виявили сильний цитотоксичний ефект на більшості тестованих клітинних ліній. На клітинах Ва/F3 wt, Ва/F3 del52, Ва/F3 ins5 значення IC_{50} варіювалися від $4.10 \pm 1.00 \mu\text{M}$ (для **4.2j**) до $7.76 \pm 0.19 \mu\text{M}$ (для **4.2a**), що свідчить про високу активність проти моделей мієлопроліферативних новоутворень. На клітинах K562 показники IC_{50} коливалися в межах від $0.42 \pm 0.08 \mu\text{M}$ (для **4.2b**) до $3.68 \pm 0.15 \mu\text{M}$ (для **4.2a**), демонструючи значну чутливість клітин хронічної мієлогенної лейкемії. Особливо висока активність спостерігалася на клітинах лейкемії людини Jurkat та HL-60, де IC_{50} становили від $0.034 \pm 0.012 \mu\text{M}$ (для **4.2h** та **4.2g**) до $0.73 \pm 0.12 \mu\text{M}$ (для **4.2a**), що вказує на виняткову ефективність цих сполук. На клітинах U-251 MG та A549 значення IC_{50} варіювалися від $4.38 \pm 1.02 \mu\text{M}$ (для **4.2j**) до $7.11 \pm 0.40 \mu\text{M}$ (для **4.2a**), демонструючи помірно високу активність проти гліобластоми та раку легень. Ці сполуки характеризуються наявністю атома водню в положенні R ($R=H$) та галогенованих замісників (Cl або Br) у положенні R^1 , що, ймовірно, сприяє їхній високій цитотоксичності.

Інші сполуки, зокрема дихлоропохідні дигідропіразолів **4.2e** та **4.2f**, показали середній рівень активності. На клітинах Ва/F3 wt, Ва/F3 del52, Ва/F3 ins5 значення IC_{50} перебували в діапазоні від $34.87 \pm 0.25 \mu\text{M}$ (для **4.2f**) до $>50 \mu\text{M}$ (для **4.2e**), що вказує на знижену ефективність порівняно з попередніми сполуками. На клітинах K562 показники IC_{50} становили $21.25 \pm 7.24 \mu\text{M}$ (для **4.2e**) та $22.18 \pm 3.43 \mu\text{M}$ (для **4.2f**). Для клітин Jurkat та HL-60 значення IC_{50} варіювалися від $3.647 \pm 1.126 \mu\text{M}$ (для **4.2e**) до $21.40 \pm 3.51 \mu\text{M}$ (для **4.2f**), що свідчить про помірну чутливість лейкемічних клітин. На клітинах U-251 MG та A549 показники IC_{50} перебували в межах від $5.31 \pm 0.86 \mu\text{M}$ (для **4.2e**) до $34.26 \pm 12.56 \mu\text{M}$ (для **4.2e**), демонструючи кращу активність на клітинах раку легень. Ці сполуки мають атом хлору в положенні R ($R=Cl$), що може пояснити їхню нижчу активність порівняно монохлорозаміщеними аналогами.

Дихлоропохідні дигідропіразолів **4.2c** та **4.2d** виявили мінімальну цитотоксичність. Для більшості клітинних ліній значення IC_{50} перевищували 50 μM , за винятком клітин A549, де показники становили 5.62 \pm 1.02 μM (для **4.2c**) та 5.85 \pm 0.76 μM (для **4.2d**). На клітинах HL-60 значення IC_{50} для сполуки **4.2d** склало 20.56 \pm 0.00 μM , що є єдиним винятком серед лейкемічних ліній. Низька активність цих сполук може бути пов'язана з наявністю хлору в положенні R (R=Cl) та специфічними замісниками (OCH₃ для **4.2c** та CF₃ для **4.2d**).

Аналіз структурно-активних зв'язків показав, що монохлоропохідні дигідропіразолів з галогенованими групами (Cl або Br) у положенні R¹ (**4.2b**, **4.2g**, **4.2h**, **4.2i**) продемонстрували значно вищу активність порівняно з дихлорозаміщеними аналогами (**4.2c**, **4.2d**, **4.2e**, **4.2f**). Введення об'ємного замісника C₁₀H₇ (у **4.2j**) не призвело до суттєвого зниження цитотоксичності, зберігаючи IC_{50} на рівні високоефективних сполук. Натомість дихлороацетатна група асоціюється з нижчою активністю порівняно з моногалогенованими аналогами.

Висновки до розділу 4

1. Запропоновано ефективний метод синтезу хлоро- та дихлороацетамідів дигідропіразолів як потенційних протиракових агентів, структура і склад яких підтверджено елементним аналізом та методами ¹H/¹³C ЯМР спектроскопії та хромато-мас-спектрометрії

2. Визначено, що монохлоропохідні дигідропіразоли (**4.2a**, **4.2b**, **4.2g**, **4.2h**, **4.2i**, **4.2j**) характеризуються високою цитотоксичною активністю проти більшості тестованих клітинних ліній, включаючи моделі мієлопроліферативних новоутворень (Ba/F3 wt, Ba/F3 del52, Ba/F3 ins5, IC_{50} від 4.10 \pm 1.00 до 7.76 \pm 0.19 μM), хронічну мієлогенну лейкемію (K562, IC_{50} від 0.42 \pm 0.08 до 3.68 \pm 0.15 μM), лейкемію людини (Jurkat, HL-60, IC_{50} від 0.034 \pm 0.012 до 0.73 \pm 0.12 μM), а також гліобластому (U-251 MG) і рак легень (A549, IC_{50} від 4.38 \pm 1.02 до 7.11 \pm 0.40 μM).

3. Показано, що дихлоропохідні дигідропіразоли (**4.2e**, **4.2f**) мають помірну цитотоксичність із показниками IC_{50} у межах від $3.647 \pm 1.126 \mu\text{M}$ (Jurkat) до $>50 \mu\text{M}$ (Ba/F3).

4. Визначено, що сполуки **4.2c** та **4.2d** виявляють мінімальну цитотоксичність ($IC_{50} > 50 \mu\text{M}$ для більшості клітинних ліній), за винятком помірної активності проти клітин раку легень (A549, $IC_{50} 5.62 \pm 1.02 \mu\text{M}$ для **4.2c** та $5.85 \pm 0.76 \mu\text{M}$ для **4.2d**) і HL-60 ($IC_{50} 20.56 \pm 0.00 \mu\text{M}$ для **4.2d**).

5. При аналіз кореляції «структура-активність» з'ясовано, що наявність атома Гідрогену в положенні R (R=H) та галогенів (Cl або Br) у положенні R¹ сприяє високій цитотоксичності монохлоропохідних сполук, тоді як введення хлору в положення R (R=Cl) зазвичай знижує активність.

6. Виявлено, що монохлороацетпохідні дигідропіразолів (**4.2a**, **4.2b**, **4.2g**, **4.2h**, **4.2i**, **4.2j**) значно перевищують дихлоропохідні аналоги (**4.2c**, **4.2d**, **4.2e**, **4.2f**) за протираковою цитотоксичною активністю.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано, методологічно забезпечено та експериментально підтверджено шляхи вирішення наукової проблеми створення нових потенційних протипухлинних агентів на основі нітрогеновмісних гетероциклічних сполук, що містять моно- та дихлороацетатні фрагменти, шляхом поєднання методів фармацевтичного аналізу, органічного синтезу, *in silico* моделювання, та первинного біологічного скринінгу. На основі комплексного міждисциплінарного підходу, який охоплює аналіз соціально-економічної доступності алкілюючих препаратів групи L01AX, раціональний дизайн та спрямований органічний синтез, ретельну структурну ідентифікацію (елементний аналіз, ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія), поглиблений квантово-хімічний аналіз електронної будови (DFT/B3LYP/6-311G++(d,p)), SAR-аналіз, а також *in silico* дослідження (молекулярне моделювання, молекулярний докінг, ADMET-прогнозування) та експериментальну оцінку цитотоксичності *in vitro* (МТТ-тест), теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено взаємозв'язок «структура-активність» та ідентифіковано низку високоефективних протиракових «сполук-хітів» серед синтезованих 34 нових похідних тiazольного та дигідропіразолового рядів.

1. Установлено 100% імпортозалежність лікарських препаратів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» і дисонанс між їх присутністю у соціально-економічних регулюючих переліках лікарських засобів в Україні та фізичною доступністю на фармацевтичному ринку. Усього 6 (20.69%) лікарських препаратів групи увійшли у Перелік лікарських засобів, що закуповуються за кошти державного бюджету для виконання програм лікування онкохворих. Виявлено доцільність у синтезі нових вітчизняних активних фармацевтичних інгредієнтів групи L01AX для лікування хворих на онкопатології.

2. Синтезовано серії 2-хлоро- та 2,2-дихлороацетамідів на основі реакцій ацилювання метилдихлороацетатом, хлороацетилхлоридом та

дихлороацетилхлоридом відповідних заміщених етиламінів, амінобензойних кислот, тіазол-вмісних амінів та дигідропіразолів.

3. Підтверджено будову, склад та чистоту синтезованих сполук за допомогою елементного аналізу, рідинної хромато-мас-спектрометрії, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, що є критично важливим для подальшої фармакологічної оцінки.

4. Доведено помірну протипухлинну активність дихлороацетамідів на окремі клітинні лінії меланоми, лейкемії та раку нирок. Попередні дані вивчення протипухлинної дії свідчать про певні перспективи пошуку протиракових агентів в групі дихлоарилацетамідів у порівнянні з алкіламидами.

Показано, що монохлороацетпохідні виявляють вищу протипухлинну активність у порівнянні з структурно-спорідненими похідними тіазолу щодо клітинних ліній лейкемії людини (Jurkat, HL-60, K562), моделі мієлопроліферативних новоутворень (Ba/F3), гліобластоми (U-251 MG) та раку легень (A549).

5. Встановлено кореляцію між електронною будовою та протипухлинною активністю, виявивши 2-хлороацетаміди тіазолу, фенілтіазолу та бензотіазолу як найбільш цитотоксичні та пояснено, що нижча активність дихлороацетамідів порівняно з хлороацетамидами зумовлена не просто взаємним впливом атомів, а значною мірою структурою перехідного стану при утворенні проміжних продуктів та більшою схильністю утворених аддуктів до гідролізу.

6. Визначено, що хлороацетаміди тіазольного та дигідропіразолового рядів демонструють значно вищу протипухлинну активність порівняно з дихлороацетамидами. Зокрема, 2-хлороацетаміди тіазолу, фенілтіазолу та бензотіазолу показали суттєву цитотоксичність на клітинних лініях (Jurkat, MDA-MB-231, Ba/F3CALRins5, Ba/F3CALRdel52), що підтверджує кореляційний зв'язок між структурними характеристиками та біологічною активністю.

7. Ідентифіковано потенційні механізми дії синтезованих сполук з використанням *in silico* методів та показано, що більшість кон'югатів

«глутатіон-ХАА» демонструють покращену здатність взаємодіяти з GST порівняно з нативним кон'югатом «глутатіон-етакринова кислота», що може бути відповідальним за їх підвищену протипухлинну активність. Визначено кореляцію між даними *in silico* молекулярного докінгу та *in vitro* цитотоксичності, що підтверджує достовірність застосованих моделей та дозволяє обґрунтувати подальшу оптимізацію молекулярної структури для підвищення терапевтичної ефективності.

8. Ідентифіковано високоефективні протиракові «сполуки-хіти» тiazольного (2-хлороацетаміди тiazолу, фенілтіазолу та бензотіазолу) та дигідропіразолового (хлороацетаміди 3,5-диарилдигідропіразолів) рядів, що відкриває нові можливості для розробки оригінальних протипухлинних агентів.

9. Визначено, що подальші дослідження мають бути спрямовані на детальне вивчення механізмів взаємодії синтезованих сполук (зокрема 2-хлороацетамідів тiazолу, фенілтіазолу та бензотіазолу) з глутатіоном та інгібування активності GST, а також на оптимізацію їхньої структури з метою зниження токсичності та підвищення селективності дії, так як вони демонструють значний потенціал для подальшої фармакологічної оцінки та розробки нових протипухлинних агентів з мінімальними токсикометричними ризиками.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Singh Y, Singh R. Theoretical studies of different tautomers of anti cancer drug: dichloroacetate. *Pak J Pharm Sci.* 2008; 21(4):390–5.
2. Dichloressigsäure, Natriumdichloracetat. Kurzfassung toxikologische bewertungen. Nr. 188 b Dichloressigsäure, Natriumdichloracetat 03/06, BG-Chemie. ISBN 0937-4248.
3. Lin Tao, Wan Kerou, Cheng Jie, Zhang Bingliang, Zhang Li, Chen Dan, Zhang Zhixiang, Zeng Yongkang, Zeng Lihui, Gao Wu. (2018). Pat. No. CN108658756A. Method for preparing dichloroacetic acid by selective dechlorination of trichloroacetic acid. Xian catalyst new mat CO LTD (China); published 16.10.2018.
4. Wheeler AS, Smith SC. Direct conversion of derivatives of dichloroacetic acid into derivatives of trichloroacetic acid. *J Am Chem Soc.* 1923; 45(8):1994–8. Available from: <https://doi.org/10.1021/ja01661a021>
5. Katon JE, Stout TH, Hess GG. The infrared spectra of dichloroacetic acid derivatives: Characteristic absorption frequencies of the -CHCl₂ group. *Appl Spectrosc.* 1986; 40(1):1–3. Available from: <https://doi.org/10.1366/0003702864815501>
6. Corvers Antonius, Mulders Joannes. (1985). Pat. No. CA1189867A. Preparation of derivatives of dichloroacetic acid esters. Stamicarbon (NL); published 02.07.1985.
7. Darensbourg DJ, Ortiz CG, Kamplain JW. A New Water-Soluble Phosphine Derived from 1,3,5-Triaza-7-phosphaadamantane (PTA), 3,7-Diacetyl-1,3,7-triaza-5-phosphabicyclo[3.3.1]nonane. Structural, Bonding, and Solubility Properties. *Organometallics.* 2004; 23(8):1747–54. Available from: <https://doi.org/10.1021/om0343059>
8. Krogstad DA, Ellis GS, Gunderson AK, Hammrich AJ, Rudolf JW, Halfen JA. Two new water-soluble derivatives of 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane (PTA): Synthesis, characterization, X-ray analysis and solubility studies of 3,7-diformyl-1,3,7-triaza-5-phosphabicyclo[3.3.1]nonane and 1-pyridylmethyl-3,5-

diaza-1-azonia-7-phosphatrimethylcyclo[3.3.1.1]decane bromide. *Polyhedron*. 2007; 26(15):4093–100. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2007.05.003>

9. Darensbourg DJ, Robertson JB, Larkins DL, Reibenspies JH. Water-soluble organometallic compounds. 7.1 further studies of 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane derivatives of group 10 metals, including metal carbonyls and hydrides. *Inorg Chem*. 1999; 38(10):2473–81. Available from: <https://doi.org/10.1021/ic981243j>

10. Guerrero E, Miranda S, Lüttenberg S, Fröhlich N, Koenen J-M, Mohr F, et al. Trans-thionate derivatives of Pt(II) and Pd(II) with water-soluble phosphane PTA and DAPTA ligands: antiproliferative activity against human ovarian cancer cell lines. *Inorg Chem*. 2013; 52(11):6635–47. Available from: <https://doi.org/10.1021/ic4006746>

11. Carreira M, Calvo-Sanjuán R, Sanaú M, Marzo I, Contel M. Organometallic palladium complexes with a water-soluble iminophosphorane ligand as potential anticancer agents. *Organometallics*. 2012; 31(16):5772–81. Available from: <https://doi.org/10.1021/om3006239>

12. Marvelli L, Ferretti V, Bertolasi V, Lampronti I, Gambari R, Trapella C, et al. A new amido-phosphine of dichloroacetic acid as an active ligand for metals of pharmaceutical interest. Synthesis, characterization and tests of antiproliferative and pro-apoptotic activity. *J Inorg Biochem*. 2019; 199(110787):110787. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110787>

13. Arjunan V, Mohan S, Subramanian S, Thimme Gowda B. Synthesis, Fourier transform infrared and Raman spectra, assignments and analysis of N-(phenyl)- and N-(chloro substituted phenyl)-2,2-dichloroacetamides. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2004; 60(5):1141–59. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2003.07.003>

14. Arjunan V, Senthilkumari S, Ravindran P, Mohan S. Synthesis, FTIR and FT-Raman spectral analysis and structure–activity relations of N-(4-bromophenyl)-2,2-dichloroacetamide by DFT studies. *J Mol Struct*. 2014; 1064:15–26. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.01.091>

15. Arjunan V, Ravindran P, Subhalakshmi K, Mohan S. Synthesis, structural, vibrational and quantum chemical investigations of N-(2-methylphenyl)-2,2-dichloroacetamide and N-(4-methylphenyl)-2,2-dichloroacetamide. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2009; 74(3):607–16. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2009.07.008>
16. Arjunan V, Rani T, Mythili CV, Mohan S. Synthesis, FT-IR, FT-Raman and quantum chemical investigations of N-(3-methylphenyl)-2,2-dichloroacetamide. *Eur J Chem.* 2011; 2(1):70–6. Available from: <https://doi.org/10.5155/eurjchem.2.1.70-76.286>
17. Li T, Yang Y, Cheng C, Tiwari AK, Sodani K, Zhao Y, et al. Design, synthesis and biological evaluation of N-arylphenyl-2,2-dichloroacetamide analogues as anti-cancer agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012; 22(23):7268–71. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.07.057>
18. Li T-W, Yang Y-C, Cheng C-M, Wang D-C, Lu A-J, Zhao Y-F. Multi-substituted N-phenyl-2, 2-dichloroacetamide analogues as anti-cancer drugs: design, synthesis and biological evaluation. *Yao Xue Xue Bao.* 2012; 47(3):354–63.
19. Yang Y, Shang P, Cheng C, Wang D, Yang P, Zhang F, et al. Novel N-phenyl dichloroacetamide derivatives as anticancer reagents: design, synthesis and biological evaluation. *Eur J Med Chem.* 2010; 45(9):4300–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.06.032>
20. Porrès L, Mongin O, Katan C, Charlot M, Pons T, Mertz J, et al. Enhanced two-photon absorption with novel octupolar propeller-shaped fluorophores derived from triphenylamine. *Org Lett.* 2004; 6(1):47–50. Available from: <https://doi.org/10.1021/ol036041s>
21. Fereidoonzezhad M, Faghieh Z, Mojaddami A, Tabaei SMH, Rezaei Z. Novel approach synthesis, molecular docking and cytotoxic activity evaluation of N-phenyl-2,2-dichloroacetamide derivatives as anticancer agents. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran,* 2016; 27(1):39-49.
22. Norman MH, Chen N, Chen Z, Fotsch C, Hale C, Han N, et al. Structure-activity relationships of a series of pyrrolo[3,2-d]pyrimidine derivatives

and related compounds as neuropeptide Y5 receptor antagonists. *J Med Chem.* 2000; 43(22):4288–312. Available from: <https://doi.org/10.1021/jm000269t>

23. Baidur N, Chadha N, Player MR. Solution-phase synthesis of a library of 3,5,7-trisubstituted 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidines. *J Comb Chem.* 2003; 5(5):653–9. Available from: <https://doi.org/10.1021/cc020110x>

24. Zhang S-L, Zhang W, Xiao Q, Yang Z, Hu X, Wei Z, et al. Development of dichloroacetamide pyrimidines as pyruvate dehydrogenase kinase inhibitors to reduce cancer cell growth: synthesis and biological evaluation. *RSC Adv.* 2016; 6(82):78762–7. Available from: <https://doi.org/10.1039/c6ra14060b>

25. Uden PC, Miller JW. Chlorinated acids and chloral in drinking water. *J Am Water Works Assoc.* 1983; 75(10):524–7. Available from: <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1983.tb05213.x>

26. Mughal FH. Chlorination of drinking water and cancer: a review. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1992; 11(5–6):287–92.

27. Yan Z, Henderson GN, James MO, Stacpoole PW. Determination of dichloroacetate and its metabolites in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1997; 703(1–2):75–84. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(97\)00404-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(97)00404-0)

28. Stacpoole PW, Henderson GN, Yan Z, James MO. Clinical pharmacology and toxicology of dichloroacetate. *Environ Health Perspect.* 1998; 106(4):989–94. Available from: <https://doi.org/10.1289/ehp.98106s4989>

29. Dichloressigsäure und ihre Salze [MAK Value Documentation in German language, 2010]. In: *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety.* Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2012. p. 1–136. Available from: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7943verd0049>

30. Hartwig A, MAK Commission, Arand M. Dichloroacetic acid and its salts: MAK Value Documentation, supplement – Translation of the German version from 2019. Wiley-VCH Verlag; 2021. Available from: <https://doi.org/10.5167/UZH-215812>

31. Cornett R, James MO, Henderson GN, Cheung J, Shroads AL, Stacpoole PW. Inhibition of glutathione S-transferase zeta and tyrosine metabolism by dichloroacetate: a potential unifying mechanism for its altered biotransformation and toxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 262(3):752–6. Available from: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1287>
32. Shroads AL, Guo X, Dixit V, Liu H-P, James MO, Stacpoole PW. Age-dependent kinetics and metabolism of dichloroacetate: possible relevance to toxicity. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008; 324(3):1163–71. Available from: <https://doi.org/10.1124/jpet.107.134593>
33. Alberola Domingo Jordi, Rodríguez Cortes Alhelí, Martínez Flores Alba, Izquierdo Luís. (2015). Pat. No. WO2015135926A1. Dichloroacetate compounds for use in treating a disease caused by a glycolytic parasite. Univ Barcelona Autònoma [ES]; published 17.09.2015.
34. Madhok BM, Yeluri S, Perry SL, Hughes TA, Jayne DG. Dichloroacetate induces apoptosis and cell-cycle arrest in colorectal cancer cells. *Br J Cancer.* 2010; 102(12):1746–52. Available from: <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605701>
35. Stockwin LH, Yu SX, Borgel S, Hancock C, Wolfe TL, Phillips LR, et al. Sodium dichloroacetate selectively targets cells with defects in the mitochondrial ETC. *Int J Cancer.* 2010; 127(11):2510–9. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijc.25499>
36. Kim Kyoung Soo, Park Young Jun, Song Hyun-Nam, Kim Dong Youn, Kim Joon Woo, Cho Kyoung-Suk, Yu Keewon, Kwon Hyuk Jin. (2012). Pat. No. WO2012008711A2. Erlotinib dichloroacetate and anti-cancer agent comprising the same. Celltrion Chemical Research Institute [Korea]; published 19.01.2012.
37. Abdelmalak M, Lew A, Ramezani R, Shroads AL, Coats BS, Langaee T, et al. Long-term safety of dichloroacetate in congenital lactic acidosis. *Mol Genet Metab.* 2013; 109(2):139–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.03.019>

38. Misbin RI. Effects of dichloroacetate on lipid metabolism in isolated rat liver cells. *Diabetes*. 1979; 28(4):265–71. Available from: <https://doi.org/10.2337/diab.28.4.265>
39. Feldhoff RC, Taylor JM, Jefferson LS. Synthesis and secretion of rat albumin in vivo, in perfused liver, and in isolated hepatocytes. Effects of hypophysectomy and growth hormone treatment. *J Biol Chem*. 1977; 252(11):3611–6. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)40296-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)40296-1)
40. Stacpoole PW, Moore GW, Kornhauser DM. Metabolic effects of dichloroacetate in patients with diabetes mellitus and hyperlipoproteinemia. *N Engl J Med*. 1978; 298(10):526–30. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJM197803092981002>
41. Bonnet S, Archer SL, Allalunis-Turner J, Haromy A, Beaulieu C, Thompson R, et al. A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. *Cancer Cell*. 2007; 11(1):37–51. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.10.020>
42. Bowker-Kinley MM, Davis WI, Wu P, Harris RA, Popov KM. Evidence for existence of tissue-specific regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex. *Biochem J*. 1998; 329(1):191–6. Available from: <https://doi.org/10.1042/bj3290191>
43. Knoechel TR, Tucker AD, Robinson CM, Phillips C, Taylor W, Bungay PJ, et al. Regulatory roles of the N-terminal domain based on crystal structures of human pyruvate dehydrogenase kinase 2 containing physiological and synthetic ligands. *Biochemistry*. 2006; 45(2):402–15. Available from: <https://doi.org/10.1021/bi051402s>
44. Michelakis ED, Webster L, Mackey JR. Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer. *Br J Cancer*. 2008; 99(7):989–94. Available from: <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604554>
45. Stacpoole PW, Harwood HJ Jr, Cameron DF, Curry SH, Samuelson DA, Cornwell PE, et al. Chronic toxicity of dichloroacetate: possible relation to thiamine

deficiency in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1990; 14(2):327–37. Available from: [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(90\)90212-3](https://doi.org/10.1016/0272-0590(90)90212-3)

46. Spruijt L, Naviaux RK, McGowan KA, Nyhan WL, Sheean G, Haas RH, et al. Nerve conduction changes in patients with mitochondrial diseases treated with dichloroacetate. *Muscle Nerve.* 2001; 24(7):916–24. Available from: <https://doi.org/10.1002/mus.1089>

47. Flavin DF. Non-hodgkin's lymphoma reversal with dichloroacetate. *J Oncol.* 2010; 2010:1–4. Available from: <https://doi.org/10.1155/2010/414726>

48. Khan A. Case report of long term complete remission of metastatic renal squamous cell carcinoma after palliative radiotherapy and adjuvant dichloroacetate. *Adv Cancer: Res Treat.* 2013; 1–7. Available from: <https://doi.org/10.5171/2012.441895>

49. Ohashi T, Akazawa T, Aoki M, Kuze B, Mizuta K, Ito Y, et al. Dichloroacetate improves immune dysfunction caused by tumor-secreted lactic acid and increases antitumor immunoreactivity: DCA improves lactic acid-mediated immune dysfunction. *Int J Cancer.* 2013; 133(5):1107–18. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijc.28114>

50. Corraliza IM, Campo ML, Soler G, Modolell M. Determination of arginase activity in macrophages: a micromethod. *J Immunol Methods.* 1994; 174(1–2):231–5. Available from: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(94\)90027-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(94)90027-2)

51. Azuma M, Ebihara T, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T. Cross-priming for antitumor CTL induced by soluble Ag + polyI:C depends on the TICAM-1 pathway in mouse CD11c(+)/CD8 α (+) dendritic cells. *Oncoimmunology.* 2012; 1(5):581–92. Available from: <https://doi.org/10.4161/onci.19893>

52. Akazawa T, Ebihara T, Okuno M, Okuda Y, Shingai M, Tsujimura K, et al. Antitumor NK activation induced by the Toll-like receptor 3-TICAM-1 (TRIF) pathway in myeloid dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104(1):252–7. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.0605978104>

53. Cheong H, Lu C, Lindsten T, Thompson CB. Therapeutic targets in cancer cell metabolism and autophagy. *Nat Biotechnol.* 2012; 30(7):671–8. Available from: <https://doi.org/10.1038/nbt.2285>
54. Duan Y, Zhao X, Ren W, Wang X, Yu K-F, Li D, et al. Antitumor activity of dichloroacetate on C6 glioma cell: in vitro and in vivo evaluation. *Onco Targets Ther.* 2013; 6:189–98. Available from: <https://doi.org/10.2147/OTT.S40992>
55. Abemayor E, Kovachich GB, Haugaard N. Effects of dichloroacetate on brain pyruvate dehydrogenase. *J Neurochem.* 1984; 42(1):38–42. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1984.tb09694.x>
56. Wong JYY, Huggins GS, Debidda M, Munshi NC, De Vivo I. Dichloroacetate induces apoptosis in endometrial cancer cells. *Gynecol Oncol.* 2008; 109(3):394–402. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.01.038>
57. Kolesnik DL, Pyaskovskaya ON, Yurchenko OV, Solyanik GI. Metformin enhances antitumor action of sodium dichloroacetate against glioma C6. *Exp Oncol.* 2019; 41(2):123–9. Available from: <https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-2.13064>
58. Kolesnik DL, Pyaskovskaya ON, Boichuk IV, Solyanik GI. Hypoxia enhances antitumor activity of dichloroacetate. *Exp Oncol.* 2014; 36(4):231–5.
59. Seliger C, Renner K. Metformin as adjuvant therapy for glioma. *Neuro Oncol.* 2017; 19(3):iii65. Available from: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox036.241>
60. Quaile MP, Melich DH, Jordan HL, Nold JB, Chism JP, Polli JW, et al. Toxicity and toxicokinetics of metformin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010; 243(3):340–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.11.026>
61. Prokhorova IV, Pyaskovskaya ON, Kolesnik DL, Solyanik GI. Influence of metformin, sodium dichloroacetate and their combination on the hematological and biochemical blood parameters of rats with gliomas C6. *Exp Oncol.* 2018; 40(3):205–10. Available from: [https://doi.org/10.31768/2312-8852.2018.40\(3\):205-210](https://doi.org/10.31768/2312-8852.2018.40(3):205-210)

62. Pustyl'nikov S, Costabile F, Beghi S, Facciabene A. Targeting mitochondria in cancer: current concepts and immunotherapy approaches. *Transl Res.* 2018; 202:35–51. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2018.07.013>
63. Grazioli S, Pugin J. Mitochondrial damage-associated molecular patterns: From inflammatory signaling to human diseases. *Front Immunol.* 2018; 9:832. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00832>
64. Torres-Cavazos Z, Franco-Molina MA, Santana-Krím'skaya SE, Rodríguez-Padilla C, Kawas-Garza JR, Hernández-Vidal G, et al. In vivo evaluation of the antitumor and immunogenic properties of silver and sodium dichloroacetate combination against melanoma. *J Nanomater.* 2020; 2020:1–8. Available from: <https://doi.org/10.1155/2020/3741019>
65. Bonner MY, Karlsson I, Rodolfo M, Arnold RS, Vergani E, Arbiser JL. Honokiol bis-dichloroacetate (Honokiol DCA) demonstrates activity in vemurafenib-resistant melanoma in vivo. *Oncotarget.* 2016; 7(11):12857–68. Available from: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7289>
66. Vergani E, Vallacchi V, Frigerio S, Deho P, Mondellini P, Perego P, et al. Identification of MET and SRC activation in melanoma cell lines showing primary resistance to PLX4032. *Neoplasia.* 2011; 13(12):1132–42. Available from: <https://doi.org/10.1593/neo.111102>
67. Stacpoole PW. The pharmacology of dichloroacetate. *Metabolism.* 1989; 38(11):1124–44. Available from: [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(89\)90051-6](https://doi.org/10.1016/0026-0495(89)90051-6)
68. Stacpoole PW, Gilbert LR, Neiberger RE, Carney PR, Valenstein E, Theriaque DW, et al. Evaluation of long-term treatment of children with congenital lactic acidosis with dichloroacetate. *Pediatrics.* 2008; 121(5):e1223-8. Available from: <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2062>
69. Ishiguro T, Ishiguro M, Ishiguro R, Iwai S. Cotreatment with dichloroacetate and omeprazole exhibits a synergistic antiproliferative effect on malignant tumors. *Oncol Lett.* 2012; 3(3):726–8. Available from: <https://doi.org/10.3892/ol.2012.552>

70. Michelakis ED, Sutendra G, Dromparis P, Webster L, Haromy A, Niven E, et al. Metabolic modulation of glioblastoma with dichloroacetate. *Sci Transl Med*. 2010; 2(31):31–34. Available from: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000677>
71. Tong J, Xie G, He J, Li J, Pan F, Liang H. Synergistic antitumor effect of dichloroacetate in combination with 5-fluorouracil in colorectal cancer. *J Biomed Biotechnol*. 2011; 2011(1):740564. Available from: <https://doi.org/10.1155/2011/740564>
72. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3(5):330–8. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrc1074>
73. Lu X, Zhou D, Hou B, Liu Q-X, Chen Q, Deng X-F, et al. Dichloroacetate enhances the antitumor efficacy of chemotherapeutic agents via inhibiting autophagy in non-small-cell lung cancer. *Cancer Manag Res*. 2018; 10:1231–41. Available from: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S156530>
74. Lin G, Hill DK, Andrejeva G, Boulton JKR, Troy H, Fong A-CLFWT, et al. Dichloroacetate induces autophagy in colorectal cancer cells and tumours. *Br J Cancer*. 2014; 111(2):375–85. Available from: <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.281>
75. Gong F, Peng X, Sang Y, Qiu M, Luo C, He Z, et al. Dichloroacetate induces protective autophagy in LoVo cells: involvement of cathepsin D/thioredoxin-like protein 1 and Akt-mTOR-mediated signaling. *Cell Death Dis*. 2013; 4(11):e913. Available from: <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.438>
76. Usman M, Arjmand F, Khan RA, Alsalmeh A, Ahmad M, Tabassum S. Biological evaluation of dinuclear copper complex/dichloroacetic acid cocrystal against human breast cancer: design, synthesis, characterization, DFT studies and cytotoxicity assays. *RSC Adv*. 2017; 7(76):47920–32. Available from: <https://doi.org/10.1039/c7ra08262b>
77. Suh Y, Amelio I, Guerrero Urbano T, Tavassoli M. Clinical update on cancer: molecular oncology of head and neck cancer. *Cell Death Dis*. 2014; 5(1):e1018. Available from: <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.548>

78. Chu QS-C, Sangha R, Сстійкість більшості солідних пухлин до апоптозу pratin J, Vos LJ, Mackey JR, McEwan AJB, et al. A phase I open-labeled, single-arm, dose-escalation, study of dichloroacetate (DCA) in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*. 2015; 33(3):603–10. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10637-015-0221-y>

79. Alkarakooly Z, Al-Anbaky QA, Kannan K, Ali N. Metabolic reprogramming by Dichloroacetic acid potentiates photodynamic therapy of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells. *PLoS One*. 2018; 13(10):e0206182. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206182>

80. Golding JP, Wardhaugh T, Patrick L, Turner M, Phillips JB, Bruce JJ, et al. Targeting tumour energy metabolism potentiates the cytotoxicity of 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy. *Br J Cancer*. 2013; 109(4):976–82. Available from: <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.391>

81. Streeter Jackson. (2008). Pat. No. US2008221211A1. Method of treatment of neurological injury or cancer by administration of dichloroacetate. Published 11.09.2008.

82. Hossain M, Das S, Das U, Doroudi A, Zhu J, Dimmock JR. Novel hybrid molecules of 3,5-bis(benzylidene)-4-piperidones and dichloroacetic acid which demonstrate potent tumour-selective cytotoxicity. *Bioorg Med Chem Lett*. 2020; 30(3):126878. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126878>

83. Addala E, Rafiei H, Das S, Bandy B, Das U, Karki SS, et al. 3,5-Bis(3-dimethylaminomethyl-4-hydroxybenzylidene)-4-piperidone and related compounds induce glutathione oxidation and mitochondria-mediated cell death in HCT-116 colon cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett*. 2017; 27(16):3669–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.07.018>

84. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science*. 1956; 123(3191):309–14. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.123.3191.309>

85. Fedorchuk AG, Pyaskovskaya ON, Gorbik GV, Prokhorova LV, Kolesnik DL, Solyanik GI. Effectiveness of sodium dichloroacetate against glioma

- C6 depends on administration schedule and dosage. *Exp Oncol.* 2016; 38(2):80–3. Available from: [https://doi.org/10.31768/2312-8852.2016.38\(2\):80-83](https://doi.org/10.31768/2312-8852.2016.38(2):80-83)
86. Tataranni T, Piccoli C. Dichloroacetate (DCA) and cancer: An overview towards clinical applications. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019:8201079. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/8201079>
87. James MO, Yan Z, Cornett R, Jayanti VM, Henderson GN, Davydova N, et al. Pharmacokinetics and metabolism of [14C]dichloroacetate in male Sprague-Dawley rats. Identification of glycine conjugates, including hippurate, as urinary metabolites of dichloroacetate. *Drug Metab Dispos.* 1998; 26(11):1134–43.
88. James MO, Jahn SC, Zhong G, Smeltz MG, Hu Z, Stacpoole PW. Therapeutic applications of dichloroacetate and the role of glutathione transferase zeta-1. *Pharmacol Ther.* 2017; 170:166–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.10.018>
89. Dhar S, Lippard SJ. Mitaplatin, a potent fusion of cisplatin and the orphan drug dichloroacetate. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106(52):22199–204. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.0912276106>
90. Stacpoole PW, Harwood HJ Jr, Varnado CE. Regulation of rat liver hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase by a new class of noncompetitive inhibitors. Effects of dichloroacetate and related carboxylic acids on enzyme activity. *J Clin Invest.* 1983; 72(5):1575–85. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI111116>
91. Stacpoole PW, Gonzalez MG, Vlasak J, Oshiro Y, Bodor N. Dichloroacetate derivatives. Metabolic effects and pharmacodynamics in normal rats. *Life Sci.* 1987; 41(18):2167–76. Available from: [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(87\)90535-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(87)90535-2)
92. Касенов КЖ. Трансдермальні терапевтичні системи – черезшкірна доставка лікарських засобів (огляд). *Клінічна медицина Казахстану.* 2012; 1(24):110–115.

93. Shanta Dhar, Rakesh Pathak. (2018). Pat. No. US10004809B2. Precise delivery of therapeutic agents to cell mitochondria for anti-cancer therapy. University of Georgia Research Foundation Inc UGARF (USA); published 26.06.2018.
94. Kim Kyoung Soo, Park Young Jun, Song Hyun-Nam, Kim Joon Woo. (2012). Pat. No. US2012295917A1. Imatinib dichloroacetate and anti-cancer agent comprising the same. Celltrion Chemical Res Inst [KR]; published 22.11.2012.
95. Baoqiu Li. (2011). Pat. No. CN101984967A. Manganoporphyrin-dichloroacetic acid combined medicament for treating tumors. Shandong Hongli Lab Animal Experiment CO LTD (CN); published 16.03.2011.
96. Michelakis Evangelos; Archer Stephen. (2006). Pat. No. WO2006108276A1. A method of treating cancer using dichloroacetate. Published 19.10.2006.
97. Du Jianping, Lan Quan. (2017). Pat. No. CN106986791A. Medicinal compound for treating tumors and preparation method and application thereof. Published 28.07.2017.
98. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024; 74(3):229–63. Available from: <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
99. Bray F, Laversanne M, Weiderpass E, Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer.* 2021; 127(16):3029–30. Available from: <https://doi.org/10.1002/ncr.33587>
100. Guida F, Kidman R, Ferlay J, Schüz J, Soerjomataram I, Kithaka B, et al. Global and regional estimates of orphans attributed to maternal cancer mortality in 2020. *Nat Med.* 2022; 28(12):2563–72. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41591-022-02109-2>
101. Bharti AC, Vishnoi K, Singh SM, Aggarwal BB. Chapter 1 – Pathways linked to cancer chemoresistance and their targeting by nutraceuticals. Role of Nutraceuticals in Cancer Chemosensitization. Volume 2 in *Cancer Sensitizing Agents*

for Chemotherapy. 2018; 1-30. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812373-7.00001-2>

102. Ralhan R, Kaur J. Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opin Ther Pat.* 2007; 17(9):1061–75. Available from: <https://doi.org/10.1517/13543776.17.9.1061>

103. Злоякісна меланома шкіри: Уніфікований клінічний протокол первинної та спеціалізованої медичної допомоги. Київ, Україна: Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. 2023. 46 с. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1064282-23#n12>

104. Саркоми м'яких тканин кінцівок та тулуба: Стандарти медичної допомоги. К.: Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. 2023. 20 с. Доступно на: <https://www.dec.gov.ua/mtd/sarkomy-myakyh-tkanyn-kinczivok-ta-tuluba/>

105. Новоутворення матки: Клінічна настанова, заснована на доказах. Київ, Україна: Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. 2023. 134 с. Доступно на: <https://www.dec.gov.ua/mtd/zloyakisni-novoutvorenniya-tila-matky/>

106. Mancari R, Signorelli M, Gadducci A, Carinelli S, De Ponti E, Sesana S, et al. Adjuvant chemotherapy in stage I-II uterine leiomyosarcoma: a multicentric retrospective study of 140 patients. *Gynecol Oncol.* 2014; 133(3):531–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.03.001>

107. Злоякісні новоутворення тіла матки: Стандарти медичної допомоги. Київ, Україна: Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. 2023. 25 с. Доступно на: <https://www.dec.gov.ua/mtd/zloyakisni-novoutvorenniya-tila-matky/>

108. Неходжкінські лімфоми та лімфома Ходжкіна: Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Київ, Україна: Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. 2013. 119 с.

Доступно на: <https://www.dec.gov.ua/mtd/nehodzhkinski-limfomy-ta-limfomahodzhkina/>

109. Ведення хворих на гліобластому: Клінічна настанова, заснована на доказах. Київ, Україна: Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. 2023. 61 с. Доступно на: <https://www.dec.gov.ua/mtd/glioblastoma/>

110. Van den Bent M, Erridge S, Vogelbaum M, Nowak A, Sanson M, Brandes A, et al. ACTR-11. Second interim and 1st molecular analysis of the EORTC randomized phase III intergroup CATNON trial on concurrent and adjuvant temozolomide in anaplastic glioma without 1p/19q codeletion. *Neuro Oncol.* 2019; 21(6):vi14. Available from: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz175.054>

111. Balana C, Vaz MA, Manuel Sepúlveda J, Mesia C, Del Barco S, Pineda E, et al. A phase II randomized, multicenter, open-label trial of continuing adjuvant temozolomide beyond 6 cycles in patients with glioblastoma (GEINO 14-01). *Neuro Oncol.* 2020; 22(12):1851–61. Available from: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa107>

112. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005; 352(10):987–96. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043330>

113. Немченко АС, Жаркова СО, Подгайна МВ. Наукове узагальнення результатів моніторингу цін та доступності протипухлинних препаратів для лікування раку шлунку та раку прямої кишки. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації.* 2012; 4:60–4.

114. Панфілова ГЛ., Цурікова ОВ. Результати дослідження тендерних закупівель лікарських засобів для онкогематологічних хворих в Україні. *Запорізький медичний журнал.* 2014; 1(82):98–103.

115. Панфілова ГЛ. Клініко-економічний та структурний аналіз тендерних закупівель лікарських препаратів для онкологічних хворих в Україні. *Фармацевтичний часопис.* 2014; 4:92–100.

116. Немченко АС, Фурса ЛІ. Маркетингові дослідження ринку протипухлинних препаратів для лікування раку легенів. Соціальна фармація в охороні здоров'я. 2016; 2(2):59–67.

117. Офіційний сайт Державного реєстру лікарських засобів України. Доступно на: <http://www.drlz.com.ua/>

118. Спеціалізоване медичне інтернет-видання Proxima Аптека. Доступно на: <https://pharmbase.com.ua/uk/optovi-propozitsiyi/>

119. Пенсійний фонд України. Інформаційна сторінка веб-порталу. Доступно на: <https://www.pfu.gov.ua/>

120. Деякі питання державного регулювання цін на лікарські засоби і виробу медичного призначення: Постанова Кабінету Міністрів України від 25.03.2009 р. №333. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/333-2009-%D0%BF>

121. Деякі питання закупівлі лікарських засобів, медичних виробів та допоміжних засобів до них: Постанова Кабінету Міністрів України від 07.03.2022 р. №216. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/216-2022-%D0%BF>

122. Перелік лікарських засобів, які підлягають реімбурсації за програмою державних гарантій медичного обслуговування населення, станом на 23 серпня 2024 року: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 04.09.2024 р. №1537. Доступно на: <https://www.apteka.ua/reimbursement>

123. Про декларування зміни оптово-відпускних цін на лікарські засоби станом на 16 серпня 2024 року: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 20.08.2024 р. №1461. Доступно на: <https://moz.gov.ua/uk/decrees/nakaz-moz-ukrayini-vid-20-08-2024-1461-pro-deklaruvannya-zmini-optovo-vidpuskних-cin-na-likarski-zasobi-stanom-na-16-serpnya-2024-roku>

124. Про затвердження шістнадцятого випуску Державного формуляра лікарських засобів та забезпечення його доступності: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 12.03.2024 р. №418. Доступно на: <https://moz.gov.ua/uk/decrees/nakaz-moz-ukraini-vid-12032024--418-pro->

[zatverdzhennja-shistnadcjatogo-vipusku-derzhavnogo-formuljara-likarskih-zasobiv-ta-zabezpechennja-jogo-dostupnosti](#).

125. Федяк Ю, Іванюлик П. Динамічний маркетинговий аналіз вітчизняного ринку противірусних лікарських засобів груп J05AB01, J05AX05, J05AX10. Фармацевтичний часопис. 2016; 4:24–32. Доступно на: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2016.4.7117>

126. Федяк Ю, Білик П. Маркетинговий аналіз антибактерійних препаратів групи азитроміцину для використання у педіатрії. Soc. pharm. health care. 2018; 4(1):72–82. Доступно на: <https://doi.org/10.24959/sphhcj.18.106>

127. Федяк Ю, Максименко ОВ. Оцінка соціально-економічної доступності діуретиків спіронолактону (C03DA01) та фуросеміду (C03CA01) на вітчизняному фармацевтичному ринку. Soc. pharm. health care. 2019; 5(1):20–30. Доступно на: <https://doi.org/10.24959/sphhcj.19.140>

128. Fediak I, Volosheniuk T. Marketing study of selective serotonin reuptake inhibitors for the treatment of post-traumatic stress disorder in military servants and war veterans. Sci Pharm Sci. 2024; 6(52):90–102. Available from: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.308684>

129. Про схвалення Національної стратегії контролю злоякісних новоутворень на період до 2030 року та затвердження плану дій з її реалізації на період до 2025 року: Розпорядження Кабінету Міністрів України від 02.08.2024 р. №730-р. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/730-2024-%D1%80>

130. Благодійні фонди. Онкомедіка. Доступно на: <https://oncomedica.ua/cherity>

131. Безоплатні послуги в програмі медичних гарантій 2025. Національна служба здоров'я України. Доступно на: <https://service.e-health.gov.ua/gromadyanam/besoplatni-poslygy-1697711932>

132. Вимоги ПМГ 2025. Національна служба здоров'я України. Доступно на: <https://contracting.nszu.gov.ua/kontraktuvannya/kontraktuvannya-2025/vymogy-pmg-2025-1720109713>

133. Програма реімбурсації лікарських засобів і медвиробів. Національна служба здоров'я України. Доступно на: <https://contracting.nszu.gov.ua/ogoloshennya-pro-ukladennya-dogovoriv/dostupni-lyky>

134. На лікування онкохвороб у 2025 році передбачено понад 6,4 мільярда – МОЗ. Укрінформ. Доступно на: <https://www.ukrinform.ua/rubric-society/3956247-na-likuvanna-onkohvorob-u-2025-roci-peredbaceno-ponad-64-milarda-moz.html>

135. Всесвітній день боротьби проти раку: чому важлива рання діагностика. Міністерство охорони здоров'я України. Доступно на: <https://moz.gov.ua/uk/vsesvitnij-den-borotbi-proti-raku-chomu-vazhliva-rannya-diagnostika>

136. До програми «Доступні ліки» додають нові препарати – рішення Уряду. Міністерство охорони здоров'я України. Доступно на: <https://moz.gov.ua/uk/do-programi-dostupni-liki-dodayut-novi-preparati-rishennya-uryadu>

137. Про державні фінансові гарантії медичного обслуговування населення: Закон України №2168-VIII. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2168-19>

138. Деякі питання реалізації програми державних гарантій медичного обслуговування населення у 2025 році: Постанова Кабінету Міністрів України від 24.12.2024 р. №1503. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1503-2024-%D0%BF>

139. Про забезпечення скринінгу і ранньої діагностики окремих видів раку та моніторингу стану здоров'я пацієнтів із груп ризику: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.08.2024 р. №1368. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1273-24>

140. Про внесення змін до Порядку реалізації програми державних гарантій медичного обслуговування населення у 2025 році: Постанова Кабінету

Міністрів України від 11.04.2025 р. №409. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/409-2025-%D0%BF>

141. Про додаткові заходи щодо забезпечення доступності лікарських засобів для українців: Рішення Ради національної безпеки і оборони України, введене в дію Указом Президента України від 12.02.2025 року №82/2025. Доступно на: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/n0006525-25>

142. Залишки товару на 05.05.2025. Центральний склад. Дорослі. Всі програми. Державне некомерційне підприємство «Національний інститут раку». Доступно на: <https://unci.org.ua/wp-content/uploads/2025/05/Dorosli-050525.pdf>

143. Безоплатні ліки станом на 05 травня 2025 року. Державне некомерційне підприємство «Національний інститут раку». Доступно на: <https://unci.org.ua/bezoplatni-liky/>

144. Фінансування онкологічних центрів в регіонах збільшилося, але не покриває усі потреби. Медичний портал ITMED. Доступно на: <https://itmed.org/interview/finansuvannya-onkologichnikh-tsentriv-v-regionakh-zbilshilosya-ale-ne-pokriva-usi-potrebi/>

145. Онкологія в Україні: стан проблеми та шляхи розвитку. Онкологія. 2022; 24(3):1–6. Доступно на: <https://doi.org/10.32471/oncology.2663-7928.t-24-3-2022-g.10652>

146. Bedard PL, Hyman DM, Davids MS, Siu LL. Small molecules, big impact: 20 years of targeted therapy in oncology. *Lancet*. 2020; 395(10229):1078–88. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30164-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30164-1)

147. Zhong L, Li Y, Xiong L, Wang W, Wu M, Yuan T, et al. Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6(1):201. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00572-w>

148. Olgen S. Overview on anticancer drug design and development. *Curr Med Chem*. 2018; 25(15):1704–19. Available from: <https://doi.org/10.2174/0929867325666171129215610>

149. Steinbrueck A, Sedgwick AC, Brewster JT 2nd, Yan K-C, Shang Y, Knoll DM, et al. Transition metal chelators, pro-chelators, and ionophores as small molecule cancer chemotherapeutic agents. *Chem Soc Rev*. 2020; 49(12):3726–47. Available from: <https://doi.org/10.1039/c9cs00373h>
150. Zhang J, Duan D, Song Z-L, Liu T, Hou Y, Fang J. Small molecules regulating reactive oxygen species homeostasis for cancer therapy. *Med Res Rev*. 2021; 41(1):342–94. Available from: <https://doi.org/10.1002/med.21734>
151. Feng M, Wang J, Zhou J. Unraveling the therapeutic mechanisms of dichloroacetic acid in lung cancer through integrated multi-omics approaches: metabolomics and transcriptomics. *Front Genet*. 2023; 14:1199566. Available from: <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1199566>
152. Hossain M, Roth S, Dimmock JR, Das U. Cytotoxic derivatives of dichloroacetic acid and some metal complexes. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2022; 355(11):e2200236. Available from: <https://doi.org/10.1002/ardp.202200236>
153. Chen G, Jiang N, Villalobos Solis MI, Kara Murdoch F, Murdoch RW, Xie Y, et al. Anaerobic microbial metabolism of dichloroacetate. *MBio*. 2021; 12(2). Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.00537-21>
154. Hassan GS, El-Messery SM, Al-Omary FAM, El-Subbagh HI. Substituted thiazoles VII. Synthesis and antitumor activity of certain 2-(substituted amino)-4-phenyl-1,3-thiazole analogs. *Bioorg Med Chem Lett*. 2012; 22(20):6318–23. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.08.095>
155. Padhariya KN, Athavale M, Srivastava S, Kharkar PS. Substituted chloroacetamides as potential cancer stem cell inhibitors: Synthesis and biological evaluation. *Drug Dev Res*. 2020; 81(3):356–65. Available from: <https://doi.org/10.1002/ddr.21628>
156. Demirci S, Uslu H, Mermer A, Yesilay G, Betul Aydin Z. Synthesis and characterization of Propofol-like compounds, anticancer activities, and investigation of their anesthetic effects by molecular docking. *ChemistrySelect*. 2024;9(17). Available from: <https://doi.org/10.1002/slct.202400431>

157. Lesyk R, Vladzimirska O, Zimenkovsky B, Golota S, Nektgayev I, Cherpak O, et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel 3-(2,3-dimethyl-1-phenyl-4-pyrazolon-5-yl)-4-thiazolidones. *Boll Chim Farm.* 2002; 141(3):197–201.

158. Havryshchuk L, Horishny V, Rushchak N, Lesyk R. Dichloroacetic acid derivatives as potential anti-tumor and anti-inflammatory agents. *Sci Pharm Sci.* 2024; 1(47):60–78. Available from: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.299229>

159. Fumarola C, Bozza N, Castelli R, Ferlenghi F, Marseglia G, Lodola A, et al. Expanding the arsenal of FGFR inhibitors: A novel chloroacetamide derivative as a new irreversible agent with anti-proliferative activity against FGFR1-amplified lung cancer cell lines. *Front Oncol.* 2019; 9:179. Available from: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00179>

160. Bogdanović A, Marinković A, Stanojković T, Grozdanić N, Janakiev T, Cvijetić I, et al. Synthesis, antimicrobial, anticancer activity, 3D QSAR, ADMET properties, and in silico target fishing of novel N,N-disubstituted chloroacetamides. *J Mol Struct.* 2025; 1321(140075):140075. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140075>

161. Müller MP, Jeganathan S, Heidrich A, Campos J, Goody RS. Nucleotide based covalent inhibitors of KRas can only be efficient in vivo if they bind reversibly with GTP-like affinity. *Sci Rep.* 2017; 7(1):3687. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03973-6>

162. Xiong Y, Lu J, Hunter J, Li L, Scott D, Choi HG, et al. Covalent guanosine mimetic inhibitors of G12C KRAS. *ACS Med Chem Lett.* 2017; 8(1):61–6. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00373>

163. Hossain M, Roayapalley PK, Sakagami H, Satoh K, Bandow K, Das U, et al. Dichloroacetyl amides of 3,5-bis(benzylidene)-4-piperidones displaying greater toxicity to neoplasms than to non-malignant cells. *Medicines (Basel).* 2022; 9(6):35. Available from: <https://doi.org/10.3390/medicines9060035>

164. Fereidoon nezhad M, Tabaei SMH, Sakhteman A, Seradj H, Faghieh Z, Faghieh Z, et al. Design, synthesis, molecular docking, biological evaluations, and QSAR studies of novel dichloroacetate analogues as anticancer agent. *J Mol Struct.* 2020; 1221(128689):128689. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128689>
165. Zare S, Ramezani Z, Ghadiri AA, Fereidoon nezhad M. Synthesis of N-(2-(tert-butylamino)-2-oxoethyl)-2,2-dichloro-N-aryl(alkyl)acetamides as anticancer agents: Molecular modeling and biological evaluations. *ChemistrySelect.* 2023; 8(1). Available from: <https://doi.org/10.1002/slct.202203931>
166. Trapella C, Voltan R, Melloni E, Tisato V, Celeghini C, Bianco S, et al. Design, synthesis, and biological characterization of novel mitochondria targeted dichloroacetate-loaded compounds with antileukemic activity. *J Med Chem.* 2016; 59(1):147–56. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01165>
167. Zhang S-L, Hu X, Zhang W, Yao H, Tam KY. Development of pyruvate dehydrogenase kinase inhibitors in medicinal chemistry with particular emphasis as anticancer agents. *Drug Discov Today.* 2015; 20(9):1112–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.03.012>
168. Abdel-Latif E, Fahad MM, El-Demerdash A, Ismail MA. Synthesis and biological evaluation of some heterocyclic scaffolds based on the multifunctional N-(4-acetylphenyl)-2-chloroacetamide. *J Heterocycl Chem.* 2020; 57(8):3071–81. Available from: <https://doi.org/10.1002/jhet.4012>
169. Zimenkovsky B, Lesyk R, Vladzimirska O, Nektegayev I, Golota S, Chorniy I. The structure - anti-inflammatory activity relationship among thiazolidones: Conclusion from scientific programme. *J Pharm Pharmacol.* 1999; 51:264.
170. Abdel-Latif E, Fahad MM, Ismail MA. Synthesis of N-aryl 2-chloroacetamides and their chemical reactivity towards various types of nucleophiles. *Synth Commun.* 2020; 50(3):289–314. Available from: <https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1692225>

171. Huang F, Han X, Xiao X, Zhou J. Covalent warheads targeting cysteine residue: The promising approach in drug development. *Molecules*. 2022; 27(22):7728. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules27227728>
172. Koltai T, Fliegel L. Dichloroacetate for cancer treatment: Some facts and many doubts. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024; 17(6):744. Available from: <https://doi.org/10.3390/ph17060744>
173. Alizadeh SR, Hashemi SM. Development and therapeutic potential of 2-aminothiazole derivatives in anticancer drug discovery. *Med Chem Res*. 2021; 30(4):771–806. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00044-020-02686-2>
174. Wan Y, Long J, Gao H, Tang Z. 2-Aminothiazole: A privileged scaffold for the discovery of anti-cancer agents. *Eur J Med Chem*. 2021; 210(112953):112953. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112953>
175. Aguiar C, Camps I. Molecular docking in drug discovery: Techniques, applications, and advancements. *ChemRxiv*. 2024. Available from: <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2024-gmhtx>
176. Boyd MR, Paull KD. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug Dev Res*. 1995; 34(2):91–109. Available from: <https://doi.org/10.1002/ddr.430340203>
177. Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res*. 1988; 48(3):589–601.
178. Shoemaker RH. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6(10):813–23. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrc1951>
179. Mishchenko M, Shtrygol' S, Lozynskyi A, Khomyak S, Novikov V, Karpenko O, et al. Evaluation of anticonvulsant activity of dual COX-2/5-LOX inhibitor darbufelon and its novel analogues. *Sci Pharm*. 2021; 89(2):22. Available from: <https://doi.org/10.3390/scipharm89020022>
180. Geronikaki A, Theophilidis G. Synthesis of 2-(aminoacetylamino)thiazole derivatives and comparison of their local anaesthetic

- activity by the method of action potential. *Eur J Med Chem.* 1992; 27(7):709–16. Available from: [https://doi.org/10.1016/0223-5234\(92\)90091-e](https://doi.org/10.1016/0223-5234(92)90091-e)
181. Ivasechko I, Yushyn I, Roszczenko P, Senkiv J, Finiuk N, Lesyk D, et al. Development of novel pyridine-thiazole hybrid molecules as potential anticancer agents. *Molecules.* 2022; 27(19):6219. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules27196219>
182. Frisch M, Trucks G, Schlegel H, Scuseria G, Robb M, Cheeseman J, et al. Gaussian 09, Revision A.02, Gaussian Inc., Wallingford CT. 2016.
183. Dennington R, Keith T, Millam J. GaussView 5.0.8, Semichem Inc., Shawnee Mission. 2016.
184. Reina M, Castañeda-Arriaga R, Perez-Gonzalez A, Guzman-Lopez EG, Tan D-X, Reiter RJ, et al. A computer-assisted systematic search for melatonin derivatives with high potential as antioxidants. *Melatonin Res.* 2018; 1(1):27–58. Available from: <https://doi.org/10.32794/mr11250003>
185. Spiegel M. Current trends in computational quantum chemistry studies on antioxidant radical scavenging activity. *J Chem Inf Model.* 2022; 62(11):2639-58. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00104>
186. Halgren TA. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *J Comput Chem.* 1996; 17(5–6):490–519. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-987x\(199604\)17:5/6<490::aid-jcc1>3.0.co;2-p](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-987x(199604)17:5/6<490::aid-jcc1>3.0.co;2-p)
187. Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *J Cheminform.* 2012; 4(1):17. Available from: <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
188. Oakley AJ, Lo Bello M, Mazzetti AP, Federici G, Parker MW. The glutathione conjugate of ethacrynic acid can bind to human pi class glutathione transferase P1-1 in two different modes. *FEBS Lett.* 1997; 419(1):32–6. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)01424-5](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)01424-5)

189. Kramer B, Rarey M, Lengauer T. Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein-ligand docking. *Proteins*. 1999; 37(2):228–41. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0134\(19991101\)37:2<228::aid-prot8>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0134(19991101)37:2<228::aid-prot8>3.0.co;2-8)
190. Yusuf D, Davis AM, Kleywegt GJ, Schmitt S. An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. *J Chem Inf Model*. 2008; 48(7):1411–22. Available from: <https://doi.org/10.1021/ci800084x>
191. Yushyn I, Holota S, Lesyk R. 2,2-Dichloro-N-[5-[2-[3-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-3,4-dihydro-2H-pyrazol-2-yl]-2-oxoethyl]sulfanyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl]acetamide. *Molbank*. 2022; 2022(1):M1328. Available from: <https://doi.org/10.3390/m1328>
192. Fu L, Shi S, Yi J, Wang N, He Y, Wu Z, et al. ADMETlab 3.0: an updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Res*. 2024; 52(1):422–31. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae236>
193. Ree N, Göller AH, Jensen JH. Automated quantum chemistry for estimating nucleophilicity and electrophilicity with applications to retrosynthesis and covalent inhibitors. *Digit Discov*. 2024; 3(2):347–54. Available from: <https://doi.org/10.1039/d3dd00224a>
194. Suresh CH, Remya GS, Anjalikrishna PK. Molecular electrostatic potential analysis: A powerful tool to interpret and predict chemical reactivity. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci*. 2022; 12(5). Available from: <https://doi.org/10.1002/wcms.1601>
195. Shin D, Jung Y. Molecular electrostatic potential as a general and versatile indicator for electronic substituent effects: statistical analysis and applications. *Phys Chem Chem Phys*. 2022; 24(42):25740–52. Available from: <https://doi.org/10.1039/d2cp03244a>
196. Yamane D, Tetsukawa R, Zenmyo N, Tabata K, Yoshida Y, Matsunaga N, et al. Expanding the chemistry of dihaloacetamides as tunable electrophiles for

reversible covalent targeting of cysteines. *J Med Chem.* 2023; 66(13):9130–46. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00737>

197. Castelli R, Bozza N, Cavazzoni A, Bonelli M, Vacondio F, Ferlenghi F, et al. Balancing reactivity and antitumor activity: heteroarylthioacetamide derivatives as potent and time-dependent inhibitors of EGFR. *Eur J Med Chem.* 2019; 162:507–24. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.029>

198. Arora A, Scholar EM. Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 315(3):971-9. Available from: <https://doi.org/10.1124/jpet.105.084145>

199. Coleman S, Linderman R, Hodgson E, Rose RL. Comparative metabolism of chloroacetamide herbicides and selected metabolites in human and rat liver microsomes. *Environ Health Perspect.* 2000; 108(12):1151–7. Available from: <https://doi.org/10.1289/ehp.001081151>

200. Bernasinska J, Duchnowicz P, Koter-Michalak M, Koceva-Chyla A. Effect of safeners on damage of human erythrocytes treated with chloroacetamide herbicides. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013; 36(2):368–77. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.04.010>

201. Jablonkai I, Dutka F. Preparative-scale synthesis and physicochemical properties of cysteine and glutathione conjugates of chloroacetamides. *J Agric Food Chem.* 1992; 40(3):506–8. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf00015a029>

202. Ma X, Zhang Y, Guan M, Zhang W, Tian H, Jiang C, et al. Genotoxicity of chloroacetamide herbicides and their metabolites in vitro and in vivo. *Int J Mol Med.* 2021; 47(6). Available from: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4936>

203. Ploemen JH, van Ommen B, Bogaards JJ, van Bladeren PJ. Ethacrynic acid and its glutathione conjugate as inhibitors of glutathione S-transferases. *Xenobiotica.* 1993; 23(8):913–23. Available from: <https://doi.org/10.3109/00498259309059418>

204. Burgess ER 4th, Mishra S, Yan X, Guo Z, Geden CJ, Miller JS, et al. Differential interactions of ethacrynic acid and diethyl maleate with glutathione S-transferases and their glutathione co-factor in the house fly. *Pestic Biochem Physiol.*

2024; 205(106170):106170. Available from:
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2024.106170>

205. Emre Erat Y, Rümeyisa Erat A, Erat M. Inhibitory effect of ascorbic acid on glutathione S-transferase from human erythrocytes. *Curr Enzym Inhib.* 2023; 19(3):188–94. Available from:
<https://doi.org/10.2174/1573408019666230530095315>

206. Hellou J, Ross NW, Moon TW. Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2012; 19(6):2007–23. Available from:
<https://doi.org/10.1007/s11356-012-0909-x>

207. Tew KD. Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. *Cancer Res.* 2016; 76(1):7–9. Available from: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-3143>

208. Mahajan S, Atkins WM. The chemistry and biology of inhibitors and pro-drugs targeted to glutathione S-transferases. *Cell Mol Life Sci.* 2005; 62(11):1221–33. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00018-005-4524-6>

209. Townsend DM, Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene.* 2003; 22(47):7369–75. Available from: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206940>

210. Gülçin İ, Scozzafava A, Supuran CT, Akıncıoğlu H, Koksall Z, Turkan F, et al. The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on metabolic enzymes including acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, glutathione S-transferase, lactoperoxidase, and carbonic anhydrase isoenzymes I, II, IX, and XII. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016; 31(6):1095–101. Available from:
<https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1094470>

211. Ozgencli I, Kilic D, Guller U, Ciftci M, Kufrevioglu OI, Budak H. A comparison of the inhibitory effects of anti-cancer drugs on Thioredoxin Reductase and glutathione S-Transferase in rat liver. *Anticancer Agents Med Chem.* 2018; 18(14):2053–61. Available from:
<https://doi.org/10.2174/1871520618666180910093335>

ДОДАТКИ
ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Федяк ІО, Гаврищук ЛМ. Дослідження фізичної та соціально-економічної доступності протипухлинних лікарських засобів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти» в Україні. Фармацевтичний часопис. 2025; (1)73:74–86. *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, підготовка статті до друку).*

2. Havryshchuk L, Horishny V, Ivasechko I, Kozak Y, Melnyk D, Khylyuk D, Kusiya M, Serhiyenko V, Finiuk N, Stoika R, Holota S, Lesyk R. Synthesis, anticancer properties evaluation and in silico studies of 2-chloro- and 2,2-dichloroacetamides bearing thiazole scaffolds. Sci Pharm Sci. 2025;(1 (53)):71–82. Available from: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.323594> *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, проведення in silico досліджень, проведення квантово-хімічних розрахунків, узагальнення результатів квантово-хімічних розрахунків та молекулярного докінгу, підготовка статті до друку).*

3. Havryshchuk LM, Melnyk DO, Khylyuk DV, Horishny VY, Lesyk RB. Docking and quantum chemical insights into the anticancer mechanisms of monochloroacetic and dichloroacetic acids derivatives. Pharmaceutical Review. 2024; (4):7–17. Available from: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2024.4.15007> *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, проведення квантово-хімічних розрахунків, узагальнення результатів квантово-хімічних розрахунків та молекулярного докінгу, підготовка статті до друку).*

4. Havryshchuk L, Horishny V, Rushchak N, Lesyk R. Dichloroacetic acid derivatives as potential anti-tumor and anti-inflammatory agents. Sci Pharm Sci. 2024; 1(47):60–78. Available from: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.299229> *(Особистий внесок автора: синтетична частина роботи,*

збір літературних джерел, узагальнення результатів огляду літератури, підготовка статті до друку).

5. Havryshchuk LM, Horishny VY, Lesyk RB. Synthesis of dichloroacetamides and study of their anti-tumor activity. Farm Zh. 2022; 77(4):42–9. Available from: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.22.05> (*Особистий внесок автора: синтетична частина роботи, узагальнення результатів фізико-хімічних досліджень, підготовка статті до друку*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Ivasechko I, Finiuk N, Kozak Y, Havryshchuk L, Horishny V, Lesyk R, Stoika R. Identification of thiazole/thiazolidinone derivatives as inhibitors of mutant calreticulin for the treatment of myeloproliferative neoplasms. In: Sibirny AA, Dmytruk KV, Stasyuk NYe, Manko NO, Barska ML, Dzanayeva LS editors. 7th congress of the All-Ukrainian public organization «Ukrainian Society of Cell Biology» with international representation: program and the book of abstracts. 2024 Sep 11-13; Lviv, Ukraine. Lviv, Ukraine; 2024. P. 26. Available from: <https://doi.org/10.30970/uscb.2024> (*особистий внесок автора: синтетична частина роботи*).

2. Гаврищук Л, Горішній В, Лесик Р. Дослідження хлоропохідних оцтової кислоти як сполук з протипухлинною активністю. XXII Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії. Матеріали конференції. 2024 травень 20-23; Дніпро, Україна. Дніпро, Україна: Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара; 2024. С. 49-51. Доступно на: https://dnu.dp.ua/docs/ndc/2024/materiali_konferenc/16.pdf (*співавтори Горішній В та Лесик Р надавали консультативну допомогу*).

3. Havryshchuk L, Horishny V, Ivasechko I, Kozak Y, Lesyk R. Mono- and dichloroacetic acid derivatives as potential anticancer agents. Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи». Матеріали конференції. 2024 May 01; Zhytomyr, Ukraine. Zhytomyr, Ukraine: Житомирський державний університет імені Івана Франка; 2024. P. 153-5.

Available from: <http://eprints.zu.edu.ua/39902/1/AZH2024.pdf> (співавтори Horishny V, Ivasechko I, Kozak Y та Lesyk R надавали консультативну допомогу).

4. Федяк ІО, Гавришук ЛМ. Маркетинговий аналіз лікарських засобів групи L01AX «Інші алкілюючі агенти». Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023»: матеріали конференції. 2023 листопад 23-24; Запоріжжя, Україна. Запоріжжя, Україна: ЗДМФУ; 2023. С. 137. Доступно на: https://drive.google.com/file/d/191-txg17gW9EQzESai_Kp5TNeHKNBtUs/view (співавторка Федяк ІО надавала консультативну допомогу).

5. Navryshchuk LM, Lesyk RB, Fediak IO. The experience of obtaining PhD degree by Ukrainian researchers as a step to harmonization with the education system of the European union. В: Рожко ММ, Ерстенюк ГМ, Вакалюк ІП, Дмитришин Т, Деніна Р, Кондрат Л, ред. «Розвиток кращих практик в підготовці докторів філософії»: матеріали ІІ наукової-практичної конференції з міжнародною участю. 2023 квітень 28; Івано-Франківськ, Україна. Івано-Франківськ, Україна: ІФНМУ; 2023. С. 13-4. Доступно на: <https://surli.cc/ltgxvt> (співавтори Lesyk RB та Fediak IO надавали консультативну допомогу).