МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Карпенко Юрій Вікторович

УДК 615.28:54.057:547.792:547.793.4:547.853

ДИЗАЙН, СИНТЕЗ S-ПОХІДНИХ ((1,2,4-ТРИАЗОЛ(1,3,4-ОКСАДІАЗОЛ)-3(2)-ІЛ)МЕТИЛ)ТІОПІРИМІДИНІВ ПЕРСПЕКТИВНИХ ХІМІОТЕРАПЕВТИЧНИХ ЗАСОБІВ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

РЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2026

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Обґрунтування вибору теми дослідження зумовлене потребою в цілеспрямованому пошуку нових біологічно активних молекул із керованими фізико-хімічними характеристиками та можливістю структурної оптимізації вже на ранніх етапах розробки. У межах сучасної фармацевтичної хімії саме гібридні гетероциклічні системи розглядаються як один із найбільш перспективних підходів, оскільки гетероциклічні фрагменти суттєво визначають афінність і селективність до біологічних мішеней, а також впливають на розчинність, проникність і метаболічну стабільність потенційних активних фармацевтичних інгредієнтів.

Вибір похідних 1,2,4-триазолу як базової платформи обґрунтований тим, що триазольне ядро характеризується високою реакційною здатністю та широкими можливостями функціоналізації, що створює умови для тонкого налаштування як біологічних властивостей, так і фармакокінетичних параметрів. Додатково включення фрагмента 1,3,4-оксадіазолу є доцільним, оскільки оксадіазольне кільце розглядається як біоізостерний та структурно-модулюючий елемент, здатний підвищувати метаболічну стабільність, модулювати ліпофільність та покращувати «лікоподібність» молекул, а також оптимізувати просторову організацію і розподіл електронної густини, важливі для взаємодії з біомішенями. Таким чином, поєднання фрагментів 1,2,4-триазолу та 1,3,4-оксадіазолу в одній молекулі відповідає концепції «комбінованого фармакофору» і створює підґрунтя для отримання серій сполук із прогнозованими тенденціями зміни властивостей.

Окремо вагомим є вибір тіопіримідинових систем та фокус на S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів, оскільки наявність тіофункції забезпечує реакційноздатний центр для цілеспрямованої хімічної модифікації через S-алкілування та/або S-ацилювання. Це дає можливість керовано змінювати ліпофільність, проникність, ступінь іонізації та загальний ADME-профіль без руйнування базового гетероциклічного каркаса, тобто здійснювати раціональну оптимізацію сполук-кандидатів у межах структурно споріднених рядів. Зазначена стратегія є досить ефективною з огляду можливості синтезу комбінаторних бібліотек азагетероциклів для подальшого скринінгу їх біологічної дії.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету (нині – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет) і є складовою виконання теми «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 3,4-дизаміщених 3(5)-тіо-1,2,4-триазолу з антиоксидантною, антигіпоксичною, антимікробною, кардіо- та гепатопротекторною дією» (№ держреєстрації 0118U007143), держбюджетних НДР «Синтез, модифікація та дослідження властивостей похідних 1,2,4-триазолу з метою створення антимікробного лікарського засобу» (№ держреєстрації 0120U101649) та «Створення похідних 1,2,4-триазолу з поліфармакологічною активністю для потреб військової медицини та постраждалих від бойових дій» (№ держреєстрації 0126U001480). Окремі розділи дослідження виконані в руслі комплексної НДР «Синтез та вивчення фізико-хімічних та біологічних властивостей речовин в ряду азагетероциклів.

Створення та стандартизація оригінальних та комбінованих лікарських препаратів на основі похідних азагетероциклів. Розробка та валідація нових методик аналізу лікарських засобів» (№ держреєстрації 0123U103937, 2023-2028), у межах якої автор брав участь у плануванні та виконанні експериментальних і аналітичних етапів, дотичних до синтезу, структурної верифікації та первинного біологічного скринінгу нових похідних азагетероциклів. Крім того, виконання частини робіт було підтримано грантом Президента України для молодих учених (2025 р., реєстраційний номер 2025.05/0022), що забезпечило розширення обсягу досліджень і поглиблення експериментально-обчислювального підходу до відбору перспективних структур.

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є розробка наукових засад раціонального дизайну, синтезу та комплексного фармако-токсикологічного і фармако-технологічного дослідження S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів для обґрунтування їх широкого, в тому числі хіміотерапевтичного, потенціалу, встановлення закономірностей «структура – властивість – біологічна дія» та формування доказової бази для подальшого фармацевтичного розвитку на шляху створення потенційного оригінального лікарського засобу.

Для досягнення поставленої мети було визначено такі завдання:

1. Провести комп’ютерно-орієнтований дизайн S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів, здійснити їх віртуальний скринінг, прогноз біологічної спрямованості, ADME/Tox-характеристик і пріоритизацію структур для подальшого синтезу.
2. Розробити препаративні методи синтезу нових гібридних S-похідних 1,2,4-триазолу та 1,3,4-оксадіазолу з піримідиновими й оротовмісними фрагментами та одержати серію нових сполук для експериментального дослідження.
3. Встановити будову, індивідуальність і чистоту синтезованих сполук із застосуванням сучасних фізико-хімічних методів аналізу та дослідити особливості їх таутомерних перетворень, кислотно-основних властивостей, енергетичного профілю, сольватації та ступеня іонізації.
4. Визначити широкий, у тому числі хіміотерапевтичний, потенціал синтезованих похідних шляхом дослідження їх антимікробної та протигрибкової активності. Провести комплексне дослідження біологічної активності синтезованих сполук, зокрема антирадикальної, аналгетичної, протизапальної, антигіпоксичної, ерготропної та антихолінестеразної дії, і відібрати найбільш активні представники ряду для подальшого планування поглиблених доклінічних випробувань.
5. Встановити закономірності зв’язку між структурою, фізико-хімічними характеристиками та біологічною активністю синтезованих S-похідних і визначити найбільш перспективні напрями подальшої структурної оптимізації.
6. Провести токсикологічний скринінг синтезованих сполук на моделі *Danio rerio* відповідно до сучасних підходів OECD, визначити показники гострої токсичності та обґрунтувати критерії ранньої пріоритизації кандидатів за профілем безпечності. Розробити та впровадити цифрову платформу для супроводу експериментальних досліджень на *Danio rerio*.
7. На підставі сукупності результатів досліджень *in silico*, синтетичних, фізико-хімічних, біологічних (у тому числі *in vitro* та *in vivo*) і токсикологічних

параметрів виділити активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) («сполуку-лідер») та обґрунтувати його перспективність для подальшого поглибленого доклінічного вивчення.

8. Для оцінки біодоступності та перспективності подальшої розробки потенційного оригінального лікарського засобу провести фармакокінетичне дослідження активного фармацевтичного інгредієнту та перспективної лікарської форми на її основі та визначити ключові параметри (C_{max}, T_{max}, AUC, $t_{1/2}$).

9. Провести первинну стандартизацію перспективної субстанції та лікарської форми, з урахуванням аналізу можливих домішок.

10. Розробити склад і технологію лікарської форми на основі найбільш перспективного АФІ, провести її та фармако-технологічне обґрунтування і, відповідно до чинних вимог МОЗ України, підготувати пакет документів для подальшого впровадження перспективного оригінального лікарського засобу.

Об'єкт дослідження: процес раціонального створення та оцінки похідних 1,2,4-триазолу як потенційних біологічно активних речовин із застосуванням *in silico*-підходів, синтезу, біологічного тестування та елементів фармацевтичної розробки/фармакокінетики.

Предмет дослідження: синтезовані похідні 1,2,4-триазолу, їхні фізико-хімічні характеристики, показники біологічної активності (антимікробна, протигрибкова, протиракова, DPPH, AChE, аналгетична), моделі *Danio rerio*, а також таблетки на основі обраної активної речовини та їхні фармакокінетичні параметри.

Методи дослідження. Комплекс досліджень виконано із поєднанням *in silico*, синтетичних, фізико-хімічних, фармакологічних, фармако-технологічних та біоаналітичних підходів. Комп'ютерний етап включав стандартизацію та 3D-побудову структур (RDKit), квантово-хімічні розрахунки та оптимізацію геометрії (ORCA), молекулярний докінг (smina), а також оцінку «лікоподібності» й ADME-профілів (зокрема за підходами SwissADME) для первинного відбору та інтерпретації результатів.

Синтетичну частину реалізовано класичними методами органічного синтезу (S-алкілування/нуклеофільне заміщення, естерифікація, гідразиноліз, одержання амідів, відновлення, циклізації) з хроматографічним контролем перебігу реакцій і чистоти. Будову та індивідуальність сполук підтверджували $^{1}H/^{13}C$ ЯМР-спектроскопією, елементним аналізом і визначенням температур плавлення. Біологічні дослідження включали *in vitro* оцінку антиоксидантної активності (DPPH) та інгібування ацетилхолінестерази (метод Елмана), а також дослідження поведінкових і стрес-асоційованих реакцій у моделі *Danio rerio* за умов контрольованого потоку. Фармако-технологічні роботи зі створення таблетованої форми проводили методом вологої грануляції з багатофакторним плануванням і оцінкою показників якості таблеток; фармакокінетику та біоаналіз виконували на щурах Вістар із визначенням концентрацій методом ВЕРХ-МС та розрахунком параметрів компартментним аналізом. Статистичну обробку даних здійснювали стандартними методами математичної статистики з використанням відповідних критеріїв достовірності.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вперше науково обґрунтовано комплексний підхід до дизайну, синтезу, фізико-хімічного,

біологічного, токсикологічного та фармако-технологічного дослідження S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіо-піримідинів як перспективного класу біологічно активних сполук. На відміну від фрагментарних підходів, у роботі реалізовано єдину логіку переходу від комп'ютерного прогнозування і молекулярного дизайну до експериментального синтезу, встановлення структури, дослідження фізико-хімічних характеристик, оцінки біологічної активності, токсичності, фармакокінетики та фармацевтичної розробки «сполуки-лідера». Це дозволило не лише розширити наукові уявлення про властивості похідних цього типу, а й сформувати цілісну систему їх раціональної пріоритизації для подальшого доклінічного дослідження.

Вперше для зазначених класів сполук сформовано й реалізовано комп'ютерно-орієнтовану стратегію відбору перспективних структур, яка поєднує віртуальний скринінг, прогноз біологічної спрямованості, оцінку ADME/Tox-характеристик і багатокритеріальний Go/No-Go-підхід.

Вперше здійснено системний синтез 186 нових тіопіримідиновмісних похідних 1,2,4-триазолу та 1,3,4-оксадіазолу, що охоплює дві структурно самостійні серії: похідні 2-тіопіримідину та похідні піримідин-2,4-діону. Для серії 2-тіопіримідину одержано нові 4-R-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіоли та їхні функціоналізовані S-похідні, а для серії піримідин-2,4-діону — нові 5-(((1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил)піримідин-2,4-діони, 5-(((1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)метил) піримідин-2,4-діони та продукти їх подальшої S-модифікації, включаючи S-алкілпохідні, S-карбоксиалкільні похідні, естери, карбонові кислоти, солі та аміди. Ключовими синтетичними інструментами стали реакції циклоконденсації, селективного S-алкілування, S-ацілювання, гідролізу естерів, солеутворення та амідоутворення, що забезпечило спрямоване конструювання молекул із керовано змінюваними структурними та фізико-хімічними параметрами. У результаті вперше суттєво розширено хімічний простір 2-тіопіримідинових і піримідин-2,4-діонових тіометилензв'язаних гібридів 1,2,4-триазолу та 1,3,4-оксадіазолу, що створило хімічне підґрунтя для цілеспрямованого пошуку нових біологічно активних сполук.

Вперше для широкої серії синтезованих похідних комплексом сучасних фізико-хімічних методів не лише підтверджено будову, індивідуальність і чистоту сполук, а й поглиблено уявлення про особливості їхнього структурного стану в розчині. Зокрема, вперше на основі 2D ЯМР-аналізу встановлено особливості таутомерних перетворень у синтезованих S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів, що дозволило уточнити форму існування молекул у розчині та коректно інтерпретувати зв'язок між будовою, реакційною здатністю і біологічними властивостями.

Вперше для великої серії досліджуваних похідних встановлено полівекторний спектр біологічної активності, що включає антимікробну, протигрибкову, антирадикальну, аналгетичну, протизапальну, антигіпоксичну, ерготропну та антихолінестеразну дію. Окремим новим напрямом роботи стало те, що вперше сформовано токсикологічну базу для серії синтезованих сполук на моделі *Danio rerio* з урахуванням сучасних підходів OECD. Це дозволило не лише визначити показники гострої токсичності для значного масиву речовин, а й обґрунтувати доцільність використання *Danio rerio* як чутливої, інформативної та технологічно зручної моделі

для раннього токсиколого-фармакологічного скринінгу похідних 1,2,4-триазолу. Істотною складовою наукової новизни є те, що вперше розроблено та впроваджено цифрову платформу ZacFish для автоматизованого супроводу експериментів на *Danio rerio*. Платформа забезпечує збір відео- й сенсорних даних, інтеграцію з базою даних, автоматизований розрахунок LC_{50}, візуалізацію результатів і формування стандартизованих двомовних звітів. Таким чином, вперше в межах цього напряму досліджень створено цілісне цифрове середовище, яке поєднує біологічний експеримент, токсикологічний аналіз, математичну обробку даних і документування результатів, що має не лише наукове, а й методологічне значення.

Завершальним і практично значущим новим результатом є те, що вперше на основі сукупності *in silico*-, синтетичних, фізико-хімічних, фармакологічних, токсикологічних, фармакокінетичних і фармако-технологічних даних обґрунтовано виділення «сполуки-лідера» **2.75** – «Тіопірин». Вперше для цієї сполуки встановлено поєднання вираженої антирадикальної, аналгетичної, протизапальної та селективної антициклооксигеназної активності, прийнятного профілю безпечності і сприятливих фармакокінетичних характеристик. Вперше для субстанції «Тіопірину» розроблено методи контролю якості відповідно до вимог ДФУ та ICH Q2(R2), а також запропоновано відтворювану технологію одержання таблеток методом вологої грануляції з обґрунтованими допоміжними речовинами і критичними параметрами процесу.

Наукова новизна одержаних результатів підтверджується поданням заявки на патент України на винахід № а 2026 00366.

Практичне значення отриманих результатів. Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що в межах дисертації сформовано відтворюваний прикладний «ланцюг» для подальших медико-хімічних розробок: раціональний дизайн → лабораторний синтез бібліотеки → фізико-хімічна ідентифікація → біологічне тестування → перехід до фармацевтичної розробки та фармакокінетики. Опрацьовані підходи до одержання серій S-алкільних похідних меркаптогетероциклів на основі 1,2,4-триазольного ядра та споріднених систем можуть бути використані як методичний інструментарій для спрямованого конструювання молекул із керованими фізико-хімічними властивостями. Важливим практичним виходом є те, що синтетичні рішення доповнено аналітичними «якорями» ідентифікації (характерні $[M+H]^+$-іони, типовий профіль фрагментації, ізотопні сигнатури), що спрощує контроль структури та чистоти при повторенні синтезу і можливому масштабуванні. У процесі виконання роботи синтезовано 190 сполук (186 – уперше), і на основі зіставлення структурно підтвердженої бібліотеки з результатами біотестування обґрунтовано напрямки «лідер-оптимізації» та ідентифіковано найбільш перспективні зразки (зокрема за показниками антирадикальної активності DPPH, інгібування ацетилхолінестерази та за профілем токсичності/функціональних ефектів у моделі *Danio rerio*). Суттєве практичне значення має виконаний етап фармацевтичної розробки твердої лікарської форми, де систематизовано технологічні стадії виробництва таблеток (одержання грануляту, сушіння, грануляція/опудрювання, таблетування, знепилення, фасування у блістери та пакування) з контролем критичних параметрів процесу і напівпродукту, що може слугувати прототипом при переході від лабораторного до дослідно-виробничого

рівня. Також розроблено біоаналітичний підхід і фармакокінетичне профілювання модельної сполуки (ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату): описано умови ВЕРХ-МС/LC-MS на обладнанні Agilent, пробопідготовку плазми та критерії калібрування/лінійності, що забезпечує відтворюваний протокол кількісного визначення в біоматриці для подальших доклінічних досліджень.

Результати синтезу, а також досліджень біологічної та фармакологічної дії впроваджено в науково-педагогічний процес ряду закладів вищої освіти України.

Розроблено і затверджено нормативно-технічну документацію на ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат (МКЯ, дослідно-виробничий технічний регламент), яку передано ТОВ «БРОВАФАРМА» для подальших доклінічних випробувань і включено до перспективного плану розвитку підприємства.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею, у якій узагальнено та систематизовано результати власних досліджень здобувача за період виконання дисертаційної тематики. Особисто здобувачем визначено мету та основні завдання дослідження, сформовано логіку й етапність роботи, обґрунтовано вибір об’єктів і методичних підходів, здійснено планування експериментів та забезпечено виконання основного обсягу наукових досліджень. Здобувачем проведено статистичну обробку, узагальнення й інтерпретацію отриманих результатів, сформульовано основні положення, висновки та практичні рекомендації, що виносяться на захист, а також підготовлено рукопис дисертації та матеріали, необхідні для апробації результатів.

Особистий внесок здобувача полягає у виконанні ключових етапів дослідження, зокрема в розробці й реалізації комп’ютерно-орієнтованого відбору та пріоритизації сполук (формування бібліотеки структур, планування in silico-скринінгу, узгодження критеріїв «Go/No-Go», інтерпретація результатів докінгу/ADME-оцінок та формування переліку пріоритетних кандидатів), а також у цифровому супроводі експериментів у межах платформи ZacFish (проєктування структури бази даних, логіки збереження серій і результатів, модулів обробки даних та формування звітів), що забезпечило стандартизацію та відтворюваність досліджень на моделі *Danio rerio*. У синтетичній і аналітичній частинах здобувачем виконано основний обсяг лабораторних робіт (постановка реакцій, оптимізація умов, одержання сполук, контроль перебігу реакцій і чистоти продуктів), систематизовано та інтерпретовано результати ЯМР- і хромато-мас-спектрометричних досліджень та сформовано висновки щодо підтвердження будови, індивідуальності й чистоти синтезованих речовин. У біологічному, технологічному та фармакокінетичному блоках здобувачем організовано й виконано експерименти на *Danio rerio* (включно з розрахунками LC_{50}), здійснено обробку та статистичний аналіз даних, підготовлено підсумкові таблиці й графічні матеріали для дисертації.

Окремі фрагменти досліджень, що потребували спеціалізованого обладнання або профільних методик, виконувалися у співпраці з відповідними науковцями та лабораторіями. Внесок співвиконавців полягав у проведенні окремих видів аналізу, консультативному супроводі методик і участі в обговоренні результатів, тоді як постановка наукових завдань, інтеграція одержаних даних у єдину концепцію, їх

інтерпретація, узагальнення та формулювання висновків здійснювалися здобувачем особисто. Дослідження фізико-хімічних властивостей сполук і їх біологічної дії проводилися спільно з науковцями кафедри аналітичної хімії ЗДМФУ (проф. Васюк С. О.), кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії ЗДМФУ (проф. Кучеренко Л. І.), кафедри мікробіології, вірусології та імунології ЗДМФУ (доц. Поліщук Н. М.), кафедри епізоотології та інфекційних хвороб тварин ДДАЕУ (доц. Зажарський В. В.) та кафедри хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету (проф. Киричко Б. П.). ^{1}H- та ^{13}C-ЯМР-спектроскопію виконано на базі НТК «Інститут монокристалів» НАН України за участю проф. Чебанова В. А. та С. М. Десенка. Співавторами публікацій є науковці, разом з якими виконувалися окремі етапи роботи; внесок здобувача у спільні праці полягав у виконанні основної частини експериментів, аналізі результатів, підготовці текстів рукописів, ілюстративного матеріалу та формуванні висновків.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи апробовано на таких наукових форумах: VI Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 16–17 жовтня 2020 р.); Всеукраїнська конференція наукових дослідників (Львів, 19–25 вересня 2021 р.); «Запорізький фармацевтичний форум – 2021» (Запоріжжя, 25–26 листопада 2021 р.); Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (Житомир, 1 травня 2024 р.); XI Міжнародна науково-практична конференція «Концептуальні шляхи розвитку науки та освіти» (Львів, 9–10 травня 2024 р.); XXVI Українська конференція з органічної та біоорганічної хімії (Ужгород, 16–20 вересня 2024 р.); «Development of the healthcare sector in Ukraine: the path towards the European Union» (2024 р.); The 3rd International Electronic Conference on Biomedicines (Online, 12–15 May 2025); «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (Житомир, 9 квітня 2025 р.); «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2025» (Запоріжжя, 15–16 травня 2025 р.); ACS Fall 2025 (Washington, DC, August 17–21, 2025); конференція «Органічна, медична та фармацевтична хімія (CYS2025)» (Харків, 7–10 жовтня 2025 р.); KyivLvivPharma-2025 (Київ, 20–21 листопада 2025 р.); «Запорізький фармацевтичний форум – 2025» (Запоріжжя, 20–21 листопада 2025 р.); The 1st International Electronic Conference on Medicinal Chemistry and Pharmaceutics (Online, 1–30 November 2025). Представлення результатів на зазначених заходах забезпечило їх фахову експертну оцінку, порівняння з сучасними тенденціями медико-хімічних досліджень і уточнення прикладних акцентів подальшої розробки найбільш перспективних структур.

Апробацію дисертаційної роботи проведено на фаховому семінарі професорсько-викладацького складу кафедр Запорізького державного медико-фармацевтичного університету 12 лютого 2026 року.

Публікації. Основні наукові положення, висновки та практичні результати дисертаційної роботи достатньою мірою відображені у публікаціях здобувача та оприлюднені у вітчизняних фахових і міжнародних наукових виданнях, що забезпечило їх відкритість для професійної спільноти, можливість незалежної експертної оцінки та належну апробацію. За матеріалами дисертації опубліковано 38 робіт, з яких 21 стаття (з них 8 – у виданнях, проіндексованих у Scopus/Web of

Science із розподілом за квартилями: Q1 – 1, Q2 – 1, Q3 – 5, Q4 – 1), 2 монографії та 15 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 468 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, шести розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних джерел та 10 додатків. Обсяг основного тексту – 278 сторінок. Робота проілюстрована 32 таблицями, 105 рисунками. Бібліографія включає 447 джерел літератури, з яких 387 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Піримідинові системи та гібридні S-вмісні похідні 1,2,4-триазолу і 1,3,4-оксадіазолу як перспективні хіміотерапевтичні агенти (огляд літератури)

Піримідинові системи розглянуті як зручна платформа для медичної хімії завдяки поєднанню електронної керованості (вплив двох атомів N на реакційну здатність позицій кільця) та вираженої прототропної таутомерії, що визначає напрям функціоналізації (N- vs O/S-центри), утворення солей і домінуючу форму в різних середовищах. У фокусі огляду – дві ключові групи піримідинів: піримідин-2,4-діони (урацильні/оротові типи) та піримідин-2-тіони/2-меркаптопіримідини, як структурні «вузли», здатні поєднувати полярність із реакційною придатністю для подальшого конструювання гібридів. Це створює теоретичне підґрунтя для цілеспрямованих модифікацій без втрати базового фармакофорного каркаса. Азольні фрагменти 1,2,4-триазолу та 1,3,4-оксадіазолу є результативними фармакофорами, а їх поєднання з піримідиновим ядром у межах гібридних молекул останніми роками активно розвивається як шлях до покращення фізико-хімічних параметрів і появи нових профілів біологічної дії. Окремо підкреслено, що S-похідні (алкільні, арильні, маніхові, сульфонільні тощо) на основі тіольних/тіонових ядер істотно розширюють «хімічний простір» для пошуку БАР, а сама гібридизація «піримідин + азол» є перспективною через концепцію комбінованого фармакофору.

Крім того, попри наявність значного масиву робіт щодо азольних фармакофорів і їх S-модифікацій, у літературі простежується фрагментарність і недостатня системність даних саме стосовно гібридних S-вмісних похідних, у яких поєднані фрагменти 1,2,4-триазолу/1,3,4-оксадіазолу та піримідину, з акцентом на керовану зміну властивостей через S-функціоналізацію та узгодження цього підходу з вибором біомішеней. Саме систематизація й узагальнення наведених літературних відомостей щодо піримідинових систем, азольних фармакофорів, синтетичних стратегій їх гібридизації, ролі S-алкілування та актуальних ферментних мішеней хіміотерапевтичної дії сформували мету та завдання дисертаційного дослідження і визначили його логіку.

Комп’ютерний дизайн, *in silico*-прогноз та цифрова платформа Zacfish для біологічних досліджень на *Danio Rerio*

У розділі обґрунтовано та реалізовано сучасну концепцію раціонального дизайну нових гібридних похідних (DKP-серія) з використанням інтегрованого *in silico*-конвеєра, що поєднує хемінформатику, квантово-хімічні розрахунки, молекулярний докінг і молекулярну динаміку. Показано, що такий підхід дозволяє перейти від емпіричного «синтез-випробування» до моделі design → predict → test, зменшуючи обсяг трудомістких експериментів і підвищуючи обґрунтованість відбору кандидатів для біологічних досліджень.

Сформовано уніфікований регламент підготовки структур і автоматизований робочий процес RDKit/ORCA/smina/OpenMM, у якому: 1) у RDKit виконують

канонізацію SMILES, генерацію 3D-конформерів та контроль геометрії; 2) в ORCA здійснюють оптимізацію геометрії та отримують електронні/термодинамічні дескриптори (в т.ч. HOMO/LUMO, дипольний момент, характеристики переносу заряду та параметри антиоксидантних механізмів); 3) у smina проводять пакетний докінг до ключових біомішеней (з прикладами COX-2, 5-LOX, AChE, α-глюкозидаза тощо) з подальшим відбором найкращих поз; 4) в OpenMM перевіряють стабільність комплексів у водному середовищі (RMSD, водневі зв'язки, енергетичні метрики), що підсилює достовірність докінгових висновків. Важливо, що весь цикл супроводжується логуванням, стандартизованими форматами даних і механізмами «інтелектуального відновлення» розрахунків після збоїв.

Для оптимізації хімічного простору сформовано віртуальну бібліотеку 2031 структури, після первинного контролю коректності та відсіву аномалій сформовано робочу вибірку 191 сполука для поглибленої оцінки. На цій вибірці проведено стандартизовану фільтрацію «придатності» (drug-/lead-likeness) за SwissADME з аналізом ключових дескрипторів (MW, logP, TPSA, HBD/HBA, RB) та структурних ризиків. Показано, що 98,0% сполук відповідають правилу Ліпінського, при цьому відсутні PAINS-мотиви (0/191), а Brenk-попередження мають точковий характер і розглядаються як маркери для адресної структурної оптимізації. Окреслено «зони ризику» бібліотеки (надмірна ліпофільність/гнучкість або надлишкова полярність), що важливо для керованої модифікації серій і підвищення прогнозованої біодоступності.

Окремий блок присвячено прогнозуванню біоактивності та формуванню гіпотез щодо терапевтичних напрямів і молекулярних мішеней. Для 292 сполук отримано 30 975 прогнозних записів, а за порогом високої впевненості $P \geq 0{,}85$ виділено 2189 прогнозів. Агрегований профіль показань концентрується навколо онкологічних, автоімунних/нейроімунних та серцево-судинних напрямів; серед домінантних мішеней описано, зокрема, CXCR4, аденозинові рецептори (A2B), ДНК-топоізомеразу I, катепсин D, MetAP2, VEGFR2, а також мішені ліпідного обміну (ACAT/Soat) та PXR, що в цілому вказує на потенціал мультицільової (polypharmacology) дії й доцільність подальшої експериментальної верифікації.

Для практичного відбору кандидатів реалізовано багатокритеріальну систему Go/No-Go-скорингу на основі нормалізованих ADME-параметрів, токсикологічних прогнозів, енергій докінгу та синтетичної досяжності (SAScore) із заданими вагами критеріїв і порогами прийняття рішення (Go при $IS \geq 0{,}70$). За результатами інтегральної оцінки виділено групу пріоритетних сполук DKP98(**3.29**), DKP107(**3.38**), DKP144(**3.64**), DKP147(**3.79**), DKP149(**3.87**) із найвищими індексами придатності ($IS > 0{,}75$) та сприятливим балансом фізико-хімічних параметрів, прогнозованої безпечності й афінності до біомішеней.

Завершальна частина розділу описує створення та роль цифрової платформи ZacFish як інтегрованого програмно-апаратного середовища для досліджень на *Danio rerio*, що забезпечує повний цикл роботи: керування експериментом, збір сенсорних і відеоданих, збереження результатів у реляційній базі, розрахунок LC_{50} (пробіт-аналіз і 4PL-модель), модулі Hypoxia/Swimming, автоматизовану реєстрацію подій і формування стандартизованих двомовних PDF-звітів. Платформа сумісна з відкритими апаратними рішеннями (Arduino/ESP32-CAM), підтримує автоматичне

виявлення пристроїв у мережі та орієнтована на відтворюваність і стандартизацію біологічних досліджень. Узагальнення наведених відомостей і виявлених прогалин сформували методичну основу та визначили мету й завдання дисертаційного дослідження, спрямованого на створення керованого ланцюга *«in silico*-пріоритизація → експериментальна верифікація → цифрова стандартизація результатів».

Синтез, циклізація та таутомерія досліджуваних сполук: узгодження спектроскопії (ЯМР/УФ) і DFT-моделювання

Важливим аспектом функціоналізації та хімічної модифікації, при поєднанні двох гетероциклів, є пошук похідних по третьому положенню 1,2,4-триазольного і другому положенню 1,3,4-оксадіазольного фрагменту, що надає необмежені можливості в синтезі біологічно активних речовин. Цей етап роботи присвячено експериментально-розрахунковому обґрунтуванню синтетичних підходів до цільових похідних 1,2,4-триазолу/1,3,4-оксадіазолу з піримідиновим та оротовим фрагментами, а також аналізу прототропної таутомерії таких систем як чинника, що визначає їх електронну будову та реакційну здатність.

Ключовими «вихідними» сполуками для подальших конденсаційно-циклізаційних перетворень слугували ацилгідразиди, отримані зі структурно релевантних естерів. Для піримідинового напряму вихідною попередньою сполукою є етиловий естер 2-(піримідин-2-ілтіо)оцтової кислоти, який одержують реакцією S-алкілування 2-меркаптопіримідину (або 2-тіоуроцилів) етилхлороацетатом у спиртово-лужному середовищі ($EtOH/H_2O$, KOH, KI; кип’ятіння 4–6 год; подальше виділення й очищення). Наступним етапом є гідразиноліз естеру з утворенням гідразиду 2.1, практично зручний за кімнатної температури або при легкому підігріві в етанолі з надлишком гідразингідрату (типово ~3-кратний надлишок 85% $N_2H_4 \cdot H_2O$; витримування ~4 год; перекристалізація), з одержанням цільового гідразиду у виходах порядку ~67%. Для оротового напряму вихідний гідразид **3.1** доцільно одержувати через попередню естерифікацію оротової кислоти (з огляду на її низьку розчинність у типових органічних розчинниках), з подальшим гідразинолізом естеру при кип’ятінні з гідразингідратом в етанолі (типові виходи також ~67%). Такий вибір підходу забезпечує технологічно відтворюваний шлях до функціональних попередників, придатних для спрямованого формування 1,2,4-триазольних систем у наступних етапах (рис. 1).

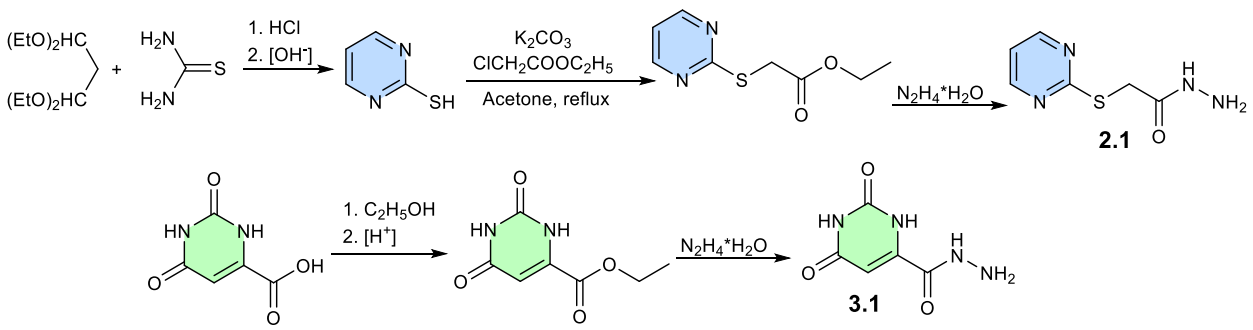

Рис. 1. Синтез вихідних гідразидів піримідинового та оротового ряду

DFT-блок розділу використано як інструмент раціоналізації умов гетероциклізацій і пояснення впливу замісників та реагентів на перебіг циклізації. На рівні узагальнення показано, що для розглянутих перетворень за 298 K істотну роль відіграють чинники, які роблять реакції термодинамічно несприятливими, тому підвищення температури є критично важливою передумовою їх практичної реалізації (рис. 2).

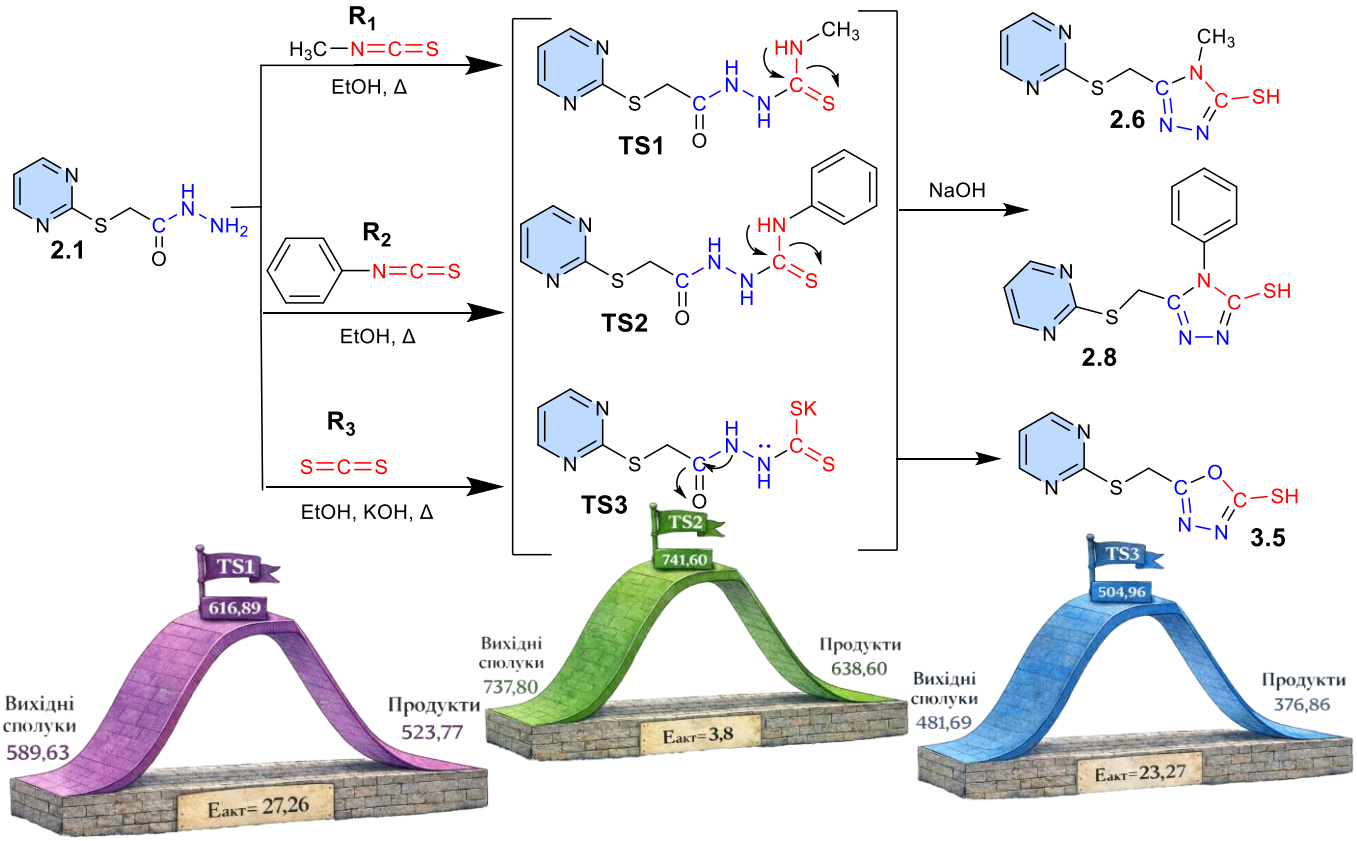

Рис. 2. Механізми [3+2] гетероциклізації 1,2,4-триазолу і [4+1] гетероциклізації 1,3,4-оксадіазолу

Водночас для [3+2]-синтезу 1,2,4-триазолів вирішальною є не лише термодинаміка, а й кінетика: у розрахункових оцінках фенілізотіоціанат демонструє нижчий бар'єр циклізації порівняно з метилізотіоціанатом, що узгоджується з можливістю перебігу процесу в м'якших умовах та дозволяє коректно обґрунтовувати вибір реагентів. Для [4+1]-синтезу 1,3,4-оксадіазолу підкреслено необхідність нагрівання та показано, що ключовим етапом залишається внутрішньомолекулярне замикання кільця, тоді як завершальна ароматизація додатково стабілізує продукт. Сукупно ці дані формують підґрунтя для оптимізації умов та є обґрунтованими з позицій енергетики процесу.

Експериментально функціональні гідразиди карбонових кислот є універсальними попередниками для побудови азотовмісних гетероциклів – зокрема 1,2,4-триазолів і 1,3,4-оксадіазолів – завдяки наявності двох донорних атомів азоту й здатності формувати реакційноздатні проміжні продукти, які далі циклізуються з утворенням ароматичних систем. Гетероцикли поєднують термодинамічну стабільність, ароматичний характер і здатність до участі в Н-зв'язуванні, що робить

їх релевантними для медико-хімічного дизайну та подальших SAR-узагальнень (рис. 3).

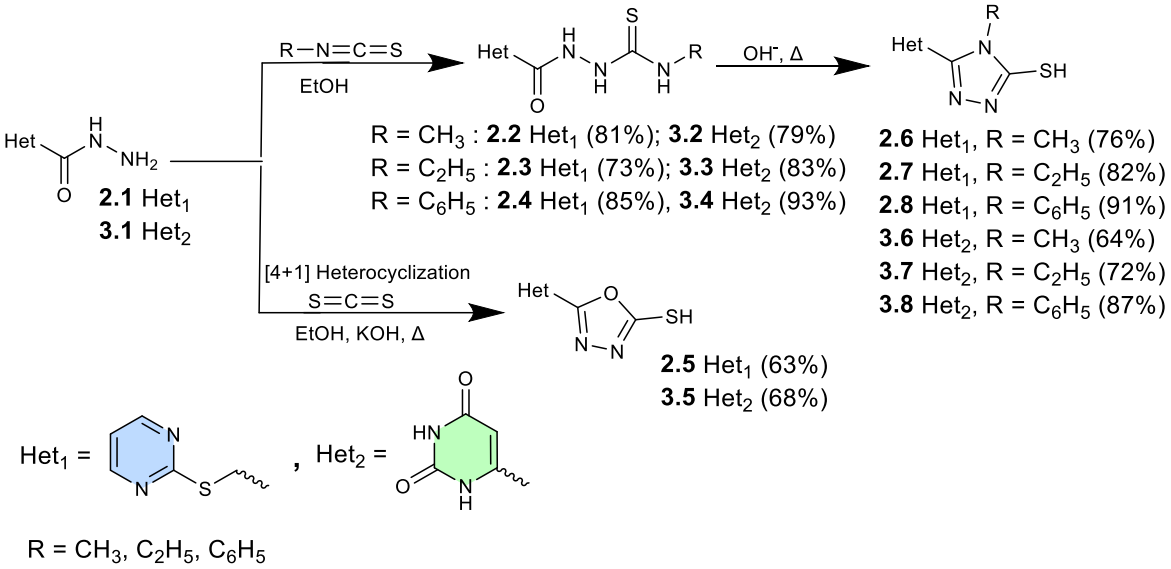

Рис. 3. Синтез вихідних гідразидів піримідинового та оротового ряду

Важливо, що утворення стабільної 1,2,4-триазольної системи підтверджено даними спектроскопії: зокрема, за результатами ^{13}C ЯМР спостерігаються характерні зміщення сигналів карбонів гетероциклічного ядра у слабке поле, наявність сигналів типу C=O та C=N і збереження аліфатичних фрагментів без ознак побічних перетворень, що у сукупності є переконливими доказами структурної перебудови гідразидного фрагмента в замкнену гетероциклічну форму.

Окремий змістовий акцент – таутомерія як фундаментальний фактор, що визначає електронну структуру, кислотно-основні властивості, донорно-акцепторний профіль та сценарії Н-зв'язування у потенційних біологічних середовищах. Для гетероциклічних систем, що містять карбонільні/тіокарбонільні фрагменти та лабільні протони, таутомерні рівноваги мають принципове значення, оскільки визначають реальний «робочий» стан молекули у розчині. Таутомерні перетворення наведено й обґрунтовано окремо для сполук **3.7** та **3.8**, оскільки вони демонструють різні за природою та «глибиною» прояви прототропної рівноваги й потребують різних акцентів при інтерпретації експериментальних та квантово-хімічних даних.

Для сполуки 3.7 встановлено наявність прототропної рівноваги, яка описується як поєднання лактам–лактимної перебудови у фрагменті з карбонільними групами та тіон–тіольної взаємоконверсії в S-вмісному гетероциклічному (триазольному) фрагменті. Зміна положення протона супроводжується перебудовою кратних зв'язків, а також формуванням/перерозподілом внутрішньомолекулярних водневих зв'язків, що є важливою причиною «фіксації» певної конформації та додаткової стабілізації одного з таутомерів у полярних розчинниках, що в подальшому узгоджується і з ЯМР-ознаками, і з результатами DFT-оцінки (рис. 4).

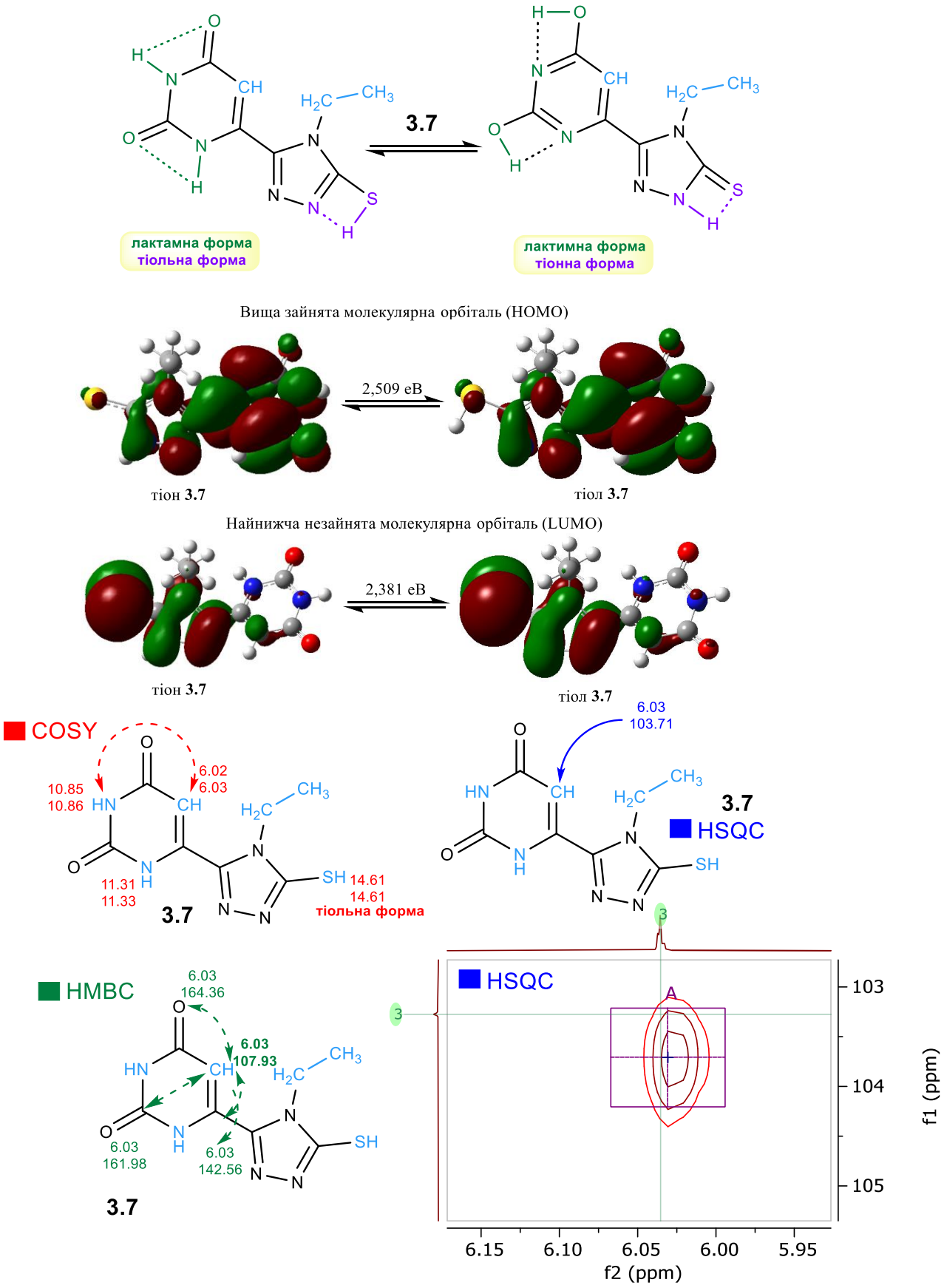

Рис. 4. Прототропна рівновага сполуки **3.7**: рівновага між прототропними формами; візуалізація фронтирних орбіталей HOMO і LUMO та їх енергетичних характеристик; фрагменти 2D ЯМР-спектрів (COSY, HSQC, HMBC) і кореляції, що підтверджують віднесення сигналів та структуру сполуки

Квантово-хімічну оцінку тіон-тіольної рівноваги для **3.7** виконано методом DFT з урахуванням сольватації (H_2O, етанол, ДМСО) та температури 298,15 K. Показано, що в усіх трьох середовищах рівновага практично повністю зміщена у бік тіонної форми, тоді як частка тіольного стану є мізерною. Такий енергетичний розрив означає, що навіть за наявності формальної можливості протонного переносу реальний внесок тіольної компоненти у спектроскопічно спостережувану картину є практично нульовим.

Додаткову інтерпретацію стійкості форм **3.7** виконано з позиції фронтирної електроніки. Порівняння HOMO/LUMO-характеристик показує, що тіонна форма для **3.7** є електронно більш «м'якою» (менший HOMO–LUMO розрив), що узгоджується з її підвищеною поляризовністю та кращою стабілізацією у полярному середовищі. Для **3.7** наведено, що розрив ΔE у тіольній формі становить ~2,509 еВ, тоді як у тіонній формі зменшується до ~2,381 еВ; при цьому для тіонного стану характерне «підняття» HOMO (зростання донорності), тоді як LUMO змінюється незначно. Таке зміщення фронтирних рівнів логічно узгоджується з тим, що тіонний таутомер є термодинамічно вигіднішим і домінує у розчинах, тоді як тіольний стан (навіть якщо короткочасно формується) не формує відчутної рівноважної частки.

Експериментальне підтвердження таутомерного стану **3.7** виконано методами 2D ЯМР. COSY-дослідження у відповідному спектральному вікні не виявило інформативних ^1H–^1H крос-піків, що є очікуваним для ситуації, коли ключовий вініловий протон є ізольованим, а слабкопольні N–H/S–H сигнали мають обмінну природу. При цьому спостережено дуже слабкопольний лабільний протон ($\delta_H \approx 14{,}61$), що узгоджується з існуванням сильного водневого зв'язку та/або проявом тіон–тіольної прототропної рівноваги у триазольному фрагменті. Наявність такого сигналу є важливою діагностичною ознакою: він вказує на протон, який перебуває у суттєво дескринованому оточенні (внутрішній H-зв'язок, сильна делокалізація заряду) і типовий саме для протонованого N-центру у тіонному стані або для «закріпленого» SH-протона у специфічному H-зв'язуванні. Окремі слабкі сигнали поблизу вінілової області можуть відповідати мінорним формам, однак їх коректна кількісна оцінка потребує спеціальних підходів (точного інтегрування або квазікількісних 2D-протоколів), тому в межах даного дослідження їх доцільно трактувати лише як можливий слід динаміки, а не як доказ значущої рівноважної частки альтернативного таутомеру.

На відміну від **3.7**, сполука **3.8** є системою, у якій фіксуються дві незалежні прототропні таутомерії: лактам–лактимна у 2,5-дикетопіперазиновому (урациловому) ядрі та тіон–тіольна у приєднаному S-вмісному гетероциклічному фрагменті. В роботі детально розписано механізм лактам–лактимного переходу: у вихідній лактамній формі **3.8** обидва карбонільні центри (C^2 та C^5) існують як кетони (C=O), а N^4 містить протон; альтернативна лактимна форма утворюється переносом цього протона з N^4 на карбонільний центр C^5 з формуванням гідроксигрупи при C^5 і виникненням подвійного зв'язку $C^5{=}N^4$. При цьому друга карбонільна група при C^2 не залучається до переносу (рис. 5).

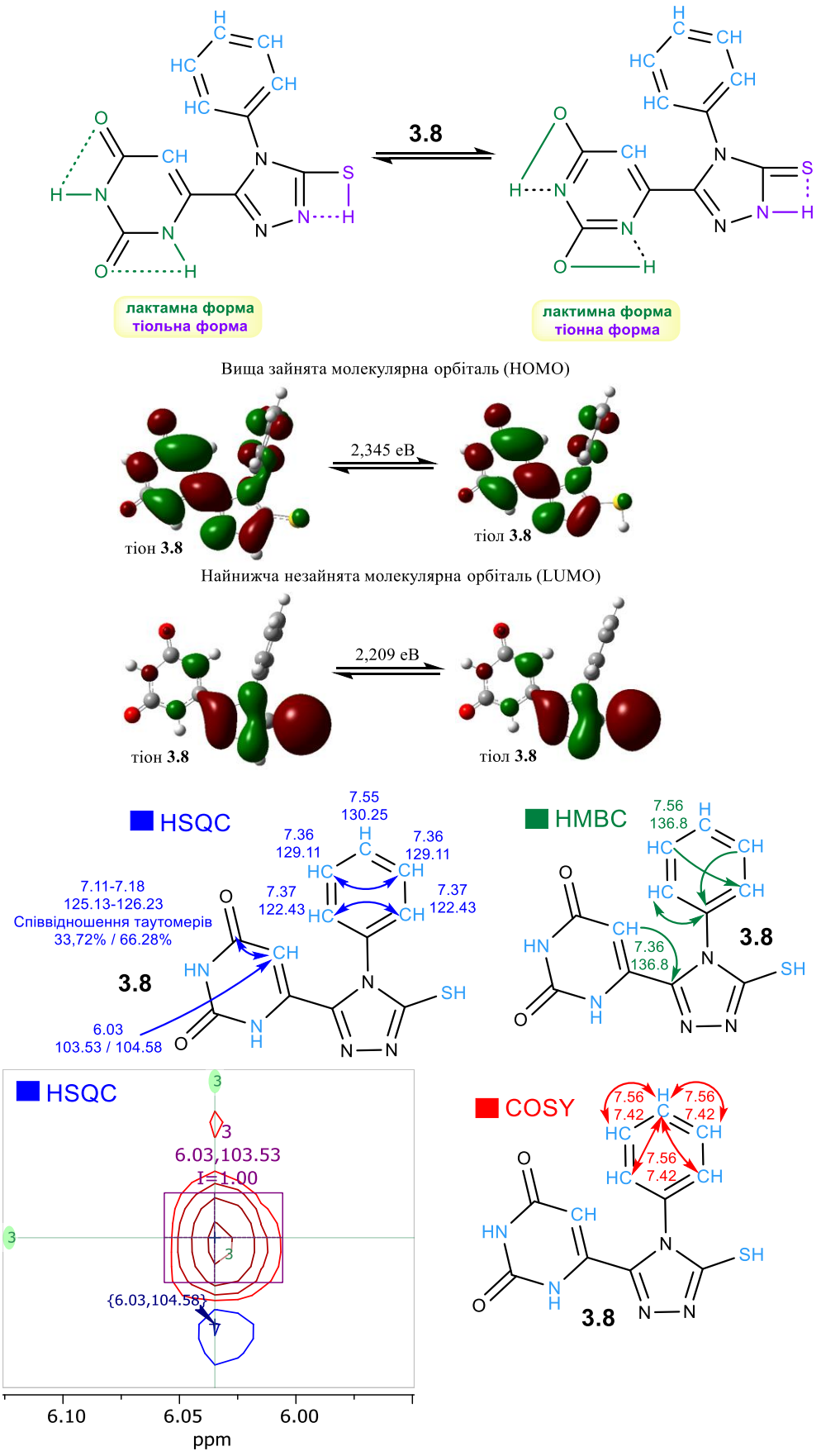

Рис. 5. Прототропна рівновага сполуки **3.8**: рівновага між прототропними формами; візуалізація фронтирних орбіталей HOMO і LUMO та їх енергетичних характеристик; фрагменти 2D ЯМР-спектрів (COSY, HSQC, HMBC) і кореляції, що підтверджують віднесення сигналів та структуру сполуки

Експериментально встановлено, що у ДМСО-d_6 сполука **3.8** в розчині перебуває у стані, який відповідає лактамній формі піперазинового циклу та тіонній формі гетероциклу. 2D NMR-спектри чітко вказують на наявність двох карбонільних груп (C^2=O і C^5=O) та двох протонів на атомах *N* (один у піперазиновому фрагменті, другий у гетероциклічному), що є прямими маркерами домінування лактам/тіонного набору ознак. Відповідно, лактимна та тіольна таутомерні форми, якщо й утворюються, присутні лише у дуже малій кількості, нижчій за межу детектування звичайним ЯМР (<5–10%): відсутні характерні ознаки лактиму/тіолу (зникнення N–H, поява O–H або S–H, альтернативні карбонові сигнали та істотні зміщення). Натомість фіксуються атрибути лактаму/тіону: амідні протони, карбонільні та тіокарбонільні сигнали і відповідні кореляції.

Важливим спостереженням для **3.8** є відсутність розщеплення чи подвоєння сигналів та відсутність «окремих» наборів піків, які можна було б однозначно приписати альтернативним формам. Це може означати або повне переважання одного таутомеру, або швидкий прототропний обмін на ЯМР-часовій шкалі. У даному випадку, з урахуванням сукупності хімічних зсувів та кореляцій, обґрунтовано зроблено висновок, що переважає саме одна форма (лактам/C=S), а навіть якщо міжформа-обмін і відбувається (гіпотетично протон може мігрувати між N^4 і O^5 або між N^{α} і S), рівновага залишається різко зміщеною у бік лактаму і тіону.

DFT-оцінка тіон–тіольної рівноваги для **3.8** також підтверджує домінування тіонного стану у воді, етанолі та ДМСО: від'ємні значення ΔG складають приблизно −9,76…−9,83 ккал/моль, що відповідає розрахунковому вмісту тіонної форми ~99,99999% і частці тіолу на рівні ~10^{-6}%. Таким чином, хоча енергетична «перевага» тіону у **3.8** дещо менша, ніж у **3.7**, вона все одно є достатньою, щоб практично нівелювати внесок тіольного таутомеру в реальних умовах розчину.

З позиції фронтирної електроніки для **3.8** зберігається загальна тенденція: тіонний стан піднімає HOMO, а для цієї сполуки додатково спостерігається і невелике «опускання» LUMO, що призводить до більш помітного зменшення HOMO–LUMO розриву (для **3.8**: приблизно з 2,345 еВ у тіольній формі до 2,209 еВ у тіонній). У термінах реакційної здатності це означає, що тіонна форма **3.8** є електронно найбільш «м'якою» серед порівнюваних станів і потенційно більш поляризовною, що узгоджується з її кращою термодинамічною стабілізацією у полярних розчинниках і зі спектроскопічними висновками про домінування саме цього таутомеру.

Отже, для сполук **3.7**, **3.8** виконано комплексне обґрунтування (2D ЯМР + DFT), яке дозволило розділити два типи прототропної динаміки і показати, що у розчині домінує лактамна форма 2,5-дікетопіперазинового ядра та тіонна форма S-вмісного гетероциклу, тоді як лактимний і тіольний внески є або надзвичайно малими, або «згладжуються» швидким обміном без формування окремого набору спектральних сигналів. Це є методологічно важливим висновком для подальшої частини роботи, оскільки дозволяє коректно інтерпретувати як реакційну здатність, так і потенційні взаємодії (H-зв'язування, комплексоутворення, біологічні контакти) виходячи з реального домінуючого стану молекули.

Синтез та структурна верифікація S-похідних гетероциклічних карбонових кислот

Розроблено й реалізовано синтетичну платформу спрямованої модифікації меркаптогетероциклів (рядів 1,2,4-тріазолу та 1,3,4-оксадіазолу) шляхом лужного S-алкілування. Показано, що депротонування тіольної ґрупи в лужному середовищі (NaOH / K_2CO_3 у спиртових або полярних розчинниках) приводить до утворення реакційноздатного тіолят-аніону, який у реакції S_N2-типу з алкілгалогенідами/галоацетатами формує стабільний зв’язок S–C, дозволяючи варіювати ліпофільно-гідрофільний баланс без руйнування гетероциклічного каркаса. Це покладено в основу одержання серій S-гетероциклічних карбонових кислот та їх похідних і обґрунтовано як ключовий інструмент «структурного монтажу» для подальшої біологічної оцінки.

Особливу увагу приділено синтезу алкілпохідних, що розширює комбінаторну бібліотеку (рис. 6), який ґрунтувався на S-алкілуванні меркаптопохідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіону та 4-R-1,2,4-тріазол-3-тіону (**2.5**–**3.8**). Обробка вихідних сполук водним розчином NaOH в етанолі з подальшим додаванням ряду первинних алкілбромідів $CH_3(CH_2)_nBr$ (n = 1-10) за нагрівання приводила до утворення S-алкілтіоетерів 2.9–3.48. Таким чином отримано комбінаторну бібліотеку, у якій систематично варіювали: 1) тип гетероциклічного фрагмента (Het_1/Het_2); 2) замісник R у положенні 4 тріазольного кільця (R = CH_3, C_2H_5, C_6H_5); 3) довжину алкільного ланцюга при атомі сульфуру (R_1 = C_1-C_{10}). Підкреслено, що реакція перебігала селективно по атому сульфуру, оскільки S-алкілування термодинамічно і кінетично вигідніше за *N*-алкілування через вищу нуклеофільність сірки та стабілізацію тіоляту в лужних умовах; за даними ЯМР-спектроскопії ознак N-алкілування не виявлено, що підтверджує передбачуваність і керованість синтетичного маршруту.

Для структурного підтвердження одержаних похідних широко використано мас-спектрометрію в режимі позитивної ESI, оскільки більшість сполук формували чіткі протоновані молекулярні іони $[M+H]^+$, придатні для подальшої інтерпретації фрагментації. Показовим прикладом наведено сполуку **3.38**, для якої зафіксовано домінуючий молекулярний іон при m/z = 380,2 та характерний ізотопний супутник M+2 з інтенсивністю близько 4%, що узгоджується з наявністю ізотопу ^{34}S і слугує додатковим підтвердженням тіоефірного мотиву у структурі. Встановлено, що найбільш типовий шлях дисоціації включає розрив зв’язку S–C з елімінуванням довголанцюгового алкільного фрагмента (часто у вигляді нейтрального алкену), формуючи стабільні катіони гетероциклічного ядра. Такі фрагменти стабілізуються делокалізацією позитивного заряду по гетероатомах N/O/S, що є характерним для конденсованих гетероциклічних систем і пояснює високу діагностичність спектрів.

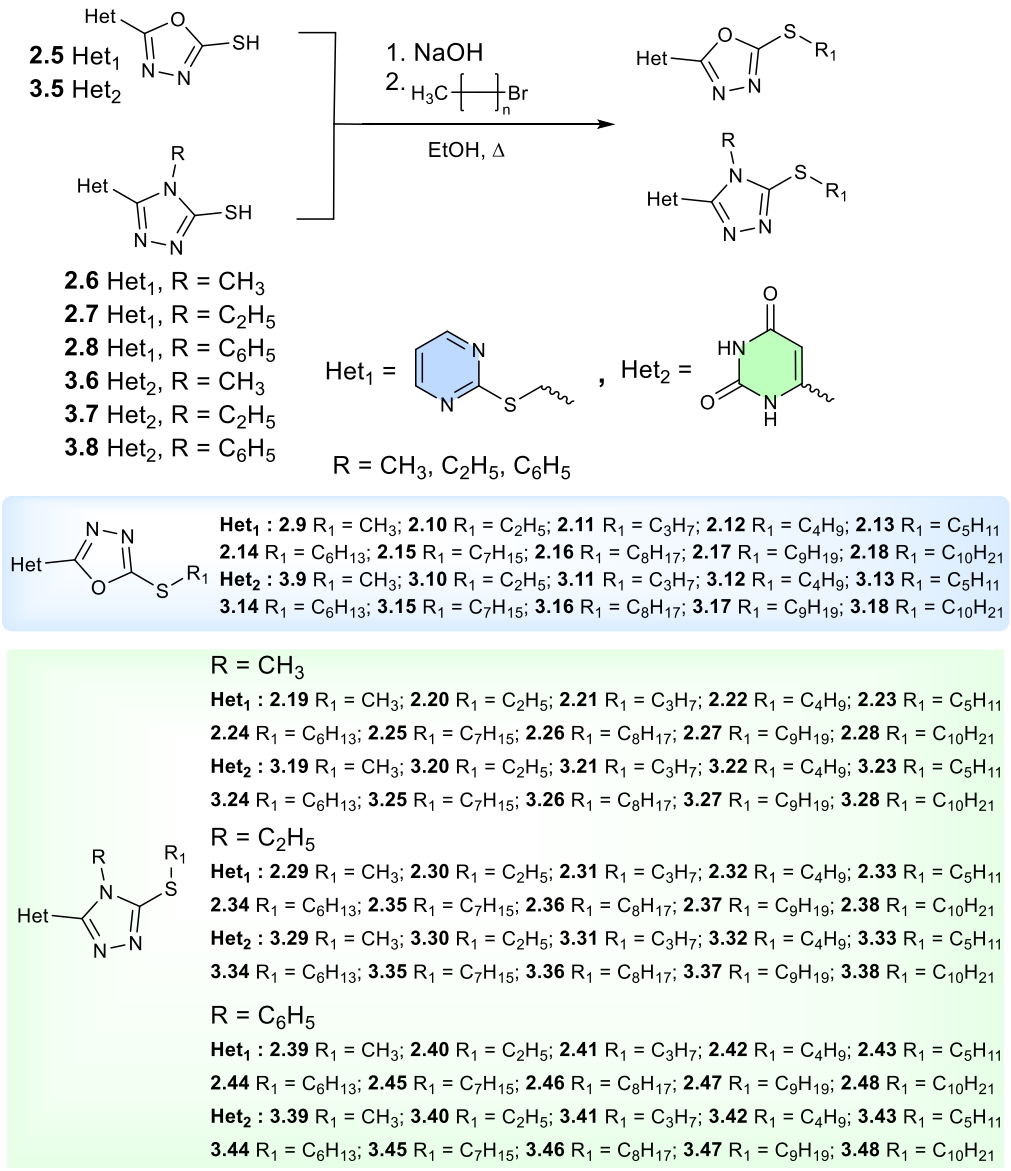

Рис. 6. S-алкілування меркаптопохідних 4-R-1,2,4-триазолу і 1,3,4-оксадіазолу **2.5–3.8** алкілбромідами $CH_3(CH_2)_nBr$ з одержанням бібліотеки S-алкільних похідних **2.9–3.48** (R = CH_3, C_2H_5, C_6H_5; R1 = C_nH_{2n+1}; Het_1, Het_2 – гетероциклічні фрагменти)

Окремо розглянуто фенілвмісний ряд на прикладі сполуки **3.42**, для якої встановлено специфічну «сигнатуру» фрагментації: на ранніх стадіях переважає швидкий канал дегідратації (втрата 18 Да) з утворенням стабільного дегідратованого іона, який зберігає ізотопний маркер M+2 (^{34}S), а далі реалізується β-елімінування вздовж S-алкільного сегмента з відщепленням відповідного олефіну. Сукупністю цих ознак є первинна дегідратація, наявність ізотопного піку ^{34}S та подальша втрата алкену, що формує надійний набір діагностичних критеріїв для швидкого розпізнавання і дереплікації фенільних тіоетерів у межах синтезованої бібліотеки.

Обґрунтовано та експериментально реалізовано стратегічну роль S-алкілування як універсального інструмента модифікації тіольних/тіонних похідних 1,2,4-триазолу і 1,3,4-оксадіазолу. Показано, що селективне введення алкільних фрагментів (C_1-C_{10}) у положення S дозволяє керовано змінювати фізико-хімічні параметри (стабільність,

ліпофільність, розчинність) та створювати структурно різноманітну комбінаторну бібліотеку для подальших етапів функціоналізації й біологічного тестування.

Виконано синтез і структурне обґрунтування серії гібридних S-гетероциклічних карбонових кислот, у яких фрагменти 1,2,4-триазолу або 1,3,4-оксадіазолу поєднані з піримідиновим чи оротовим ядром через тіометиленовий місток. Такий підхід відповідає сучасній стратегії «молекулярного гібридизаційного дизайну», оскільки поєднання в одній молекулі декількох фармакофорних гетероциклів дає змогу отримати сполуки з розширеним спектром потенційної біологічної активності (протимікробної, протизапальної, антиоксидантної, цитопротекторної), а введення карбоксильної групи –COOH додатково підвищує полярність, керує водорозчинністю та створює можливість подальшої функціоналізації (утворення солей, амідів, естерів) і координаційних взаємодій з біометалами. Таким чином, метою даного етапу було одержання структурно різноманітних кислот типу R–S–CH_2–COOH (рис. 7), які зберігають гетероциклічний каркас і водночас містять «якірний» кислотний фрагмент, придатний для подальших синтетичних і біологічних досліджень.

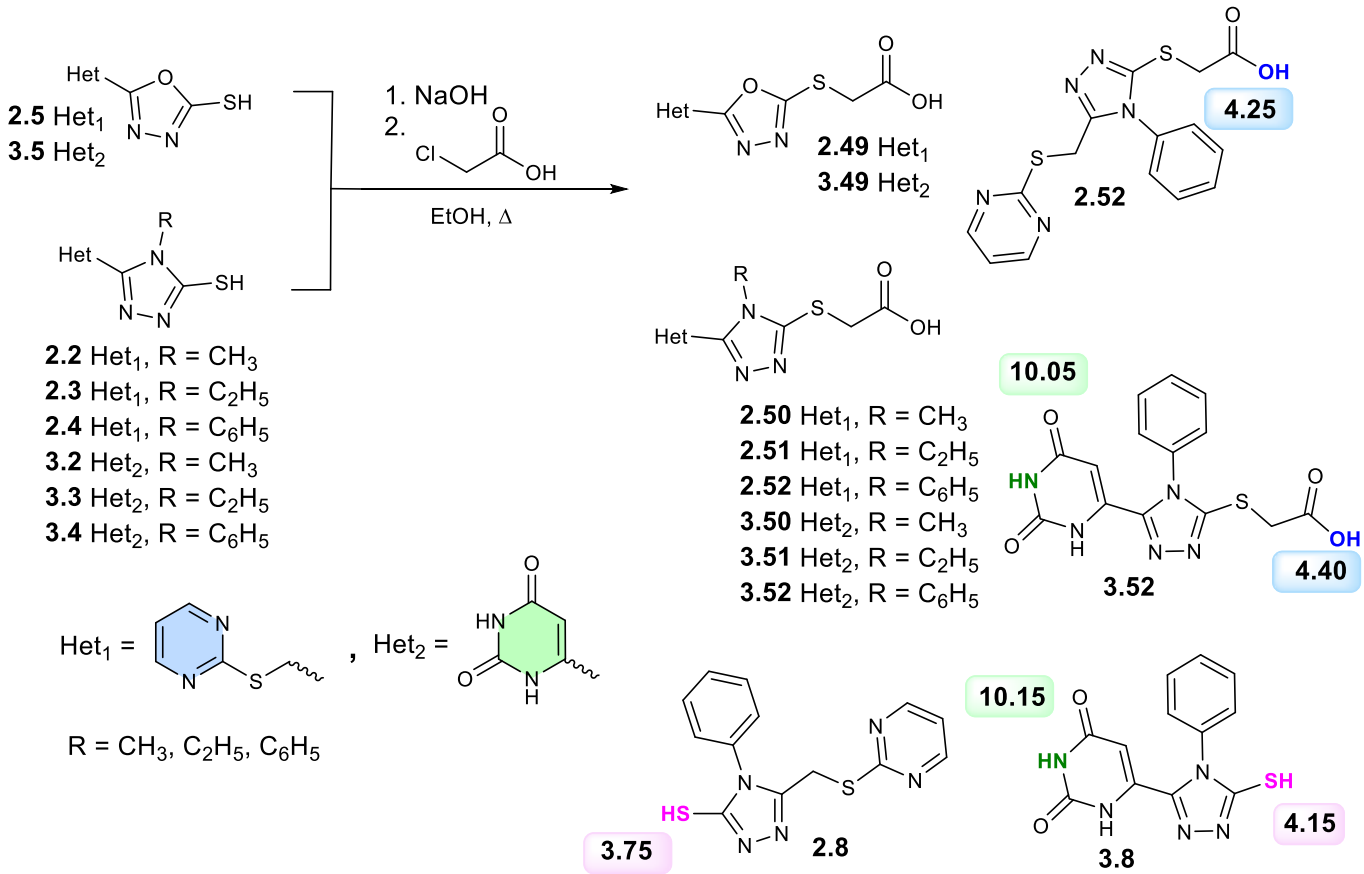

Рис. 7. Схема синтезу піримідинілтіометил-1,3,4-оксадіазол- та 1,2,4-триазол-тіоетанових кислот **2.49–2.52** і орот-залежних аналогів **3.49–3.52**

Як ключові вихідні сполуки використано тіометильні похідні 4-метил- або 4-етил-1,2,4-тріазол-3-тіолу, а також 5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіол і оротовмісні аналоги на основі 2,6-діоксо-1,2,3,6-тетрагідропіримідинового фрагмента. Показано, що в лужних умовах відбувається депротонування меркаптогрупи з утворенням тіолят-аніону, який здійснює нуклеофільну атаку на

метиленовий атом карбону монохлороцтової кислоти з формуванням тіоефірного зв'язку S–CH_2–COOH (рис. 7). Умови синтезу підбирали індивідуально з урахуванням електронної густини на атомі сульфуру, розчинності вихідних речовин і проміжних продуктів, а також здатності системи утворювати водневі зв'язки. У результаті одержано цільові кислоти рядів **2.49-2.52** (піримідинові) та **3.49-3.52** (оротовмісні), що підтверджує універсальність методики для різних гетероциклічних матриць і різних замісників.

Доведення будови синтезованих сполук виконано на підставі комплексної інтерпретації ^{1}H і ^{13}C ЯМР-спектрів, де ключовими діагностичними ознаками виступали: а) поява метиленового фрагмента –S–CH_2– у слабкопольній аліфатичній області (типово 3,8–4,7 м.ч.); б) наявність сигналів карбоксильної гідроксогрупи –COOH у слабкому полі (приблизно 11–14 м.ч.) у вигляді широкого синглету, що вказує на участь у водневому зв'язуванні; в) характерні сигнали гетероароматичних протонів піримідинового ядра (зазвичай 7,2–8,6 м.ч.) та г) формування карбонільно-кон'югованого «каркаса» в ^{13}C ЯМР (сигнали карбонільних/кон'югованих центрів у діапазоні ~160–175 м.ч.). На прикладі сполуки **2.51** показано, що у ^{1}H ЯМР наявний триплет метильної групи етильного фрагмента близько 1,27 м.ч. з константою спін-спінової взаємодії ~7,5 Гц, що підтверджує класичну спінову систему CH_3–CH_2–. У ділянці 3,8–4,3 м.ч. фіксуються сигнали метиленових груп, серед яких один синглет відноситься до «ізольованого» метилену (поблизу гетероатома/кватернарного центру), а мультиплетна область включає сумарні внески двох близьких за оточенням –CH_2– фрагментів. Гетероароматичні сигнали представлені синглетом близько 7,27 м.ч. та сигналом близько 8,51 м.ч., який відповідає протонам у піримідиновому циклі; сигнал у слабкому полі ~13,62 м.ч. інтерпретовано як карбоксильний протон, стабілізований водневими взаємодіями у ДМСО.

Для оротовмісних сполук, зокрема **3.49**, відзначено більш «компактний» ^{1}H ЯМР-профіль, що відображає меншу кількість магнітно-нееквівалентних протонів та/або часткову симетрію/усереднення за рахунок водневого зв'язування й можливих таутомерних процесів. У аліфатичній області спостерігається синглет метилену близько 3,80 м.ч., а сигнал ~5,94 м.ч. віднесено до вінільного/гетероциклічного CH, який перебуває під впливом анізотропії кон'югованої системи. Характерною ознакою є наявність сигналів у зоні 10–12 м.ч., що відповідають протонам донорних груп (NH/OH), які у ДМСО часто дають розширені або «злиті» сигнали через швидкий обмін. ^{13}C ЯМР-спектр **3.49** підтверджує метиленовий атом карбону (~45 м.ч.), sp^2-Карбон з протоном у електронодефіцитній системі (~99 м.ч.) та набір кватернарних слабкопольних карбонів у діапазоні 145–165 м.ч., характерний для гетероциклічного/уреїдного оточення з карбонільними центрами.

Отже, синтезовано серію гібридних S-заміщених гетероциклічних карбонових кислот з піримідиновим та оротовим фрагментами і обґрунтовано їх будову на основі узгоджених даних ^{1}H/^{13}C ЯМР. Показано, що введення фрагмента –CH_2–COOH через атом сірки є ефективним і відтворюваним способом функціоналізації меркаптопохідних 1,2,4-триазолу та 1,3,4-оксадіазолу, який зберігає гетероциклічний каркас і формує сполуки з підвищеною полярністю та потенціалом для подальших перетворень. Отримані кислоти можуть розглядатися як перспективні проміжні продукти для подальшого дизайну похідних (солей, амідів, естерів) і комплексного

дослідження їх фізико-хімічних та біологічних властивостей у межах концепції створення багатофункціональних гібридних систем.

Після одержання гібридних S-гетероциклічних карбонових кислот із піримідиновим (Het_1) та оротовим (Het_2) фрагментами наступним логічним етапом роботи було виконано синтез їх солей (рис. 8), оскільки саме сольові форми найчастіше є оптимальними для проведення біологічних/фармакологічних досліджень у водних та буферних середовищах.

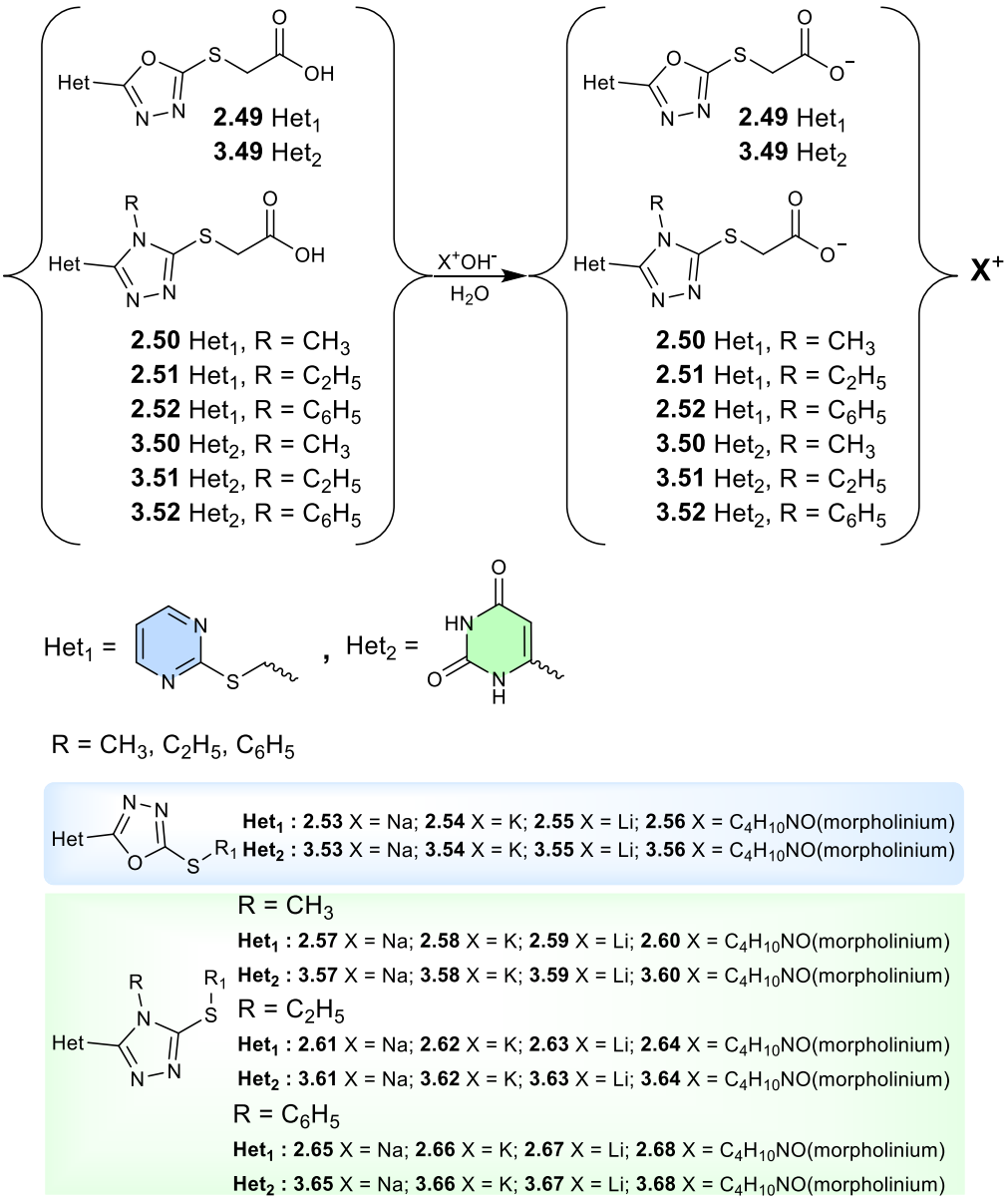

Рис. 8. Схема синтезу солей S-гетероциклічних карбонових кислот із піримідиновим та оротовим фрагментом **2.53-2.68**, **3.53-3.68**

Виконано нейтралізацію синтезованих S-гетероциклічних карбонових кислот двох структурних рядів з отриманням відповідних солей. Реакцію проводили за м'яких умов, обробляючи вихідні кислоти еквімолярною кількістю основи загального складу X^+OH^- у водному середовищі. За таких умов хімічна трансформація зводиться до кислотно-основної взаємодії з утворенням карбоксилат-аніону та відповідного катіона X^+, при цьому гетероциклічний каркас і тіоефірний S-зв'язок зберігаються без

змін, а побічні перетворення практично виключені. Селективність процесу зумовлена тим, що найбільш реакційноздатним центром у цих системах є саме карбоксильний протон, тоді як інші донорно-акцепторні вузли за м'яких умов не залучаються до ковалентної перебудови, а реалізують лише міжмолекулярні взаємодії типу Н-зв'язків.

Для отримання солей лужних металів використано водні розчини NaOH, KOH та LiOH, а також важливу увагу приділено одержанню органічних солей, зокрема морфолінієвих. Такі солі є перспективними з технологічної точки зору, оскільки часто характеризуються кращою розчинністю, більш «м'яким» профілем гігроскопічності та інколи формують стабільніші кристалічні модифікації у порівнянні з солями лужних металів. Крім того, органічний протиіон потенційно може впливати на швидкість розчинення та взаємодію сполуки з біологічним середовищем, що важливо при подальшій оптимізації біоактивності й підборі найпридатнішої форми для дослідження.

В подальшому виконано цілеспрямовану дериватизацію раніше одержаних S-гетероциклічних карбонових кислот та меркаптогетероциклів шляхом синтезу їх естерів і амідів, що розглядається як ключовий етап подальшого тонкого налаштування фізико-хімічних параметрів і потенційної біологічної активності. Перехід від кислот до естерів ($–COOR_1$) дозволяє керовано підвищувати ліпофільність, змінювати проникність крізь біомембрани та регулювати швидкість гідролізу/метаболічної трансформації, тобто формувати «проліковий» потенціал. У свою чергу, введення амідного фрагмента ($–CONR^1R^2$) забезпечує створення більш полярних і водневозв'язувальних похідних з підвищеною хімічною стабільністю, що є важливим для взаємодії з біомішенями та оптимізації профілю розчинності. Таким чином, одержання естерів і амідів у даній роботі виступає не лише розширенням бібліотеки, а й інструментом керованої модифікації властивостей гібридних систем із піримідиновим (Het_1) або оротовим (Het_2) фрагментом.

Синтез естерів S-гетероциклічних карбонових кислот (рис. 9) реалізовано як логічне продовження побудови тіоетерного зв'язку C–S та введення карбоксіалкільного «якоря» $–S–CH_2–C(O)–$, який може перебувати в кислотній або естерній формі. Ключовою стадією одержання естерів є S-алкілування депротонованих тіолів галоацетатами типу $Cl–CH_2–COOR_1$ у спиртовому середовищі (Метод А). Після обробки вихідного тіолу основою формується тіолят-аніон, який як сильний нуклеофіл здійснює заміщення за механізмом S_N2 з утворенням фрагмента $Het–S–CH_2–COOR_1$. Важливо, що такий «хлороацетатний» шлях дає змогу отримувати естерні похідні в один синтетичний крок, без попереднього виділення кислоти та окремої стадії естерифікації, що особливо доцільно для швидкого нарощування серій простих алкілових естерів (метил-, етил-, ізопропіл-, бутил-).

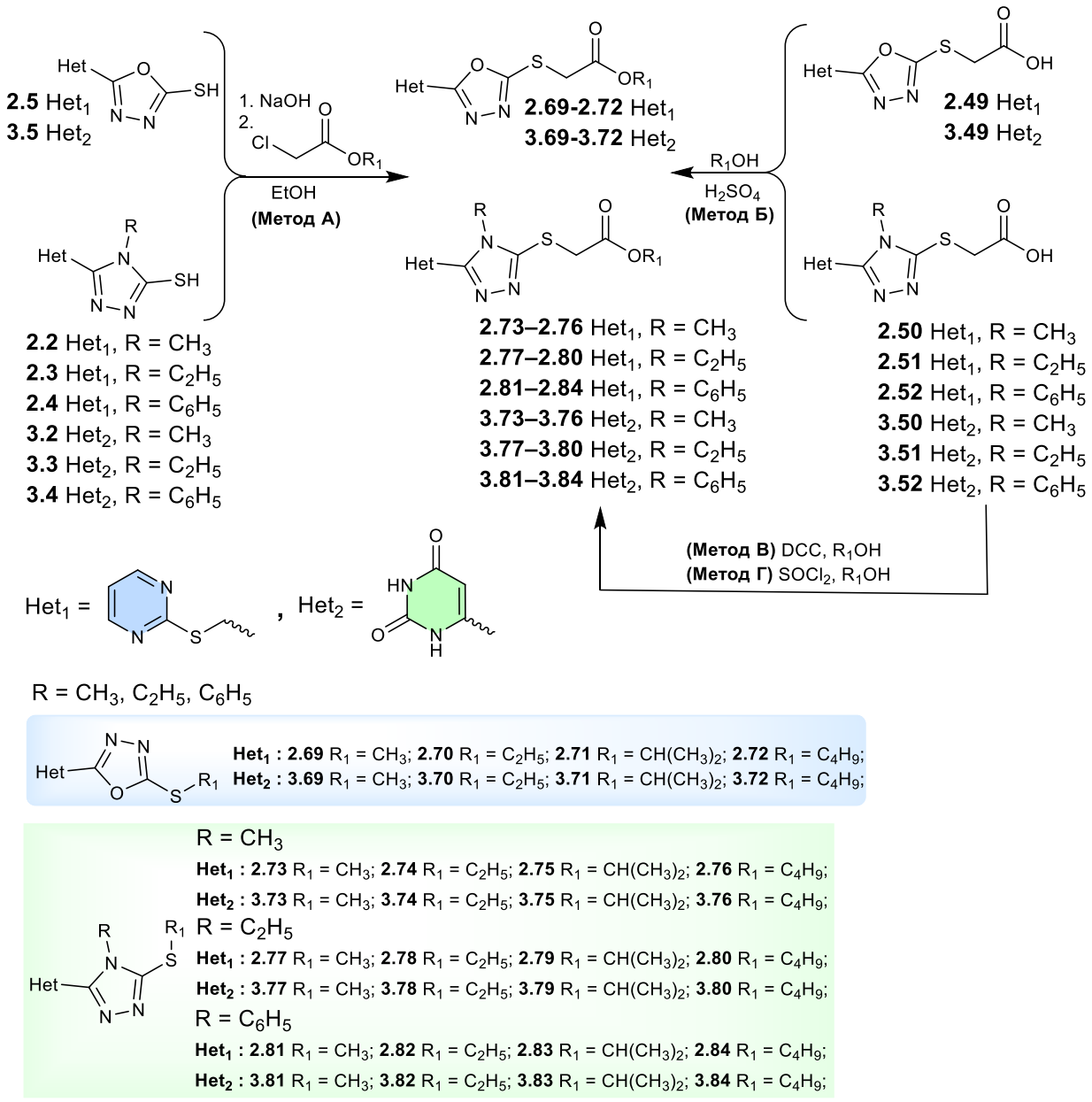

Рис. 9. Схема синтезу естерів S-гетероциклічних карбонових кислот із піримідиновим та оротовим фрагментом **2.53-2.68**, **3.53-3.68**

Для 1,2,4-триазольних субстратів принциповим є питання хемоселективності S-алкілування відносно конкурентного *N*-алкілування, характерного для азотовмісних гетероциклів за жорсткіших умов. У роботі показано, що м’які умови в спиртовому середовищі та контроль стехіометрії сприяють переважному утворенню саме S-похідних, тоді як ризик *N*-алкілування підвищується при використанні сильніших основ, високих температур або полярних апротонних розчинників. Окремо враховано специфіку Het_2- (оротовмісних) систем: підвищена полярність та донорно-акцепторний потенціал оротового фрагмента (дві карбонільні групи й NH-центри) можуть ускладнювати стадії виділення та очищення продуктів через асоціацію та водневе зв’язування, тому підбір умов ізоляції (підкислення, вибір екстрагенту, осадження/перекристалізація) має вирішальне значення для відтворюваності виходів.

Одержані естери –S–CH_2–$COOR_1$ розглянуто як «оборотні» похідні відповідних кислот –S–CH_2–COOH: за потреби кислоти можуть бути отримані контрольованим гідролізом естерів (омиленням) із наступним підкисленням, а далі – повторно естерифіковані спиртами іншої будови (Метод Б). У схемі синтезу відображено також альтернативні підходи до естерифікації кислот: класичну кислотнокаталізовану естерифікацію (Фішера, Метод Б) та активаційні методи (Метод В, Г), що є корисними для випадків, коли пряме S-алкілування хлороацетатами є утрудненим (стерично навантажені або функціоналізовані спирти, підвищена полярність Het_2-похідних). Таким чином, побудована платформа забезпечує гнучкий вибір маршруту «кислота ⇄ естер» залежно від природи спирту R_1OH і властивостей гетероциклічного фрагмента.

Синтез амідів виконано за уніфікованою двостадійною схемою (рис. 10), що включає: 1) утворення тіолят-аніону з меркаптогетероциклу в лужному середовищі та 2) S-алкілування α-хлороацетамідним електрофілом типу Cl–CH_2–C(O)–NR^1R^2. У результаті SN2-заміщення формується зв'язок S–CH_2–C(O)–N…, тобто в молекулу вводиться карбамоїлметильний фрагмент, який функціонально відповідає амідному похідному S-гетероциклічної карбонової кислоти. Такий підхід дозволив одержати аміди як для оксадіазольних систем, так і для *N*-заміщених триазол-3-тіолів, зберігаючи модульність ряду. У практичному аспекті підкреслено вплив природи Het-фрагмента на поведінку продуктів: піримідинові аналоги зазвичай легше виділяються та очищуються з органічних середовищ, тоді як оротовмісні сполуки, через підвищену полярність і здатність до H-зв'язування, потребують більш ретельного підбору умов перекристалізації та співвідношення вода/спирт.

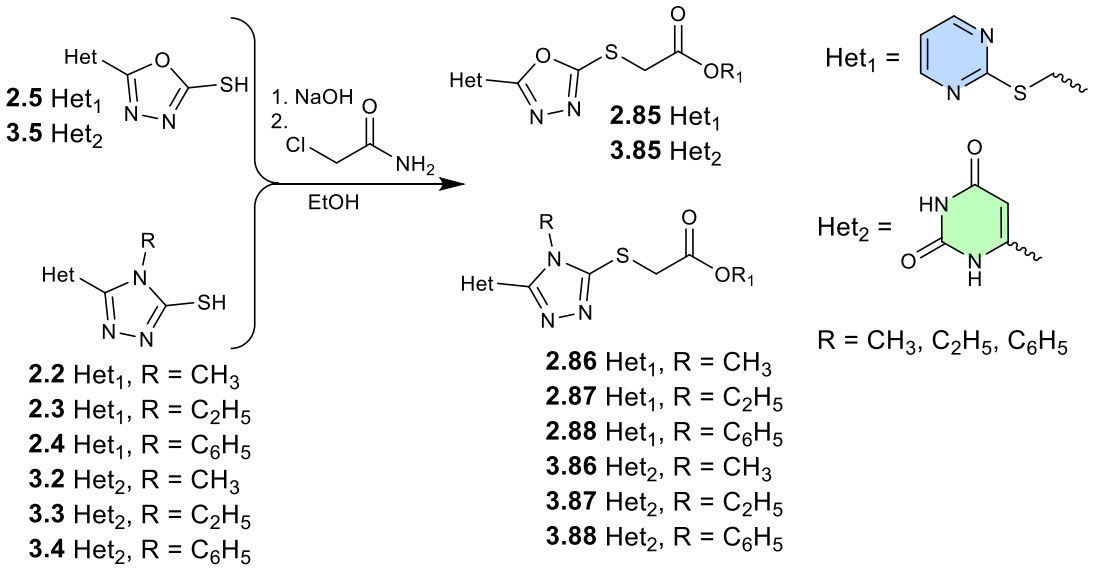

Рис. 10. Схема синтезу амідів S-гетероциклічних карбонових кислот із піримідиновим та оротовим фрагментом **2.85-2.88**, **3.85-3.88**

Структурне підтвердження синтезованих естерів та амідів здійснювали переважно методами ^{1}H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії. Для естерів діагностичними є сигнали метоксигрупи/алкоксигрупи (OCH_3 або OR_1), метиленового фрагмента –S–CH_2– у слабкопольній аліфатичній області та карбонільного атома карбону естерної

групи в ^{13}C ЯМР. Для амідів – наявність карбонільного сигналу амідної групи та характерних NH/замісникових протонів, а також зсуви метилену при S–CH_2–C(O)–N, що підтверджує введення карбамоїлметильного фрагмента. В цілому, одержані естери й аміди суттєво розширили бібліотеку гібридних S-заміщених похідних і створили основу для подальшого аналізу зв'язку «структура–властивість», зокрема впливу OR_1 та $CONR^1R^2$-фрагментів на ліпофільність, розчинність і потенційну біологічну активність у серіях з піримідиновим та оротовим ядрами.

Обґрунтовано та реалізовано підхід, за яким 4-феніл-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіол розглядається як зручна синтетична платформа (рис. 11) для одержання несиметричних дисульфідів – класу сполук, що останніми роками набув значної уваги у медичній хімії, хімії біокон'югатів і матеріалознавстві. Дисульфідний зв'язок є функціонально важливим остовом, оскільки бере участь в окисно-відновних процесах, може виступати «перемикачем» конформації та реакційної здатності, а також здатний впливати на фармакологічний профіль молекул.

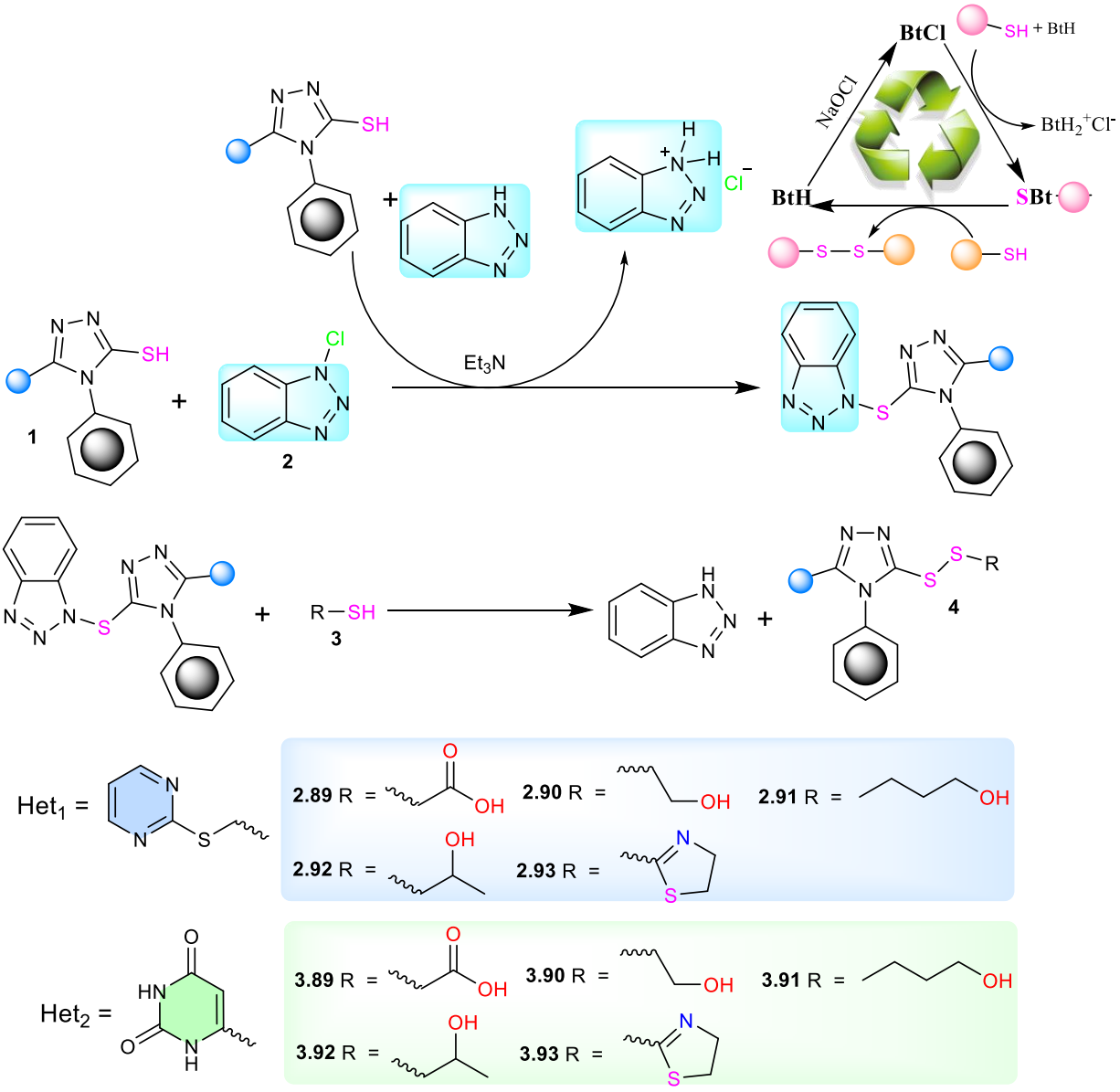

Рис. 11. Схема отримання несиметричних дисульфідів на основі платформи 4-феніл-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолу

Розвинуто селективну синтетичну стратегію одержання несиметричних дисульфідів на основі 4-феніл-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолу шляхом контрольованої активації тіолу та подальшого сполучення з другим, структурно відмінним тіолом. Як методологічну основу проаналізовано підходи, що передбачають утворення проміжних сульфенільованих похідних, однак з урахуванням ризику утворення сульфенілхлоридів (які сприяють гомодимеризації) зроблено акцент на генерації більш керованого електрофільного проміжного продукту. Реакційна схема (рис. 11) базується на утворенні активуючого агента 1-хлорбензотриазолу (BtCl) *in situ* з доступного бензотриазолу та натрій гіпохлориту. Отриманий BtCl селективно переводить вихідний тіол у *N*-сульфенільований бензотриазольний проміжний продукт, який є достатньо стабільним у реакційних умовах і далі вступає в хемоселективне нуклеофільне заміщення другим тіолом, формуючи цільовий несиметричний дисульфід.

У ході дослідження встановлено, що запропонована трансформація не потребує наднизьких температур, а відтворюваність і виходи суттєво покращуються при додаванні невеликої кількості триетиламіну, який ефективно зв'язує HCl, що утворюється під час активації, і тим самим стабілізує перебіг процесу. Окремо підкреслено переваги підходу з позицій «зеленої» та раціональної хімії: активуючий гетероцикл (бензотриазол) може бути регенерований з реакційної суміші, що робить процес більш ресурсоефективним та зручним для масштабування. Структурне підтвердження синтезованих дисульфідів виконували, зокрема, методом ^{1}H ЯМР-спектроскопії, де ключовою діагностичною ознакою є зникнення сигналу тіолового протона та формування нового набору сигналів, узгодженого з дисульфідним похідним. 4-Феніл-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіол є ефективним вихідним остовом для створення серії несиметричних дисульфідів, а розроблена стратегія забезпечує поєднання селективності, технологічної простоти та відтворюваності, що є критично важливим для подальшого скринінгу біологічної активності синтезованих сполук.

Комплексне дослідження біологічної активності та первинного профілю безпеки S-похідних 1,2,4-триазолу: антимікробна дія, QSAR/SAR-аналіз, гостра токсичність, кардіофункціональні та поведінкові тести на *Danio Rerio*

У розділі узагальнено результати експериментального біоскринінгу синтезованих похідних 1,2,4-триазолу та пов'язаних гібридних структур із фокусом на антимікробний/фунгіцидний профіль, гостру токсичність, цитотоксичність, антиоксидантну активність, інгібування ЦОГ-1/ЦОГ-2, анальгетичний потенціал, інгібування ацетилхолінестерази, а також поведінково-фізіологічні ефекти при гіпоксичному навантаженні й кардіобезпечність у моделі *Danio rerio*. На підставі зіставлення «структура → властивості → ефект» сформовано узагальнену модель фармакофору серії та визначено ключові «точки варіації», що керують SAR у межах дослідженого хімічного простору. На основі порівняльного аналізу встановлено відповідність між вираженістю біологічного ефекту та наявністю/типом функціональних груп у структурах досліджених сполук, що дозволило окреслити ключові структурні фрагменти, асоційовані з підвищенням активності в окремих тест-

системах. Узагальнені дані щодо кількості протестованих зразків і частоти виявлення «лідерів» наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Фармакологічна та біологічна ефективність досліджуваних похідних S-похідних ((1,2,4 триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів

Досліджувана активність	Кількість досліджуваних сполук	Кількість сполук, що перевищують або знаходяться на рівні дії еталону порівняння	Референс-препарати
Аналгезуюча активність (тест «оцтовокислих корчів»)	9	6 (**2.3**, **2.7**, **2.51**, **2.60**, **2.75**, **2.79**)	Натрій метамізол (Анальгін®)
Анальгезуюча активність (Формаліновий тест)	6	3 (**2.75**, **2.60**, **3.50**)	Натрій метамізол (Анальгін®)
Антирадикальна активність (DPPH-тест, % інгібування)	11	4 (**2.6**, **2.75**, **3.51**, **3.87**)	Аскорбінова кислота
Інгібіторна активність щодо ЦОГ-1/ЦОГ-2 *in vitro* (орієнтир: ЦОГ-2, IC_{50})	5	4 (**2.75**, **3.51**, **3.64**, **3.87**)	Ібупрофен®
Інгібування ацетилхолінестерази (AChE) *in vitro* (IC_{50})	16	0	Такрін
Плавальний гіпоксичний тест *in vivo* (*Danio rerio*)	7	7 (**2.57**, **2.58**, **2.59**, **2.60**, **3.65**, **3.66**, **3.67**)	Мельдоній (Mildronate®)
Кардіотоксичність (ембріони *Danio rerio*, HR та A:V, 5 μM)	2	2 (без порушення A:V = 1:1)	Контроль (інтактні; A:V = 1:1)
Гостра токсичність (Danio rerio, LC_{50}, мг/л)	35	–	

Скринінг протимікробної/протигрибкової дії показав наявність виражених «лідерів» у серії та чітку залежність активності від природи замісника і полярності молекули. Для ряду сполук зафіксовано МІК на рівні 62,5–250 мкг/мл щодо тест-штамів бактерій/грибів, причому найбільш активними виявилися **2.5** (МІК 62,5–250 мкг/мл), **2.58** (125 мкг/мл), **2.75** (62,5 мкг/мл); окремі похідні демонстрували лише помірну дію (наприклад, **2.59** – 250 мкг/мл). У межах SAR для цього блоку встановлено, що на рівень протимікробної активності помітно впливає баланс ліпофільності/полярності, зокрема роль S-алкільного фрагмента, присутність/відсутність іонізованих груп та тип гетероциклічного «партнера» у

гібриді; це дозволило обґрунтувати напрямки подальшої «лідер-оптимізації» з фокусом на збереження активного ядра та кероване налаштування розчинності й проникності.

У моделі гострої токсичності (дорослі Danio rerio) визначено LC_{50} для низки сполук і показано, що токсичність у серії суттєво варіює залежно від структурного типу та ступеня іонізації. За наведеними даними LC_{50} охоплює широкий діапазон (від відносно низьких значень до суттєво вищих), що дозволило розділити сполуки на групи ризику й використовувати LC_{50} як один із «фільтрів» пріоритизації у подальшому відборі кандидатів. Окремо підкреслено роль структури (солі/кислоти/естери) у формуванні токсикологічного профілю та доцільність комплексної оцінки разом із функціональними ефектами (плавальний тест/гіпоксія).

Оцінка цитотоксичності на клітинних лініях засвідчила, що протестовані сполуки не проявили вираженої протипухлинної активності у вибраних умовах експерименту: для прикладу, життєздатність клітин за 10 μM у низки сполук зберігалася на високому рівні (~80–96% для **3.10**, **3.20**, **3.38**, **3.54**), тоді як для доксорубіцину спостерігалося різке зниження життєздатності. Це важливо з практичної точки зору як ознака відсутності грубої неспецифічної цитотоксичності для частини бібліотеки на первинному етапі скринінгу.

Антирадикальну активність оцінено методом DPPH з розрахунком IC_{50}; встановлено наявність активних зразків із IC_{50} на рівні 1,31–2,84 мг/мл (наприклад, **2.57** – 1,31 мг/мл; **2.58** – 2,84 мг/мл; **3.66** – 1,55 мг/мл), а також зразків із більш слабким ефектом. Таким чином підтверджено, що в межах досліджених структур можливе цілеспрямоване підсилення антиоксидантного компонента шляхом модифікації замісників без руйнування базового гетероциклічного ядра (рис. 12).

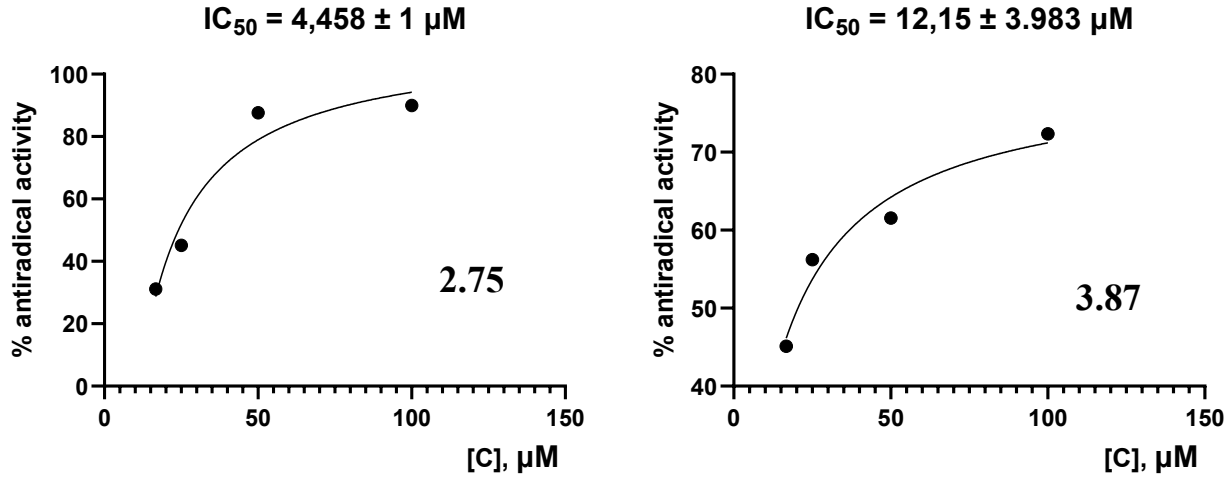

Рис. 12. Дослідження кінетичних параметрів реакції з 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилом (DPPH) сполук **2.75**, **3.87** та розрахунок значення IC_{50}.

У блоці ЦОГ встановлено, що частина сполук демонструє виразну перевагу щодо ЦОГ-2 (селективність), що є ключовим з огляду на безпековий профіль протизапальних кандидатів (табл. 2). Зокрема, для сполуки **2.75** наведено IC_{50} (COX-2)=0,15 μM при IC_{50}(COX-1)=11,21 μM, що відповідає високому індексу селективності; для **3.66** активність щодо ЦОГ-2 була нижчою (IC_{50} 1,10 μM). Це

дозволило обґрунтовано розглядати **2.75** як один із ключових кандидатів для подальшої оптимізації/розширення профілю.

Таблиця 2

Інгібіторна активність синтезованих сполук проти ЦОГ-1 та ЦОГ-2 in vitro в порівнянні з ібупрофеном

Сполука	IC_{50} (ЦОГ-2), μM	IC_{50} (ЦОГ-1), μM	SI = IC_{50} (COX-1) / IC_{50} (COX-2)	Профіль інгібування
2.75	50,7 ± 0,03	59,5 ± 1,0	1,17	майже неселективний / слабкий зсув до ЦОГ-2
3.51	68,5 ± 0,06	92,0 ± 1,5	1,34	помірна селективність до ЦОГ-2
3.64	42,6 ± 0,01	1,48 ± 2,1	0,03	виражений зсув до ЦОГ-1
3.79	281,5 ± 0,37	83,4 ± 0,9	0,30	зсув до ЦОГ-1
3.87	24,5 ± 0,9	201,2 ± 0,15	8,21	сильна селективність до ЦОГ-2
Ібупрофен	223	4,85	0,02	класичний НПЗЗ, зсув до ЦОГ-1

У моделі вісцерального болю показано достовірне зменшення больового прояву: зафіксовано зниження кількості «корчів» у групах сполук **2.58** (–58,7%), **2.75** (–65,1%), **3.66** (–57,1%) порівняно з контролем. Це підтверджує наявність аналгетичного потенціалу та узгоджується з отриманим ЦОГ-профілем для частини серії.

У формаліновому тесті зареєстровано виражене пригнічення реакції, особливо у «запальній» фазі: у другій фазі спостерігали інгібування на рівні 52,1–58,8% для сполук **2.75** / **2.58** / **3.66**, що відображає протизапальний компонент анальгезії.

За методом Елмана встановлено інгібувальну активність для частини зразків із рівнем IC_{50} близько 4,69 μM (для **2.75**) та слабшим ефектом у інших (наприклад, 3.66 – 91,85 μM), що демонструє можливість «налаштування» холінестеразного компонента через структурні модифікації. Ці дані важливі для формування поліфармакологічного профілю серії та для подальшого вибору напряму оптимізації залежно від цільового показання.

Комплексний тест із контрольованим потоком/навантаженням показав, що низка похідних 1,2,4-триазолу підвищує витривалість і різко скорочує час відновлення порівняно з контролем і препаратом порівняння (мельдоній®). За табл. 3 контроль мав середній час відновлення 44,857 ± 66,787 с, тоді як для активних зразків він становив одиниці секунд. Узагальнення підкреслює, що найперспективнішими виявилися калієві (**2.58**, **3.66**) та літієві (**3.67**, **2.59**) солі; **3.66** забезпечувала поєднання підвищеної максимальної швидкості плавання та найшвидшого відновлення (≈4 с), а ефект загалом перевищував дію мельдонію. Статистичний аналіз (Welch ANOVA + Games–Howell) підтвердив вплив будови сполуки на час відновлення та показав, що

для більшості нових зразків час відновлення достовірно менший, ніж у групи референту.

Таблиця 3

Результати комплексного дослідження дії нових похідних 1,2,4-триазолу при гіпоксичному навантаженні

Сполука	Довжина, мм	Маса, г	Кисень, мг/л	Швидкість, м/с	Час відновлення, с
Контроль	28,143 ± 3,288	0,283 ± 0,06	9,150 ± 0,563	0,092 ± 0,067	44,857 ± 66,7
Мельдоній	26,714 ± 1,976	0,266 ± 0,069	10,349 ± 0,35	0,088 ± 0,064	25,571 ± 24,3
2.57	26,857 ± 2,795	0,277 ± 0,06	8,657 ± 0,092	0,261 ± 0,195	7,714 ± 4,572
2.58	28,571 ± 2,992	0,329 ± 0,087	8,691 ± 0,108	0,137 ± 0,083	4,571 ± 4,276
2.59	27,714 ± 1,604	0,441 ± 0,058	6,863 ± 0,044	0,125 ± 0,058	5,929 ± 2,207
2.60	24,714 ± 3,546	0,293 ± 0,107	6,707 ± 0,086	0,126 ± 0,081	6,214 ± 2,767
3.65	26,857 ± 2,911	0,296 ± 0,105	6,959 ± 0,052	0,204 ± 0,12	8,286 ± 4,499
3.66	29,714 ± 1,89	0,477 ± 0,066	6,951 ± 0,104	0,163 ± 0,036	4,214 ± 1,468
3.67	24,714 ± 3,546	0,293 ± 0,107	6,549 ± 0,331	0,185 ± 0,137	7,214 ± 3,039

Кардіобезпечність оцінено на ембріонах *Danio rerio* (72 hpf) методом аналізу динаміки піксельної інтенсивності в ROI передсердя/шлуночка з контролем HR та співвідношення A:V як маркерів аритмій/AV-блокад (рис. 13). Для сполук **2.75** і **3.66** при 5 μM встановлено збереження A:V = 1:1 у всіх групах, але відмінності за HR: контроль 145 ± 5 уд./хв, **2.75** – 150 ± 4 уд./хв, **3.66** – 168 ± 5 уд./хв.

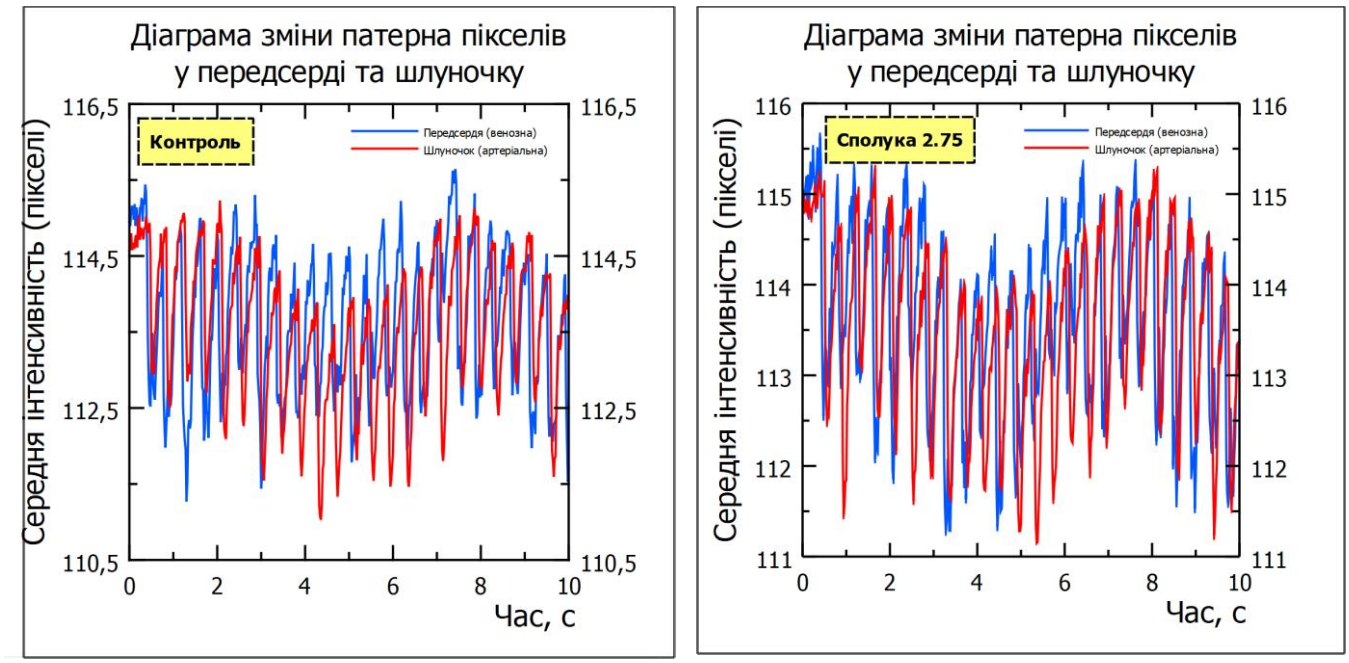

Рис. 13. Діаграма зміни піксельного патерна (інтенсивності) у передсерді та шлуночку ембріонів *Danio rerio* (72 hpf) у контрольній групі і сполуки **2.75** (фрагмент 0–10 с): синя крива – передсердя (венозна камера), червона – шлуночок (артеріальна камера)

Для **3.66** підвищення HR відображалося більшою щільністю циклів на часових кривих без порушення синхронізації камер, що в межах застосованих критеріїв означало відсутність ознак AV-блокади при наявності хронотропного зсуву.

Підсумковий SAR-аналіз (рис. 14) інтегрував результати різних блоків у єдину логіку «фармакофор + модифікатори властивостей». На основі QSAR-моделей гострої токсичності показано, що для низки алгоритмів точність класифікації токсичності досягала ~70%, що використано як допоміжний інструмент пріоритизації. Для практичного висновку розділу важливо, що **2.75** у межах наявних даних поєднувала виражені фармакологічні ефекти (зокрема COX-2/анальгезія та ін.) із придатним профілем для подальшого розвитку, тоді як **3.66** демонструвала найсильніший ефект у гіпоксичному/плавальному тесті разом зі змінами HR без порушення A:V.

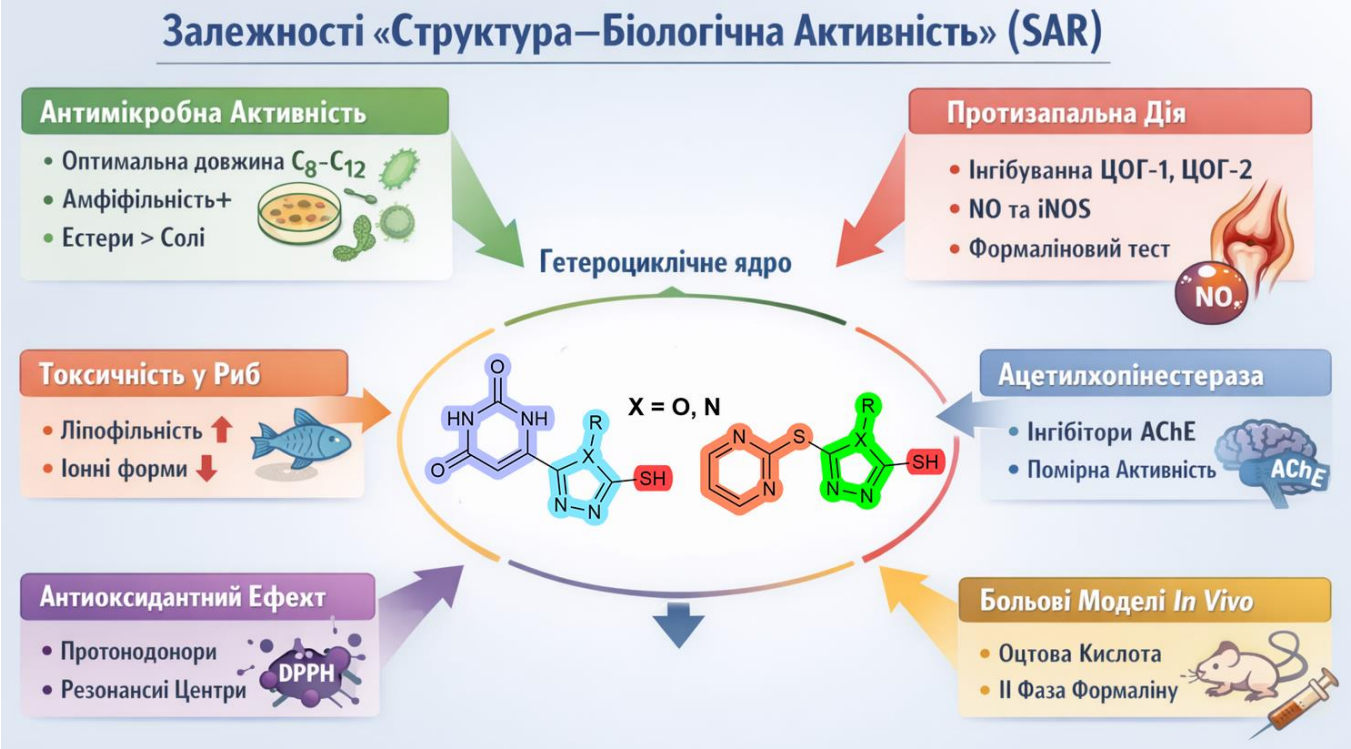

Рис. 14. Схематичне відображення основних SAR-закономірностей (структура–біологічна активність) для досліджуваних похідних: зв'язок гетероциклічного ядра та варіацій S-заміщення/іонізації з антимікробною, протизапальною, антиоксидантною активністю, інгібуванням AChE і токсичністю у *Danio rerio*

Сукупно отримані дані дозволяють виділити структурні маркери активності (гетероциклічне ядро + S-лінкер + оптимальне S-заміщення) та підтверджують наявність чіткої залежності «структура–біологічна активність». З огляду на поєднання найкращих показників антиоксидантної та анальгетично-протизапальної активності, сполуку **2.75** обрано як сполуку-лідер «Тіопірин» (lead compound) для подальших поглиблених фармакологічних і фармакокінетичних досліджень та обрання лікарської форми.

Сполука-лідер **2.75** (умовна назва «Тіопірин», ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат) охарактеризована за

показниками первинної безпеки та кількісної протизапальної активності. Гостру пероральну токсичність оцінювали після одноразового уведення щурам із подальшим спостереженням та реєстрацією смертності й клінічних ознак відповідно до принципів стандартизованих підходів OECD (з урахуванням гуманних кінцевих точок). Дози формували таким чином, щоб забезпечити градієнт летальності від 0% до 100% і наявність точок нижче та вище 50% смертності. Значення LD_{50} визначали методом пробіт-аналізу (ICARDA BioComputing Online), встановлено: LD_{50} (*per os*, щури) = 1341,12 мг/кг.

Протизапальну активність «Тіопірину» оцінювали на моделі карагенін-індукованого набряку лапи (пік 4 год) із побудовою залежності «доза–ефект» (рис. 15). Для визначення ED-квантилів застосовано дозовий ряд 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 мг/кг; ефект виражали як % інгібування набряку відносно контролю. Сполука **2.75** демонструвала чітку дозозалежну дію: 10,0% (0,5 мг/кг), 25,0% (1,0 мг/кг), 50,0% (2,0 мг/кг), 75,0% (4,0 мг/кг), 82,5% (6,0 мг/кг). Регресійний аналіз із використанням 4-параметричної логістичної моделі дозволив визначити: ED_{16} = 1,03 мг/кг; ED_{50} = 2,11 ± 0,62 мг/кг; ED_{84} = 4,31 мг/кг, що підтверджує виражену протизапальну активність у моделі гострого ексудативного запалення.

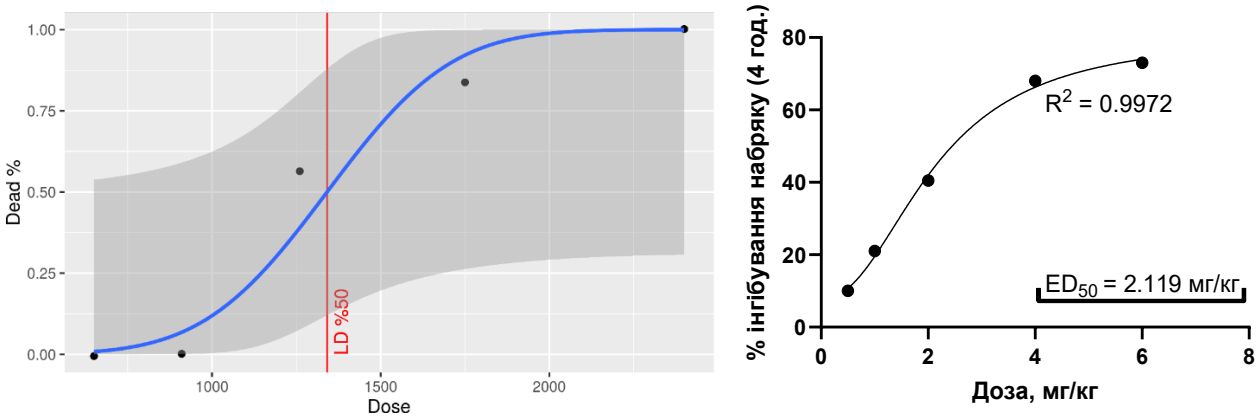

Рис. 15. Гостра токсичність та залежність протизапального ефекту сполуки **2.75** від дози у моделі карагенін-індукованого набряку лапи (пік 4 год)

Орієнтовна еквівалентна оцінка для людини при масі тіла 70 кг для рівня ED_{50} (2,11 мг/кг) становить близько 150 мг. Співвідношення показників гострої токсичності та середньоефективної дози (MOS = LD_{50}/ED_{50}) дорівнює ≈636, що вказує на суттєвий розрив між передбачуваною ефективною експозицією та гостро токсичним рівнем і підтримує перспективність «Тіопірину» за критерієм «ефективність/безпека» на етапі первинної доклінічної оцінки.

У відповідності до наказу МОЗ України від 25.10.2024 №1803 для подання до державного експертного центру МОЗ України підготовлено пакет документів проведених доклінічних випробувань.

Розробка оптимального складу та технології таблеток на основі ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату методом вологої грануляції

У межах дисертаційного дослідження виконано фармацевтичну розробку твердої лікарської форми на основі перспективної біологічно активної сполуки – сполука-лідер «Тіопірин» (**2.75**) – ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат. Вибір саме таблетованої форми обґрунтовано її ключовими перевагами для практичного застосування: стабільність при зберіганні, точність дозування, технологічність серійного виготовлення, портативність і зручність тривалого прийому в амбулаторних умовах. З огляду на актуальність створення безпечних засобів для тривалої профілактичної/підтримувальної терапії та потенціал актопротекторної дії досліджуваної речовини, розробка таблеток розглядалась як логічний етап переходу від експериментально-фармакологічних результатів до стандартизованого лікарського продукту.

На початковому етапі проведено комплексне вивчення фізико-хімічних і фармако-технологічних властивостей субстанції **2.75**. Встановлено, що вона є кристалічним полідисперсним порошком жовтого кольору зі схильністю до пилоутворення, підвищеним злипанням та низькою плинністю. Морфологічні характеристики частинок оцінювали методом електронної мікроскопії з подальшою обробкою зображень; середній розмір частинок становив близько 60 мкм. Саме ці морфологічні ознаки (складний рельєф поверхні, неоднорідність та злипання) зумовлювали незадовільні показники пресуваності при спробах прямого пресування (рис. 15).

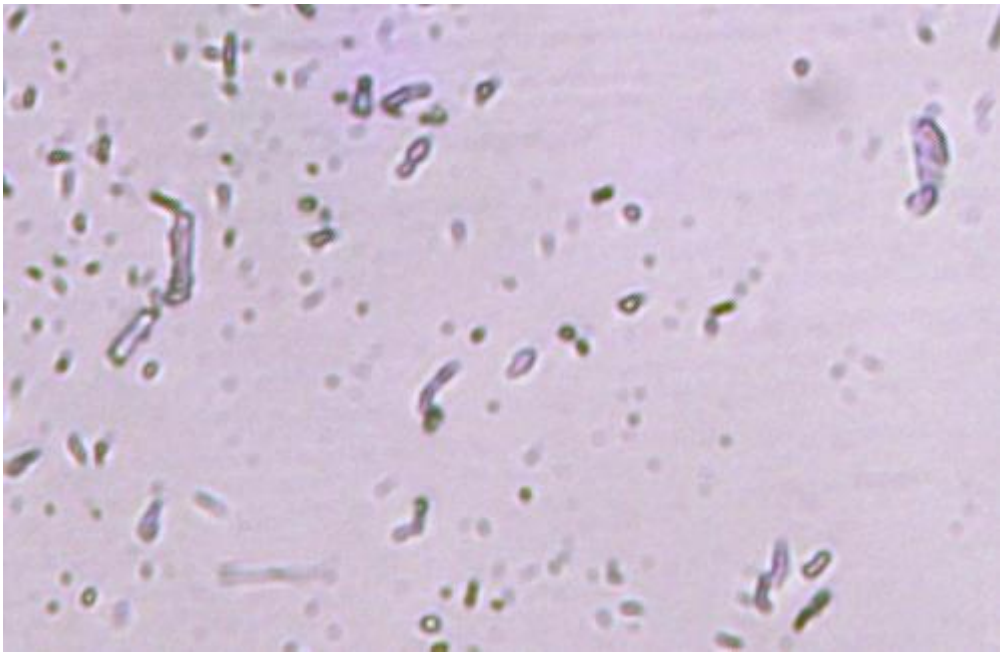

Рис. 15. Мікрофотографія порошку субстанції ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату (масштаб 1:400)

На підставі отриманих даних технологічно обґрунтовано вибір вологої грануляції як основного способу формування таблеток. Такий підхід дозволяє

покращити текучість і сипкість, забезпечити однорідність розподілу діючої речовини в масі, стабілізувати процес таблетування та отримати таблетки з відтворюваними показниками якості.

Подальший етап був присвячений добору допоміжних речовин та оптимізації складу з урахуванням технологічних обмежень субстанції. Показано, що навіть при використанні значних кількостей допоміжних речовин отримати якісні таблетки методом прямого пресування не вдалось, що остаточно підтвердило доцільність вологої грануляції.

Для системної оцінки впливу рецептурних факторів застосовано багатофакторне планування експерименту за схемою трьохфакторного греко-латинського квадрата з двома повторами кожного досліду. Досліджували три групи факторів: А (наповнювачі/розпушувачі): МКЦ 101 у поєднанні з неусиліном УФЛ або кальцію дигідрофосфатом безводним (1:1), а також варіант із МКЦ 101 як єдиним наповнювачем; В (зв’язуючі розчини): 3% крохмальний клейстер, 5% розчин ГПМЦ 5, 3% розчин МЦ 15; С (ковзні/змащувальні речовини): крохмаль картопляний висушений, магнію стеарат, аеросил.

Технологія включала зволоження і гранулювання маси через сито (3 мм), сушіння до сталої маси (за температури 100°С), повторну грануляцію (1 мм) та опудрювання для покращення пресувальних властивостей. Якість таблеток оцінювали за комплексом фармако-технологічних показників: однорідність дозування, перебіг пресування, зовнішній вигляд, стираність, міцність при роздавлюванні, час розпадання та стабільність зовнішнього вигляду після 6 місяців зберігання.

Статистична обробка результатів дозволила кількісно оцінити внесок кожного фактору у формування якості таблеток і виділити раціональні комбінації допоміжних речовин. У межах проведеної оптимізації показано, що різні групи допоміжних речовин по-різному впливають на критичні показники (однорідність дозування, пресуваність, міцність, розпадання, стираність), тому підбір складу здійснювали за принципом «краща сумарна придатність», а не максимізація одного параметра.

За сукупністю отриманих даних відібрано оптимальний комплекс допоміжних речовин для створення таблеток із **2.75**, який забезпечує відповідність вимогам фармако-технологічних нормативів та відтворюваність процесу. Остаточний склад однієї таблетки включає 150 мг діючої речовини (37,5%), мікрокристалічну целюлозу 101 як основний наповнювач, магнію стеарат як змащувальний компонент, 3% крохмальний клейстер як зв’язувальну систему, а також кальцію стеарат.

На підставі виконаних досліджень обґрунтовано та описано технологічну схему виробництва таблеток методом вологої грануляції з визначенням критичних стадій і контрольних точок (підготовка сировини, приготування зволожувача, грануляція, сушіння, опудрювання, таблетування, знепилення, фасування/пакування та контроль якості). Запропонована схема може розглядатись як проєктна основа для подальшої масштабізації та впровадження у виробничих умовах після виконання повного комплексу доклінічних/клінічних досліджень і регуляторних процедур.

Фармацевтичне вивчення, контроль якості та технологічне обґрунтування виробництва ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату

Проведено біоаналітичне та фармакокінетичне дослідження модельної сполуки з використанням ВЕРХ–МС на системі Agilent 1260 Infinity HPLC у сполученні з Agilent 6120/6100 LC/MS (ESI, позитивний режим) із застосуванням OpenLAB CDS ChemStation; пробопідготовку плазми виконували осадженням білків ацетонітрилом із подальшим центрифугуванням, випарюванням і ресуспендуванням, а фармакокінетичні параметри (AUC, C_{max}, T_{max}, $t_{1/2}$) розраховували методами некомпартментного аналізу із використанням PKSolver і перевіркою у GraphPad Prism. Також виконано метаболічне профілювання LC–MS/MS і визначено характерні напрямки біотрансформації сполуки **2.75** (переважно перетворення фази I з подальшими кон'югаціями фази II) та сформовано діагностичні MRM-переходи для батьківської сполуки і ключових метаболітів, що створює основу для подальшого кількісного моніторингу токсикокінетики; ці матеріали доцільно подати у вигляді схеми метаболізму та/або таблиці MRM-переходів (рис. 16).

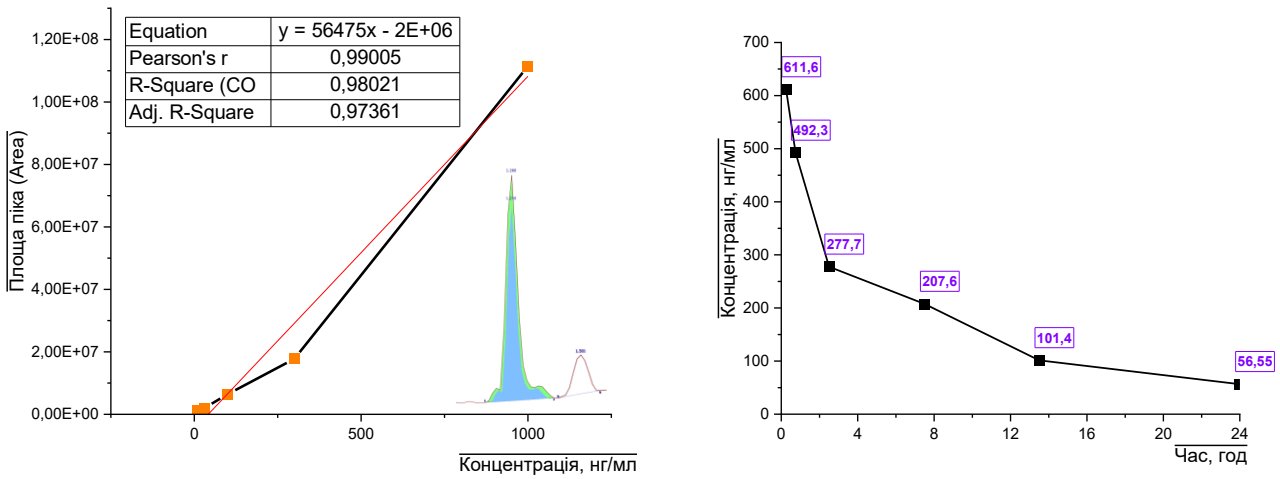

Рис. 16. Калібрувальна крива сполуки і концентраційна залежність від часу сполуки ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат

На основі отриманих даних обґрунтовано систему контролю якості відповідно до вимог ДФУ та ICH (ідентифікація, чистота/домішки, залишкові розчинники, вміст води, мікробіологічна чистота, кількісне визначення та валідаційні критерії), а також підготовлено нормативно-технічну документацію на діючу речовину (МКЯ і дослідно-виробничий технічний регламент), яку передано НВФ ТОВ «БРОВАФАРМА» для подальших доклінічних випробувань і включено до перспективного плану розвитку підприємства.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення важливої наукової проблеми фармації прикладного характеру, що полягає в

науковому обґрунтуванні підходів до дизайну, синтезу, дослідження властивостей і біологічної активності S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів як перспективного класу біологічно активних сполук, що дало змогу запропонувати оригінальний перспективний протизапальний лікарський засіб «Тіопірин», для якого експериментально доведено поєднання вираженої антирадикальної, аналгетичної, протизапальної дії, в тому числі за рахунок селективної антициклооксигеназної активності, що позитивно вирізняється прийнятним профілем безпечності, сприятливими фармакокінетичними характеристиками. Для субстанції та потенційної лікарської форми «Тіопірину», відповідно до вимог наказу МОЗ України від 25.10.2024 № 1803 «Про затвердження Порядку проведення доклінічних досліджень лікарських засобів» підготовлено пакет документів для подальшого вивчення.

1. На основі комплексного комп'ютерно-орієнтованого підходу здійснено раціональний дизайн нових гібридних S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів. Із віртуальної бібліотеки, що охоплювала 2031 структуру, після перевірки коректності та усунення аномалій для поглибленого аналізу відібрано 191 сполуку, серед яких 98,0 % відповідали правилу Ліпінського, а PAINS-мотиви були відсутні, що підтвердило придатність сформованого масиву до подальшої медико-хімічної оптимізації та експериментальної верифікації.

2. За результатами комп'ютерного аналізу підтверджено перспективність досліджуваної серії як джерела біологічно активних сполук. Для 292 структур одержано 30 975 прогнозних записів біологічної спрямованості, з яких 2189 мали високу ймовірність реалізації ($P \geq 0,85$).

3. Розроблено та реалізовано ефективну синтетичну стратегію одержання гібридних S-похідних 1,2,4-триазолу і 1,3,4-оксадіазолу з піримідиновими та оротовмісними фрагментами, у результаті чого синтезовано 190 сполук, із яких 186 одержано вперше. Показано, що реакції S-алкілування та S-ацилювання меркаптопохідних є універсальною платформою для цілеспрямованої модифікації ліпофільності, полярності, розчинності та ступеня іонізації молекул, що забезпечує широкі можливості подальшої структурної оптимізації.

4. Будову, індивідуальність і чистоту синтезованих сполук надійно підтверджено комплексом сучасних фізико-хімічних методів ($^{1}H/^{13}C$ ЯМР, 2D ЯМР, LC-MS, елементним аналізом, хроматографічним контролем). На основі даних 2D ЯМР-аналізу встановлено особливості таутомерних перетворень у синтезованих похідних, що дозволило уточнити їх структурний стан у розчині та коректно інтерпретувати взаємозв'язок між будовою, реакційною здатністю і біологічними властивостями. Показано, що кислотно-основні характеристики, таутомерний стан, енергетичний профіль молекул, сольватація та ступінь їх іонізації істотно впливають на розчинність, хімічну поведінку та біологічний профіль досліджуваних сполук, тому ці параметри можуть бути використані як інформативні критерії ранньої структурної пріоритизації.

5. Обґрунтовано хіміотерапевтичний потенціал синтезованих S-похідних ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів, який у межах проведеного дослідження реалізується насамперед в антимікробному та протигрибковому напрямах. Для найбільш активних представників **2.5**, **2.58** і **2.75**

встановлено мінімальні інгібувальні концентрації. Показано залежність рівня хіміотерапевтичної активності від природи S-заміщення, полярності молекули, ступеня її іонізації та типу гетероциклічного фрагмента. У тестах на пухлинних клітинних лініях за концентрації 10 мкМ вираженної цитотоксичності не спостерігалося.

6. Комплексним біологічним дослідженням встановлено, що синтезовані S-похідні ((1,2,4-триазол(1,3,4-оксадіазол)-3(2)-іл)метил)тіопіримідинів характеризуються полівекторним фармакологічним потенціалом і проявляють антимікробну, протигрибкову, антирадикальну, аналгетичну, протизапальну, антигіпоксичну, ерготропну та антихолінестеразну активність. Сполуки **2.3**, **2.7**, **2.51**, **2.60**, **2.75** і **2.79** виявили виражену аналгетичну дію в моделі оцтовокислих корчів на рівні або вище препарату порівняння; сполуки **2.75**, **2.60** і **3.50** продемонстрували високий протизапальний ефект у формаліновому тесті; сполуки **2.6**, **2.75**, **3.51** і **3.87** характеризувалися вираженою антирадикальною активністю; сполуки **2.75**, **3.51**, **3.64** і **3.87** показали перспективний профіль інгібування ЦОГ-1/ЦОГ-2; сполуки **2.57**, **2.58**, **2.59**, **2.60**, **3.65**, **3.66** і **3.67** проявили виражену антигіпоксичну/ерготропну дію на моделі *Danio rerio* на рівні препарату-компаратора мельдонію. Отримані результати свідчать, що досліджувана серія є перспективною основою для подальшої оптимізації біологічно активних сполук із комбінованим механізмом дії.

7. Встановлено закономірності «структура – властивість – біологічна дія» для синтезованих похідних і показано, що подовження гідрофобного S-алкільного ланцюга, природа кінцевого функціонального фрагмента, перехід до солей, естерів або амідів, а також наявність оротового чи піримідинового компонента істотно впливають на рівень токсичності, антимікробної активності, антиоксидантного потенціалу та вираженість знеболювальної і протизапальної дії. Це дозволило визначити найбільш перспективні напрями подальшої лідер-оптимізації в межах досліджуваного класу.

8. У стандартизованих дослідженнях на моделі *Danio rerio* показники гострої токсичності синтезованих сполук визначали відповідно до підходів OECD 203. Встановлено, що значення LC_{50} для досліджуваної серії перебувають у межах 8,29-192,30 мг/л, що дозволило сформувати порівнювану токсикологічну базу, провести ранню пріоритизацію кандидатів за критерієм безпечності та підтвердити доцільність використання *Danio rerio* як чутливої моделі для токсиколого-фармакологічного скринінгу похідних 1,2,4-триазолу. Створено та впроваджено цифрову платформу ZacFish як інтегроване програмно-апаратне середовище для супроводу експериментів на *Danio rerio*, що забезпечує автоматизований збір відео- й сенсорних даних, збереження результатів у базі даних, розрахунок LC_{50} методами пробіт-аналізу та 4-параметричної логістичної моделі, візуалізацію результатів і генерацію двомовних PDF-звітів. Використання платформи підвищило відтворюваність досліджень, стандартизувало обробку експериментальних даних і розширило можливості цифрового супроводу доклінічного скринінгу.

9. На підставі сукупності *in silico*-, синтетичних, біологічних (в тому числі *in vitro* та *in vivo*), токсикологічних, фармакокінетичних і фармако-технологічних даних обґрунтовано рекомендацію сполуки-лідера **2.75**, а саме ізопропіл 2-((4-метил-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату як найбільш перспек-

тивного об'єкта для подальшого доклінічного дослідження на шляху створення потенційного оригінального лікарського засобу «Тіопірину» протизапальної дії. Для «Тіопірину» встановлено поєднання вираженої фармакологічної активності й прийнятного профілю безпечності: антирадикальна активність – 83,86%, аналгетична активність – 83,6%, тривалість больової реакції у II фазі формалінового тесту знижувалася з 32 до 9-ти хв, протизапальна дія в моделі каррагенан-індукованого набряку лапи характеризувалася ED_{50} = 2,11 ± 0,62 мг/кг, а селективність щодо ЦОГ-2 підтверджена значеннями IC_{50}(COX-2) = 0,15 мкМ та IC50(COX-1) = 11,21 мкМ. За умов оцінки гострої пероральної токсичності відповідно до принципів OECD встановлено LD_{50} = 1341,12 мг/кг, а показник співвідношення безпечності й ефективності MOS ≈ 636.

10. Для «Тіопірину» проведено дослідження після перорального введення в дозі 100 мг/кг і визначено основні фармакокінетичні параметри (C_{max} = 0,61 мкг/мл; T_{max} = 0,25 год; $AUC_{0-\infty}$ = 5,45 мкг·год/мл; $t_{1/2}$ = 6,10 год; Vd/F = 160 л/кг; CL/F = 18,37 л/(год·кг)), що формує базу для подальшої оптимізації режимів дозування та токсикокінетичного супроводу. Для субстанції «Тіопірину» розроблено методи контролю якості відповідно до вимог ДФУ та ICH Q2(R2), а також запропоновано відтворювану технологію одержання таблеток методом вологої грануляції з обґрунтованими допоміжними речовинами і критичними параметрами процесу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Карпенко Ю. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. Біологічно орієнтований синтез ліків (BIODS) на основі гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів (Частина 1). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 2. С. 302–314. DOI : https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207211. (Здобувач брав участь у плануванні роботи, виконанні/узагальненні хімічної частини, інтерпретував результати, підготував статтю до друку).

2. Карпенко Ю. В., Куліш С. М., Аль Халаф Н. А. Біологічно орієнтований синтез ліків (BIODS) на основі гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів (Частина 2). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 3 (37). С. 390–398. DOI : 10.14739/2409-2932.2021.3.243664. (Здобувач брав участь у постановці задач, виконанні/узагальненні хімічної частини, інтерпретував результати, підготував статтю до друку).

3. Karpenko Yu. V., Panasenko O. I. Search for antibacterial activity in a number of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2*H*)-yl)methyl)thiopyrimidines. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 2 (36). С. 173–178. DOI : 10.14739/2409-2932.2021.2.234565. (Здобувач мав провідну роль у виконанні експериментальної/аналітичної частини, узагальнив результати, підготував статтю до друку).

4. Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate / Karpenko Y., Hunchak Y., Gutyj B., Hunchak A., Parchenko M., Parchenko V. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2022. № 2 (36). С. 18–25. DOI : https://doi.org/10.15587/2519-

4852.2022.255848. (Здобувач брав участь у постановці задач, виконанні досліджень та інтерпретації результатів, підготував статтю до друку).

5. Synthesis and acute toxicity of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2*H*)-yl)methyl)thiopyrimidines / Karpenko Yu. V., Panasenko O. I., Kulish S. M., Domnich A. V. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2023. Т. 16. № 2(42). С. 158–164. DOI : 10.14739/2409-2932.2023.2.274586. (Здобувач мав провідну роль у виконанні досліджень та підготовці статті до друку).

6. Карпенко Ю. В., Панасенко О. І., Сирота П. С. Синтез та антибактеріальна активність в ряду нових S-похідних (1,2,4-триазол-3(2*H*)-іл)метил)тіопіримідинів. *Український журнал військової медицини*. 2023. Т. 4, № 4. С. 120–125. DOI : https://doi.org/10.46847/ujmm.2023.4(4)-120. (Здобувач брав участь у постановці задач, синтетичній/аналітичній частині та підготовці статті до друку).

7. Karpenko Y. Absorption of Free Radicals of New S-Derivatives (1,2,4-Triazole-3(2*H*)-yl)methyl)thiopyrimidines. *Chemistry Proceedings*. 2024. Т. 16, № 1. 62. DOI : https://doi.org/10.3390/ecsoc-28-20181.

8. A biochemistry-oriented drug design: synthesis, anticancer activity, enzymes inhibition, molecular docking studies of novel 1,2,4-triazole derivatives / Karpenko Y., Kusdemir G., Volodymyr P., Tüzün B., Taslimi P., Karatas O. F., Sayın K. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2024. Т. 42, № 3. С. 1220–1236. DOI : https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2253906. (Здобувач брав участь у синтетичній/аналітичній частині та інтерпретації результатів, підготовці статті до друку).

9. Karpenko Y. V., Panasenko O. I., Litun A. P. Search for molecular descriptors and computer prediction of biological activity in a series of S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2*H*)-yl)methyl)thiopyrimidines. *Current Issues in Pharmacy and Medicine: Science and Practice*. 2024. Т. 17, № 1. С. 5–9. DOI : https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.298027. (Здобувач мав провідну роль у підготовці даних/аналізі та написанні).

10. Monitoring the properties of 1,2,4-triazole derivatives for the development of original antimicrobial drugs / Kucherenko L. I., Karpenko Y. V., Ohloblina M. V., Zazharskyi V. V., Bilan M. V., Kulishenko O. M., Bushuieva I. V., Parchenko V. V. *Zaporozhye Medical Journal*. 2024. Т. 26, № 6. С. 481–489. DOI : https://doi.org/10.14739/2310-1210.2024.6.309034. (Здобувач брав участь у виконанні досліджень та інтерпретації результатів, підготовці статті до друку).

11. Karpenko Yu. V. DFT analysis of the [3 + 2] heterocyclization reaction of ((1,2,4-triazole(1,3,4-oxadiazole)-3(2)-yl)methyl)thiopyrimidines. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2025. Т. 18, № 1 (47). С. 5–11. DOI : 10.14739/2409-2932.2025.1.321480.

12. Design, synthesis, molecular docking, and antioxidant properties of a series of new S-derivatives of ((1,2,4-triazol-3(2*H*)-yl)methyl)thiopyrimidines / Karpenko Yu., Medvedeva K., Solomennyi A., Rudenko O., Panasenko O., Parchenko V., Vasyuk S. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. № 1. С. 62–70. DOI : http://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.312075. (Здобувач мав провідну роль у концепції/дизайні та виконанні досліджень, підготовці статті до друку).

13. Karpenko Y. V., Panasenko O. I., Parchenko V. V. Evaluation of the hypoglycemic potential of 6-(4-ethyl-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione derivatives. *Фармацевтичний журнал* (*Farmatsevtychnyi Zhurnal*). 2025. № 1. С. 45–57. DOI : https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.25.04. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку).

14. Karpenko Y. V. In silico study of the anti-inflammatory potential of new thiopyrimidine derivatives with 1,2,4-triazole as inhibitors of key inflammatory targets. *Фармацевтичний журнал* (*Farmatsevtychnyi Zhurnal*). 2025. № 3. С. 58–69. DOI : https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.25.05.

15. Karpenko Y. V. Quantum-chemical assessment of the antioxidant activity of 6-(4-R-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione derivatives: thermochemistry. *Фармацевтичний журнал* (*Farmatsevtychnyi Zhurnal*). 2025. № 6. С. 54–64. DOI: https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.25.04.

16. Karpenko Y. Synthesis and Tactics of Organic Synthesis of 6-(5-mercapto-4R-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione Derivatives. *Chemistry Proceedings*. 2025. Т. 18, № 1. 46. DOI : https://doi.org/10.3390/ecsoc-29-26848.

17. Analgesic effectiveness of new 1,2,4-triazole derivatives in an experimental model of visceral pain: prospects for military medical application / Karpenko Y. V., Mykhailiuk Y. O., Shmatenko O. P., Solomennyi A. M., Solomenna O. O., Parchenko V. V., Kyrychko B. P. *Ukrainian Journal of Military Medicine*. 2025. Т. 6. № 4. С. 147–155. DOI : https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.4(6)-147. (Здобувач мав провідну роль у постановці задачі/аналізі та підготовці рукопису)

18. Karpenko Yu. V., Panasenko M. O., Kharytonenko H. I. LC-ESI-MS analysis of 1,2,4-triazole derivatives with various alkyl and aromatic substituents. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2025. Т. 18, № 3 (49). С. 237–243. DOI : 10.14739/2409-2932.2025.3.337161. (Здобувач брав участь у виконанні LC–MS та інтерпретації, підготовці статті до друку).

19. Cytotoxic potential of novel triazole-based hybrids: design, synthesis, in silico evaluation, and in vitro assessment against cancer cell lines / Karpenko Y., Tüzün G., Parchenko V., Aydın Köse F., Ogloblina M., Yıldırım Ş., Bushueva I., Kocyigit U. M., Khilkovets A., Tüzün B., Parchenko M. *Bioorganic Chemistry*. 2025. Т. 163. 108749. DOI : https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2025.108749. (Здобувач здійснив методологічне опрацювання, виконав основну частину експериментальних досліджень, провів аналіз і систематизацію даних, сформулював концепцію роботи та забезпечив залучення фінансування).

20. Synthesis, chemical properties and search for molecular descriptors of the fungicidal activity of new hybrids of 1,2,4-triazole(1,3,4-oxadiazole) bearing a pyrimidine fragment / Karpenko Yu. V., Panasenko O. I., Zazharsky V. V., Parchenko V. V., Pidlisny O. V., Yaroshenko I. V., Bilan M. V., Davydenko P. O., Kulishenko O. M., Zazharska N. M. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii* (Issues of Chemistry and Chemical Technology). 2025. Т. 161, № 4. С. 58–69. DOI : http://dx.doi.org/10.32434/0321-4095-2025-161-4-58-69. (Здобувач брав участь у синтезі/аналізі та підготовці статті до друку).

21. Карпенко Ю. В., Панасенко М. О. 4-феніл-5-((піримідин-2-ілтіо)метил)-1,2,4-триазол-3-тіол як платформа для синтезу несиметричних дисульфідів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2025. № 18 (2). С. 123–130. https://doi.org/10.14739/2409-2932.2025.2.328770. (Здобувач мав провідну роль у постановці задач/аналізі, виконав основну частину експериментальних досліджень та підготував статтю до друку).

22. Синтез, перетворення, хімічна модифікація та біологічна активність похідних 1,2,4-триазолу : монографія / Оглобліна М. В., Притула Р. Л., Карпенко Ю. В., Парченко В. В., Бушуєва І. В., Шматенко О. П., Гутий Б. В. Миколаїв, вид-во ЧНУ імені Петра Могили, 2024. 212 с. (Здобувач брав участь у підготовці розділів/матеріалів та узагальненні результатів).

23. Молекулярний дизайн та хімічні перетворення 5-гетерил-4R-1,2,4-триазол-3(2*H*)-тіонів : монографія / Карпенко Ю. В., Панасенко О. І., Парченко В. В., Сафонов А. А., Щербина Р. О., Гоцуля А. С., Федотов С. О. Запоріжжя : ЗДМФУ, 2024. 316 с. (Здобувач брав участь у плануванні, створенні концепції, підготовці розділів/матеріалів та узагальненні результатів).

24. Карпенко Ю. В., Панасенко О. І. Цілеспрямований пошук протимікробних засобів на основі похідних ((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)тіопіримідинів. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії* : зб. тез VI Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 90-річчю заснування Запоріз. нац. ун-ту, 16–17 жовт. 2020 р. Запоріжжя, 2020. С. 176–177. (Здобувач брав участь у формуванні концепції роботи, узагальненні результатів і підготовці тез до друку).

25. Karpenko Y. V., Panasenko O. I. Synthesis and transformation of 5-((pyrimidin-2-ylthio)methyl)-1,2,4-triazole/1,3,4-oxadiazole-3/2-thiones. *Записки Української науково-дослідницької асоціації :* тези доповідей Всеукраїнської конференції наукових дослідників, 19–25 верес. Л., 2021. С. 80. (Здобувач інтерпретував результати і підготував тези до друку).

26. Карпенко Ю. В., Панасенко О. І. Пошук противомікробних агентів на основі похідних ((1,2,4-триазол-3(2*H*)-іл)метил)тіопіримідинів та їх продуктів хімічних перетворень. *Запорізький фармацевтичний форум – 2021 :* матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 25–26 листоп. Запоріжжя, 2021. С. 43. (Здобувач інтерпретував результати і підготував тези до друку).

27. Карпенко Ю. В. Синтез нових S-похідних (1,2,4-триазол-3(2*H*)-іл)метил)тіопіримідинів. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи: матеріали Всеукраїнської наук. конф.. Житомир. 1 травня 2024 р.* Житомир. Житомирський державний університет імені Івана Франка. 2024. С. 206.

28. Карпенко Ю. В. Поглинання вільних радикалів нових S-похідних (1,2,4-триазол-3(2*H*)-іл)метил)тіопіримідинів. *Концептуальні шляхи розвитку науки та освіти :* матеріали XI Міжнар. наук.-практ. конф., 9–10 трав. Л., 2024. С. 93.

29. Karpenko Y. V. Search and creation of new biologically active organic substances based on 5-((pyrimidin-2-ylthio)methyl)-1,2,4-triazole/1,3,4-oxadiazole-3/2-thiones. *Матеріали XXVI Української конференції з органічної та біоорганічної хімії,* 16–20 верес. Ужгород, 2024. С. 55.

30. Karpenko Yu. V. Study of acute toxicity on Danio rerio hydrobionts of new S-derivatives (1,2,4-triazol-3(2*H*)-yl)methyl)thiopyrimidines. *Development of the healthcare*

sector in Ukraine: the path towards the European Union : conference proceedings. 2024. С. 58-60. DOI : https://doi.org/10.30525/978-9934-26-387-3-15.

31. Karpenko Y. Hypoglycemic activity of new S-derivatives of 6-(5-mercapto-4-methyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione. *The 3rd International Electronic Conference on Biomedicines. Online,* 12–15 May. Basel, 2025. P. 18.

32. Карпенко Ю. В. Гіпоглікемічна активність похідних в ряду 6-(4-етил-5-меркапто-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)піримідин-2,4(1*H*,3*H*)-діонів. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи* : матеріали IX Всеукр. наук. конф., 9 квіт. Житомир, 2025. С. 218.

33. Карпенко Ю. В. Раціональне конструювання та взаємозв'язок шести- та п'ятичленних гетероциклічних систем: шляхи синтетичної оптимізації та перспективи дослідження біологічної активності. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2025*: зб. тез доп. 85 Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 15–16 трав. Запоріжжя, 2025. С. 278.

34. Karpenko Y. Search and creation of new biologically active organic substances based on 6-(5-mercapto-4-phenyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione. *The 1st International Electronic Conference on Medicinal Chemistry and Pharmaceutics. Online*, 1–30 November. Basel, 2025. P. 85.

35. Karpenko Y. V. Design and synthesis of a series of new S-derivatives of 5-((pyrimidin-2-ylthio)methyl)-1,3,4-oxadiazole-2-thiol. *ACS Fall 2025*, August 17–21. Washington, 2025. URL : https://acs.digitellinc.com/live/35/session/567841.

36. Karpenko Yu. V. Antioxidant Potential of 6-(5-Mercapto-4-R-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione Derivatives. XV Всеукр. конф. молодих вчених, студентів та аспірантів з актуальних питань хімії, 7–10 жовт. Х., 2025. P. 15.

37. Карпенко Ю. В. Гібридні похідні 1,2,4-триазолу/тіопіримідину: від синтезу до біоактивності. *Chemical and biopharmaceutical technologies in 2025* : collection of abstracts of the VII International scientific and practical conference «KyivLvivPharma-2025. Pharmaceutical technology and pharmacology in ensuring active longevity». Tallinn : Nordic Sci Publisher, 2026. P. 267-268.

38. Карпенко Ю. Інженерія триазол-тіопіримідинових каркасів: стратегія та реалізація. *Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів* : зб. тез доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 20–21 листоп. Запоріжжя, 2025. С. 61–62.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

4-AA	– 4-аміноантипірин
4-MAA	– 4-метиламіноантипірин
ADME	– абсорбція, розподіл, метаболізм, екскреція
AChE	– ацетилхолінестераза
$AUC_{0–\infty}$	– площа під кривою «концентрація–час» від 0 до нескінченності
CL/F	– загальний кліренс з урахуванням біодоступності F
COX-2	– циклооксигеназа-2
COSY	– 2D ЯМР-експеримент кореляційної спектроскопії $^{1}H–^{1}H$
CYP450	– ферментна система цитохрому P450
C_{max}	– максимальна концентрація у плазмі
DFT	– теорія функціоналу густини (квантово-хімічні розрахунки)
EA	– електронна спорідненість
Etot	– повна (тотальна) енергія системи
GraphPad Prism	– програмний пакет для статистичної обробки та графіки
HAT	– антиоксидантний механізм переносу атома Гідрогену (Hydrogen Atom Transfer)
HBA	– акцептори водневого зв’язку (Hydrogen Bond Acceptors)
HBD	– донори водневого зв’язку (Hydrogen Bond Donors)
HMBC	– 2D ЯМР-експеримент далекого гетероядерного кореляційного зв’язку ($^{1}H–^{13}C$ HMBC)
HOMO	– найвища зайнята молекулярна орбіталь
HSQC	– 2D ЯМР-експеримент одно-зв’язкового гетероядерного кореляційного зв’язку ($^{1}H–^{13}C$ HSQC)
IP	– іонізаційний потенціал
in silico	– комп’ютерне (віртуальне) моделювання/прогноз
LUMO	– найнижча вільна молекулярна орбіталь
MD	– молекулярна динаміка (Molecular Dynamics)
OpenMM	– програмне середовище/рушій для молекулярної динаміки
ORCA	– програмний пакет для квантово-хімічних розрахунків
PDB	– Protein Data Bank (база білкових структур)
PDBQT	– формат структури для докінгу (PDB + заряди/типи атомів)
PLIP	– інструмент аналізу білок-лігандних взаємодій (Protein–Ligand Interaction Profiler)
QSAR	– кількісні співвідношення «структура–активність» (Quantitative Structure–Activity Relationship)